

Валидация, эффективность и надежность двух автоматизированных тестов на витамин B12 и анализа фолиевой кислоты

Simone Bianciardi¹, Giulia Tesi¹, Helena Cerutti¹,
Alessandra Cartocci², Roberto Guerranti³, Caterina Silvestrini³, Sabrina Gori³,
Tommaso Bandini¹, Alessandra Brogi¹ and Roberto Leoncini³

Источник: Journal of Public Health Research (Журнал "Journal of Public Health Research")

Перевод на русский язык: West Medica

1 DIESSE Diagnostica Senese S.p.A. Società Benefit, Monteriggioni, Siena, Italy

2 Department of Medical Biotechnology, University of Siena, Siena, Italy

3 Laboratorio Patologia Clinica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Senese, Siena, Italy

Автор:

Helena Cerutti, DIESSE Diagnostica Senese S.p.A. Società Benefit,
Strada dei Laghi 35-39, Monteriggioni, Siena, Monteriggioni 53035, Italy.
Электронная почта: helenacerutti@diesse.it

Валидация, эффективность и надежность двух автоматизированных тестов на витамин В12 и анализа фолиевой кислоты

Аннотация

Введение: дефицит витамина В12 и фолиевой кислоты может приводить к гематологическим, неврологическим и метаболическим нарушениям; поэтому необходима точная количественная оценка их уровня в сыворотке крови, особенно при наличии симптомов, которые могут указывать на дефицит. CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE — это два автоматизированных иммуноанализа, разработанных для количественного определения витамина В12 и фолиевой кислоты соответственно в сыворотке крови человека.

Дизайн и методы: в этом одноцентровом немедикаментозном диагностическом исследовании описана валидация и характеристика CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE с особым акцентом на эффективность, точность и надежность. Для каждого анализа было проанализировано 500 образцов сыворотки. Также было проведено сравнение анализов CHORUS с коммерчески доступным набором.

Результаты: для CHORUS VIT B12 нижний предел количественного определения (LLoQ) составил 165,0 пг/мл, а верхний предел количественного определения (ULoQ) — 1846,8 пг/мл. Анализ был линейным в пределах калибровочного диапазона (150–2000 пг/мл), а точность была описана с помощью международного стандарта витамина В12, сывороточного фолата, HOLO TC (код NIBSC: 03/178), со средним коэффициентом извлечения на двух партиях 111 %. Для CHORUS FOLATE (калибровочный диапазон 2,0–20,0 нг/мл) LLoQ составил 2,0 нг/мл, а ULoQ — 19,6 нг/мл. Линейность была продемонстрирована в диапазоне от 2,4 до 20,0 нг/мл; точность была описана с помощью вышеупомянутого международного стандарта, достигнув среднего коэффициента извлечения на трех партиях 92 %. Самые низкие и самые высокие значения обоих наборов CHORUS и COBAS были схожи, а медианные значения существенно не различались.

Вывод: CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE показали хорошие, точные и надежные результаты в количественном определении витамина В12 и фолиевой кислоты в сыворотке крови человека.

Ключевые слова: витамин В12, фолат, иммуноанализ, линейность, точность, надежность.

Введение

Витамин В12 (кобаламин) состоит из центрального атома кобальта, окруженного плоской корриновой кольцевой структурой, подобной гему, при этом четыре атома азота пиррола координированы с кобальтом.¹

Витамин В12 необходим для двух метаболических реакций в организме человека: метилирования гомоцистеина до метионина и превращения метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА.^{2,3}

Фолаты представляют собой семейство химически родственных соединений, основанных на структуре фолиевой кислоты. Фолат моноглутамат, транспортируемый в клетки, метаболизируется в полиглутаматные формы ферментом фолилполиглутаматсинтетазой, поскольку полиглутаматная форма может эффективно удерживаться тканями.¹ Фолатные коферменты участвуют в трех основных взаимосвязанных метаболических циклах в цитозоле, необходимых для синтеза тимидилата и пуринов, предшественников синтеза ДНК и РНК, а также для синтеза метионина из гомоцистеина и взаимопревращения серина и глицина.^{1,4}

Дефицит витамина В12 и фолиевой кислоты у младенцев и детей обычно проявляется мегалобластной анемией и часто сопровождается неврологическими симптомами, особенно если диагноз поставлен с задержкой.² В зависимости от причины и тяжести дефицита витамина В12, неспецифические клинические признаки и симптомы могут появиться уже в первые месяцы жизни, включая задержку роста (веса и окружности головы), регрессию развития, раздражительность, апатию, анорексию и отказ от твердой пищи.²

Основные гематологические нарушения, такие как мегалобластная анемия, гиперсегментация нейтрофилов и (пан)цитопения, могут проявиться позже или не проявиться вовсе. Неврологические нарушения могут возникать без гематологических нарушений и включают в себя гипотонию, потерю глубоких сухожильных рефлексов, тремор и двигательные расстройства, паралич, судороги, задержку развития, деменцию и нейропсихиатрические изменения.^{2,5}

В зрелом возрасте взаимосвязь между метаболическим синдромом и комплексом витаминов группы В, в частности витамином В12, и фолиевой кислотой, стала предметом многочисленных исследований по всему миру. В ряде исследований сообщалось о положительной связи между

добавками фолиевой кислоты и витамина В12 и их эффективностью в снижении риска сердечно-сосудистых заболеваний и инсулинорезистентности.^{5,6}

Учитывая клиническую важность витамина В12 и фолиевой кислоты, необходимо точно определять их уровень в сыворотке крови, особенно при наличии симптомов, которые могут указывать на дефицит. Например, при тестировании на В12 у младенцев и матерей, отобранных в ходе неонатального скрининга на дефицит В12, крайне важно обеспечить адекватное восполнение дефицита В12.⁷

Существует несколько подходов к диагностике дефицита витамина В12.⁸

К ним относятся тесты для выявления физиологических коррелятов дефицита витамина В12, например, идентификация гиперсегментированных нейтрофилов, овальных макроцитов и циркулирующих мегалобластов в мазке крови, или функциональные тесты на биохимические отклонения, например, уровень метилмалоновой кислоты или общего гомоцистеина. Также доступны прямые тесты для количественного определения статуса витамина В12 в сыворотке крови.⁸

Определение фолата в сыворотке крови является наиболее распространенным лабораторным тестом, используемым для оценки статуса фолата. Результаты точно отражают статус фолата у большинства пациентов и коррелируют с уровнем фолата в эритроцитах и общим гомоцистеином. Концентрация фолата в сыворотке крови повышается в ответ на прием фолиевой кислоты/фолата в течение до 2 часов, а затем быстро снижается. Концентрация фолата натошак может отражать снижение уровня фолата, высвобождаемого тканями.⁹

Анализы на основе фолатсвязывающего белка (ФБП) являются наиболее часто используемым методом оценки статуса фолата. Меченый стандарт фолата конкурирует с эндогенным фолатом за связывающее вещество, или в неконкурентных анализах связывания к образцу добавляется избыток ФБП, с последующим добавлением меченого конъюгата фолата. Оба метода являются недорогими и обеспечивают быстрый анализ большого количества образцов, а также высокую степень автоматизации.⁹

В целом, для сывороточного витамина В12 способность теста исключить дефицит на индивидуальном уровне низка, когда используется единое пороговое значение, такое как нижний референтный предел (НРП). Множественные пороговые значения были подтверждены

клиническими исследованиями, устанавливающими взаимосвязь между концентрациями маркеров, вероятностью дефицита и необходимостью приема добавок.¹⁰ Оценка межлабораторной вариабельности измерения витамина B12 при концентрациях в сыворотке крови около установленных пороговых значений для оценки риска дефицита может быть полезна для определения того, можно ли обобщить эти пороговые значения или требуется их корректировка, в зависимости от используемого метода. Для определения уровня фолата в сыворотке крови обычно используется единый пороговый уровень, установленный на уровне НРП, для скрининга дефицита витаминов в странах, не получающих витаминных добавок. Следовательно, распространенность дефицита фолата строго зависит от правильности установления порогового значения и точности анализов на фолат.¹¹

В данной статье описываются валидация, характеристики и надежность двух автоматизированных тестов для количественного определения витамина B12 и фолиевой кислоты. Также приводится сравнение с коммерчески доступным набором.

Дизайн и методы

Дизайн исследования и выборки

Это одноцентровое немедикаментозное диагностическое исследование было проведено в больнице Ле Скотте в Сиене для валидации двух диагностических тестов, CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE, применяемых на приборе CHORUS TRIO.

Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации в ее последней редакции, и протокол был одобрен местным этическим комитетом (протокол CHOR-VIT; Comitato Etico Regionale per la Sperimentazione Clinica della Regione Toscana).

Участие в исследовании не требовало информированного согласия.

Сыворотка крови пациентов была собрана для рутинного клинического анализа, и все образцы были анонимизированы. Данные были агрегированы и предоставлены для анализа без учета времени сбора, прогноза состояния пациента и проводимого лечения. После забора образцы были заморожены и хранились при температуре -80°C . Экстракция образцов была проведена перед анализом. Процесс экстракции позволяет витамину B12 и фолиевой кислоте освободиться от белков-носителей, что позволяет их обнаружить.

Реагенты

Витамины были извлечены из сыворотки крови человека с помощью набора для экстракции CHORUS в соответствии с инструкциями производителя. 100 мкл образца смешивали с 50 мкл экстракционного буфера (стабилизирующий агент и высвобождающий агент в разведении 1/40); после перемешивания на вортексе и инкубации при комнатной температуре в течение 15 мин, к раствору добавляли 50 мкл нейтрализующего агента, и образец был готов к нанесению в CHORUS TRIO.

CHORUS VIT B12 — это набор для иммуноферментного анализа, предназначенный для автоматического количественного определения витамина B12. Тест проводится на сыворотке крови человека с использованием одноразового устройства и прибора CHORUS TRIO в соответствии с инструкциями производителя.

Вкратце, это конкурентный иммуноферментный анализ: образцы и биотинилированное антитело против B12 инкубируются в микролунки, покрытые стрептавидином; во время инкубации комплекс между витамином B12 и антителом против B12 связывается со стрептавидином; затем добавляется витамин B12, конъюгированный с пероксидазой, для конкуренции с витамином B12, присутствующим в образце; после добавления субстрата пероксидазы для развития количественной реакции, прибор CHORUS TRIO выдает результаты, полученные для каждого образца, и количество обнаруженного витамина B12 обратно коррелирует с интенсивностью окраски.

CHORUS FOLATE — это готовый к применению анализ для определения фолата в сыворотке крови человека. Он основан на том же принципе, что и конкурентный иммуноферментный анализ.

Вкратце, образцы и биотинилированный белок, связывающий фолат, инкубируются в микролунки, покрытые стрептавидином; во время инкубации комплекс между фолатом и фолатсвязывающим белком связывается со стрептавидином; затем добавляется фолат, конъюгированный с пероксидазой, для конкуренции с фолатом, присутствующим в образце; после добавления субстрата пероксидазы для развития количественной реакции между фолатом и конъюгированным с пероксидазой фолатом на специфических участках связывания фолатсвязывающего белка. Субстрат пероксидазы развивает количественную реакцию, обратно коррелирующую с фолатом человека, присутствующим в сыворотке крови.

Конечная точка и процедуры валидации

Конечная точка — определение эффективности и надежности количественного определения витамина B12 и фолиевой кислоты в образцах сыворотки крови пациентов. Были выполнены следующие процедуры валидации.

Предел обнаружения (LoD) измерялся в соответствии с утвержденными рекомендациями EP17-A2, второе издание CLSI (Институт клинических и лабораторных стандартов)¹², устанавливая целевой показатель точности на уровне 15 %. Каждый образец сыворотки анализировался в трех повторениях на двух приборах CHORUS TRIO в течение 3 дней в обеих партиях. Всего было получено 72 измерения (72 прибора) для каждой тестируемой партии. Нормальность методов проверялась с помощью тестов на асимметрию и эксцесс для выбора между непараметрическим или параметрическим подходом к анализу результатов в соответствии с рекомендациями. В обоих случаях LoD устанавливался как максимальное значение, полученное для каждой партии реагентов, и значение mOD затем преобразовывалось в пг/мл.

Предел количественного определения (LoQ) определяли в образцах сыворотки, которые анализировали в трех повторениях на двух приборах CHORUS TRIO в течение 3 дней для обеих партий. Процедура повторялась в течение 3 дней, всего было выполнено 72 измерения (72 прибора) для каждой тестируемой партии. Наибольший LoQ по двум тестируемым партиям был принят за LoQ метода.

Для определения линейности каждый образец тестировался один раз, и результаты наносились на XY-график, где горизонтальная ось представляла ожидаемые значения, а вертикальная ось — результаты; график визуально изучался, чтобы оценить наличие нелинейности и потенциальных выбросов. Для проверки точности международный стандарт 03/178 тестировался на двух партиях. Было рассчитано среднее значение степени извлечения по сравнению с ожидаемым значением.

Точность и воспроизводимость оценивались с использованием образцов различной концентрации. Для оценки внутрилабораторной точности анализ проводился с использованием одной партии на одном приборе CHORUS одним оператором. Концентрация каждого аналита тестировалась в шести повторениях. Для оценки межлабораторной точности каждая концентрация аналита тестировалась в течение шести циклов. Межпартийная точность оценивалась с использованием трех партий набора на одном приборе CHORUS TRIO одним оператором;

каждый образец тестировался в течение шести циклов; межприборная точность анализировалась с использованием одной партии набора на трех приборах CHORUS TRIO одним оператором, и каждый образец тестировался в течение шести циклов на трех приборах. Во всех экспериментах добавлялся один контрольный образец для оценки приемлемости анализа. Коэффициент вариабельности (CV) ≤ 15 % считался приемлемым.

Аналитическая специфичность оценивалась на трех образцах с возрастающими концентрациями, в которые были добавлены следующие мешающие компоненты: билирубин (4,5–45 мг/дл), триглицериды (250–1500 мг/дл), гемоглобин (2,5–10 мг/мл), ревматоидный фактор (44–220 МЕ/мл). Кроме того, был протестирован образец витамина B12 с возрастающим содержанием биотина (0,5–1000,0 нг/мл); нормальная концентрация биотина в сыворотке крови человека составляет 35 нг/мл.

Было проведено сравнение набора CHORUS с коммерчески доступным набором COBAS (аналогичный прибор, Hoffmann-La Roche, Базель, Швейцария).

Каждый набор использовался в соответствии с инструкциями производителя; каждый образец тестировался один раз с помощью набора CHORUS и один раз с помощью прибора COBAS. Сравнение проводилось для одной партии наборов CHORUS и COBAS.

Размер выборки и статистический анализ

Используя двусторонний тест углового коэффициента одномерной регрессии, равный 1 (два теста должны давать одинаковое значение концентрации, а линия регрессии должна быть биссектором), при альфа = 0,05 и мощности 0,90, был оценен размер выборки в 500 (программное обеспечение G*Power).

Качественные переменные были представлены в виде абсолютных частот и процентов, а количественные — в виде медианы и межквартильного диапазона (МКР). Для сравнения методов CHORUS VIT B12 или CHORUS FOLATE и COBAS® были проведены анализы коэффициента корреляции Спирмена, Пассинга-Баблока и Бланда-Альтмана. Для оценки степени согласованности использовался 95 % доверительный интервал (95 % ДИ). Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым. Все анализы были выполнены с использованием статистического программного обеспечения MedCalc® версии 20.115 (MedCalc Software Ltd, Остенде, Бельгия).

Результаты

Валидация и определение точности и надежности

Референтный диапазон CHORUS VIT B12 составил 237,5–764,8 пг/мл, а предел обнаружения (LoD) — 147,5 пг/мл, с нижним пределом количественного определения (LLoQ) 165,0 пг/мл и верхним пределом количественного определения (ULoQ) 1846,8 пг/мл. Поскольку система CHORUS (реагент и прибор) дала результат в пределах калибровочного диапазона от 150,0 до 2000,0 пг/мл, предел обнаружения, сообщенный CHORUS TRIO, составил <150,0 пг/мл. Тестирование трех положительных образцов с помощью набора CHORUS VIT B12 продемонстрировало линейность метода в диапазоне от 150,0 до 2000,0 пг/мл. Проведя тестирование международного стандарта витамин B12, сывороточный фолат, HOLO TC (код NIBSC: 03/178), целевое значение которого для витамина B12 составляет 480 пг/мл, мы продемонстрировали точность теста, учитывая, что среднее значение восстановления в двух партиях составило 111 %.

В таблице 1 приведены результаты тестов на точность. Все полученные значения находились в пределах ожидаемого диапазона, соответствуя спецификации CV % ≤ 15 %. Значения, полученные

в ходе эксперимента по оценке точности, подтвердили точность и воспроизводимость прибора/метода CHORUS VIT B12. Наличие мешающих веществ (билирубин, триглицериды, гемоглобин и ревматоидный фактор) было проверено на трех образцах с возрастающей концентрацией витамина B12.

Присутствие перечисленных выше мешающих веществ в исследуемой сыворотке не изменяет результат анализа, за исключением гемоглобина. Был исследован один образец с концентрацией витамина B12 в пределах нормы, к которому добавляли возрастающие концентрации биотина (0,5–1000,0 нг/мл). Присутствие биотина в тестовой сыворотке не изменяло результат анализа при концентрациях до 35 нг/мл; более высокие концентрации биотина приводят к некорректным результатам.

Референтный диапазон набора CHORUS FOLATE составлял 2,8–14,9 нг/мл, с пределом обнаружения 1,4 нг/мл. Нижний предел количественного определения (LLoQ) составлял 2,0 нг/мл, а верхний предел количественного определения (ULoQ) — 19,6 нг/мл. Линейность метода была продемонстрирована в диапазоне от 2,4 до 20,0 нг/мл путем тестирования трех положительных образцов; точность была описана с использованием

Образец	Внутри сессии		Между сессиями	
	Среднее значение (нг/мл)	Коэффициент вариации %	Среднее значение (нг/мл)	Коэффициент вариации %
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

Образец	Между партиями		Между приборами	
	Среднее значение (нг/мл)	Коэффициент вариации %	Среднее значение (нг/мл)	Коэффициент вариации %
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	6 204,4	13,9	216,6	11,3

Таблица 1. Точность и воспроизводимость определения витамина B12 в приборе CHORUS.

Образец	Внутри сессии		Между сессиями	
	Среднее значение (нг/мл)	Коэффициент вариации %	Среднее значение (нг/мл)	Коэффициент вариации %
1	11,3	7,3	11,3	8,8
2	5,1	5,7	7,6	13,6
3	4,6	5,9	4,7	14,5
4	3,9	4,6	4,9	12,7
5	2,2	8,3	2,9	13,3

Образец	Между партиями		Между приборами	
	Среднее значение (нг/мл)	Коэффициент вариации %	Среднее значение (нг/мл)	Коэффициент вариации %
1	12,7	9,0	11,7	8,1
2	6,8	12,9	7,6	15,0
3	4,8	9,6	4,8	12,1
4	4,9	13,6	4,7	13,2
5	2,4	10,0	2,5	13,0

Таблица 2. Точность и воспроизводимость определения фолиевой кислоты в приборе CHORUS.

Международного стандарта витамина B12, сывороточного фолата, HOLO TC (код NIBSC: 03/178), учитывая, что среднее извлечение по трем партиям составило 92 %.

В таблице 2 представлены результаты оценки точности и воспроизводимости метода, и все полученные значения находились в пределах ожидаемого диапазона, при этом коэффициент вариации (CV %) составлял ≤ 15 %.

Присутствие мешающих веществ в исследуемой сыворотке не изменяло результат, за исключением гемоглобина и триглицеридов, которые оценивались в более высоких концентрациях, чем те, которые присутствуют физиологически. Были протестированы два образца с концентрацией фолата в пределах нормы, к которым добавлялись возрастающие концентрации биотина (0,5–1000,0 нг/мл). Присутствие биотина в исследуемой сыворотке не изменяло результат теста при концентрациях до 10 нг/мл; более высокие концентрации биотина могут привести к некорректным результатам.

Сравнение с набором COBAS

Наборы CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE были сравнены с набором COBAS на 500 образцах сыворотки крови человека. В таблице 3 приведены результаты. Самые низкие и самые высокие значения обоих наборов CHORUS и COBAS были схожи и медианные значения существенно не различались.

Для CHORUS VIT B12 уравнение Пассинга-Баблока было: $y = -15,693 + 1,089x$ (Рисунок 1) с коэффициентом корреляции Спирмена 0,865 (95 % ДИ: 0,841–0,885); в тесте Бланда-Альтмана средняя разница составила $-31,500$ (95 % ДИ: $-42,963$ до $-20,038$) с верхним и нижним пределами 224,190 и $-287,192$ соответственно. Gwet Ac1 составил 0,85 (95 % ДИ: 0,814–0,886), таким образом, согласованность была достаточной.

Для CHORUS FOLATE уравнение Пассинга-Баблока

было $y = -0,694 + 1,093x$ (Рисунок 2) с коэффициентом корреляции Спирмена 0,866 (95 % ДИ: 0,843–0,887); средняя разница по Бланду-Альтману составила $-0,114$ (95 % ДИ: $-0,274$ до $0,047$) с верхним и нижним пределами 3,473 и $-3,700$, соответственно. Даже в этом случае присутствовали некоторые выбросы среди самых высоких значений. Gwet Ac1 составил 0,92 (95 % ДИ: 0,888–0,943), таким образом, согласованность была достаточной.

Обсуждение

Данная работа была направлена на описание валидации, характеристик и надежности двух автоматизированных тестов для определения витамина B12 и фолиевой кислоты. Результаты показали, что наборы CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE являются точными и надежными для количественного определения витамина B12 и фолиевой кислоты, соответственно.

Для анализа CHORUS VIT B12 как нижний, так и верхний пределы количественного определения (LoQ) находились в пределах калибровочного диапазона прибора и реагентов, что гарантировало точность определения концентрации витамина B12 в сыворотке крови с помощью CHORUS TRIO. Анализ был линейным в пределах калибровочного диапазона, специфичным и не подвергался влиянию других компонентов сыворотки крови, билирубина, триглицеридов и ревматоидного фактора, которые могут мешать оценке витамина B12; только концентрации гемоглобина выше физиологического уровня изменяли результаты.

Для определения уровня фолата в сыворотке крови обычно используется единый пороговый уровень, установленный на нижнем референсном пределе, для выявления дефицита. Следовательно, распространенность дефицита фолата строго зависит от правильности установления порогового значения и точности анализов на фолат. Анализ на фолат CHORUS был линейным в пределах референсного диапазона и точным.

	CHORUS VIT B12	COBAS VIT B12	CHORUS FOLATE	COBAS Folate
Наименьшее значение	150.0	100.0	2.0	2.0
Наибольшее значение	2000.0	2000.0	20.0	20.0
Медиана [межквартильный размах]	417.7 [306.9–607.5]	463 [304–612]	5.7 [4.3–7.7]	5.5 [3.6–8.4]

Таблица 3. Сравнение наборов CHORUS и COBAS.

После определения точности и эффективности обоих анализов CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE, наборы сравнивались с коммерчески доступным анализом для оценки согласованности результатов и межаналитической вариабельности. Действительно, поскольку стандартизация методов определения витамина B12 и фолата в сыворотке еще не достигнута, важно сравнить различные анализы, чтобы выявить потенциальную вариабельность между ними. Кроме того, оценка межаналитической вариабельности измерения B12 при концентрациях в сыворотке около установленных пороговых значений риска дефицита может быть полезна для определения того, можно ли использовать установленные пороговые значения или требуется их корректировка в соответствии с используемым методом.¹¹ В соответствии с рекомендациями¹² и зная, что некоторые вещества, такие как биотин, могут мешать анализам, как CHORUS VIT B12, так и CHORUS FOLATE тестировались в присутствии мешающих компонентов, которые, однако, не изменяли клиническую значимость результатов.

Сравнительное исследование анализа витамина B12, включавшее Roche COBAS, показало соответствие между Roche COBAS и другими автоматическими иммуноанализаторами, в частности, Dxl 800 Unicel (Beckman Coulter, США), ADVIA Centaur XP (Siemens Diagnostics, Tarrytown, NY, США), Architect i2000sr (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, США).¹³ В нашем сравнении мы наблюдали высокое соответствие между наборами CHORUS и COBAS; присутствовали некоторые выбросы, преимущественно в самых высоких значениях, и в случае гипервитаминоза, и эти результаты не повлияли на клиническую полезность анализа; в исследовании мы не включали образцы с визуальным гемолизом.

Хотя Экспертный комитет Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по биологической стандартизации установил стандарт 03/178 в качестве международного стандарта для сывороточного витамина B12 и сывороточного фолата для стандартизации анализов сывороточного витамина B12 и фолата¹⁴, и было продемонстрировано соответствие между некоторыми анализами, специалисты лабораторий и врачи должны знать, что могут существовать некоторые расхождения между методами анализа и различия в пороговых значениях.¹³

Было показано, что анализы на витамин B12 и фолат (CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE) хорошо, точно и надежно определяют содержание витамина B12 и фолата в сыворотке крови человека. Линейность в пределах калибровочного диапазона и отсутствие

помех от других веществ в сыворотке делают эти анализы надежными в клинической практике для определения дефицита витаминов. Простая в использовании полностью автоматизированная система, которая снижает вмешательство оператора и минимизирует вероятность ошибок, может представлять собой дополнительное преимущество для снижения вариабельности анализов.

Значение для общественного здравоохранения

Как в детстве, так и во взрослом возрасте дефицит витамина B12 и фолиевой кислоты связан с патологическими проявлениями, такими как неврологические симптомы у детей и метаболический синдром у взрослых. Поэтому, учитывая клиническую важность витамина B12 и фолиевой кислоты, необходимо точно определять их уровень в сыворотке крови, особенно при наличии симптомов, которые могут указывать на их нарушение. Количественное определение витамина B12 и фолиевой кислоты — широко используемый тест; наличие автоматизированного, быстрого и простого в использовании теста обеспечивает значительное преимущество для общественного здравоохранения, снижая вероятность ошибок при ручном определении и вариабельность результатов анализа.

Наборы CHORUS VIT B12 и CHORUS FOLATE — это два автоматизированных теста для количественного определения витамина B12 и фолиевой кислоты. Эти тесты оказались точными и надежными для определения витамина B12 и фолиевой кислоты соответственно и могут стать полезным инструментом для клинической практики.

Приложение

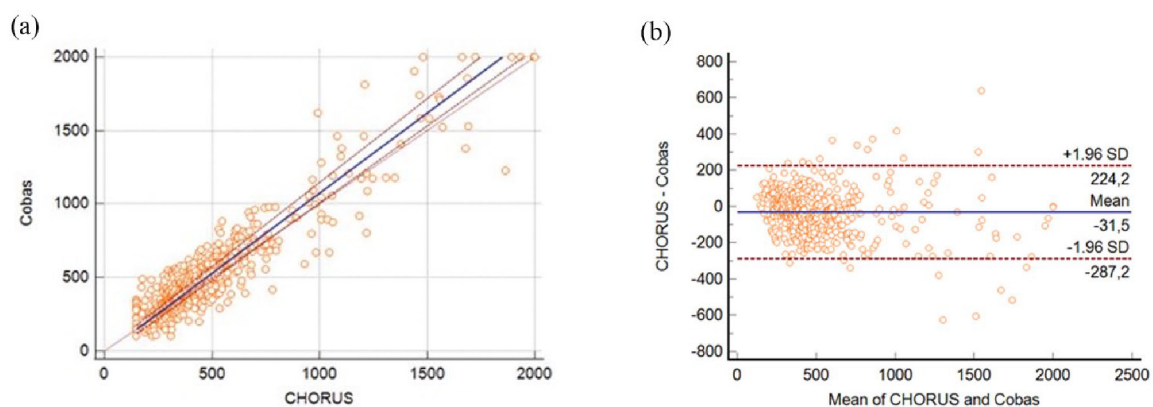


Рис. 1. Графики сравнения Баблока (а) и Бланда-Альтмана (нижний предел -287,1887 и верхний предел 224,1931) (б) между наборами CHORUS VIT B12 и COBAS.

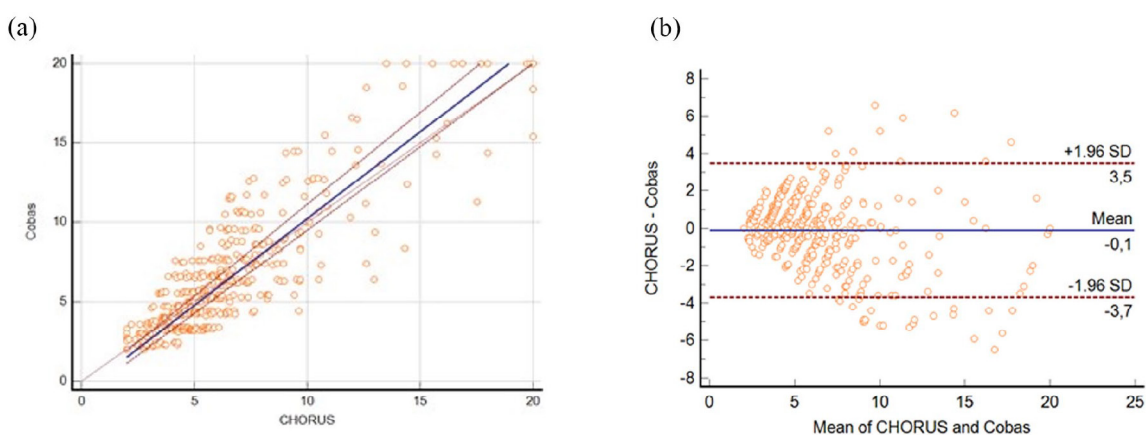


Рис. 2. Диаграмма Баблока (а) и диаграмма Бланда-Альтмана (нижний предел -3,7002 и верхний предел 3,4710) (б) сравнения наборов CHORUS FOLATE и COBAS.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Shane B. Folate and vitamin B12 metabolism: overview and interaction with riboflavin, vitamin B6, and polymorphisms. *Food Nutr Bull* 2008; 29: S5–16.
2. Baumgartner M. Vitamin-responsive disorders: cobalamin, folate, biotin, vitamins B1 and E. *Handb Clin Neurol* 2013; 113: 1799–1810.
3. O’Leary F and Samman S. Vitamin B12 in health and disease. *Nutrients* 2010; 2: 299–316.
4. Luccock M. Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 121–138.
5. Kozyraki R and Cases O. Vitamin B12 absorption: mammalian physiology and acquired and inherited disorders. *Biochimie* 2013; 95: 1002–1007.
6. Ashok T, Puttam H, Tarnate VCA, et al. Role of vitamin B12 and folate in metabolic syndrome. *Cureus* 2021; 13: 20211006.
7. Ferraro S, Verduci E, Zuccotti G, et al. Reverse cascade testing from newborn screening: the opportunity to improve family healthcare outcomes. *Clin Chem Lab Med* 2023; 2023; 62: e16–e18.
8. NICE. Active B12 assay for diagnosing vitamin B12 deficiency, 2015.
9. Sobczyńska-Malefora A and Harrington DJ. Laboratory assessment of folate (vitamin B(9)) status. *J Clin Pathol* 2018; 71: 949–956.
10. Ferraro S, Biganzoli G, Gringeri M, et al. Managing folate deficiency implies filling the gap between laboratory and clinical assessment. *Clin Nutr* 2022; 41: 374–383.
11. Ferraro S and Panteghini M. Folate and vitamin B12 assays after recalibration to the WHO International Standard 03/178: making the interpretation as simple as possible, but not simpler. *Clin Chem Lab Med* 2019; 57: 1112–1114.
12. Pierson-Perry J. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures, 2012.
13. İspir E, Serdar MA, Ozgurtas T, et al. Comparison of four automated serum vitamin B12 assays. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53: 1205–1213.
14. Thorpe SJ, Heath A, Blackmore S, et al. International Standard for serum vitamin B(12) and serum folate: international collaborative study to evaluate a batch of lyophilised serum for B(12) and folate content. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45: 380–386.



West Medica Produktions- und Handels- GmbH
Brown-Boveri-Straße 6, B17-1, 2351 Wiener Neudorf, Austria
tel.: +43 (0) 22 36 89 24 65, fax: +43 (0) 22 36 89 24 64
vienna@westmedica.com, www.westmedica.com

West Medica
ул. Шереметьевская, 85, стр. 5, Москва, 129075
тел.: +7 (495) 787-44-01, горячая линия: +7 (800) 100-14-20
moscow@westmedica.com, www.westmedica.ru