1. Klinische Indikation

Analyt: **Holotranscobalamin (aktives Vitamin B12)**

Die Bestimmung von Holotranscobalamin im Serum dient der Diagnose eines Vitamin B12-Mangels. Holotranscobalamin ist ein Komplex, der aus Vitamin B12 und dem Transportprotein Transcobalamin besteht. Nur in dieser an Transcobalamin gebundenen Form ist das zirkulierende Vitamin B12 biologisch verwertbar, Holotranscobalamin entspricht somit dem biologisch aktiven Vitamin B12.
Bei der Bestimmung des Gesamt-Vitamin B12 im Serum wird hingegen auch die biologisch inaktive Form (an Haptocorrin gebundenes Vitamin B12), welche den größten Anteil des zirkulierenden Vitamin B12 ausmacht, erfasst. Deshalb kann das Gesamt-Vitamin B12 im Serum noch referenzwertig sein, wohingegen bereits eine Erniedrigung des Holotranscobalamin-Spiegels nachweisbar ist. Holotranscobalamin ist somit geeigneter Frühmarker einer Vitamin B12-Mangelversorgung.
Einschränkung: Bei Nierenfunktionsstörung kann trotz normwertiger Holotranscobalamin-Serumspiegel ein funktioneller Vitamin B12-Mangel bestehen.

Personen mit erhöhtem Risiko für die Entwicklung/das Vorhandensein eines Vitamin B12-Mangels:

- höheres Lebensalter
- Malnutrition: Vegetarier/Veganer oder Alkoholiker
- schwangere und stillende Frauen
- Patienten mit ungeklärten peripher- und/oder zentralnervösen Symptomen (Parästhesien, Störung der Tiefensensibilität, Ataxien, Paresen)
- Patienten mit ungeklärten psychiatrischen Symptomen (Apathie, Desorientiertheit, organische Psychose, Demenz)
- Vorliegen einer Anämie
- Patienten mit Autoimmunerkrankungen (z.B. M. Crohn)
- Z.n. Ileumresektion
- Personen mit Nierenerkrankungen
- Vorliegen einer Malabsorption durch Mangel an Intrinsic Factor (Autoimmun-Gastritis, Z.n. Gastrektomie, Magen-Karzinom, H. pylori Infektion), langfristige Einnahme säurehemmender Arzneimittel wie Protonenpumpen-Hemmer
- Infektion mit Darmparasiten

Die Bestimmung des Holotranscobalamins im Serum ist zudem zur Therapiekontrolle einer medikamentösen Vitamin B12-Substitution bei nachgewiesenem Vitamin B12-Mangel indiziert.

2. Anforderung / Befundmitteilung

Anforderung	Elektronisch mittels Lauris Laboranforderungssystem
DKGNT-Nummer /-Punkte	A4062/ 480
Probenart, -volumen	Serum, Monovette braun, mind. 1 ml.
Versand	Ungekühlt, bis 1 Tag
Nachforderung nach Probengewinnung	3 Tage
Häufigkeit der Untersuchung	Montag- Freitag bis 15h
Befundmitteilung	werktags nach Validation über KAS und / oder Netzdruck

3. Anforderungen an das Untersuchungsgut

3.1 Anforderung an die Patientenvorbereitung

Die Blutentnahme sollte möglichst am nüchternen Patienten erfolgen.

3.2 Entnahme, Transport

Die Dauer der Stauung sollte 30-60 Sekunden nicht übersteigen. Nach erfolgreicher Punktion ist die Stauung zu lösen und das Blut ohne zu schnelles Aufziehen zu entnehmen.

Bei einer Blutentnahme von Serum-, EDTA-, Citratröhrchen muss das Serumröhrchen immer als erstes abgenommen werden, um eine Kontamination mit den Inhaltsstoffen der anderen beiden Röhrchen zu vermeiden.

Blutentnahmen aus Kathetern und Venenverweilkanülen sollten vermieden werden. Muss aus einem Katheter abgenommen werden, wird der Katheter zweimal mit je 5 ml physiologischer Kochsalzlösung durchgespült, 2 ml Blut sind zu verwerfen und erst dann kann die Blutentnahme für die Analytik erfolgen.

Die Proben sind schnellst möglich in das Labor zu transportieren.

Mit Azid stabilisierte Proben und Kontrollsubstanzen können nicht verwendet werden.

4. Prinzip des Untersuchungsverfahrens

4.1 Methode, Prinzip und Kurzbeschreibung der Ergebnisberechnung
Messverfahren: ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay („ECLIA")
Gerät: cobas® e 801, Roche Diagnostics
Reagenz: Active B12 Elecsys; Hersteller: Roche Diagnostics

- 1.Inkubation: 18 µL Probe, ein biotinylierter monoklonaler Anti-Holotranscobalamin-Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex markierter monoklonaler Antiranscobalamin-Antikörper bilden einen Sandwich-Komplex.
- 2. Inkubation: Nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex über Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden.
- Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt. Dort werden die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf der Oberfläche der Elektrode fixiert. Danach werden die ungebundenen Substanzen mit ProCell II M entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.

Auskünfte zur Messunsicherheit erteilen wir auf Anfrage, damit die medizinische Interpretation labordiagnostischer Ergebnisse sinnvoll und patientenorientiert erfolgen kann (siehe Homepage, Rubrik Qualitätsmanagement).

4.2 Mögliche Störfaktoren und Fehlerquellen
Die Auswirkungen der folgenden endogenen Substanzen und pharmazeutischen Verbindungen auf die Testleistung wurden überprüft. Es wurde kein Einfluss auf die Ergebnisse durch Interferenzen bis zu den aufgeführten Konzentrationen festgestellt.

Bilirubin	≤ 1129 µmol/L bzw. ≤ 66 mg/dL
Hämoglobin	≤ 0.621 mmol/L bzw. ≤ 1000 mg/dL
Intralipid	≤ 2000 mg/dL
Biotin	≤ 4912 nmol/L bzw. ≤ 1200 ng/mL
Rheumafaktoren	≤ 1200 IU/mL
Humanserumalbumin	≤ 7g/dL

Kein High-dose Hook-Effekt bei Holotranscobalamin-Konzentrationen bis 1000 pmol/L.

In seltenen Einzelfällen können Störungen durch extrem hohe Titer von Antikörpern gegen Analyt-spezifische Antikörper, Streptavidin sowie Ruthenium auftreten. Diese Einflüsse werden durch ein geeignetes Test- Design minimiert. Für diagnostische Zwecke sollten die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen gewertet werden.
Die Ergebnisse von Vitamin-B12-Tests können durch Mutationen oder Polymorphismen in Genen, die mit dem Vitamin-B12-Stoffwechselweg direkt, nur peripher oder auch gar nicht verbunden sind, beeinflusst werden.

5. Referenzbereiche

Männer/Frauen 20 – 79 Jahre: 37,5 – 188 pmol/L

Quelle: Beipackzettel des Herstellers

Bei Vorliegen von Holotranscobalamin-Konzentrationen < 35 pmol/l ist eine Vitamin-B12 Defizienz wahrscheinlich. Ein Messergebnis ≥35- 50 pmol/l („Graubereich“) schließt einen Vitamin B12-Mangel nicht aus. Konzentrationen > 50 pmol/l machen eine Vitamin B12 Defizienz unwahrscheinlich.

Quellen:

- Beipackzettel des Herstellers
- Herrmann W, Obeid R: Ursachen und frühzeitige Diagnostik von Vitamin B12-Mangel. Dtsch Arztebl 2008; 105 (40): 680–685; DOI: 10.3238/arztebl.2008.0680.
- Solomon LR. Disorders of cobalamin (vitamin B12) metabolism: Emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. Blood Rev 2007;21(3):113 – 130.
- Klingelhöfer/Berthele, Klinikleitfaden Neurologie, 5. Auflage., S. 513, 663. Urban & Fischer (Elsevier) 2015.