

**CHORUS
VIT B12**

REF 86400



DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SI)
Italy



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS VIT B12

Per la determinazione quantitativa di vitamina B12 nel siero umano

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

CHORUS VIT B12 è un kit immunologico per la determinazione quantitativa automatizzata di Vitamina B12. Il test viene eseguito su siero umano, utilizzando un dispositivo monouso applicato allo strumento CHORUS TRIO.

Il kit, destinato a monitorare il livello di Vitamina B12, rappresenta un aiuto alla diagnosi di carenza di Vitamina B12.

Deve essere utilizzato esclusivamente da personale professionale di laboratorio.

2. INTRODUZIONE

La vitamina B12 è una delle nove vitamine idrosolubili, che interviene nell'uomo nella formazione dei globuli rossi e delle guaine mieliniche attorno ai nervi. La vitamina B12 non può essere sintetizzata nel corpo umano; le principali fonti di assorbimento sono carne, pesce, uova e latticini. L'assorbimento nel tratto gastro-intestinale dipende dal fattore intrinseco, a cui la vitamina si lega per mantenersi in forma stabile. La causa più frequente di deficit di vitamina B12 grave è la mancanza di fattore intrinseco dovuta alla gastrite atrofica autoimmune. La malattia è storicamente chiamata "anemia perniciosa", anche se molti pazienti presentano principalmente manifestazioni neurologiche. Altre cause della carenza di vitamina B12 sono il malassorbimento dovuto a gastrectomia, malattia infiammatoria intestinale o carenza dietetica. In generale la prevalenza aumenta con l'età, a causa di un peggioramento dell'assorbimento a livello del tratto gastro-intestinale. I sintomi da carenza di vitamina B12 possono essere molto ambigui e la sua deficienza può manifestarsi anche dopo mesi o anni. La diagnosi è essenziale, a causa della natura latente di questo disturbo e del rischio di danno neurologico permanente. Generalmente, il test primario eseguito per confermare la diagnosi della carenza di vitamina B12 è la misurazione del livello sierico di vitamina B12. In aggiunta dovrebbero essere valutati anche altri biomarcatori quali per esempio folato, acido metilmalonico (MMA), omocisteina e olotranscobalamina.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo CHORUS VIT B12 è pronto all'uso per la determinazione di vitamina B12 nel siero umano, nello strumento Chorus TRIO.

Il test si basa su un metodo ELISA a competizione.

I pozzetti delle micropiastre sono streptavidina. Calibratore, controllo positivo e campioni vengono aggiunti a un dispositivo. Il campione e l'anticorpo anti-B12 biotinilato vengono aggiunti in

piastre e durante una prima incubazione avviene la formazione di un immunocomplesso tra la vitamina B12 eventualmente presente nel siero e l'anticorpo anti-B12 biotinilato che è a sua volta in grado di legarsi alla streptavidina immobilizzata sulla fase solida.

Dopo una breve incubazione, il coniugato (contenente vitamina B12 marcata con perossidasi) è aggiunto (questo ritardo permette di aumentare la sensibilità per i campioni a bassa concentrazione). Il coniugato compete con la vitamina B12 presente nel siero in esame per i siti di legame all'anticorpo anti-B12. Dopo il lavaggio per eliminare l'eccesso dei reattivi non legati, si aggiunge il substrato per la perossidasi. La reazione enzimatica viene interrotta aggiungendo la soluzione di arresto, che fa virare la soluzione al giallo. Il colore che si sviluppa è inversamente proporzionale alla quantità di vitamina B12 presente nel campione del paziente.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati allo strumento Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in pg/ml.

4. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e hanno dato una risposta negativa per la presenza di HbsAg e per gli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 e anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Seguire tutte le precauzioni normalmente adottate nella pratica di laboratorio quando si maneggia materiale di origine umana.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti e smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Informazioni su salute e sicurezza

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati e altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Per garantire una disinfezione efficace potrebbe essere necessaria un'esposizione di 30 minuti al sodio ipoclorito all'1%.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se nel versamento è presente un acido, asciugare la zona inquinata prima di usare il sodio ipoclorito. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti, compresi i guanti, devono essere smaltiti come rifiuti potenzialmente infetti.

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30 °C) per almeno 30 minuti e impiegare entro 60 minuti.

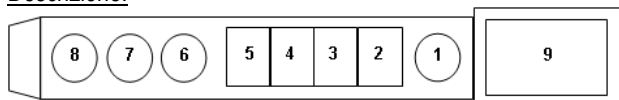
1. **Scartare i dispositivi con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso; non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'uso e il Manuale utente dello strumento.
L'utilizzo del kit è possibile solo con CHORUS TRIO con una versione aggiornata del software. Assicurarsi che il software installato sullo strumento sia una versione (Rel.) corrispondente o successiva a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito DIESSE (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Controllare che lo strumento Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del dispositivo al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinatori per la conservazione dei campioni.
8. Eventuali codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. L'utilizzo di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano contaminazione microbica può costituire fonte di errore.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.
12. **Controllare che lo strumento sia collegato al Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 9: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 8: Vuota

Posizione 7: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con streptavidina

Posizione 6: Vuota

Posizione 5: VITAMINA B12 BIOTINILATO

Contenuto: anticorpi anti-vitamina B12 biotinilati, stabilizzati in tampone e conservante.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina e perossido di idrogeno stabilizzato in tampone.

Posizione 3: SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0.3 M

Posizione 2: CONIUGATO VIT B12

Contenuto: Vitamina B12 marcata con perossidasi stabilizzata in tampone.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

in cui trasferire il campione.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta e prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2-8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.450 ml

Contenuto: Siero umano contenente vitamina B12 e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.650 ml

Contenuto: Siero umano contenente vitamina B12 e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

SAMPLE DILUENT/CONTROLLO NEGATIVO 1 x 1.100 ml

Contenuto: Siero umano non contenente vitamina B12 e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Strumento Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Vortex
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl
- Guanti monouso
- Soluzione di sodio ipoclorito (5%)
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8 °C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione è necessario ripetere la calibrazione e controllare la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta del kit.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo l'apertura:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8 °C
CALIBRATORE	8 settimane a 2/8 °C

CONTROLLO POSITIVO 8 settimane a 2/8 °C
 SAMPLE DIL/NEG CTRL 8 settimane a 2/8 °C

7. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato con le precauzioni richieste nelle procedure standard di laboratorio. Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Il siero fresco può essere mantenuto per 5 giorni a 2/8 °C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a temperature ≤ -20 °C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

Il campione estratto può essere utilizzato, se mantenuto a 4°C, entro 8 ore dall'estrazione.

Si raccomanda vivamente di evitare qualsiasi trattamento intenso dei campioni.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

Il test CHORUS VIT B12 (REF. 86400) può essere eseguito contemporaneamente SOLO ai test CHORUS PROMONITOR.

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Preparare campioni, calibratore, controllo positivo e controllo negativo (quando necessario) utilizzando il prodotto CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) seguendo il protocollo di estrazione riportato nelle relative istruzioni per l'uso.
Il pretrattamento non può essere eseguito nello strumento CHORUS AUTOSAMPLER (REF 81210).
4. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo:

CAMPIONE	100 µl/dispositivo
CALIBRATORE	100 µl/dispositivo
CONTROLLO POSITIVO	100 µl/dispositivo

Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.

5. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il controllo positivo per verificare la correttezza dei risultati ottenuti, processandolo come indicato nel Manuale utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il controllo positivo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del controllo positivo continua a essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605
 email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo strumento Chorus TRIO fornisce il risultato in pg/ml, calcolati in base a un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

11. LIMITAZIONI

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescindano da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione: 150.0-2000.0 pg/ml.

Per campioni > 2000.0 pg/ml, ripetere il test diluendo il campione con Vit B12 Sample Diluent/Negative Control fornito con il kit. Si consiglia di effettuare diluizioni 1:5 e 1:10 dei campioni fuori scala; successivamente procedere all'estrazione dei campioni prima dell'analisi.

13. RANGE DI RIFERIMENTO

Sono stati analizzati 120 campioni (56 uomini, 64 donne), appartenenti alla popolazione apparentemente sana, con età compresa tra 21 e 89 anni. Le donne in gravidanza sono state escluse.

L'intervallo di riferimento del kit Chorus VIT B12 è 237.5 – 764.8 pg/ml.

Questi valori dovrebbero essere usati solo come linee guida. Ciascun laboratorio dovrebbe studiare la trasferibilità dei valori attesi alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento.

14. SPECIFICITÀ ANALITICA

Sono stati testati 3 campioni a concentrazione crescente di Vitamina B12 ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Bilirubina (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
 Trigliceridi (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
 Emoglobina (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)
 Fattore Reumatoide (44IU/ml-220IU/ml)

La presenza delle sostanze interferenti sopra elencate nel siero in esame non altera il risultato del test, ad esclusione dell'emoglobina.

È stato testato 1 campione con concentrazione di vitamina B12 nel range di normalità, al quale sono state aggiunte concentrazioni crescenti di Biotina (0.5 ng/ml – 1000.0 ng/ml). La presenza nel siero in esame di Biotina non altera il risultato del test per concentrazioni fino a 35 ng/ml. Concentrazioni più elevate di Biotina determinano risultati errati.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 167 campioni con un kit Diesse e un altro kit in commercio: i dati di correlazione sono riassunti nella seguente tabella:

Correlazione	r	IC 95%
Pearson	0.96	0.94-0.97

Spearman	0.89	0.85-0.92
----------	------	-----------

I coefficienti di correlazione di Pearson e Spearman rispettivamente rientrano nei range di correlazione molto elevata ed elevata.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (pg/ml)	CV%	Media (pg/ml)	CV%
1	1876.2	3.1	1681.8	13.1
2	912.8	1.8	872.9	0.8
3	540.0	2.6	480.5	4.4
4	405.2	1.6	457.1	1.2
5	308.8	4.5	349.3	6.7
6	254.0	2.2	216.1	11.3

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Mean (pg/ml)	CV%	Mean (pg/ml)	CV%
1	1758.1	3.5	1752.0	12.3
2	908.9	8.1	840.0	13.0
3	484.5	3.0	540.9	10.4
4	473.5	12.2	485.8	8.4
5	365.3	10.8	336.2	11.8
6	204.4	13.9	216.6	11.3

17. LINEARITÀ

La linearità del test è stata valutata utilizzando 3 campioni con concentrazioni note di vitamina B12. Sono state effettuate diluizioni seriali per ciascun campione, che hanno dimostrato la linearità del metodo da 150.0-2000.0 pg/ml.

18. ACCURATEZZA

L'accuratezza del test è stata valutata misurando lo Standard Internazionale Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (codice NIBSC 03/178). Due lotti del kit sono stati testati su uno strumento. La media del recupero rispetto al valore atteso dello standard (480 pg/ml) è del 111%.

19. BIBLIOGRAFIA

1. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. N Engl J Med 2013;368:149-160.
2. Allen LH. Vitamin B-12. Adv Nutr 2012;3(1):54-55.
3. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009;89(2):693S-696S. Epub 2008 Dec 30.
- and its application. J Nutr Health Aging 2011 Mar;15(3):227-313.
4. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency -an update. Haematologica 2006;91(11):1506-1512.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS VIT B12

For the quantitative determination of vitamin B12 in human serum

For *in vitro* diagnostic use only

1. USE

CHORUS VIT B12 is an immunological kit for the automated quantitative determination of vitamin B12.

The test is conducted on human serum using a single-use device applied to the CHORUS TRIO instrument.

The kit, intended to monitor the level of vitamin B12, is an aid in the diagnosis of vitamin B12 deficiency.

It must only be used by professional laboratory personnel.

2. INTRODUCTION

Vitamin B12 is one of the nine water-soluble vitamins, which intervenes in man in the formation of red blood cells and myelin sheaths around the nerves. Vitamin B12 cannot be synthesized in the human body; the main sources of absorption are meat, fish, eggs, and dairy products. Absorption in the gastro-intestinal tract depends on the intrinsic factor to which the vitamin binds to maintain its stable form. The most frequent cause of severe vitamin B12 deficiency is the lack of intrinsic factor due to autoimmune atrophic gastritis. The disease is historically called "pernicious anaemia" even though many patients have mainly neurological manifestations. Other causes of vitamin B12 deficiency are malabsorption due to gastrectomy, inflammatory bowel disease or dietary deficiency. In general, the prevalence increases with age due to a worsening of absorption in the gastro-intestinal tract. Symptoms of vitamin B12 deficiency can be very ambiguous and your deficiency may manifest itself even after months or years. Diagnosis is essential because of the latent nature of this disorder and the risk of permanent neurological damage. Generally, the primary test performed to confirm the diagnosis of vitamin B12 deficiency is the measurement of the serum level of vitamin B12. In addition, other biomarkers such as folate, methylmalonic acid (MMA), homocysteine and holotranscobalamin should also be evaluated.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The CHORUS VIT B12 device is ready to use for the determination of vitamin B12 in human serum in the Chorus TRIO instrument.

The test is based on a competition ELISA method.

The microplate wells are coated with streptavidin. The calibrator, positive control and samples are added to a device. The sample and biotinylated anti-B12 antibody are added to a plate and during a first incubation, an immunocomplex between any vitamin B12 present in the serum and the biotinylated anti-B12 antibody is formed, which in turn binds to the immobilized streptavidin on the solid phase.

After a short incubation, the conjugate (containing vitamin B12 marked with peroxidase) is added (this delay allows increasing the sensitivity for low-concentration samples). The conjugate competes with the vitamin B12 present in the serum under examination for the binding sites to the anti-B12 antibody. After washing to eliminate the excess of unbound reagents, the peroxidase substrate is added. The enzymatic reaction is stopped by adding stop solution, which causes the solution to turn to yellow. The colour that develops is inversely proportional to the amount of vitamin B12 in the patient sample.

The single-use devices contain all the reagents to perform the test when applied to the Chorus TRIO instrument.

The results are expressed in pg/ml.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin that have been tested and gave a negative response for the presence of HbsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. Since no diagnostic test can offer a complete guarantee on the absence of infectious agents, any material of human origin must be considered potentially infected. Follow all the precautions normally adopted in laboratory practice when handling material of human origin.

Disposal of residues: the serum samples, calibrators and strips used must be treated as infected residues and disposed of in accordance with the provisions of current laws.

Health and safety information

1. Do not pipette with your mouth.
2. Use single-use gloves and eye protection when handling samples.
3. Wash your hands thoroughly after inserting the devices into the Chorus TRIO instrument.
4. Refer to the Safety Data Sheet (available on request) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste must be disinfected by adding sodium hypochlorite in a volume sufficient to obtain a final concentration of at least 1%. An exposure of 30 minutes to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective disinfection.
6. Any spillage of potentially infected materials must be removed immediately with absorbent paper and the contaminated area must be decontaminated, for example with 1% sodium hypochlorite, before continuing work. If an acid is present in the spillage, dry the contaminated area before using sodium hypochlorite. All materials used to decontaminate any spillage, including gloves, must be disposed of as potentially infected waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical warnings

Before use, bring the devices to be used to room temperature (18-30°C) for at least 30 minutes and use within 60 minutes.

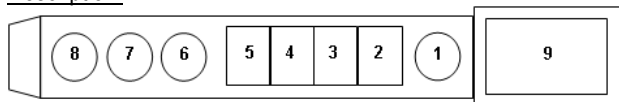
1. **Discard the devices with blue coloured substrate (well 4).**
2. When adding the sample to the well, check that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check the actual presence of the reagents in the device and the integrity of the device itself; do not use devices that lack any reagents and/or have foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices must be used in conjunction with the Chorus TRIO instrument, strictly following the Instructions for Use and the User Manual of the instrument.
The kit can only be used with CHORUS TRIO with an updated version of the software. Make sure that the software installed on the instrument is a version (Rel.) equal to or later than the one shown in the table published on the Diesse website
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Check that the Chorus TRIO instrument is set correctly (see User Manual).
6. Do not alter the barcode on the grip of the device so that it can correctly be read by the instrument.
7. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage.
8. Any defective barcodes can be manually entered into the instrument (see User Manual).
9. Do not expose the devices to strong lighting or hypochlorite vapours during storage and use.
10. The use of heavily haemolysed, lipaemic or icteric samples of not fully coagulated serum or samples with microbial contamination may be a source of error.
11. Do not use the device after its expiry date.
12. **Check that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packs of 6 devices each

Description:



Position 9: Space available for barcode label

Position 8: Empty

Position 7: MICROPLATE WELL

Coated with streptavidin

Position 6: Empty

Position 5: BIOTINYLATED VITAMIN B12

Content: biotinylated anti-vitamin B12 antibodies stabilized in buffer and preservative.

Position 4: TMB SUBSTRATE

Content: Tetramethylbenzidine and hydrogen peroxide stabilized in buffer.

Position 3: STOP SOLUTION

Content: 0.3 M sulphuric acid solution

Position 2: VIT B12 CONJUGATE

Content: Vitamin B12 marked with peroxidase stabilized in buffer

Position 1: EMPTY WELL

to transfer the sample to

Use: bring a bag to room temperature, open the bag, take out the necessary devices; store the others in the bag containing the silica gel, let the air out and **seal** by pressing on the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR **1 x 0.450 ml**
Content: Human serum containing vitamin B12 and preservative.
Liquid, ready to use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL **1 x 0.650 ml**
Content: Human serum containing vitamin B12 and preservative.
Liquid, ready to use.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL
SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL **1 x 1.100 ml**
Content: Human serum not containing vitamin B12 and preservative.
Liquid, ready to use.

OTHER MATERIAL REQUIRED, BUT NOT SUPPLIED

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Chorus TRIO instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test tubes, etc.
- Vortex
- Micropipettes capable of accurately withdrawing volumes of 50-200 µl.
- Single-use gloves
- Sodium hypochlorite solution (5%)
- Containers for the collection of potentially infected materials

6. STORAGE METHOD AND REAGENT STABILITY

The reagents must be stored at 2-8°C. In the event of an incorrect storage temperature, the calibration must be repeated and the correctness of the result checked using the control serum (see section 9: Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

The reagents have limited stability after opening:

DEVICES	8 weeks at 2-8°C
CALIBRATOR	8 weeks at 2-8°C
POSITIVE CONTROL	8 weeks at 2-8°C
SAMPLE DIL/NEG CTRL	8 weeks at 2-8°C

7. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

The sample is serum obtained from blood collected by normal venous blood sampling and handled with the precautions required by standard laboratory procedures.

The consequences of using other body fluids are unknown.

Fresh serum can be kept for 5 days at 2-8°C;

for longer storage periods, freeze at temperatures $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

The sample can be thawed for a maximum of 3 times. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage. After thawing, carefully shake the sample before dosing.

The extracted sample can be used within 8 hours from extraction if kept at 4°C.

It is strongly recommended to avoid any intensive sample processing.

Sample quality can be seriously affected by microbial contamination which can lead to erroneous results.

8. PROCEDURE

The CHORUS VIT B12 test (REF. 86400) can be performed simultaneously ONLY with the CHORUS PROMONITOR tests.

1. Open the bag (side containing the snap closure), take the number of devices needed to perform the tests and store the others by closing the bag after letting the air out.
2. Visually check the status of the device according to the instructions in section 4 Analytical Warnings.
3. Prepare the samples, calibrator, positive control and negative control (when necessary) using the product CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) according to the extraction protocol given in the relative instructions for use.
Pretreatment cannot be performed in the CHORUS AUTOSAMPLER instrument (REF 81210).
4. Dispense into well no. 1 of each device:

SAMPLE	100 µl/device
CALIBRATOR	100 µl/device
POSITIVE CONTROL	100 µl/device

At each batch change use one device for the calibrator.

5. Place the devices on the CHORUS TRIO instrument. Perform the calibration (if required) and the test as indicated in the User Manual of the instrument.

9. TEST VALIDATION

Use the positive control to verify the correctness of the result obtained, processing it as indicated in the User Manual of the instrument. If the instrument indicates that the positive control has a value outside the acceptability limit, the calibration must be performed again. Previous results will be corrected automatically.

If the positive control result continues to be outside the acceptability range, contact Scientific Support.

Phone: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF RESULTS

The Chorus TRIO instrument provides the result in pg/ml calculated on the basis of a batch-dependent graph stored in the instrument.

11. LIMITATIONS

All values obtained require a careful interpretation without ever disregarding other indicators relating to the same patient. In fact, the test cannot be used on its own for a clinical diagnosis and the result obtained must always be evaluated together with data from the patient's medical history and/or from other diagnostic investigations.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 150.0-2000.0 pg/ml.

For samples >2000.0 pg/ml, repeat the test diluting the sample with Vit B12 Sample Diluent/Negative Control provided with the kit. It is advisable to make 1:5 and 1:10 dilutions of the off-scale samples; then proceed with extraction of the samples before analysis.

13. REFERENCE RANGE

120 samples (56 men, 64 women) from an apparently healthy population between the ages of 21 and 89 years were analysed. Pregnant women were excluded.

The reference range of the Chorus VIT B12 kit is 237.5 - 764.8 pg/ml.

These values should only be used as guidelines.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to their patient population and, if necessary, determine its own reference range.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples with increasing concentration of vitamin B12 were tested to which the following interferents were added:

Bilirubin (4.5 - 45 mg/dl)
Triglycerides (250 - 1500 mg/dl)
Haemoglobin (2.5 - 10 mg/ml)
Rheumatoid factor (44 - 220 IU/ml)

The presence of the above listed interfering substances in the serum under examination does not alter the test result, with the exception of haemoglobin.

1 sample with vitamin B12 concentration in the normal range was tested to which increasing concentrations of Biotin (0.5 - 1000.0 ng/ml) were added.

The presence of Biotin in the serum under examination does not alter the test result at concentrations up to 35 ng/ml. Higher Biotin concentrations determine incorrect results.

15. COMPARISON STUDIES

In one trial, 167 samples were analysed with a Diesse kit and another commercially available kit: the correlation data are summarized in the following table:

Correlation	R	95% CI
Pearson	0.96	0.94-0.97
Spearman	0.89	0.85-0.92

Pearson and Spearman's correlation coefficients respectively fall within the very high and high correlation ranges.

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within the session		Between sessions	
	Mean (pg/ml)	CV%	Mean (pg/ml)	CV%
1	1876.2	3.1	1681.8	13.1
2	912.8	1.8	872.9	0.8
3	540.0	2.6	480.5	4.4
4	405.2	1.6	457.1	1.2
5	308.8	4.5	349.3	6.7
6	254.0	2.2	216.1	11.3

Sample	Between batches		Between instruments	
	Mean (pg/ml)	CV%	Mean (pg/ml)	CV%
1	1758.1	3.5	1752.0	12.3
2	908.9	8.1	840.0	13.0
3	484.5	3.0	540.9	10.4
4	473.5	12.2	485.8	8.4
5	365.3	10.8	336.2	11.8
6	204.4	13.9	216.6	11.3

17. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated using 3 samples with known concentrations of vitamin B12. Serial dilutions were made for each sample, which demonstrated the linearity of the 150.0-2000.0 pg/ml method.

18. ACCURACY

The accuracy of the test was evaluated by measuring the International Standard Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (NIBSC code 03/178). Two kit batches were tested on one instrument. The mean recovery with respect to the expected standard value (480 pg/ml) is 111%.

19. BIBLIOGRAPHY

1. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. N Engl J Med 2013;368:149-160.
2. Allen LH. Vitamin B-12. Adv Nutr 2012;3(1):54-55.
3. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009;89(2):693S-696S. Epub 2008 Dec 30.
4. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency -an update. Haematologica 2006;91(11):1506-1512.



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS VIT B12

Pro kvantitativní stanovení vitamínu B12 v lidském séru

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

CHORUS VIT B12 je imunologická souprava pro automatické kvantitativní stanovení vitamínu B12.

Test se provádí na lidském séru pomocí jednorázového nástroje aplikovaného na zařízení CHORUS TRIO.

Souprava určená ke sledování hladiny vitamínu B12 je pomůckou při diagnostice nedostatku vitamínu B12.

Musí být používán výhradně odborným laboratorním personálem.

2. ÚVOD

Vitamin B12 je jedním z devíti vitaminů rozpustných ve vodě, který se u lidí podílí na tvorbě červených krvinek a myelinových pochv kolem nervů. Vitamin B12 se v lidském těle nesyntetizuje; hlavním zdrojem jeho vstřebávání je maso, ryby, vejce a mléčné výrobky. Vstřebávání v gastrointestinálním traktu závisí na vnitřním faktoru, na který se vitamin váže, aby se udržel ve stabilním tvaru. Nejčastější příčinou závažného nedostatku vitamínu B12 je nedostatek vnitřního faktoru v důsledku autoimunitní atrofické gastritidy. Toto onemocnění je historicky označováno jako „perniciózní anémie“, i když u mnoha pacientů se projevuje především neurologickými příznaky. Dalšími příčinami nedostatku vitamínu B12 jsou poruchy vstřebávání v důsledku gastrektomie, zánětlivého onemocnění střev nebo nutričního deficitu. Většinou se prevalence zvyšuje s věkem v důsledku zhoršení vstřebávání v gastrointestinálním traktu. Příznaky nedostatku vitamínu B12 mohou být velmi nevýrazné a jeho nedostatek se může projevit i po měsících nebo letech. Stanovení diagnózy je nezbytné vzhledem k latentní povaze této poruchy a riziku trvalého neurologického poškození. Obecně platí, že primárním testem k potvrzení diagnózy nedostatku vitamínu B12 je měření hladiny vitamínu B12 v séru. Kromě toho by měly být hodnoceny i další biomarkery, jako je folát, kyselina metilmalonová (MMA), homocystein a holotranskobalamin.

3. PRINCIP METODY

Nástroj CHORUS VIT B12 je připraven k použití pro stanovení vitamínu B12 v lidském séru, v zařízení Chorus TRIO.

Test je založen na metodě kompetitivního testu ELISA.

Mikrotitrační jamky jsou potaženy streptavidinem. Kalibrátor, pozitivní kontrola a vzorky se vloží do nástroje. Vzorek a biotinylovaná protilátka anti-B12 se vloží na destičku a během počáteční inkubace se vytvoří imunokomplex mezi vitamínem B12 případně přítomným v séru a biotinylovanou protilátkou anti-B12, která je následně schopna se vázat na streptavidin imobilizovaný na pevné fázi.

Po krátké inkubaci se přidá konjugát (obsahující vitamin B12 značený peroxidázou) (tato prodleva zvyšuje citlivost u vzorků s nízkou koncentrací). Konjugát kompetuje s vitamínem B12 přítomným v testovaném séru o vazebná místa pro protilátku anti-B12. Po promytí, aby se odstranila přebytečná nenavázaná činidla, se přidá substrát pro peroxidázu. Enzymatická reakce se zastaví přidáním zastavovacího roztoku, který roztok zbarví do žluta. Barva, která se vytvoří, je nepřímo úměrná množství vitamínu B12 ve vzorku pacienta.

Jednorázové nástroje obsahují všechny reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny v pg/ml.

4. VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a sledovány negativními na přítomnost HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že nejsou přítomna infekční činidla, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při manipulaci s materiálem lidského původu dodržujte veškerá preventivní opatření, která jsou běžně přijata v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat je v souladu s platnými zákony.

Informace o zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
5. Neutralizované kyseliny a jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro zajištění účinné dezinfekce může být vyžadováno 30minutové vystavení 1% chlornanu sodnému.
6. Případný rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Pokud je v rozlité látce kyselina, kontaminovanou oblast před použitím chlornanu sodného osušte. Všechny materiály použité k čištění případných potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevkládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30 °C) alespoň po dobu 30 minut a použijte je do 60 minut.

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost reagensů v nástroji a neporušenost samotného nástroje; nepoužívejte nástroje, v nichž při vizuální kontrole chybí nějaké reagenty a/nebo vykazují cizí tělesa v reakční jamce.
4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku zařízení.

Použití soupravy je možné pouze s CHORUS TRIO s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný na zařízení má verzi (Rel.) odpovídající nebo novější než tu, která je uvedena v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

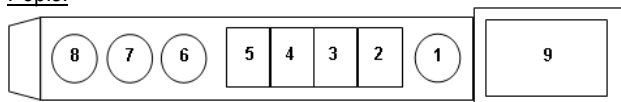
5. Zkontrolujte, zda je zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměřte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním.
8. Případné defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz uživatelská příručka).
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků vykazujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
11. Nepoužívejte nástroj po uplynutí data spotřeby.
12. **Zkontrolujte, zda je zařízení připojeno k Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení.

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích

Popis:



Pozice 9: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 8: Prázdná

Pozice 7: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažena streptavidinem

Pozice 6: Prázdná

Pozice 5: BIOTINYLOVANÝ VITAMIN B12

Složení: biotinylované protilátky anti-B12 stabilizované v pufru a konzervační látce.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin a peroxid vodíku stabilizovaný puftrem.

Pozice 3: ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

Pozice 2: KONJUGÁT VIT B12

Obsah: Puftrem stabilizovaný vitamin B12 značený peroxidázou.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

kamž se přenáší vzorek.

Použití: nechte stabilizovat jedno balení při pokojové teplotě, poté jej otevřete a vyjměte potřebné nástroje; ostatní vraťte do balení se siliciovým gelem, vypusťte vzduch a balení znovu neprodyšně **uzavřete** stisknutím uzávěru. Skladujte při teplotě 2-8 °C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0,450 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující vitamin B12 a konzervační látku.

Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0,650 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující vitamin B12 a konzervační látku.

Tekutina připravená k použití.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

SAMPLE DILUENT/NEGATIVNÍ KONTROLA 1 x 1,100 ml

Obsah: Lidské sérum neobsahující vitamin B12 a konzervační látku.

Tekutina připravená k použití.

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Zařízení Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Vortex
- Mikropipety pro přesný odběr objemů 50–200 µl
- Jednorázové rukavice
- Roztok chlornanu sodného (5%)
- Nádoby na potenciálně infekční materiál

6. ZPŮSOB SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagenty je nutné skladovat při teplotě 2/8 °C. Při nesprávné teplotě skladování je nutné opětovně provést kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz kapitola 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Reagenty mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
SAMPLE DIL/NEG CTRL	8 týdnů při teplotě 2/8 °C

7. ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum získané z krve odebrané běžnou venepunkcí, s nímž je nakládáno za dodržení bezpečnostních opatření vyžadovaných standardními laboratorními postupy.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 5 dnů při teplotě 2/8 °C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu ≤ -20 °C. Vzorek je možné rozmrazit maximálně třikrát. Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním. Rozmražený vzorek je nutné před použitím pečlivě protřepat. Extrahovaný vzorek lze použít, pokud je udržován při teplotě 4 °C, do 8 hodin po extrakci.

Důrazně se doporučuje vyvarovat se jakéhokoli intenzivního zpracování vzorků.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

Test CHORUS VIT B12 (REF. 86400) lze provádět současně POUZE s ostatními testy CHORUS PROMONITOR.

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte množství nástrojů požadované pro testy a poté, co z balení vytlačíte vzduch, je opět uzavřete.
2. Vizuálně zkontrolujte stav nástroje podle pokynů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Připravte vzorky, kalibrátor, pozitivní kontrolu a negativní kontrolu (je-li to nutné) pomocí výrobku CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) podle extrakčního protokolu uvedeného v příslušném návodu k použití. Předzpracování nelze provádět v zařízení CHORUS AUTOSAMPLER (REF 81210).
4. Do jamky č. 1 každého nástroje nadávkujte:

VZOREK	100 µl/nástroj
KALIBRÁTOR	100 µl/nástroj
POZITIVNÍ KONTROLA	100 µl/nástroj

Při každé změně šarže použijte nástroj pro kalibrátor.

5. Umístěte nástroje do zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle uživatelské příručky zařízení.

9. VALIDACE TESTU

Pomocí pozitivní kontroly ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v uživatelské příručce zařízení. Pokud zařízení hlásí, že pozitivní kontrola vykazuje hodnotu mimo přijatelné rozmezí, je zapotřebí znovu provést kalibraci. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek pozitivní kontroly i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte prosím oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v pg/ml, vypočítané na základě grafu podle šarží, který je uložen v paměti zařízení.

11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samostatně. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a/nebo jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 150,0-2000,0 pg/ml.

U vzorků > 2000,0 pg/ml zopakujte test zředěním vzorku pomocí Vit B12 Sample Diluent/Negative Control dodávaným se soupravou. Doporučuje se provést ředění vzorků v poměru 1:5 a 1:10 mimo rozsah; poté proveďte extrakci vzorků před analýzou.

13. REFERENČNÍ ROZSAH

Bylo analyzováno 120 vzorků (56 mužů, 64 žen) patřících do zjevně zdravé populace ve věku od 21 do 89 let. Těhotné ženy byly vyloučeny.

Referenční rozsah soupravy Chorus VIT B12 je 237,5 – 764,8 pg/ml.

Tyto hodnoty by měly být použity pouze jako vodítko.

Každá laboratoř by měla studovat přenositelnost očekávaných hodnot na vlastní populaci pacientů a v případě potřeby stanovit vlastní referenční rozmezí.

14. ANALYTICKÁ SPECIFITA

Byly testovány 3 vzorky s rostoucí koncentrací vitamínu B12, k nimž byly přidány následující interferenční látky:

Bilirubin (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglyceridy (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hemoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)
Revmatoidní faktor (44IU/ml - 220IU/ml)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu, s výjimkou hemoglobinu.

Byl testován 1 vzorek s koncentrací vitamínu B12 v normálním rozmezí, k němuž byly přidány zvyšující se koncentrace biotinu (0,5 ng/ml – 1000,0 ng/ml).

Přítomnost biotinu v testovaném séru nemění výsledek testu pro koncentrace do 35 ng/ml. Vyšší koncentrace biotinu vedou k nesprávným výsledkům.

15. SROVNÁNÍ METOD

V experimentální studii bylo analyzováno 167 vzorků pomocí soupravy Diesse a dalšího komerčního testu: korelační údaje jsou shrnuty v následující tabulce:

Korelace	R	IC 95%
Pearson	0,96	0,94-0,97
Spearman	0,89	0,85-0,92

Pearsonův a Spearmanův korelační koeficient se pohybují v rozmezí velmi vysoké a vysoké korelace.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (pg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (pg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	1876,2	3,1	1681,8	13,1
2	912,8	1,8	872,9	0,8
3	540,0	2,6	480,5	4,4
4	405,2	1,6	457,1	1,2
5	308,8	4,5	349,3	6,7
6	254,0	2,2	216,1	11,3

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (pg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (pg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	1758,1	3,5	1752,0	12,3
2	908,9	8,1	840,0	13,0
3	484,5	3,0	540,9	10,4
4	473,5	12,2	485,8	8,4
5	365,3	10,8	336,2	11,8
6	204,4	13,9	216,6	11,3

17. LINEARITA

Linearita testu byla hodnocena pomocí 3 vzorků se známými koncentracemi vitamínu B12. Pro každý vzorek byla provedena sériová ředění, která prokázala linearitu metody od 150,0 do 2000,0 pg/ml.

18. PŘESNOST

Přesnost testu byla hodnocena měřením mezinárodního standardu Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (kód NIBSC 03/178). Dvě šarže soupravy byly testovány na jednom zařízení. Průměrná výtěžnost ve srovnání s očekávanou hodnotou standardu (480 pg/ml) je 111 %.

19. BIBLIOGRAFIE

1. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. N Engl J Med 2013;368:149-160.
2. Allen LH. Vitamin B-12. Adv Nutr 2012;3(1):54-55.
3. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009;89(2):693S-696S. Epub 2008 Dec 30.
4. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency -an update. Haematologica 2006;91(11):1506-1512.



GEBRAUCHSANWEISUNG

CHORUS VIT B12

Für die quantitative Bestimmung von Vitamin B12 in Humanserum

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

CHORUS VIT B12 ist ein immunologisches Kit zur automatisierten quantitativen Bestimmung von Vitamin B12.

Der Test wird an Humanserum mithilfe eines Einweg-Testmoduls durchgeführt, das in Kombination mit dem Laboranalysator CHORUS TRIO verwendet wird.

Das Kit zur Überwachung des Vitamin B12-Spiegels dient der Diagnose eines Vitamin B12-Mangels.

Das Produkt darf ausschließlich von fachlich qualifiziertem Laborpersonal verwendet werden.

2. EINLEITUNG

Vitamin B12 gehört zu den neun wasserlöslichen Vitaminen, die beim Menschen bei der Bildung von roten Blutkörperchen und Myelinscheiden rund um die Nerven auftreten. Vitamin B12 kann nicht im menschlichen Körper synthetisiert werden; die wichtigsten Absorptionsquellen sind Fleisch, Fisch, Eier und Milchprodukte. Die Resorption im Magen-Darm-Trakt hängt von dem intrinsischen Faktor ab, an den sich das Vitamin bindet, um sich stabil zu halten. Die häufigste Ursache für ein Vitamin-B12-Mangel ist der Mangel an intrinsischen Faktoren durch die atrophische Autoimmungastritis. Die Krankheit wird historisch als „perniziöse Anämie“ bezeichnet, obwohl viele Patienten hauptsächlich neurologische Manifestationen aufweisen. Andere Ursachen für Vitamin B12-Mangel sind Malabsorption aufgrund von Gastrektomie, entzündlichen Darmerkrankungen oder Nährstoffmangel. Im Allgemeinen steigt die Prävalenz mit zunehmendem Alter aufgrund einer Verschlechterung der Resorption im Magen-Darm-Trakt. Die Symptome eines Vitamin-B12-Mangels können sehr unterschiedlich sein, und der Mangel kann auch nach Monaten oder Jahren auftreten. Die Diagnose ist aufgrund der latenten Natur dieser Störung und des Risikos einer dauerhaften neurologischen Schädigung von wesentlicher Bedeutung. Im Allgemeinen ist der primäre Test zur Bestätigung der Diagnose des Vitamin B12-Mangels die Messung des Vitamin B12-Spiegels im Serum. Zusätzlich sollten auch andere Biomarker wie Folat, Methylmalonsäure (MMA), Homocystein und Holotranscobalamin bewertet werden.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul CHORUS VIT B12 ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Vitamin B12 in Humanserum im Laboranalysator CHORUS TRIO.

Der Test basiert auf dem Prinzip des kompetitiven ELISA-Verfahrens.

Die Vertiefungen der Mikrotiterplatten sind mit Streptavidin beschichtet. Kalibrator, positive Kontrolle und Proben werden dem Testmodul hinzugefügt. Die Probe und der biotinylierte Antikörper gegen B12 werden in die Platte gegeben, und während einer ersten Inkubation erfolgt die Bildung eines Immunkomplexes zwischen Vitamin B12, das im Serum vorhanden ist, und dem biotinylierten Anti-B12-Antikörper,

der sich wiederum an Streptavidin, das auf der Festphase immobilisiert ist, binden kann.

Nach einer kurzen Inkubation wird das Konjugat (das mit Peroxidase markiertes Vitamin B12 enthält) hinzugefügt (diese Verzögerung gestattet die Erhöhung der Empfindlichkeit für Proben mit niedriger Konzentration). Das Konjugat konkurriert mit dem im untersuchten Serum enthaltenen Vitamin B12 um die Vitamin B12-Antikörperbindungsstellen. Nach dem Waschen wird Substrat für die Peroxidase zugegeben, um überschüssige nicht gebundene Reagenzien zu entfernen. Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe der Stopplösung, wodurch die Lösung gelb wird, gestoppt. Die sich entwickelnde Farbe ist umgekehrt proportional zur Menge des in der Patientenprobe vorhandenen Vitamin B12.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den CHORUS TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als pg/ml.

4. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK BESTIMMT

Dieser Testsatz enthält Materialien menschlichen Ursprungs, die auf das Vorhandensein von HbsAg und Antikörpern gegen HIV-1, HIV-2 und HCV getestet wurden und eine negative Reaktion zeigten. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Befolgen Sie alle Vorsichtsmaßnahmen, die normalerweise in der Laborpraxis beim Umgang mit Materialien menschlichen Ursprungs getroffen werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Serumproben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Gesundheits- und Sicherheitsinformationen

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte das Sicherheitsdatenblatt (auf Anfrage erhältlich).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Zur Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion kann eine 30-minütige Exposition gegenüber 1 % Natriumhypochlorit erforderlich sein.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn Säure in der verschütteten Flüssigkeit enthalten ist, wischen Sie den verschmutzten Bereich ab, bevor Sie Natriumhypochlorit verwenden. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Bringen Sie die zu verwendenden Testmodule vor Gebrauch mindestens 30 Minuten lang auf Raumtemperatur (18–30 °C) und verwenden Sie sie innerhalb von 60 Minuten.

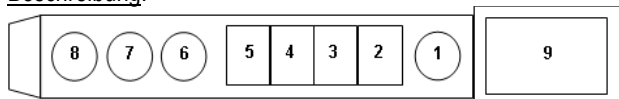
1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren Sie, ob die Reagenzien im Testmodul enthalten sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanweisung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
Die Nutzung des Testsatzes ist nur mit CHORUS TRIO und einer aktualisierten Softwareversion möglich. Stellen Sie sicher, dass es sich bei der auf dem Laboranalysator installierten Software um die in der Tabelle auf der Diesse-Website veröffentlichte oder eine höhere Version (Rel.) handelt
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollieren Sie, ob der Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Eventuelle unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Die Verwendung von stark hämolytierten, lipämischen, ikterischen Proben, von unvollständig koagulierte Serum oder Proben mit mikrobieller Kontamination kann eine Fehlerquelle darstellen.
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
12. Prüfen Sie, ob der Laboranalysator an den Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004) angeschlossen ist.

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Das Testkit reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 9: Platz für Strichcode-Etikett

Position 8: Leer

Position 7: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Mit Streptavidin beschichtet

Position 6: Leer

Position 5: VITAMIN B12 BIOTINYLIERT

Inhalt: biotinylierte Antivitamin-B12-Antikörper, in Puffer stabilisiert und Konservierungsmittel.

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin und in Puffer stabilisierter Wasserstoffperoxid.

Position 3: STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

Position 2: KONJUGAT VIT B12

Inhalt: Mit Peroxidase markiertes, in Puffer stabilisiertes Vitamin B12.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

für die Probe.

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurücklegen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss **versiegeln**. Bei 2–8 °C aufbewahren.

CALIBRATOR

1 x 0,450 ml

Inhalt: Humanserum mit Vitamin B12 und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE

1 x 0,650 ml

Inhalt: Humanserum mit Vitamin B12 und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

PROBENVERDÜNNUNGSMEDIUM/NEGATIVE KONTROLLE

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE KONTROLLE 1 x 1,100 ml

Inhalt: Humanserum ohne Vitamin B12 und Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Vortex-Mischer
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- Natriumhypochlorit-Lösung (5 %)
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe des Kontrollserums überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Etikett des Testsatzes.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2–8 °C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2–8 °C
SAMPLE DIL/NEG CTRL	8 Wochen bei 2–8 °C

7. SAMMLUNG UND LAGERUNG VON PROBEN

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und mit den für Standardlaborverfahren vorgeschriebenen Vorsichtsmaßnahmen behandelt wird.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Das frische Serum kann bei 2/8 °C fünf Tage lang aufbewahrt werden;

für längere Aufbewahrungszeiträume ist sie bei ≤ -20 °C einzufrieren.

Die Probe darf maximal dreimal aufgetaut werden. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

Die extrahierte Probe kann, wenn sie bei 4 °C gehalten wird, innerhalb von 8 Stunden nach der Extraktion verwendet werden.

Es wird dringend empfohlen, eine intensive Bearbeitung der Proben zu vermeiden.

Eine Mikrobenkontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinträchtigen und zu falschen Ergebnissen führen.

8. VORGEHENSWEISE

Der CHORUS VIT B12 Test (REF. 86400) kann gleichzeitig NUR mit den CHORUS PROMONITOR Tests durchgeführt werden.

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. Proben, Kalibrator, positive und negative Kontrolle (falls erforderlich) vorbereiten, wobei das Produkt CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) unter Befolgung des Extraktionsprotokolls in der jeweiligen Gebrauchsanweisung zu verwenden ist. Die Vorbehandlung darf nicht im CHORUS AUTOSAMPLER Laboranalysator (REF 81210) durchgeführt werden.
4. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls geben:

PROBE	100 µl/Testmodul
KALIBRATOR	100 µl/Testmodul
POSITIVE KONTROLLE	100 µl/Testmodul

Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.

5. Die Testmodule in den CHORUS TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDIERUNG

Zur Überprüfung der Richtigkeit der Testergebnisse die positive Kontrolle verwenden. Sie wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die positive Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis der positiven Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
E-Mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis in pg/ml, die aufgrund einer vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Grafik berechnet werden.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind. Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 150,0-2000,0 pg/ml.

Bei Proben > 2000,0 pg/ml den Test wiederholen, indem die Probe mit dem im Kit enthaltenen Vit B12 Sample Diluent/ Negative Control verdünnt wird. Es empfiehlt sich, die außerhalb des Anzeigebereiches liegenden Proben im Verhältnis 1:5 und 1:10 zu verdünnen und die Proben vor der Analyse zu entnehmen.

13. REFERENZBEREICH

Es wurden 120 Proben (56 Männer, 64 Frauen) der offenbar gesunden Bevölkerung im Alter von 21 bis 89 Jahren analysiert. Schwangere Frauen wurden ausgeschlossen.

Der Referenzbereich des Chorus VIT B12-Testsatzes beträgt 237,5 - 764,8 pg/ml.

Diese Werte sollten nur als Leitlinien verwendet werden.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der erwarteten Werte auf die eigene Patientenpopulation untersuchen und gegebenenfalls das Referenzintervall bestimmen.

14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 3 Proben mit ansteigenden Konzentrationen von Vitamin B12 getestet, denen folgende Störsubstanzen beigefügt wurden:

Bilirubin (4.5 mg/dl–45 mg/dl)
Triglyceride (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hämoglobin (2,5 mg/ml–10 mg/ml)
Rheumafaktor (44IU/ml–220IU/ml)

Die Präsenz der oben genannten Störsubstanzen im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis, mit Ausnahme von Hämoglobin.

Es wurde 1 Probe mit Vitamin B12-Konzentration im Normalbereich getestet, der ansteigende Biotin-Konzentrationen (0,5 ng/ml - 1000,0 ng/ml) zugesetzt wurden. Die Präsenz von Biotin im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis in Konzentrationen bis zu 35 ng/ml. Höhere Biotin-Konzentrationen führen zu fehlerhaften Ergebnissen.

15. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 167 Proben mit dem Testsatz von Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert: Die Korrelationsdaten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Korrelation	R	95 % KI
Pearson	0,96	0,94-0,97
Spearman	0,89	0,85-0,92

Die Korrelationskoeffizienten von Pearson und Spearman liegen jeweils im sehr hohen und hohen Korrelationsbereich.

16. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (pg/ml)	CV %	Mittelwert (pg/ml)	CV %
1	1876,2	3,1	1681,8	13,1
2	912,8	1,8	872,9	0,8
3	540,0	2,6	480,5	4,4
4	405,2	1,6	457,1	1,2
5	308,8	4,5	349,3	6,7
6	254,0	2,2	216,1	11,3

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mean (pg/ml)	CV %	Mean (pg/ml)	CV %
1	1758,1	3,5	1752,0	12,3
2	908,9	8,1	840,0	13,0
3	484,5	3,0	540,9	10,4
4	473,5	12,2	485,8	8,4
5	365,3	10,8	336,2	11,8
6	204,4	13,9	216,6	11,3

17. LINEARITÄT

Die Linearität des Assays wurde unter Verwendung von 3 Proben mit bekannten Konzentrationen von Vitamin B12 bewertet. Für jede Probe wurden Verdünnungsreihen angefertigt, mit denen die Linearität der Methode von 150,0-2000,0 pg/ml nachgewiesen wurde.

18. GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit des Tests wurde durch Messung des Internationalen Standards Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (Code NIBSC 03/178) bewertet. Zwei Chargen des Kits wurden an einem Gerät getestet. Der Mittelwert der Wiederfindungsrate im Verhältnis zum erwarteten Wert des Standards (480 pg/ml) beträgt 111%.

19. LITERATUR

1. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. N Engl J Med 2013;368:149-160.
2. Allen LH. Vitamin B-12. Adv Nutr 2012;3(1):54-55.
3. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009;89(2):693S-696S. Epub 2008 Dec 30.
4. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency -an update. Haematologica 2006;91(11):1506-1512.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS VIT B12

Para la determinación cuantitativa de vitamina B12 en suero humano

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

CHORUS VIT B12 es un kit inmunológico para la determinación cuantitativa automatizada de vitamina B12. La prueba se realiza en suero humano, utilizando un dispositivo desechable aplicado al equipo CHORUS TRIO. El kit, destinado a controlar el nivel de vitamina B12, es una ayuda en el diagnóstico de la deficiencia de vitamina B12.

Es para uso exclusivo de personal profesional de laboratorio.

2. INTRODUCCIÓN

La vitamina B12 es una de las nueve vitaminas hidrosolubles, que interviene en el ser humano en la formación de los glóbulos rojos y de las vainas de mielina alrededor de los nervios. La vitamina B12 no se puede sintetizar en el cuerpo humano; las principales fuentes de absorción son la carne, el pescado, los huevos y los productos lácteos. La absorción en el tracto gastrointestinal depende del factor intrínseco, al que se une la vitamina para mantenerse en una forma estable. La causa más frecuente de deficiencia grave de vitamina B12 es la falta de factor intrínseco por gastritis atrófica autoinmune. La enfermedad se denomina históricamente «anemia perniciosa», aunque muchos pacientes presentan principalmente manifestaciones neurológicas. Otras causas de deficiencia de vitamina B12 son la malabsorción debida a gastrectomía, enfermedad inflamatoria intestinal o deficiencia dietética. En general, la prevalencia aumenta con la edad, debido a un empeoramiento de la absorción en el tracto gastrointestinal. Los síntomas de deficiencia de vitamina B12 pueden ser muy ambiguos y tardar incluso meses o años en manifestarse. El diagnóstico es fundamental, dada la naturaleza latente de este trastorno y el riesgo de daño neurológico permanente. Por lo general, la prueba principal para confirmar el diagnóstico de deficiencia de vitamina B12 es la medición de la concentración sérica de vitamina B12. Además, se deberían evaluar otros biomarcadores como el folato, el ácido metilmalónico (MMA), la homocisteína y la holotranscobalamina.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo CHORUS VIT B12 está listo para su uso para la determinación de vitamina B12 en suero humano, en el equipo CHORUS TRIO.

La prueba se basa en un método de ELISA competitivo.

Los pocillos de las microplacas están recubiertos con estreptavidina. El calibrador, el control positivo y las muestras se añaden a un dispositivo. La muestra y el anticuerpo anti-B12 biotinilado se añaden a la placa y, durante una primera incubación, se forma un inmunocomplejo entre la vitamina B12 presente en el suero y el anticuerpo anti-B12 biotinilado, que a

su vez es capaz de unirse a la estreptavidina inmovilizada en la fase sólida.

Después de una breve incubación, se agrega el conjugado (que contiene vitamina B12 marcada con peroxidasa); este retraso permite aumentar la sensibilidad para muestras de baja concentración. El conjugado compete con la vitamina B12 presente en el suero analizado por los sitios de unión al anticuerpo anti-B12. Tras el lavado para eliminar el exceso de reactivos que no se han unido, se añade el sustrato para peroxidasa. La reacción enzimática se detiene añadiendo la solución inhibidora, que hace que la solución adquiera un color amarillo. El color que aparece es inversamente proporcional a la cantidad de vitamina B12 presente en la muestra del paciente.

Los productos de un solo uso contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con el equipo Chorus TRIO.

Los resultados se expresan en pg/ml.

4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

SOLO PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado una respuesta negativa a la presencia de HbsAg y de anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Al manipular material de origen humano se deben seguir todas las precauciones dictadas por las buenas prácticas de laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y se deben desechar conforme a lo establecido en la legislación vigente.

Información sobre salud y seguridad

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo Chorus TRIO.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de Seguridad (disponible a solicitud).
5. Para desinfectar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Para garantizar una desinfección eficaz podría ser necesaria una exposición de 30 minutos a hipoclorito de sodio al 1%.
6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si el material derramado contiene un ácido, secar el área contaminada antes de usar el hipoclorito de sodio. Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos. No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar los dispositivos que se vayan a utilizar a temperatura ambiente (18-30 °C) durante al menos 30 minutos y utilizarlos en los 60 minutos siguientes.

1. **Descartar los dispositivos con substrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de algún reactivo o la presencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción cuando se inspeccionan visualmente.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.

El kit solo se puede utilizar con CHORUS TRIO con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión (Rel.) del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que se puede consultar en el sitio web de Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

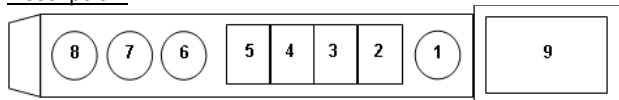
5. Comprobar que el equipo Chorus TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo correctamente.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el equipo esté conectado al Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



Posición 9: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 8: Vacía

Posición 7: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con estreptavidina

Posición 6: Vacía

Posición 5: VITAMINA B12 BIOTINILADA

Contenido: anticuerpos anti-vitamina B12 biotinilados, estabilizados en tampón y conservante.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno estabilizado en tampón.

Posición 3: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0,3 M

Posición 2: CONJUGADO VIT B12

Contenido: Vitamina B12 marcada con peroxidasa estabilizada en tampón.

Posición 1: POCILLO VACÍO

donde se debe transferir la muestra.

Uso: dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente, abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0,450 ml

Contenido: Suero humano que contiene vitamina B12 y conservante.

Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0,650 ml

Contenido: Suero humano que contiene vitamina B12 y conservante.

Líquido, listo para su uso.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

SAMPLE DILUENT/CONTROL NEGATIVO 1 x 1,100 ml

Contenido: Suero humano que no contiene vitamina B12 y conservante.

Líquido, listo para su uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF.** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF.** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF.** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF.** 83604
- Equipo Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Vórtex
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5 %)
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado es correcto mediante el suero de control (ver el capítulo 9: Validación de la prueba).

La fecha de caducidad está impresa en cada componente y en la etiqueta del kit.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada una vez que se abren:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C
CONTROL POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C
SAMPLE DIL/NEG CTRL	8 semanas a 2/8 °C

7. RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

La muestra consiste en suero obtenido de sangre extraída de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por los procedimientos estándar de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8 °C durante 5 días; para conservaciones más largas, congelar a ≤-20 °C.

La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

La muestra extraída se puede utilizar, si se mantiene a 4 °C, dentro de las 8 horas siguientes a la extracción.

Se recomienda encarecidamente evitar cualquier procesamiento agresivo de las muestras.

La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

El test CHORUS VIT B12 (REF. 86400) se puede realizar simultáneamente SOLO con otras pruebas CHORUS PROMONITOR.

1. Abrir la bolsa (lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
3. Preparar las muestras, el calibrador, el control positivo y el control negativo (cuando sea necesario) utilizando el producto CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF. 86500), siguiendo el protocolo de extracción que se indica en las instrucciones de uso correspondientes.
El pretratamiento no se puede realizar en el equipo CHORUS AUTOSAMPLER (REF. 81210).
4. Dispensar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo:

MUESTRA	100 µl/dispositivo
CALIBRADOR	100 µl/dispositivo
CONTROL POSITIVO	100 µl/dispositivo

Utilizar un dispositivo para el calibrador cada vez que se cambie de lote.

5. Introducir los dispositivos en el equipo CHORUS TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual del Usuario del equipo

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el control positivo para verificar la validez de los resultados obtenidos, procesándolo según las indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el control positivo tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario repetir la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo CHORUS TRIO calcula el resultado en función de un gráfico por lotes guardado en su memoria y proporciona el resultado en pg/ml.

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos deben interpretarse con atención, sin prescindir de otros indicadores del mismo paciente. Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración: 150,0-2000,0 pg/ml.

Para muestras >2000,0 pg/ml, repetir la prueba diluyendo la muestra con Vit B12 Sample Diluent/Negative Control incluido en el kit. Se recomienda hacer diluciones 1:5 y 1:10 de las muestras fuera de escala; luego proceder con la extracción de las muestras antes del análisis.

13. RANGO DE REFERENCIA

Se analizaron 120 muestras (56 hombres, 64 mujeres), pertenecientes a una población aparentemente sana, con edades comprendidas entre 21 y 89 años. Se excluyeron las mujeres embarazadas.

El rango de referencia del kit Chorus VIT B12 es de 237,5 – 764,8 pg/ml.

Estos valores se deben usar solo como orientación.

Cada laboratorio debe evaluar la transferibilidad de los valores esperados a su población de pacientes y, si es necesario, calcular sus propios valores de referencia.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 3 muestras de concentración creciente de vitamina B12 a las que se añadieron los siguientes interferentes:

Bilirrubina (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglicéridos (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hemoglobina (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)
Factor reumatoide (44 UI/ml – 220 UI/ml)

La presencia de las mencionadas sustancias interferentes en el suero analizado no altera el resultado de la prueba, con exclusión de la hemoglobina.

Se analizó una muestra con concentración de vitamina B12 en el rango de normalidad, a la que se añadieron concentraciones crecientes de biotina (0,5 ng/ml – 1000,0 ng/ml).

La presencia de biotina en el suero analizado no altera el resultado de la prueba para concentraciones de hasta 35 ng/ml. Las concentraciones más altas de biotina conducen a resultados erróneos.

15. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 167 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial; los datos de correlación se resumen en la tabla siguiente:

Correlación	R	IC del 95 %
Pearson	0,96	0,94-0,97
Spearman	0,89	0,85-0,92

Los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman están dentro de los rangos de correlación muy alta y alta respectivamente.

16. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media (pg/ml)	CV %	Media (pg/ml)	CV %
1	1876,2	3,1	1681,8	13,1
2	912,8	1,8	872,9	0,8
3	540,0	2,6	480,5	4,4
4	405,2	1,6	457,1	1,2
5	308,8	4,5	349,3	6,7
6	254,0	2,2	216,1	11,3

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (pg/ml)	CV %	Media (pg/ml)	CV %
1	1758,1	3,5	1752,0	12,3
2	908,9	8,1	840,0	13,0
3	484,5	3,0	540,9	10,4
4	473,5	12,2	485,8	8,4
5	365,3	10,8	336,2	11,8
6	204,4	13,9	216,6	11,3

17. LINEALIDAD

La linealidad del ensayo se evaluó utilizando 3 muestras con concentraciones conocidas de vitamina B12. Se realizaron diluciones seriadas para cada muestra, que demostraron la linealidad del método de 150,0-2000,0 pg/ml.

18. EXACTITUD

La precisión de la prueba se evaluó midiendo el estándar internacional Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (código NIBSC 03/178). Se probaron dos lotes del kit en un equipo. La recuperación media en comparación con el valor esperado del estándar (480 pg/ml) es del 111 %.

19. BIBLIOGRAFÍA

1. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. N Engl J Med 2013;368:149-160.
2. Allen LH. Vitamin B-12. Adv Nutr 2012;3(1):54-55.
3. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009;89(2):693S-696S. Epub 2008 Dec 30.
4. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency -an update. Haematologica 2006;91(11):1506-1512.



MODE D'EMPLOI

CHORUS VIT B12

Pour la détermination quantitative de la Vitamine B12 dans le sérum humain

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

CHORUS VIT B12 est un immunodosage pour la détermination quantitative automatisée de la Vitamine B12. Le test est réalisé sur du sérum humain, à l'aide d'un dispositif jetable appliqué à l'instrument CHORUS TRIO.

Le kit, destiné au monitoring du niveau de Vitamine B12, constitue une aide au diagnostic de la carence de Vitamine B12.

Il doit être utilisé exclusivement par un personnel de laboratoire professionnel.

2. INTRODUCTION

La vitamine B12 est l'une des neuf vitamines hydrosolubles ; elle joue un rôle chez l'homme dans la formation des globules rouges et des gaines de myéline qui enveloppe les nerfs. La vitamine B12 ne peut pas être synthétisée dans le corps humain ; les principales sources d'absorption sont la viande, le poisson, les œufs et les produits laitiers. L'absorption dans le tractus gastro-intestinal dépend du facteur intrinsèque auquel la vitamine se lie pour se maintenir sous une forme stable. La cause la plus fréquente de la carence sévère de vitamine B12 est le manque de facteur intrinsèque dû à la gastrite atrophique auto-immune. Cette pathologie maladie est historiquement appelée « anémie pernicieuse », bien que de nombreux patients présentent principalement des manifestations neurologiques. Les autres causes de carence en vitamine B12 sont la mauvaise absorption due à une gastrectomie, maladie inflammatoire de l'intestin, ou une carence alimentaire. D'une manière générale, la prévalence augmente avec l'âge, en raison d'une détérioration de l'absorption au niveau du tractus gastro-intestinal. Les symptômes de carence en vitamine B12 peuvent être très mal décelables et cette carence peut se manifester au bout de plusieurs mois ou plusieurs années. Le diagnostic est essentiel, en raison du caractère latent de ce trouble et du risque de liaison neurologique permanente. Généralement, le test principal effectué pour confirmer le diagnostic de carence en vitamine B12 est la mesure du taux sérique de vitamine B12. Il est par ailleurs recommandé d'évaluer d'autres bio-marqueurs tels que le folate, l'acide méthylmalonique (MMA), l'homocystéine et l'holotranscobalamine.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif CHORUS VIT B12 est prêt à l'emploi pour la détermination de la vitamine B12 dans le sérum humain, dans le dispositif Chorus TRIO.

Le test se base sur une méthode ELISA compétitive.

Les puits des microplaques sont revêtus de streptavidine. Le calibrateur, le contrôle positif et les échantillons sont ajoutés à un dispositif. L'échantillon et l'anticorps anti-B12 biotinylé sont ajoutés à la plaque et lors d'une première incubation, un complexe immun se forme entre la vitamine B12 éventuellement présente

dans le sérum et l'anticorps anti-B12 biotinylé qui est à son tour en mesure de se lier à la streptavidine immobilisée sur la phase solide.

À l'issue d'une brève incubation, le système conjugué (contenant la vitamine B12 marquée à la peroxydase) est ajouté (ce retard permet d'augmenter la sensibilité pour les échantillons à faible concentration). Le système conjugué entre en compétition avec la vitamine B12 présente dans le sérum à tester pour les sites de liaison à l'anticorps anti-B12. À l'issue du lavage pour éliminer l'excès de réactifs non liés, le substrat de peroxydase est ajouté. La réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de la solution d'arrêt, ce qui a pour effet de faire virer la solution au jaune. La couleur qui se développe est inversement proportionnelle à la quantité de vitamine B12 présente dans l'échantillon du patient.

Les dispositifs jetables contiennent tous les réactifs pour effectuer le test lorsqu'ils sont appliqués au dispositif Chorus TRIO.

Les résultats sont exprimés en pg/ml.

4. MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et qui ont fourni une réponse négative à la recherche de HBsAg et des anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostique ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme potentiellement infectée. Suivre toutes les précautions normalement adoptées dans les pratiques de laboratoire lors de la manipulation de matériel d'origine humaine.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les calibres et les bains utilisés doivent être traités comme étant des déchets infectieux et doivent être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Informations sur la santé et la sécurité

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'instrument Chorus TRIO.
4. Consulter la Fiche de sécurité (disponible sur demande) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
5. Les acides neutralisés et autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant de l'hypochlorite de sodium à un volume suffisant pour atteindre une concentration finale d'au moins 1 %. Une exposition de 30 minutes à 1 % d'hypochlorite de sodium peut être nécessaire pour assurer une désinfection efficace.
6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. Si de l'acide est présent dans le déversement, essuyer la zone souillée avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones souillées par d'éventuels déversements accidentels doit être éliminé comme déchets potentiellement infectieux. Ne pas mettre de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium en autoclave.

Précautions analytiques

Avant utilisation, porter les dispositifs à utiliser à la température ambiante (18-30 °C) pendant au moins 30 minutes et les utiliser dans les 60 minutes.

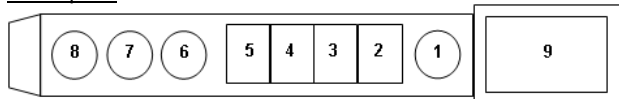
1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puits.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif ; ne pas utiliser les dispositifs dans lesquels, après contrôle visuel, un quelconque réactif serait manquant et/ou dans lesquels des corps étrangers seraient présents dans le puits de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus TRIO en suivant scrupuleusement les instructions d'utilisation et le manuel d'utilisation de l'instrument.
L'utilisation du kit n'est possible qu'avec l'instrument CHORUS TRIO avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que le logiciel installé sur l'instrument est une version (Rel.) correspondant ou postérieure à celle indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. S'assurer que l'analyseur Chorus TRIO est correctement réglé (voir le Manuel d'utilisation).
6. Ne pas modifier le code-barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Les éventuels codes-barres défectueux peuvent être saisis manuellement dans l'analyseur (voir Manuel d'utilisation).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage intense ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, lipémiques et icteriques, de sérum non complètement coagulé ou d'échantillons présentant une contamination microbienne peut constituer une source d'erreur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
12. **S'assurer que l'analyseur est connecté au Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004).**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 conditionnements de 6 dispositifs chacun

Description :



Position 9 : Emplacement disponible pour l'étiquette avec code à barres

Position 8 : Vide

Position 7 : PUIITS DE MICROPLAQUE

Revêtu de streptavidine

Position 6 : Vide

Position 5 : VITAMINE B12 BIOTINYLÉ

Contenu : anticorps anti-vitamine B12 biotinylés, stabilisés dans tampon et conservateur.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine et peroxyde d'hydrogène stabilisé dans tampon.

Position 3 : SOLUTION D'ARRÊT

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 2 : CONJUGUÉ VIT. B12

Contenu : Vitamine B12 marquée à de la peroxydase stabilisée dans tampon.

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'échantillon doit être transféré.

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires et remplacer ceux qui ne sont pas utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice ; chasser l'air et fermer **hermétiquement** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver entre 2 et 8 °C.

CALIBRATOR CALIBREUR

1 x 0,450 ml

Contenu : Sérum humain contenant vitamine B12 et conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 0,650 ml

Contenu : Sérum humain contenant vitamine B12 et conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

DILUANT D'ÉCHANTILLON/CONTRÔLE NÉGATIF 1 x 1,100 ml

Contenu : Sérum humain sans vitamine B12 ni conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **RÉF.** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **RÉF.** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **RÉF.** 83609
- SANITIZING SOLUTION **RÉF.** 83604
- Instrument Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre standard : cylindres, éprouvettes, etc.
- Vortex
- Micropipettes en mesure de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants jetables
- Solution d'hypochlorite de sodium (5 %)
- Récipients de collecte de matières potentiellement infectées

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il est nécessaire de répéter le calibrage et de contrôler la fiabilité du résultat à l'aide de sérum de contrôle (voir chapitre 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette du kit.

Les réactifs offrent une stabilité limitée après ouverture :

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
CALIBREUR	8 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C
SAMPLE DIL/NEG CTRL	8 semaines à 2/8 °C

7. COLLECTE ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons sont des sérums préparés à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse dans le respect des précautions requises dans les procédures standards de laboratoire.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé pendant 5 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C ;

pour des périodes de conservation plus longues, congeler à des températures ≤ -20 °C.

L'échantillon peut subir jusqu'à 3 décongelations maximum.

Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongelation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

L'échantillon extrait peut être utilisé, s'il est conservé à 4 °C, dans les 8 heures suivant l'extraction.

Il est vivement recommandé d'éviter tout traitement intensif des échantillons.

La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence d'une contamination microbienne susceptible de fausser les résultats.

8. PROCÉDURE

Le test CHORUS VIT B12 (RÉF. 86400) peut UNIQUEMENT être exécuté simultanément à d'autres tests CHORUS PROMONITOR.

- Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), prélever le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet après en avoir chassé l'air.
- Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
- Préparer les échantillons, le calibre, le contrôle positif et le contrôle négatif (si nécessaire) à l'aide du produit CHORUS VITAMIN EXTRACTION (RÉF. 86500) en suivant le protocole d'extraction indiqué dans les instructions d'utilisation correspondantes.
Le prétraitement ne peut pas être effectué dans l'instrument CHORUS AUTOSAMPLER (RÉF. 81210).
- Distribuer dans le puits n°1 de chaque dispositif :

ÉCHANTILLON	100 µl / dispositif
CALIBREUR	100 µl / dispositif
CONTRÔLE POSITIF	100 µl / dispositif

Utiliser un dispositif pour le calibre à chaque changement de lot.

- Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si requis) et le test comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude des résultats obtenus, en le traitant comme indiqué dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument indique que le contrôle positif présente une valeur dépassant la limite d'acceptabilité, répéter le calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du contrôle dépasse encore les limites d'acceptabilité, contacter l'Assistance scientifique.

Tél. : 0039 0577 319554
Fax : 0039 0577 366605
adresse mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'instrument Chorus TRIO fournit le résultat en pg/ml calculés sur la base d'un graphique basé sur le lot mémorisé dans l'instrument.

11. LIMITES

Toutes les valeurs obtenues requièrent une interprétation attentive prenant en compte d'autres indicateurs relatifs au patient. En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué avec les données de l'anamnèse du patient et/ou les données d'autres investigations diagnostiques.

12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage : 150,0-2000,0 pg/ml.

Pour les échantillons > 2000,0 pg/mL, répéter le test en diluant l'échantillon avec Vit B12 Sample Diluent/Negative Control (fourni avec le kit). Il est recommandé d'effectuer des dilutions à 1:5 et 1:10 des échantillons hors échelle ; procéder ensuite à l'extraction des échantillons avant analyse.

13. PLAGE DE RÉFÉRENCE

120 échantillons (56 hommes, 64 femmes), appartenant à la population apparemment en bonne santé, d'âge compris entre 21 et 89 ans, ont été analysés. Les femmes enceintes ont été exclues.

L'intervalle de référence du kit Chorus VIT B12 est de 237,5 - 764,8 pg/ml.

Ces valeurs ne doivent être utilisées qu'à titre indicatif.

Chaque laboratoire doit étudier la transférabilité des valeurs escomptées à sa population de patients et, si nécessaire, déterminer son propre intervalle de référence.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

3 échantillons à concentration croissante de Vitamine B12 ont été testés auxquels ont été ajoutés les substances interférentes suivantes :

Bilirubine (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglycérides (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Hémoglobine (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
Facteur rhumatoïde (44 IU/ml - 220 IU/ml)

La présence des substances interférentes susmentionnées dans le sérum analysé n'altère pas le résultat du test, à l'exception de l'hémoglobine.

1 échantillon a été testé à une concentration de vitamine B12 dans la norme, à laquelle des concentrations croissantes de biotine (0,5 ng/ml - 1000,0 ng/ml) ont été ajoutées.

La présence de biotine dans le sérum d'essai ne modifie pas le résultat du test pour des concentrations allant jusqu'à 35 ng/ml. Des concentrations plus élevées de biotine entraînent des résultats erronés.

15. ÉTUDES COMPARATIVES

Au cours d'une expérimentation, 167 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et avec un autre kit commercial. Les données de corrélation figurent dans le tableau suivant :

Corrélation	R	IC 95%
Pearson	0,96	0,94-0,97
Spearman	0,89	0,85-0,92

Les coefficients de corrélation de Pearson et de Spearman se situent respectivement dans les intervalles de corrélation très élevé et élevé.

16. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Lors de la séance		Entre les séances	
	Moyenne (pg/ml)	CV %	Moyenne (pg/ml)	CV %
1	1876,2	3,1	1681,8	13,1
2	912,8	1,8	872,9	0,8
3	540,0	2,6	480,5	4,4
4	405,2	1,6	457,1	1,2
5	308,8	4,5	349,3	6,7
6	254,0	2,2	216,1	11,3

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Mean (pg/ml)	CV %	Mean (pg/ml)	CV %
1	1758,1	3,5	1752,0	12,3
2	908,9	8,1	840,0	13,0
3	484,5	3,0	540,9	10,4
4	473,5	12,2	485,8	8,4
5	365,3	10,8	336,2	11,8
6	204,4	13,9	216,6	11,3

17. LINÉARITÉ

La linéarité du test a été évaluée en utilisant 3 échantillons avec des concentrations connues de vitamine B12. Des dilutions en série ont été réalisées pour chaque échantillon, ce qui a démontré la linéarité de la méthode de 150.0-2000.0 pg/ml.

18. PRÉCISION

La précision du test a été évaluée en mesurant le standard international Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (code NIBSC 03/178). Deux lots du kit ont été testés sur un instrument. La récupération moyenne par rapport à la valeur escomptée du standard (480 pg/ml) est de 111 %.

19. BIBLIOGRAPHIE

1. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. N Engl J Med 2013;368:149-160.
2. Allen LH. Vitamin B-12. Adv Nutr 2012;3(1):54-55.
3. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009;89(2):693S-696S. Epub 2008 Dec 30.
4. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency -an update. Haematologica 2006;91(11):1506-1512.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS VIT B12

Para a determinação quantitativa de vitamina B12 em soro humano

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

CHORUS VIT B12 é um kit imunológico para a determinação quantitativa automatizada de Vitamina B12.

O teste é realizado em soro humano, utilizando um dispositivo de uso único ligado ao instrumento CHORUS TRIO.

O kit, concebido para monitorizar os níveis de Vitamina B12, é uma ajuda no diagnóstico da deficiência de Vitamina B12.

Só deve ser utilizado por pessoal profissional de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

A vitamina B12 é uma das nove vitaminas solúveis em água que, no ser humano, está envolvida na formação de glóbulos vermelhos e bainhas de mielina em torno dos nervos. A vitamina B12 não pode ser sintetizada no corpo humano; as principais fontes desta vitamina na alimentação são a carne, peixe, ovos e produtos lácteos. A absorção no trato gastrointestinal depende do fator intrínseco, ao qual a vitamina se liga a fim de permanecer numa forma estável. A causa mais frequente de deficiência grave de vitamina B12 é a falta de fator intrínseco devido a gastrite atrófica autoimune. A doença é tradicionalmente conhecida como "anemia perniciosa", embora muitos doentes apresentem principalmente manifestações neurológicas. Outras causas de deficiência de vitamina B12 são a má absorção devido a gastrectomia, doença inflamatória intestinal ou deficiência dietética. Em geral, a prevalência aumenta com a idade, devido a um agravamento da absorção no trato gastrointestinal. Os sintomas de deficiência de vitamina B12 podem ser muito ambíguos e a sua deficiência pode manifestar-se mesmo após meses ou anos. O diagnóstico é essencial devido à natureza latente desta doença e ao risco de danos neurológicos permanentes. Geralmente, o teste primário realizado para confirmar o diagnóstico de deficiência de vitamina B12 é a medição dos níveis séricos de vitamina B12. Além disso, devem também ser avaliados outros biomarcadores como o folato, ácido metilmalónico (MMA), homocisteína e holotranscobalamina.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo CHORUS VIT B12 está pronto a ser utilizado para a determinação de vitamina B12 em soro humano, no instrumento Chorus TRIO.

O teste é baseado num método ELISA de competição.

Os poços da microplaca são revestidos com estreptavidina. Calibrador, controlo positivo e amostras são adicionados a um dispositivo. A amostra e o anticorpo anti-B12 biotinizado são adicionados à placa e durante uma incubação inicial forma-se

um imunocomplexo entre a vitamina B12 eventualmente presente no soro e o anticorpo anti-B12 biotinizado, que por sua vez é capaz de se ligar à estreptavidina imobilizada na fase sólida. Após uma breve incubação, é adicionado o conjugado (que contém a vitamina B12 marcada com peroxidase). Este atraso aumenta a sensibilidade para amostras de baixa concentração. O conjugado concorre com a vitamina B12 presente no soro de teste para sítios de ligação no anticorpo anti-B12. Após a lavagem para remover o excesso de reagentes não ligados, é adicionado o substrato para a peroxidase. A reação enzimática é interrompida pela adição da solução de paragem, que torna a solução amarela. A cor que se desenvolve é inversamente proporcional à quantidade de vitamina B12 presente na amostra do doente.

Os dispositivos de utilização única contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos Chorus TRIO.

Os resultados são expressos em pg/ml.

4. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e responderam negativamente à presença de HbsAg e DE anticorpos contra o HIV-1, HIV-2 e HCV. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infectado. Seguir todas as precauções normalmente adotadas na prática laboratorial ao manusear material de origem humana.

Eliminação dos resíduos: amostras de soro, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infectados e eliminados de acordo com a legislação em vigor.

Informação sobre saúde e segurança

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (disponível a pedido).
5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Pode ser necessária uma exposição de 30 minutos a hipoclorito de sódio a 1% para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infectado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se estiver presente ácido no derramamento, secar a área afetada antes de usar hipoclorito de sódio. Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infectados. Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes da utilização, levar os dispositivos a utilizar até à temperatura ambiente (18-30 °C) durante pelo menos 30 minutos e utilizá-los dentro de 60 minutos.

1. **Eliminar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.
O kit só pode ser utilizado com CHORUS TRIO com uma versão atualizada do software. Assegurar que o software instalado no instrumento é uma versão (Rel.) correspondente ou posterior à apresentada na tabela publicada no website da Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras defeituosos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade.
12. **Verificar se o instrumento está ligado ao Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 9: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 8: Vazia

Posição 7: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com estreptavidina

Posição 6: Vazia

Posição 5: VITAMINA B12 BIOTINILADA

Conteúdo: anticorpos anti-vitamina B12 biotinizados, estabilizados em tampão e conservante.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina e peróxido de hidrogénio estabilizado em tampão.

Posição 3: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 2: CONJUGADO VIT B12

Conteúdo: Vitamina B12 marcada com peroxidase estabilizada em tampão.

Posição 1: POÇO VAZIO

onde transferir a amostra.

Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém gel de sílica, deixar sair o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,450 ml
Conteúdo: Soro humano que contém vitamina B12 e conservante.
Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,650 ml
Conteúdo: Soro humano que contém vitamina B12 e conservante.
Líquido, pronto a usar.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL
SAMPLE DILUENT/CONTROLO NEGATIVO 1 x 1,100 ml
Conteúdo: Soro humano sem vitamina B12 e conservante.
Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Instrumento Chorus TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Vortex
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio (5%)
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infetados

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8 °C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do soro de controlo (ver capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo do kit.

Após abertura os reagentes têm estabilidade limitada:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C
AMOSTRA DIL/NEG CTRL	8 semanas a 2/8 °C

7. RECOLHA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

O tipo de amostra é representado por soro, obtido de sangue colhido por venipuntura e manuseado de acordo com as precauções constantes dos procedimentos laboratoriais normalizados.

Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

O soro fresco pode ser conservado durante 5 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20 °C.

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

A amostra extraída pode ser utilizada, se mantida a 4 °C, dentro de 8 horas após a extração.

É fortemente recomendado evitar qualquer tratamento intensivo de amostras.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação microbiana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

O teste CHORUS VIT B12 (REF. 86400) pode ser realizado simultaneamente APENAS com os testes CHORUS PROMONITOR.

1. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Preparar amostras, calibrador, controlo positivo e controlo negativo (quando necessário) utilizando o produto CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) de acordo com o protocolo de extração nas instruções de utilização relevantes.
O pré-tratamento não pode ser realizado no CHORUS AUTOSAMPLER (REF 81210).
4. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo:

AMOSTRA	100 µl/dispositivo
CALIBRADOR	100 µl/dispositivo
CONTROLO POSITIVO	100 µl/dispositivo

A cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.

5. Introduzir os dispositivos no instrumento CHORUS TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste conforme indicado no Manual do Utilizador do instrumento

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o controlo positivo, para verificar a exatidão dos resultados obtidos, processando-o como indicado no Manual do Utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o controlo positivo tem um valor fora do limite de aceitabilidade, é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo positivo continuar a estar fora do intervalo de aceitabilidade, contactar a Assistência Científica.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O instrumento Chorus TRIO fornece o resultado expresso em pg/ml calculado com base num gráfico dependente do lote memorizado no instrumento.

11. LIMITAÇÕES

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidadosa que não prescindia de outros indicadores relativos ao mesmo doente. O teste, de facto, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo. O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto com os dados provenientes da anamnese do doente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração: 150,0-2000,0 pg/ml.

Para amostras > 2000,0 pg/ml, repetir o teste diluindo a amostra com Vit B12 Sample Diluent/Negative Control fornecido com o kit. É aconselhável efetuar diluições 1:5 e 1:10 das amostras fora da escala; depois proceder à extração das amostras antes da análise.

13. INTERVALO DE REFERÊNCIA

Foram analisadas 120 amostras (56 homens, 64 mulheres) pertencentes a uma população aparentemente saudável, com idades compreendidas entre 21 e 89 anos. As mulheres grávidas foram excluídas.

O intervalo de referência do kit Chorus VIT B12 é 237,5 - 764,8 pg/ml.

Estes valores só devem ser utilizados como referência.

Cada laboratório deve estudar a transferibilidade dos valores esperados para a sua própria população de doentes e, se necessário, determinar o seu próprio intervalo de referência.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 3 amostras com concentrações crescentes de Vitamina B12 às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Bilirrubina (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglicéridos (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Hemoglobina (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
Factor Reumatoide (44 IU/ml-220 IU/ml)

A presença das substâncias interferentes acima enumeradas no soro em exame não afeta o resultado do teste, com exceção da hemoglobina.

Foi testada 1 amostra com uma concentração de vitamina B12 no intervalo normal, à qual foram adicionadas concentrações crescentes de Biotina (0,5 ng/ml - 1000,0 ng/ml).

A presença de Biotina no soro em análise não altera o resultado do teste para concentrações até 35 ng/ml. Concentrações mais elevadas de Biotina levam a resultados incorretos.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 167 amostras com um kit Diesse e com um outro kit disponível no mercado: os dados de correlação estão resumidos na tabela seguinte:

Correlação	R	IC 95%
Pearson	0,96	0,94-0,97
Spearman	0,89	0,85-0,92

Os coeficientes de correlação de Pearson e Spearman estão dentro dos intervalos de correlação muito elevados e elevados, respetivamente.

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (pg/ml)	CV%	Média (pg/ml)	CV%
1	1876,2	3,1	1681,8	13,1
2	912,8	1,8	872,9	0,8
3	540,0	2,6	480,5	4,4
4	405,2	1,6	457,1	1,2
5	308,8	4,5	349,3	6,7
6	254,0	2,2	216,1	11,3

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (pg/ml)	CV%	Média (pg/ml)	CV%
1	1758,1	3,5	1752,0	12,3
2	908,9	8,1	840,0	13,0
3	484,5	3,0	540,9	10,4
4	473,5	12,2	485,8	8,4
5	365,3	10,8	336,2	11,8
6	204,4	13,9	216,6	11,3

17. LINEARIDADE

A linearidade do teste foi avaliada usando 3 amostras com concentrações conhecidas de vitamina B12. Foram realizadas diluições em série para cada amostra, o que demonstrou a linearidade do método de 150,0-2000,0 pg/ml.

18. PRECISÃO

A precisão do teste foi avaliada através da medição do Padrão Internacional Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (código NIBSC 03/178). Foram testados dois lotes do kit num único instrumento. A recuperação média em relação ao valor esperado do Padrão (480 pg/ml) é de 111%.

19. BIBLIOGRAFIA

1. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. N Engl J Med 2013;368:149-160.
2. Allen LH. Vitamin B-12. Adv Nutr 2012;3(1):54-55.
3. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009;89(2):693S-696S. Epub 2008 Dec 30.
4. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency -an update. Haematologica 2006;91(11):1506-1512.



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS VIT B12

Pentru determinarea cantitativă a vitaminei B12 în serul uman

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZARE

CHORUS VIT B12 este un kit imunologic pentru determinarea cantitativă automatizată a Vitaminei B12.

Testul se efectuează pe ser uman, folosind un dispozitiv de unică folosință aplicat la instrumentul CHORUS TRIO.

Kitul, destinat să monitorizeze nivelul de Vitamina B12, este un ajutor în diagnosticarea carenței de Vitamina B12.

Acesta trebuie utilizat numai de către personal profesionist de laborator.

2. INTRODUCERE

Vitamina B12 este una dintre cele nouă vitamine hidrosolubile, care este implicată în formarea globulelor roșii și a tecilor de mielină din jurul nervilor la oameni. Vitamina B12 nu poate fi sintetizată în corpul uman; principalele surse de absorbție sunt carnea, peștele, ouăle și produsele lactate. Absorbția în tractul gastrointestinal depinde de factorul intrinsec de care se leagă vitamina pentru a se menține într-o formă stabilă. Cea mai frecventă cauză a deficitului sever de vitamina B12 este lipsa factorului intrinsec din cauza gastritei atrofice autoimune. Boala este numită istoric „anemie pernicioasă”, deși mulți pacienți prezintă în principal manifestări neurologice. Alte cauze ale carenței de vitamina B12 sunt malabsorbția cauzată de gastrectomie, boala inflamatorie intestinală sau carențele din aportul alimentar. În general, prevalența crește odată cu vârsta, din cauza înrăutățirii absorbției la nivelul tractului gastrointestinal. Simptomele carenței de vitamina B12 pot fi foarte ambigue, iar deficiența acesteia se poate manifesta chiar și după luni sau ani. Diagnosticul este esențial, din cauza caracterului latent al acestei tulburări și a riscului de afectare neurologică permanentă. În general, testul principal efectuat pentru a confirma diagnosticul de carență de vitamina B12 constă în măsurarea nivelului seric de vitamina B12. În plus, ar trebui evaluați și alți biomarkeri, cum ar fi folatul, acidul metilmalonic (MMA), homocisteina și holotranscobalamina.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul CHORUS VIT B12 este gata de utilizare pentru determinarea vitaminei B12 în serul uman, în instrumentul Chorus TRIO.

Testul se bazează pe o metoda ELISA de competiție.

Godeurile microplăcilor sunt streptavidină. Calibratorul, controlul pozitiv și probele sunt adăugate la un dispozitiv. Proba și anticorpii anti-B12 biotilinați sunt adăugate pe placă și în timpul primei incubări are loc formarea unui complex imunitar între vitamina B12 care este eventual prezentă în ser și anticorpii anti-B12 biotilinați care este, la rândul său, capabil să se lege de streptavidina imobilizată la faza solidă.

După o scurtă incubare, se adaugă conjugatul (conținând vitamina B12 marcată cu peroxidază) (această întârziere permite creșterea sensibilității pentru probele cu concentrație scăzută). Conjugatul concurează cu vitamina B12 prezentă în serul examinat pentru locurile de legare la anticorpii anti-B12. După spălare, pentru a elimina excesul de reactivi nelegați, se adaugă substratul pentru peroxidază. Reacția enzimatică este întreruptă prin adăugarea soluției de stopare, care îngălbenește soluția. Culoarea care se dezvoltă este invers proporțională cu cantitatea de vitamina B12 prezentă în proba pacientului.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului atunci când sunt aplicate pe instrumentul Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în pg/ml.

4. AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE *IN VITRO*

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și au generat un răspuns negativ pentru prezența HbsAg și pentru anticorpii împotriva HIV-1, HIV-2 și HCV. Deoarece niciun test de diagnostic nu poate oferi o asigurare completă privind lipsa agenților infecțioși, orice material de origine umană ar trebui considerat ca fiind potențial infectat. Respectați toate măsurile de precauție adoptate în mod normal în practica de laborator atunci când manipulați material de origine umană.

Eliminarea reziduurilor: probele de ser, calibratoarele și benzile folosite trebuie tratate ca reziduuri contaminate și trebuie eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Informații privind sănătatea și siguranța

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați probele.
3. Spălați-vă bine mâinile după introducerea dispozitivelor în instrumentul Chorus TRIO.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibilă la cerere).
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu în volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Pentru a asigura o dezinfectare eficientă, ar putea fi necesară o expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu 1%.
6. Orice scurgeri de materiale potențial infectat trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă scurgerea conține un acid, uscați zona contaminată înainte de a utiliza hipocloritul de sodiu. Toate materialele utilizate pentru decontaminarea eventualelor scurgeri, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase. Nu introduceți în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, aduceți dispozitivele care urmează să fie utilizate la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 30 de minute și utilizați-le în interval de 60 de minute.

1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 4) colorat în albastru.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză; nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi și/sau corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul Chorus TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.

Utilizarea kitului este posibilă numai cu CHORUS TRIO cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument este o versiune (Ver.) corespunzătoare sau ulterioară celei prezentate în tabelul publicat pe site-ul Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

5. Verificați dacă instrumentul Chorus TRIO este setat corect (vezi Manualul de utilizare).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
8. Eventualele coduri de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (vezi Manualul de utilizare).
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. Utilizarea de probe puternic hemolizate, lipemice, icterice, de ser incomplet coagulat sau de probe cu contaminare microbiană poate constitui o sursă de eroare.
11. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
12. **Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare de autoimunitate (Ref. 86004).**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări.

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 9: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 8: Goală

Poziția 7: GODEU DE MICROPLACĂ

Acoperit cu streptavidină

Poziția 6: Goală

Poziția 5: VITAMINA B12 BIOTINILAT

Conținut: anticorpi anti-vitamina B12 biotinilați, stabiliizați în tampon și conservant.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidină și peroxid de hidrogen stabilizat în tampon.

Poziția 3: SOLUȚIE DE STOPARE

Conținut: soluție de acid sulfuric 0,3 M

Poziția 2: CONJUGAT VIT B12

Conținut: Vitamina B12 marcată cu peroxidază stabilizată în tampon.

Poziția 1: GODEU GOL

în care trebuie transferată proba.

Utilizare: echilibrați o pungă la temperatura camerei, deschideți punga și scoateți dispozitivele necesare; introduceți-le pe celelalte la loc în punga care conține silicagel, lăsați aerul să iasă și **sigilați** apăsând pe închidere. A se păstra la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,450 ml

Conținut: Ser uman care conține vitamina B12 și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,650 ml

Conținut: Ser uman care conține vitamina B12 și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

SAMPLE DILUENT/CONTROL NEGATIV 1 x 1,100 ml

Conținut: Ser uman care nu conține vitamina B12 și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Instrumentul Chorus TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticla normală de laborator: cilindri, eprubete etc.
- Vortex
- Micropipete capabile să extragă cu precizie volume de 50-200 µl
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de hipoclorit de sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate

6. MODALITATEA DE PĂSTRARE ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie păstrați la 2/8°C. În cazul unei temperaturi incorecte de depozitare, este necesar să repetați calibrarea și să verificați corectitudinea rezultatului folosind serul de control (vezi capitolul 9: Validarea testului).

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta kitului.

Reactivii au o stabilitate limitată după deschidere:

DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8 °C
CALIBRATOR	8 săptămâni la 2/8 °C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8 °C
SAMPLE DIL/NEG CTRL	8 săptămâni la 2/8 °C

7. COLECTAREA ȘI DEPOZITAREA PROBELOR

Proba constă în serul obținut din sângele recoltat prin puncție venoasă normală și manipulat adoptând măsurile de precauție cerute în procedurile standard de laborator.

Consecințele utilizării altor fluide biologice nu sunt cunoscute.

Serul proaspăt se poate păstra timp de 5 zile la 2/8°C;

pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați-l la temperaturi $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

Proba poate fi supusă unui număr maxim de 3 decongelări. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor. După decongelare, agitați cu atenție proba înainte de dozare.

Proba extrasă poate fi utilizată, dacă este păstrată la 4°C , în decurs de 8 ore de la extracție.

Se recomandă insistent să se evite orice tratament intensiv al probelor.

Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate conduce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA

Testul CHORUS VIT B12 (REF. 86400) poate fi efectuat simultan NUMAI cu testele CHORUS PROMONITOR.

1. Deschideți punga (partea care conține sigiliul de presiune), scoateți numărul de dispozitive necesare efectuării testelor și păstrați-le pe celelalte închizând punga la loc după eliberarea aerului.
2. Verificați vizual starea dispozitivului conform indicațiilor din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Pregătiți probele, calibratorul, controlul pozitiv și controlul negativ (atunci când este necesar) utilizând produsul CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) urmând protocolul de extracție indicat în instrucțiunile de utilizare aferente.
Pretratarea nu poate fi efectuată în instrumentul CHORUS AUTOSAMPLER (REF 81210).
4. Distribuiți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv:

PROBĂ	100 μl/dispozitiv
CALIBRATOR	100 μl/dispozitiv
CONTROL POZITIV	100 μl/dispozitiv

La fiecare schimbare de lot, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.

5. Introduceți dispozitivele pe instrumentul Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesar) și testarea după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați controlul pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatelor obținute, procesându-l după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul semnalează că controlul pozitiv are o valoare în afara limitei acceptabile, este necesar să se efectueze din nou calibrarea. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

Dacă rezultatul controlului pozitiv continuă să se încadreze în afara intervalului acceptabil, contactați Serviciul de asistență științifică.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul CHORUS TRIO furnizează rezultatul în pg/ml, calculat pe baza unui grafic dependent de lot stocat în instrument.

11. LIMITĂRI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă, care nu trebuie să facă abstracție de alți indicatori referitori la același pacient. De fapt, testul nu poate fi folosit singur pentru un diagnostic clinic iar rezultatul obținut trebuie să fie evaluat întotdeauna împreună cu datele obținute din anamneza pacientului și/sau din alte investigații diagnostice.

12. INTERVALUL DE CALIBRARE

Interval de calibrare: 150,0-2000,0 pg/ml.

Pentru probe $> 2000,0$ pg/ml, repetați testul diluând proba cu Vit B12 Sample Diluent/Negative Control furnizat împreună cu kitul. Se recomandă efectuarea de diluții 1:5 și 1:10 ale probelor în afara scalei; apoi trebuie efectuată extragerea probelor înainte de analiză.

13. INTERVAL DE REFERINȚĂ

Au fost analizate 120 de probe (56 bărbați, 64 femei), aparținând populației aparent sănătoase, cu vârste cuprinse între 21 și 89 de ani. Femeile însărcinate au fost excluse. Intervalul de referință al kitului Chorus VIT B12 este 237,5 – 764,8 pg/ml.

Aceste valori trebuie folosite numai ca linii directoare.

Fiecare laborator trebuie să studieze transferabilitatea valorilor așteptate către propria populație de pacienți și, dacă este necesar, să își stabilească propriul interval de referință.

14. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 3 probe cu concentrație crescândă de Vitamina B12 la care s-au adăugat următorii interferenți:

Bilirubină (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Trigliceride (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Hemoglobină (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
Factorul reumatoid (44UI/ml-220UI/ml)

Prezența substanțelor interferente enumerate mai sus în serul examinat nu modifică rezultatul testului, cu excepția hemoglobinei.

A fost testată 1 probă cu concentrația de vitamina B12 în intervalul normal, la care s-au adăugat concentrații crescânde de Biotină (0,5 ng/ml – 1000,0 ng/ml).

Prezența Biotinei în serul examinat nu modifică rezultatul testului pentru concentrații de până la 35 ng/ml. Concentrații mai mari de Biotină generează rezultate eronate.

15. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment, au fost analizate 167 de probe cu un kit Diesse și cu un alt kit din comerț: datele de corelare sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Corelare	r	IC 95%
Pearson	0,96	0,94-0,97
Spearman	0,89	0,85-0,92

Coeficienții de corelație Pearson și respectiv Spearman se încadrează în intervalele de corelație foarte ridicată și ridicată.

16. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În timpul ședinței		Între ședințe	
	Medie (pg/ml)	CV%	Medie (pg/ml)	CV%
1	1876,2	3,1	1681,8	13,1

2	912,8	1,8	872,9	0,8
3	540,0	2,6	480,5	4,4
4	405,2	1,6	457,1	1,2
5	308,8	4,5	349,3	6,7
6	254,0	2,2	216,1	11,3

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Medie (pg/ml)	CV%	Medie (pg/ml)	CV%
1	1758,1	3,5	1752,0	12,3
2	908,9	8,1	840,0	13,0
3	484,5	3,0	540,9	10,4
4	473,5	12,2	485,8	8,4
5	365,3	10,8	336,2	11,8
6	204,4	13,9	216,6	11,3

17. LINEARITATE

Linearitatea testului a fost evaluată folosind 3 probe cu concentrații cunoscute de vitamina B12. Au fost efectuate diluții în serie pentru fiecare probă, care au demonstrat linearitatea metodei de la 150,0-2000,0 pg/ml.

18. PRECIZIE

Precizia testului a fost evaluată prin măsurarea Standardului Internațional de Vitamina B12, folat seric, HOLO TC (cod NIBSC 03/178). Au fost testate două loturi ale kitului pe un singur instrument. Media recuperării raportat la valoarea așteptată a standardului (480 pg/ml) este de 111%.

19. BIBLIOGRAFIE

1. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. N Engl J Med 2013;368:149-160.
2. Allen LH. Vitamin B-12. Adv Nutr 2012;3(1):54-55.
3. Allen LH. How common is vitamin B-12 deficiency? Am J Clin Nutr 2009;89(2):693S-696S. Epub 2008 30 decembrie.
4. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency -an update. Haematologica 2006;91(11):1506-1512.

	IT	Data di fabbricazione	ES	Fecha de fabricación
	EN	Date of manufacture	FR	Date de fabrication
	CS	Datum výroby	PT	Data de fabrico
	DE	Herstellungsdatum	RO	Data fabricatiei
	EL	Ημερομηνία Παραγωγής		
	IT	Utilizzare entro	ES	Fecha de caducidad
	EN	Use By	FR	Utiliser jusque
	CS	Použitelné do	PT	Prazo de validade
	DE	Verwendbar bis	RO	A se folosi pana la
	EL	Ημερομηνία λήξης		
	IT	Non riutilizzare	ES	No reutilizar
	EN	Do not reuse	FR	Ne pas réutiliser
	CS	Nepoužívejte opakovaně	PT	Não reutilizar
	DE	Nicht wieder verwenden	RO	A nu se refolosi
	EL	Μην κάνετε επαναληπτική χρήση		
	IT	Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	ES	Atención, ver instrucciones de uso
	EN	Caution, consult accompanying documents	FR	Attention voir notice d'instructions
	CS	Pozor, čtěte přiložené dokumenty	PT	Atenção, consulte a documentação incluída
	DE	Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Atentie, consultați documentele însoțitoare
	EL	Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα		
	IT	Fabbricante	ES	Fabricante
	EN	Manufacturer	FR	Fabricant
	CS	Výrobce	PT	Fabricante
	DE	Hersteller	RO	Productator
	EL	Κατασκευαστής		
	IT	Contenuto sufficiente per "n" saggi	ES	Contenido suficiente para <n> ensayos
	EN	Contains sufficient for <n> tests	FR	Contenu suffisant pour "n" tests
	CS	Obsah stačí na <n> testů	PT	Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	DE	Inhalt reicht für „n“ Tests	RO	Continut sufficient pt <n> teste
	EL	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις		
	IT	Limiti di temperatura	ES	Límite de temperatura
	EN	Temperature limitation	FR	Limites de température
	CS	Teplotní omezení	PT	Limites de temperatura
	DE	Temperaturgrenzwerte	RO	Limita da temperatura
	EL	Περιορισμοί θερμοκρασίας		
	IT	Consultare le istruzioni per l'uso	ES	Consulte las instrucciones de uso
	EN	Consult Instructions for Use	FR	Consulter les instructions d'utilisation
	CS	Čtěte návod k použití	PT	Consulte as instruções de utilização
	DE	Die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Pentru a utiliza consultați instrucțiunile
	EL	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		
	IT	Rischio biologico	ES	Riesgo biológico
	EN	Biological risks	FR	Risques biologiques
	CS	Biologická rizika	PT	Risco biológico
	DE	Biologisches Risiko	RO	Risk biologic
	EL	Βιολογικοί κίνδυνοι		
REF	IT	Numero di catalogo	ES	Número de catálogo
	EN	Catalogue number	FR	Référence du catalogue
	CS	Katalogové číslo	PT	Referência de catálogo
	DE	Katalognummer	RO	Numar de catalog
	EL	Αριθμός καταλόγου		
IVD	IT	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN	In Vitro Diagnostic Medical Device	FR	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CS	Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro	PT	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	DE	Medizinisches In-vitro-Diagnostikum	RO	Dizpositiv medical pentru diagnosticare in vitro
	EL	Ιn Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν		
LOT	IT	Codice del lotto	ES	Código de lote
	EN	Batch code	FR	Code du lot
	CS	Kód šarže	PT	Código do lote
	DE	Chargennummer	RO	Lot
	EL	Αριθμός Παρτίδας		
CE	IT	Marcatura CE di conformità	ES	Marcado CE de conformidad
	EN	CE marking of conformity	FR	Marquage de conformité CE
	CS	Oznakowanie zgodności CE	PT	Marcação CE de conformidade
	DE	CE-Konformität Skennezeichnung	RO	Marcajul de conformitate CE
	EL	Σημανση συμμορφωση CE		