

 <b>AXIS-SHIELD</b> <small>Innovation for Life</small>	<b>Axis-Shield Active-B12 (Holo transcobalamin) EIA</b>			<b>es</b>
	<b>REF</b> FMABT100		 <b>IVD</b>	

**SÓLO PARA USO PROFESIONAL**

Lea los cambios resaltados, revisado en septiembre de 2019

### USO PREVISTO

El análisis de la Axis-Shield Active-B12 (Holo transcobalamin) es un ensayo inmunoenzimático (EIA) para la determinación cuantitativa de la holo transcobalamina (HoloTC) en el suero humano. La HoloTC (vitamina B<sub>12</sub> unida a la transcobalamina) se utiliza de forma auxiliar para el diagnóstico y el tratamiento de la carencia de vitamina B<sub>12</sub>.

### INTRODUCCIÓN

Existen tres proteínas de unión implicadas en el transporte de la vitamina B<sub>12</sub> en el organismo: el factor intrínseco (FI), la transcobalamina (TC) y la haptocorrina (HC). Estas proteínas de unión aseguran la incorporación eficaz de cantidades muy pequeñas de vitamina B<sub>12</sub> presentes en la dieta. Cuando la TC y la HC se unen a la vitamina B<sub>12</sub>, los complejos resultantes se conocen como holo transcobalamina (HoloTC) y holo haptocorrina (HoloHC) para distinguirlas de las proteínas que no llevan asociada ninguna vitamina.

La fracción principal en la circulación, la HoloHC, representa el 70 - 90% de la vitamina B<sub>12</sub>, pero es inerte desde el punto de vista biológico. La HoloTC supone tan solo el 10 - 30% de la vitamina B<sub>12</sub> que circula por la sangre, pero es la única forma de vitamina B<sub>12</sub> que pueden incorporar las células del organismo. La proteína TC por sí misma transporta la vitamina B<sub>12</sub> desde su punto de absorción en el íleon hasta los tejidos y las células. A continuación, la vitamina se asimila como complejo HoloTC (vitamina B<sub>12</sub> unida a la transcobalamina) a través de una incorporación específica mediada por receptores. Este proceso suministra vitamina B<sub>12</sub> a las células del organismo y proporciona la vitamina en forma de coenzima para realizar las funciones celulares esenciales, como la síntesis de ADN.





Como la HoloTC posee una semivida en circulación más corta que la de la HoloHC, la primera alteración que tiene lugar cuando ocurre un balance negativo de vitamina B<sub>12</sub> es muy probable que sea un descenso de la concentración sérica de HoloTC<sup>1</sup>.



La medida de la B<sub>12</sub> total en suero tiene algunas limitaciones, en concreto, que la mayor parte de la cobalamina medida está unida a la HC biológicamente inerte. Se han publicado algunos estudios que concluyen que la HoloTC sería un indicador mejor del estado de la vitamina B<sub>12</sub> que la B<sub>12</sub> total en suero<sup>2,3</sup>. Como es esperable, los niveles de holoTC son bajos en los pacientes con signos bioquímicos de carencia de vitamina B<sub>12</sub><sup>4</sup>. Asimismo, se han referido valores reducidos en personas vegetarianas<sup>5</sup>, vegetarianas estrictas<sup>6</sup>, y en poblaciones con un consumo reducido de vitamina B<sub>12</sub><sup>7</sup>. Sobre todo, se han referido niveles bajos en suero de HoloTC, pero no de B<sub>12</sub> total, en pacientes con enfermedad de Alzheimer, en comparación con los niveles del grupo de referencia de personas sanas<sup>8</sup>. Los niveles de HoloTC reflejan el estado de la vitamina B<sub>12</sub>, con independencia de la absorción reciente de la vitamina<sup>9</sup>.

### PRINCIPIOS DEL ANÁLISIS

Los pocillos de microtitulación están recubiertos con un anticuerpo monoclonal altamente específico para la B<sub>12</sub> activa (holo transcobalamina). Durante la primera incubación, la holo transcobalamina en suero se une específicamente a la superficie recubierta con el anticuerpo. En la segunda incubación el conjugado se une a cualquier holo transcobalamina capturada. Entonces, se lavan los pocillos para eliminar los componentes no unidos. La holo transcobalamina unida se detecta mediante incubación con el sustrato. Se añade la solución de parada para detener la reacción, lo que produce un producto final de color. La concentración de holo transcobalamina en pmol/L está directamente relacionada con el color generado y se puede estimar por interpolación en una curva dosis-respuesta obtenida con calibradores.

### COMPONENTES DEL KIT

<b>CONJ</b>	1 x 15 mL	Anticuerpo monoclonal murino de la transcobalamina humana marcado con fosfatasa alcalina en tampón Tris con estabilizador de proteína. Conservante: <0,1% (p/v) azida sódica. <b>Listo para usar.</b>	
<b>SUBS</b>	1 x 15 mL	Solución tampón de para-nitrofenil fosfato (pNPP). <b>Listo para usar.</b> No exponer a la luz durante el almacenamiento. <b>N.B. ADVERTENCIA</b>	 
<b>SOLN STOP</b>	1 x 15 mL	Hidróxido de sodio 1M, (pH >10). <b>Listo para usar.</b> <b>N.B. PELIGRO</b>	
<b>BUF WASH 8X</b>	2 x 25 mL	Tampón fosfato. Conservante: 0,72% (p/v) azida sódica. <b>Diluir antes de usar. N.B. ADVERTENCIA</b>	
<b>MTP 8X12</b>	12 x 8 tiras con pocillos de microtitulación (separables)	Recubiertas con anticuerpo monoclonal murino antiholo transcobalamina, en un envase de papel de aluminio resellable con desecante.	

<b>CAL A</b> - <b>CAL F</b>	6 x 1.0 mL	Cal A es un tampón fosfato con estabilizador de proteína (bovina). Conservante: <0,1% (p/v) azida sódica. Cals B-F son tampones fosfato con estabilizador de proteína (bovina) que contienen holoTC. Conservante: <0,1% (p/v) azida sódica. <b>Listo para usar. No exponer a la luz durante el almacenamiento. VÉANSE LAS CONCENTRACIONES EN LAS ETIQUETAS DE LOS VIALES.</b>	
<b>CONTROL L</b> <b>CONTROL H</b>	1 x 1.0 mL 1 x 1.0 mL	Tampón fosfato con estabilizador de proteína (bovina) que contiene holoTC. Conservante: <0,1% (p/v) azida sódica. <b>Listo para usar. No exponer a la luz durante el almacenamiento.</b>	
<b>PRE-TREATMENT</b>	1 x 25 mL	Tampón citrato. Conservante: <0,1% (p/v) azida sódica. <b>Listo para usar</b>	

## ESTANDARIZACIÓN

Actualmente no existe ningún método ni material de referencia reconocido internacionalmente para la estandarización. Los calibradores de la B12 activa (holotranscobalamina) de Axis-Shield pueden trazarse a los estándares de referencia internos que se sometieron a una asignación única.

## ALMACENAMIENTO DE LOS REACTIVOS

### Estabilidad del kit (una vez abierto)

Se abrió y reutilizó un kit en tres ocasiones durante un periodo de tres meses sin ningún efecto negativo sobre su rendimiento. Después del uso, los componentes deben conservarse de nuevo a una temperatura de 2 - 8 °C.

### Estabilidad del kit (antes de abrirlo)

A una temperatura de 2-8 °C, los componentes sin abrir son estables hasta la fecha que se indica en las etiquetas.

### Notas sobre la manipulación y el procedimiento

1. Guardar los componentes del kit a una temperatura entre 2 °C y 8 °C y utilizarlos hasta la fecha de caducidad que aparece en las etiquetas. No utilizar reactivos caducados.
2. Todos los lotes de reactivos y calibradores han sido estandarizados para producir la reacción adecuada. No intercambiar reactivos o calibradores de un lote a otro.
3. Las concentraciones del calibrador se muestran en las etiquetas de los viales y pueden variar entre los lotes.
4. No congelar los kits.
5. El concentrado de tampón de lavado debe diluirse antes del uso. Todos los demás reactivos están listos para usar.
6. El tampón de lavado diluido es estable durante al menos 3 meses si se evita la contaminación microbiana. Después de cada uso, volver a conservarlos a 2 - 8 °C.
7. Volver a colocar las tiras de microtitulación sobrantes (sin utilizar) en el envase de papel de aluminio con el desecante. Asegurarse de que el sellado es integral y volver a guardarlas a una temperatura de entre 2°C y 8°C, hasta que sea necesario.
8. No exponer los calibradores, los controles ni el sustrato a la luz durante el almacenamiento.
9. Evitar la contaminación de los reactivos. Utilizar una punta de pipeta desechable nueva para cada manipulación de reactivos o muestras.

### Indicios de deterioro

El sustrato debe ser entre incoloro y de un color amarillo pálido. Una coloración amarilla más oscura indica contaminación, por lo que el reactivo deberá desecharse. La turbidez o precipitación de cualquier componente indica deterioro, por lo que se deberá desechar el componente.

### Recogida y conservación de muestras

1. El análisis está recomendado para realizarse en suero humano (incluye tubos separadores de suero).
2. No utilizar muestras sumamente hemolizadas o turbias.
3. Mezclar a fondo las muestras descongeladas antes del análisis y evitar repetir el congelado-descongelado.
4. Las muestras pueden someterse a 3 ciclos de congelado-descongelado. Las muestras descongeladas deben centrifugarse a  $\geq 10.000g$  durante 5 minutos antes de analizarse.
5. No someter las muestras del coágulo o no a temperaturas superiores a la temperatura ambiente durante más de una noche ( $\leq 16$  horas).
6. Las muestras pueden conservarse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C en el coágulo durante 3 días o fuera del coágulo durante cuatro semanas; para un almacenamiento más prolongado deben conservarse fuera del coágulo a una temperatura de -20 °C hasta un máximo de 6 meses.
7. Preparar cada muestra antes del análisis añadiendo un volumen igual de solución de pretratamiento y de muestra, por ejemplo, 150  $\mu$ l de muestra y 150  $\mu$ l de pretratamiento. Las muestras pretratadas pueden almacenarse tapadas durante un máximo de 24 horas a 2 - 8°C antes del análisis.



## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

### Sólo para uso en diagnóstico *in vitro*. Precauciones de seguridad

1. Seguir estrictamente las instrucciones de este folleto, especialmente en cuanto a las condiciones de manipulación y almacenamiento.
2. No pipetear con la boca.
3. No fumar, comer, beber ni aplicarse cosméticos en las zonas donde se manipulan kits y muestras.

4. Se deben proteger debidamente todos los problemas cutáneos, cortes, abrasiones y otras lesiones cutáneas.
5. Los calibradores, los controles, el conjugado, el pretratamiento y el concentrado de tampón de lavado contienen azida sódica que puede reaccionar con el plomo y el cobre de las cañerías, formando azidas metálicas altamente explosivas. Al desechar los residuos, vaciar con agua abundante para evitar la formación de estas azidas.
6. La solución de parada contiene hidróxido de sodio. Evitar el contacto con la piel, los ojos y las membranas mucosas. Los derrames deben limpiarse con cantidades abundantes de agua. En caso de que ocurra un contacto con los ojos, enjuague con agua y acuda inmediatamente al médico.
7. Las hojas de datos de seguridad de los materiales de todos los componentes peligrosos que contiene este kit están disponibles bajo petición a Axis-Shield Diagnostics.
8. Este producto requiere la manipulación de muestras y materiales de origen humano y animal. Se recomienda considerar todos los materiales de procedencia humana y animal como potencialmente infecciosos y manipularlos conforme a la norma de la OSHA sobre Bioseguridad de nivel 2 de los patógenos de transmisión sanguínea o se deben utilizar otras prácticas pertinentes de bioseguridad para los materiales que contienen o se sospecha que puedan contener agentes infecciosos.

Precaución: Las leyes federales restringen la venta de este dispositivo a médicos o por orden facultativa.

 <b>Peligro</b>	<b>Solución de parada</b>	<u><b>ADVERTENCIA</b></u> H314 – <u><b>PREVENCIÓN</b></u> P264 – P280 – <u><b>RESPUESTA</b></u> P305+351+338 -	Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.  Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.  <b>N CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS:</b> Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 <b>Advertencia</b>	<b>Sustrato</b>	<u><b>ADVERTENCIA</b></u> H302 – H312 – H332 – <u><b>PREVENCIÓN</b></u> P260 – P271 – P280 – <u><b>RESPUESTA</b></u> P301+310 –  P304+340 –  P312 –	Nocivo en caso de ingestión. Nocivo en contacto con la piel. Nocivo en caso de inhalación.  No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Utilizar únicamente en exteriores o en un lugar bien ventilado. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.  <b>EN CASO DE INGESTIÓN:</b> Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. <b>EN CASO DE INHALACIÓN:</b> Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar.
	<b>Tampón de lavado (8X)</b>	<u><b>ADVERTENCIA</b></u> H302 – H412 – EUH032 – <u><b>PREVENCIÓN</b></u> P264 – P270 – P273 – <u><b>RESPUESTA</b></u> P301+310 –  P330 -	Nocivo en caso de ingestión. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.  Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación No comer, beber ni fumar durante su utilización. Evitar su liberación al medio ambiente.  <b>EN CASO DE INGESTIÓN:</b> Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. Enjuagarse la boca.

## PREPARACIÓN

### **Materiales y equipo necesarios pero no incluidos en el kit**

1. Lector de placa/tira de 96 pocillos con filtro de 405 nm.
2. Pipeta(s) de precisión para dispensar 100 µl. Un dispensador de 8 canales, o semejante, para dispensar aproximadamente 250-300 µl para el lavado manual (por ejemplo, el dispensador de 8 canales StatMatic de Tricontinent).
3. Cilindro de medición de vidrio o plástico: 1x200 ml.
4. Agua destilada/desionizada.
5. Toallas de papel.
6. Temporizador para intervalos de 30, 35 y 60 minutos.

### Preparación para el análisis

Dejar que todos los componentes del kit, incluidas las tiras de microtitulación, se calienten hasta entre 18 °C y 25 °C durante 30 - 60 minutos antes de su uso. Mezclar los reactivos invirtiéndolos suavemente.

Al almacenar el tampón de lavado entre 2 °C y 8 °C, precipitará (podrían verse los cristales). Antes de diluirlo en agua dejar que el tampón de lavado se caliente (se puede introducir en una estufa a 37 °C si es necesario para acelerar el proceso) hasta que **NO** haya ningún precipitado apreciable a simple vista.

Diluir el siguiente reactivo y mezclarlo completamente:

Reactivo	Volumen	Añadir
Concentrado de tampón de lavado x 8	1 vial	175 ml de agua destilada/desionizada

Calcular el número de tiras de microtitulación que necesita para el ensayo y conservar las demás en el soporte para tiras de microtitulación. Devolver las tiras sobrantes al envase de papel de aluminio resellable con el desecante y conservarlas a entre 2 °C y 8 °C hasta que sea necesario. Asegurarse de que todas las tiras quedan bien fijadas dentro del soporte para tiras de microtitulación. Los usuarios pueden numerar cada tira en el extremo superior para ayudar a la identificación. Conservar el soporte para tiras de microtitulación para utilizarlo en el futuro.

Preparar cada muestra antes del análisis añadiendo un volumen igual de solución de pretratamiento y de muestra, por ejemplo, 150 µl de muestra y 150 µl de pretratamiento. Las muestras pretratadas pueden almacenarse tapadas durante un máximo de 24 horas a 2 - 8°C antes del análisis.

### PROTOCOLO DEL ANÁLISIS

1. Establecer referencias en los pocillos para identificarlos.
2. Pipetear 100 µl de los calibradores por duplicado, de los controles del kit por duplicado y de las muestras de pacientes pretratadas (50:50) por duplicado en los pocillos pertinentes. Recordar cambiar las puntas de las pipetas entre adiciones. Este paso no debe exceder de 15 minutos.
3. Incubar durante 60 ± 10 minutos a 18 °C - 25 °C.
4. Decantar el contenido de la tira mediante inversión rápida sobre una pila adecuada para desechar los materiales biológicos, teniendo en cuenta el riesgo infeccioso potencial de las muestras. Secar bien las tiras invertidas con toallas de papel. **No lavar.**
5. Añadir 100 µl de conjugado a cada pocillo.
6. Incubar durante 35 ± 5 minutos a 18 °C - 25 °C.
7. Decantar el contenido de la tira mediante inversión rápida sobre una pila adecuada para desechar materiales biológicos. Secar bien las tiras invertidas con toallas de papel.
8. Lavar los pocillos **cinco veces** con un mínimo de 250 µl de tampón de lavado diluido. **Decantar y secar después de cada adición de lavado.**
9. Añadir 100 µl de sustrato a cada pocillo.
10. Incubar durante 30 ± 5 minutos a 18 °C - 25 °C. **No decantar.**
11. Añadir 100 µl de solución de parada a cada pocillo, en el mismo orden y velocidad que el sustrato. Golpear suavemente los pocillos para mezclar.
12. Leer las tiras a 405 nm. Leer en un intervalo de 120 minutos desde la adición de la solución de parada.

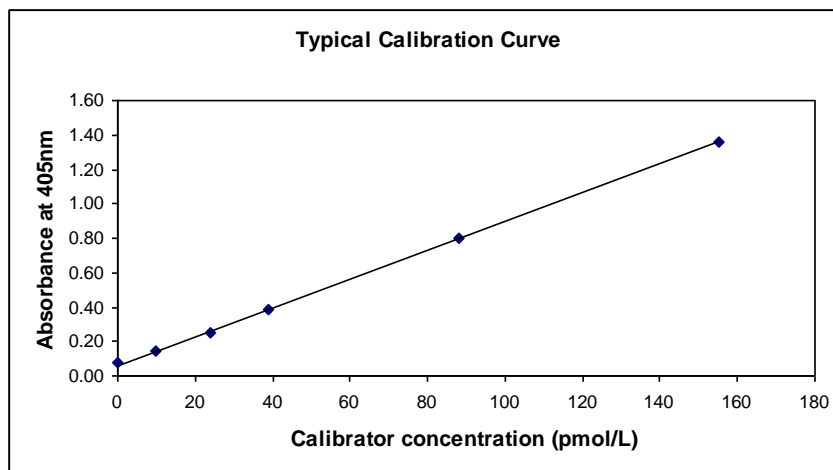
### CÁLCULO E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Representar el valor medio de la absorbancia de cada calibrador en el eje de abscisas frente a la concentración correspondiente en pmol/l del calibrador en el eje de ordenadas.

**LAS CONCENTRACIONES DEL CALIBRADOR SE MUESTRAN EN LAS ETIQUETAS DE LOS VIALES. LOS VALORES DE CONCENTRACIÓN SE ASIGNAN A CADA LOTE DE CALIBRADORES Y PUEDEN VARIAR DE UN LOTE A OTRO.**

La concentración (pmol/l) de cada muestra puede calcularse localizando el punto de la curva correspondiente al valor medio de la absorbancia de la muestra y la lectura de la concentración correspondiente en pmol/l en el eje de las ordenadas. Este procedimiento puede realizarse manualmente utilizando un papel de gráficos o con un lector de placas con software que incorpore procedimientos de ajuste de curvas. Si utiliza un lector de placas con software interno, deberá utilizar un **algoritmo de ajuste de la curva de regresión lineal.**

A continuación se muestra un trazado típico como referencia, no se debe utilizar para interpretar los resultados. Las muestras con concentraciones superiores a 128 pmol/l se encuentran fuera del rango del ensayo y deberán registrarse como >128 pmol/l y se deberán extrapolar los resultados. Las réplicas de muestras individuales que se desvíen menos del 20% pueden considerarse una indicación de la aceptabilidad del ensayo.



## RESULTADOS

### Unidad de medida

La unidad de medida del ensayo de la B12 activa (holotranscobalamina) de Axis-Shield es pmol/l.

### Intervalo de medición (rango de notificación)

El rango de notificación del ensayo es de 10 pmol/l a 128 pmol/l.

## CONTROL DE CALIDAD

Comprobar que se lleva a cabo un mantenimiento y una calibración de lector de placa apropiados de acuerdo con las instrucciones del fabricante y que se utiliza la longitud de onda (405 nm) y el algoritmo de ajuste de la curva (regresión lineal) correctos.

Los usuarios deben garantizar que están totalmente familiarizados con las instrucciones para la realización del análisis, especialmente la sección de Advertencias y Precauciones y las Notas sobre Manipulación y Procedimientos. Antes de notificar los resultados de la prueba del paciente, los usuarios deberán demostrar que pueden obtener unas especificaciones de rendimiento sobre precisión e intervalo notificable de los resultados de la prueba comparables con las establecidas por el fabricante. Los controles inferior y superior listos para el uso del kit deben analizarse por duplicado en todos los ensayos para vigilar la calidad del procedimiento de análisis.

Dando por sentado que se cumplen las especificaciones de precisión descritas por el fabricante, el hecho que un control no cumpla las especificaciones de control que aparecen a continuación invalida el análisis y no se deben comunicar los resultados del paciente. El operario puede repetir el análisis, tras haber revisado el procedimiento, o ponerse en contacto con el distribuidor/fabricante. Para repetir el análisis, preparar una dilución nueva de cada muestra. Los laboratorios pueden incluir controles internos en cada realización del análisis si así lo desean. Almacenar dicho material de control a una temperatura de -20 °C o inferior y evitar los ciclos repetidos de congelación/descongelación. Los conservantes, como p. ej. la azida sódica <0,1% (p/v), no afectarán a los resultados de las muestras.

Deben calcularse los intervalos de referencia y los valores límite apropiados para las poblaciones específicas atendidas por los usuarios.

### Especificaciones de control

	Inferior	Superior
Especificación (media del duplicado)	De 15 a 35 pmol/l	De 36 a 84 pmol/l

## VALORES PREVISTOS

Se analizaron 135 muestras de suero de donantes asintomáticos, aparentemente sanos, con edades comprendidas entre 18 y 75 años y con una representación similar de hombres [n = 65] y de mujeres [n = 70], con la prueba de la Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) EIA.

La concentración media global de la B12 activa (holotranscobalamina) para esta población fue de 72 pmol/l (intervalo de 15 a 147 pmol/l).

Basándose en los datos de esta población de referencia, el intervalo de referencia (el 95% de los resultados centrados) es:

<b>Intervalo de referencia</b> 21 – 123 pmol/L
---

Este intervalo de referencia se sugiere únicamente como guía y cada laboratorio debe determinar su propio intervalo de referencia adecuado para la población a la que atiende, en función de los factores geográficos, de los pacientes, de los factores alimenticios, medioambientales y de la práctica clínica.

## DATOS SOBRE EL RENDIMIENTO

Datos representativos; los datos pueden variar en cada laboratorio.

### Linealidad de la dilución

Basándose en un estudio realizado con la guía del Documento EP6-A del CLSI<sup>10</sup>, el análisis de la Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) EIA demostró su linealidad entre entre 5,3 y 156,0 pmol/L.

### Exactitud

Se llevó a cabo un estudio de correlación con muestras séricas de adultos aparentemente sanos. Todas las muestras fueron analizadas utilizando el análisis de la Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA y una prueba de la holotranscobalamin disponible en el mercado, de acuerdo con el documento EP9-A2 del CLSI<sup>11</sup>. Las concentraciones de las muestras estaban en el intervalo de 13,8 a 112,8 pmol/l. Los datos obtenidos arrojaron los siguientes valores estadísticos:

Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA en comparación con una prueba disponible en el mercado	
Número de muestras	111
Pendiente de la línea de regresión (regresión de Passing-Bablok) (IC 95%)	0,95 (0,89 a 1,01)
Ordenada en el origen (regresión de Passing-Bablok) (IC 95%)	8,39 (5,73 a 11,77)
Coefficiente de correlación (r) (Pearson) (IC 95%)	0,93 (0,90 a 0,95)

### Precisión

Se analizaron 7 muestras de suero humano en Axis-Shield utilizando 3 lotes de reactivos. Las muestras fueron analizadas por 2 operadores en réplicas de 8, una vez al día durante 5 días (total n=80). Los datos de este estudio se resumen en la tabla siguiente:

Muestra	n	Lote	Operador	Media (pmol/l)	Intraensayo %CV	Total %CV
1 A	80	1	1	17,8	7,5%	8,2%
			2	17,5	3,1%	9,3%
		2	1	20,1	6,0%	6,6%
			2	20,3	6,9%	9,2%
		3	1	19,1	5,5%	8,0%
			2	18,9	8,5%	11,0%
2 A	80	1	1	21,8	5,5%	9,9%
			2	21,8	3,9%	7,5%
		2	1	22,6	5,6%	8,7%
			2	23,5	9,0%	10,3%
		3	1	23,9	7,0%	10,2%
			2	23,2	5,8%	8,9%
3 A	80	1	1	28,8	3,8%	7,8%
			2	30,7	4,3%	9,6%
		2	1	31,0	6,8%	8,0%
			2	31,4	4,3%	6,1%
		3	1	31,5	4,5%	6,4%
			2	32,2	4,0%	9,2%
4 A	80	1	1	49,3	3,9%	7,4%
			2	52,6	4,1%	6,7%
		2	1	50,8	5,6%	10,0%
			2	51,7	4,7%	5,9%
		3	1	52,6	4,6%	4,8%
			2	55,0	5,5%	6,1%
5 A	80	1	1	68,4	4,0%	7,6%
			2	73,2	3,7%	7,5%
		2	1	74,8	4,3%	8,2%
			2	75,9	4,6%	6,4%
		3	1	75,1	4,4%	7,9%
			2	76,3	4,9%	6,2%
7 A	80	1	1	115,9	4,2%	5,9%
			2	121,1	3,6%	7,0%
		2	1	123,2	4,3%	10,2%
			2	124,0	4,2%	6,4%
		3	1	127,0	4,8%	10,1%
			2	129,5	3,2%	5,6%
Control bajo	80	1	1	23,7	9,4%	10,9%
			2	23,8	5,1%	11,5%
		2	1	20,0	6,0%	7,5%
			2	18,6	5,8%	8,5%
		3	1	20,3	8,3%	9,7%
			2	20,1	8,3%	10,0%
Control alto	80	1	1	61,2	6,3%	6,4%
			2	58,8	4,5%	8,9%
		2	1	50,3	6,3%	8,1%
			2	50,2	5,9%	8,4%
		3	1	52,2	7,7%	9,2%
			2	50,8	5,8%	8,5%

### **Límite de blanco**

En un estudio representativo, las determinaciones del límite de blanco se realizaron usando dos muestras de holotranscobalamina de nivel bajo y dos lotes de reactivos (120 réplicas por lote de reactivo). El límite de blanco del EIA de Axis-Shield de la B12 activa (holotranscobalamina) resultó ser de 4,9 pmol/l (redondeado a la primera cifra decimal).

### **Límite de detección**

En un estudio representativo, las determinaciones del límite de detección se realizaron usando cinco muestras de holotranscobalamina de nivel bajo y dos lotes de reactivos (120 réplicas por lote de reactivo). El límite de detección del EIA de Axis-Shield de la B12 activa (holotranscobalamina) resultó ser de 8,1 pmol/l (redondeado a la primera cifra decimal).

### **Límite de cuantificación**

Se realizaron determinaciones del límite de cuantificación utilizando cinco muestras de bajo nivel de holotranscobalamina y dos lotes de reactivos (120 réplicas por cada lote de reactivo). El límite de cuantificación del EIA de Axis-Shield de la B<sub>12</sub> activa (holotranscobalamina) resultó ser de 8,3 pmol/l (redondeado a la primera cifra decimal).

### **"High Dose Hook"**

El efecto High Dose Hook es un fenómeno por el cual muestras con concentraciones muy elevadas pueden dar una lectura dentro del intervalo dinámico del ensayo. Para el EIA de Axis-Shield de la B<sub>12</sub> activa (holotranscobalamina) no se detectó ningún efecto de este tipo al analizar dos muestras con una concentración aproximada de 419 y 2236 pmol/l.

### **Reactividad cruzada**

El análisis de la Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA está diseñado para tener una desviación máxima en la concentración de holotranscobalamina de  $\leq 10\%$  en presencia de apotranscobalamina o haptocorrina.

Se llevó a cabo un estudio basado en las pautas del Documento EP7-A2<sup>12</sup> del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI). Tres muestras con niveles de holotranscobalamina repartidos en el intervalo del análisis fueron suplementadas con 500 pmol/l de apotranscobalamina o 5000 pmol/l de haptocorrina. La desviación máxima en la concentración de holotranscobalamina osciló entre -5% y 1%.

### **Interferencia**

El análisis de la Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA está diseñado para tener una desviación máxima en la concentración de holotranscobalamina de  $\leq 10\%$  en presencia de compuestos que puedan interferir.

Se llevó a cabo un estudio basado en las pautas del Documento EP7-A2<sup>12</sup> del Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI). Las muestras con niveles de holotranscobalamina en todo el intervalo del análisis fueron suplementadas con los compuestos con capacidad de interferir enumerados en la tabla siguiente. La desviación máxima en la concentración de holotranscobalamina osciló entre -10% y 8%.










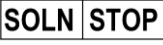





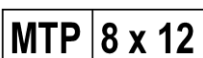
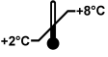
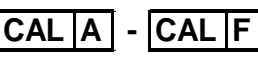


<b>Sustancia con capacidad de interferencia</b>	<b>No se encontró ninguna interferencia hasta la siguiente concentración</b>
Hemoglobina	500 mg/dL
Bilirrubina	30 mg/dL
Triglicéridos (Solución Intralipid)	3000 mg/dL
Factor reumatoide	7500 IU/dL
Proteína total	9000 mg/dL



## BIBLIOGRAFÍA

1. Nexo E. Hvas A-M. Bleie Ø *et al.* Holo-transcobalamin is an early marker of changes in cobalamin homeostasis. A randomized placebo-controlled study. *Clin Chem* 2002;48(10):1768-71
2. Valente E. Scott JM. Ueland PM *et al.* Diagnostic accuracy of holotranscobalamin, methylmalonic acid, serum cobalamin, and other indicators of tissue vitamin B12 status in the elderly. *Clin Chem* 2011;57(6):856-863
3. Nexo E. Hoffmann-Lucke E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr* 2011;94(1):359S-365S
4. Obeid R. Jouma M. Hermann W. Cobalamin status (holotranscobalamin, methylmalonic acid) and folate as determinants of homocysteine concentration. *Clin Chem* 2002;48(11):2064-5
5. Herrmann W. Schorr H. Obeid R *et al.* Vitamin B12 status, particularly holotranscobalamin II and methylmalonic acid concentrations and hyperhomocysteinemia in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 2003;78:131-6
6. Lloyd-Wright Z. Hvas A-M. Moller J *et al.* Holotranscobalamin as an indicator of dietary vitamin B12 deficiency. *Clin Chem* 2003;49(12):2076-8.
7. Refsum H. Yajnik CS. Gadkari M *et al.* Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr* 2001;74:233-41
8. Refsum H. Smith AD. Low Vitamin B12 status in confirmed Alzheimer's disease as revealed by serum holotranscobalamin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:959-61
9. Chen X. Remacha AF. Sarda MP *et al.* Influence of cobalamin deficiency compared with that of cobalamin absorption on serum holo-transcobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2005;81:110-14
10. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. NCCLS document EP6-A. Wayne, PA: NCCLS; 2003.
11. The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Second Edition*. NCCLS Document EP9-A2. Wayne, PA: NCCLS; 2002.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP7-A2. Wayne, PA: CLSI; 2005.

## CLAVE DE LOS SÍMBOLOS

	Producto sanitario de diagnóstico <i>in vitro</i>		Control inferior
	Número de catálogo		Control superior
	Lote		Conjugado
	96 pruebas		Sustrato
	Precaución		Solución de parada
	Consulte las instrucciones de uso		Pretratamiento
	Proteger de la luz		Tampón de lavado
	Fecha de caducidad		Tiras de microtitulación (separables)
	Almacenar entre 2 °C y 8 °C		Calibradores A a F
	Solo con receta médica		Fabricado por



**Axis-Shield Diagnostics Ltd.,**  
**The Technology Park,**  
**Dundee,**  
**DD2 1XA, UK**  
 Tel: +44 (0) 1382 422000  
 Fax: +44 (0) 1382 422088  
 e-mail: axd.axis-shield@alere.com  
 Web: www.axis-shield.com



EC Authorized Representative:

Medical Device Safety Service GmbH  
 (MDSS)  
 Schiffgraben 41,  
 30175 Hannover,  
 Germany

Tel.: + (49) 511 6262 8630  
 Fax: + (49) 511 6262 8633

Ver: 2019/09