

 AXIS-SHIELD <small>Innovation for Life</small>	Axis-Shield Active-B12 (Holo transcobalamin) EIA		 IVD	pt
	REF FMABT100	 <small>96</small>		

APENAS PARA UTILIZAÇÃO PROFISSIONAL

Leia as alterações realçadas revisto em Setembro de 2019

INDICAÇÕES

O ensaio Axis-Shield Active-B12 (Holo transcobalamin) é um imunoensaio enzimático (EIA) para a determinação quantitativa da holo transcobalamina (HoloTC) no soro humano. A HoloTC (vitamina B₁₂ ligada à transcobalamina) é utilizada como uma ajuda no diagnóstico e no tratamento da deficiência de vitamina B₁₂.

INTRODUÇÃO

Três proteínas de ligação estão envolvidas no transporte da vitamina B₁₂ por todo o corpo - o factor intrínseco (FI), a transcobalamina (TC) e a haptocorrina (HC). Estas proteínas de ligação asseguram a captação eficiente das quantidades muito pequenas de vitamina B₁₂ disponibilizadas pela dieta. Quando a TC e a HC se ligam à vitamina B₁₂, os complexos resultantes são conhecidos como holo transcobalamina (HoloTC) e holohaptocorrina (HoloHC) para as distinguir das proteínas que não transportam vitamina.

A fracção principal na circulação, a HoloHC, representa 70-90% da vitamina B₁₂ no sangue, mas é biologicamente inerte. A HoloTC representa apenas 10-30% da vitamina B₁₂ que circula no sangue, mas é a única forma de vitamina B₁₂ que pode ser captada pelas células no corpo. A proteína TC por si só transporta vitamina B₁₂ do seu local de absorção no íleo para os tecidos e as células. A vitamina é, então, incorporada na forma do complexo HoloTC (vitamina B₁₂ ligada à transcobalamina) através de uma captação específica mediada por receptores. Este processo fornece vitamina B₁₂ às células do corpo e proporciona a vitamina na forma de uma co-enzima para as funções celulares essenciais, tais como a síntese do ADN.





Como a HoloTC possui uma semi-vida de circulação mais curta comparativamente com a HoloHC, é provável que a alteração a ocorrer primeiro ao entrar no balanço negativo de vitamina B₁₂ seja uma diminuição na concentração sérica da HoloTC¹.


A medição da B₁₂ sérica total sofre de algumas limitações, em particular, a maioria da cobalamina medida está ligada a HC biologicamente inerte. Foram publicados vários estudos que concluem que a HoloTC seria um melhor indicador do estado da vitamina B₁₂ do que a B₁₂ sérica total^{2,3}. Conforme previsto, os níveis de HoloTC são baixos em doentes com sinais bioquímicos de deficiência de vitamina B₁₂⁴. Foram comunicados valores baixos em vegetarianos⁵, veganos⁶ e em populações com uma ingestão baixa de vitamina B₁₂⁷. Notavelmente, foram comunicados níveis baixos de HoloTC mas não de B₁₂ sérica total em doentes com doença de Alzheimer comparativamente com os níveis no grupo de controlo saudável⁸. Os níveis de HoloTC reflectem o estado da vitamina B₁₂, independentemente da absorção recente da vitamina⁹.

PRINCÍPIO DO ENSAIO

Os poços de microtitulação são revestidos com um anticorpo monoclonal altamente específico para Active-B12 (Holo transcobalamin). Durante a primeira incubação, a holo transcobalamina sérica liga-se especificamente à superfície revestida com anticorpo. Na segunda incubação, o conjugado liga-se a toda a holo transcobalamina capturada. Os poços são depois lavados para remover componentes não ligados. A holo transcobalamina ligada é detectada pela incubação com o substrato. A reacção termina por adição da solução de paragem, resultando num produto final colorido. A concentração de holo transcobalamina em pmol/L está directamente relacionada com a cor gerada e pode ser calculada por interpolação a partir de uma curva de dose-resposta baseada nos calibradores.

COMPONENTES DO KIT

CONJ	1 x 15 mL	Anticorpo monoclonal murino marcado com fosfatase alcalina para a transcobalamina humana em tampão Tris com estabilizador de proteínas. Conservante: azida de sódio a < 0,1% (p/v). Pronto a utilizar.	
SUBS	1 x 15 mL	p-nitrofenil-fosfato (pNPP), solução tampão. Pronto a utilizar. Não expor à luz durante a conservação. OBS.: ATENÇÃO	
SOLN STOP	1 x 15 mL	Hidróxido de sódio 1M, (pH >10). Pronto a utilizar. OBS.: PERIGO	
BUF WASH 8X	2 x 25 mL	Tampão fosfato. Conservante: azida de sódio a 0,72% (p/v). Diluir antes de utilizar. OBS.: ATENÇÃO	
MTP 8X12	Tiras de microtitulação (separáveis) com 12 x 8 poços	Revestidos com anticorpo monoclonal murino anti-holo transcobalamina, num invólucro de alumínio com dissecante e selo reutilizável.	
CAL A - CAL F	6 x 1.0 mL	O calibrador A é um tampão fosfato com estabilizador (bovino) de proteínas. Conservante: azida de sódio a < 0,1% (p/v). Os calibradores B-F são tampão fosfato com estabilizador (bovino) de proteínas contendo HoloTC. Conservante: azida de sódio a < 0,1% (p/v). Pronto a utilizar. Não expor à luz durante a conservação. PARA CONCENTRAÇÕES VER RÓTULOS DOS FRASCOS.	

CONTROL L	1 x 1.0 mL	Tampão fosfato com estabilizador (bovino) de proteínas contendo HoloTC. Conservante: azida de sódio a < 0,1% (p/v). Pronto a utilizar. Não expor à luz durante a conservação.	
CONTROL H	1 x 1.0 mL		
PRE-TREATMENT	1 x 25 mL	Tampão citrato. Conservante: azida de sódio a < 0,1% (p/v). Pronto a utilizar.	

NORMALIZAÇÃO

Não existe actualmente um método ou material de referência para normalização que seja internacionalmente aceite. Os calibradores Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) são rastreáveis de acordo com standards de referência internos que foram submetidos a um processo de atribuição de valor único.

CONSERVAÇÃO DOS REAGENTES

Estabilidade do kit aberto (em utilização)

Um kit foi aberto e reutilizado em três ocasiões, durante um período de três meses, sem quaisquer efeitos adversos no desempenho do kit. Após a utilização, os componentes têm de ser novamente conservados a 2-8°C.

Estabilidade do kit não aberto

Os componentes não abertos mantêm-se estáveis, a temperaturas entre 2°C e 8°C, até à data indicada nas etiquetas.

Notas sobre manuseamento e procedimentos

1. Conserve os componentes do kit a 2-8°C e utilize antes do prazo de validade indicado nos rótulos. Não utilize reagentes cujo prazo de validade tenha expirado.
2. Cada lote de reagentes e calibradores foi padronizado para produzir a reacção correcta. Não troque reagentes nem calibradores entre lotes.
3. As concentrações dos calibradores são apresentadas nos rótulos dos frascos e podem variar entre lotes.
4. Não congele os kits.
5. O concentrado de tampão de lavagem deve ser diluído antes da sua utilização. Todos os outros reagentes estão prontos a utilizar.
6. O concentrado de tampão de lavagem diluído permanece estável durante pelo menos 3 meses se for evitada uma contaminação microbiana. Voltar a conservar a 2-8°C depois de cada utilização.
7. Volte a colocar as tiras de microtitulação excedentes (não utilizadas) no invólucro de alumínio com o dessecante. Assegure-se de que o selo está intacto e volte a colocar a 2-8°C, até que sejam novamente necessárias.
8. Não exponha os calibradores, os controlos e o substrato à luz durante a conservação.
9. Evite a contaminação dos reagentes. Utilize uma ponta de pipeta descartável nova para cada reagente ou cada manipulação da amostra.

Indicadores de deterioração

O substrato deve ser incolor ou apresentar uma coloração amarelo pálido. Uma coloração de amarelo mais escuro indica contaminação e o reagente deve ser eliminado. Turvação ou precipitação de qualquer componente é indicadora de deterioração, devendo o componente ser eliminado.

Colheita e conservação da amostra

1. Este ensaio é recomendado para soro humano (incluindo tubos separadores de soro).
2. Não utilize amostras claramente hemolisadas ou turvas.
3. Misture cuidadosamente amostras descongeladas antes do ensaio e evite repetir o processo de congelamento/descongelamento.
4. As amostras podem ser submetidas a 3 ciclos de congelamento/descongelamento. As amostras descongeladas devem ser centrifugadas a ≥ 10.000 g durante 5 minutos antes do ensaio.
5. Não exponha as amostras *on-the-clot* e *off-the-clot* a temperaturas superiores à temperatura ambiente por um período superior a uma noite (≤ 16 hours).
6. As amostras podem ser conservadas a temperaturas de 2-8°C, durante 3 dias no estado *on-the-clot* e durante quatro semanas no estado *off-the-clot*. Para períodos de armazenamento superiores, as amostras têm de ser conservadas em estado *off-the-clot*, a -20°C por um período máximo de 6 meses.
7. Prepare cada amostra antes do ensaio adicionando um volume igual de pré-tratamento à amostra, p. ex., 150 μ L de amostra mais 150 μ L de pré-tratamento. As amostras pré-tratadas podem ser conservadas tapadas durante até 24 horas a 2-8°C antes do ensaio.



ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*. Precauções de segurança

1. Siga rigorosamente as instruções nesta brochura, em particular as relativas a condições de manuseamento e conservação.
2. Não faça pipetagem com a boca.
3. Não fume, coma, beba nem aplique cosméticos em áreas onde os kits e as amostras são manuseados.
4. Quaisquer problemas de pele, cortes, abrasões e outras lesões cutâneas devem ser devidamente protegidos.
5. Os calibradores, os controlos, o conjugado, o pré-tratamento e o concentrado de tampão de lavagem contêm azida de sódio que pode reagir com a canalização de chumbo e cobre, formando azidas de metal altamente explosivas. Ao eliminar os resíduos, escoe com grandes quantidades de água para prevenir a acumulação de azidas.

6. A solução de paragem contém hidróxido de sódio. Evitar o contacto com a pele, os olhos e as membranas mucosas. O derramamento pode ser limpo com quantidades abundantes de água. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.
7. Estão disponíveis fichas de segurança dos materiais para todos os componentes perigosos incluídos neste kit mediante solicitação à Axis-Shield Diagnostics.
8. Este produto envolve o manuseamento de espécimes e materiais de origem humana e animal. Recomenda-se que todos os materiais de origem humana e animal sejam considerados potencialmente infecciosos e sejam manuseados de acordo com o Standard da OSHA para Patógenos de Transmissão Sanguínea de Biossegurança Nível 2, ou que sejam usadas outras práticas de biossegurança adequadas para materiais que contenham ou se suspeite conterem agentes infecciosos.

Atenção: A Lei Federal restringe a venda deste dispositivo a apenas mediante solicitação de um médico.

 Perigo	Solução de paragem	<p><u>ATENÇÃO</u> H314 –</p> <p><u>PREVENÇÃO</u> P264 – P280 –</p> <p><u>RESPOSTA</u> P305+351+338 -</p>	<p>Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.</p> <p>Lavar mãos cuidadosamente após manuseamento. Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.</p> <p>SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.</p>
 Atenção	Substrato	<p><u>ATENÇÃO</u> H302 – H312 – H332 –</p> <p><u>PREVENÇÃO</u> P260 – P271 – P280 –</p> <p><u>RESPOSTA</u> P301+310 – P304+340 – P312 -</p>	<p>Nocivo por ingestão. Nocivo em contacto com a pele. Nocivo por inalação.</p> <p>Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. Utilizar apenas ao ar livre ou em locais bem ventilados. Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial.</p> <p>EM CASO DE INGESTÃO: contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração. Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.</p>
	Tampão de lavagem (8X)	<p><u>ATENÇÃO</u> H302 – H412 – EUH032 –</p> <p><u>PREVENÇÃO</u> P264 – P270 – P273 –</p> <p><u>RESPOSTA</u> P301+310 – P330 -</p>	<p>Nocivo por ingestão. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.</p> <p>Lavar mãos cuidadosamente após manuseamento. Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. Evitar a libertação para o ambiente.</p> <p>EM CASO DE INGESTÃO: contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Enxaguar a boca.</p>

PREPARAÇÃO

Materiais/Equipamento necessários mas não fornecidos

1. Leitor de tira/placa de 96 poços com filtro de 405 nm.
2. Pipeta(s) de precisão para dispensar 100 µL. Um dispensador de 8 canais, ou similar, para dispensar aproximadamente 250-300 µL para a lavagem manual (por exemplo, o dispensador de 8 canais StatMatic da Tricontinent).
3. Cilindro de medição de vidro/plástico 1×200 mL.
4. Água destilada/desionizada.
5. Toalhas de papel.
6. Temporizador para intervalos de 30, 35 e 60 minutos.

Preparação para o ensaio

Permita que todos os componentes do kit, incluindo as tiras de microtitulação, aqueçam até temperaturas de 18-25°C, durante 30-60 minutos antes de utilizar. Misture os reagentes por inversão cuidadosa.

Quando conservado a 2-8°C, o tampão de lavagem precipita (podem ser visíveis cristais). Antes de diluir em água, permita que o tampão de lavagem aqueça (pode ser colocado num incubador a 37°C, se necessário, a fim de acelerar o processo) até que

NENHUMA precipitação seja evidente a olho nú.

Dilua o seguinte reagente e misture cuidadosamente:

Reagente	Volume	Adicionar
Concentrado de tampão de lavagem x 8	1 frasco	175 ml de água destilada/desionizada

Calcule o número de tiras de microtitulação necessárias para o presente ensaio e fixe-as no suporte de tiras de microtitulação. Volte a colocar as tiras excedentes no invólucro de alumínio com selo reutilizável com o dissecante e conserve a 2-8°C até serem novamente necessárias. Assegure-se de que todas as tiras estão firmemente fixas ao suporte de tiras de microtitulação. Os utilizadores poderão optar por numerar cada tira ao longo da margem superior para facilitar a sua identificação. Guarde o suporte de tiras de microtitulação para utilização futura.

Prepare cada amostra antes do ensaio adicionando um volume igual de pré-tratamento à amostra, p. ex., 150 µL de amostra mais 150 µL de pré-tratamento. As amostras pré-tratadas podem ser conservadas tapadas durante até 24 horas a 2-8°C antes do ensaio.

PROTOCOLO DE ENSAIO

1. Marque os poços para fins de identificação.
2. Pipete 100 µL de calibradores em duplicado, controlos do kit em duplicado e amostras pré-tratadas (50:50) do doente em duplicado nos poços apropriados. Não esqueça de mudar as pontas das pipetas entre pipetagens. Este passo não deve exceder 15 minutos.
3. Proceda a incubação durante 60±10 minutos a 18-25°C.
4. Decante os conteúdos das tiras por inversão rápida para um lavatório adequado para a eliminação de materiais biológicos, tendo em conta o potencial risco infeccioso das amostras. Seque bem as tiras invertidas com toalhas de papel. **Não lavar.**
5. Adicione a cada poço 100 µL de conjugado.
6. Proceda a incubação durante 35±5 minutos a 18-25°C.
7. Decante os conteúdos das tiras por inversão rápida para um lavatório adequado para a eliminação de materiais biológicos. Seque bem as tiras invertidas com toalhas de papel.
8. Lave os poços **cinco vezes** com um mínimo de 250 µL de tampão de lavagem diluído. **Decante e seque após cada adição de lavagem.**
9. Adicione a cada poço 100 µL de substrato.
10. Proceda a incubação durante 30±5 minutos a 18-25°C. **Não decante.**
11. Adicione 100 µL de solução de paragem a cada poço, pela mesma ordem e velocidade da adição de substrato. Bata os poços suavemente para misturar.
12. Efectue a leitura das tiras a 405 nm. Efectue a leitura no prazo de 120 minutos a partir da adição da solução de paragem.

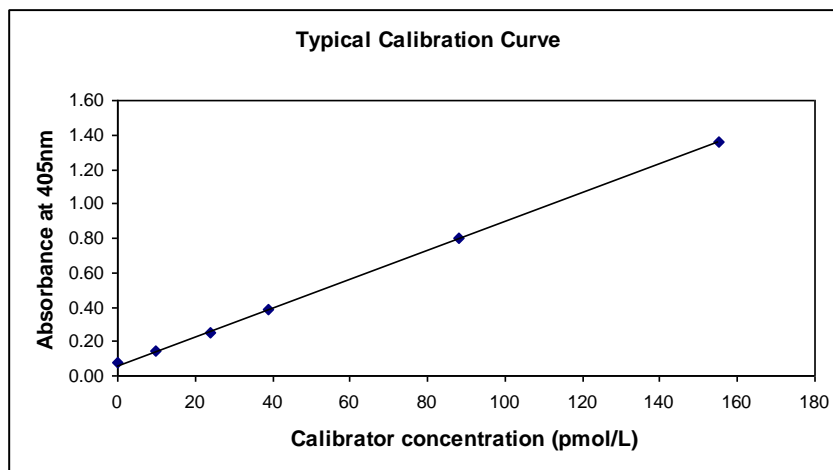
CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Lance o valor médio de absorvância de cada calibrador no eixo y em função da respectiva concentração em pmol/l no eixo x.

AS CONCENTRAÇÕES DOS CALIBRADORES SÃO APRESENTADAS NOS RÓTULOS DOS FRASCOS. OS VALORES DE CONCENTRAÇÃO SÃO ATRIBUÍDOS A CADA LOTE DE CALIBRADORES E PODEM VARIAR ENTRE LOTES.

A concentração (pmol/l) de cada amostra pode ser calculada, localizando o ponto na curva correspondente ao valor de absorvância média da amostra e fazendo a leitura da concentração correspondente em pmol/l no eixo das abcissas (x). Este procedimento pode ser efectuado manualmente usando um gráfico em papel ou utilizando um leitor de placas com software que incorpora procedimentos de ajuste de curvas. Se for utilizado um leitor de placas com software interno, deve ser utilizado um **algoritmo de ajuste de curvas de regressão linear**.

Abaixo está representado um gráfico de calibração típico que não deve ser usado para interpretação de resultados mas apenas para efeitos ilustrativos. Amostras com concentrações superiores a 128 pmol/l estão fora dos limites do ensaio, devendo ser registadas como >128 pmol/l e os resultados não podem ser extrapolados. Replicados de amostras individuais com desvio inferior a 20% podem ser utilizadas para indicar aceitabilidade do ensaio.



RESULTADOS

Unidade de medida

A unidade de medida para o ensaio Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) é a pmol/l.

Intervalo de medição (limites reportáveis)

O intervalo de medição do ensaio situa-se entre as 10 pmol/l e as 128 pmol/l.

CONTROLO DE QUALIDADE

Assegure-se de que são efectuadas manutenção e calibração adequadas do leitor de placas, de acordo com as instruções do fabricante, e que são empregues o comprimento de onda (405 nm) e o algoritmo de ajuste de curva (regressão linear) correctos.

Os utilizadores devem certificar-se de que estão completamente familiarizados com as instruções do ensaio, particularmente com a secção de Advertências e Precauções e as Notas sobre manuseamento e procedimentos. Os utilizadores devem demonstrar que conseguem obter especificações de desempenho de precisão e intervalos de resultados de testes documentáveis, comparáveis com os estabelecidos pelo fabricante, antes de documentar resultados de testes em doentes. O controle de baixa e alta prontos a utilizar devem ser testados em duplicado em todos os ensaios para monitorizar a qualidade do procedimento de teste.

Assumindo que as especificações de precisão descritas pelo fabricante são cumpridas, caso qualquer controlo não cumpra as especificações abaixo indicadas, o ensaio deve ser considerado inválido e os resultados do doente não poderão ser documentados. O operador pode repetir o ensaio, após revisão do procedimento, ou contactar o distribuidor/fabricante. Se repetir o ensaio, prepare uma diluição nova para cada amostra. Os laboratórios podem optar por incluir controlos internos para cada teste de ensaio. Conserve este tipo de material de controlo a temperatura igual ou inferior a -20°C e evite ciclos repetidos de congelação/descongelação. Os conservantes, como azida de sódio a <0,1% (p/v), não afectam os resultados da amostra.

Os intervalos de referência e os valores de corte adequados devem ser calculados para as populações específicas avaliadas pelos utilizadores.

Especificações de controlo

	Baixo	Alto
Especificação (média do duplicado)	15 a 35 pmol/L	36 a 84 pmol/L

VALORES PREVISTOS

135 amostras de soro de dadores assintomáticos e aparentemente saudáveis, com idades compreendidas entre 18 e 75 anos, compreendendo aproximadamente números iguais de homens [n = 65] e mulheres [n = 70], foram testadas no Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA.

A média geral da concentração de Active-B12 (Holotranscobalamin) para esta população foi de 72 pmol/L (intervalo de 15 a 147 pmol/L).

Com base nos dados desta população de referência, o intervalo de referência (95% centrais dos resultados) é:

Intervalo de referência 21 – 123 pmol/L
--

Este intervalo de referência é sugerido apenas como uma orientação e cada laboratório deve estabelecer um intervalo de referência próprio que pode ser único para a população abrangida, de acordo com factores geográficos, dietéticos, ambientais, relacionados com o doente ou com a prática clínica.

DADOS DE DESEMPENHO

Dados ilustrativos; os resultados em laboratórios individuais podem ser diferentes.

Linearidade da diluição

Com base num estudo realizado sob a orientação do documento EP6-A¹⁰ do CLSI, o Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA demonstrou linearidade de 5,3 a 156,0 pmol/l. (Dados meramente representativos; os resultados de laboratórios individuais podem ser diferentes destes dados).

Precisão

Um estudo de correlação foi realizado com amostras de soro de adultos aparentemente saudáveis. Todas as amostras foram analisadas com o Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA e um ensaio disponível no mercado para holotranscobalamin de acordo com o documento EP9-A2¹¹ do CLSI. As concentrações das amostras situaram-se entre 13,8 a 112,8 pmol/l. Os dados obtidos forneceram os seguintes valores estatísticos:

Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamin) EIA versus um ensaio disponível no mercado	
Número de amostras	111
Declive da linha de regressão (regressão de Passing-Bablok) (IC de 95%)	0,95 (0,89 a 1,01)
Intercepção sobre Y (regressão de Passing-Bablok) (IC de 95%)	8,39 (5,73 a 11,77)
Coefficiente de correlação (r) (Pearson) (IC de 95%)	0,93 (0,90 a 0,95)

Precisão

7 amostras de soro humano foram analisadas no Axis-Shield usando 3 lotes de reagentes. As amostras foram analisadas por 2 operadores em 8 replicados, uma vez por dia durante 5 dias (n=80). Os dados deste estudo estão resumidos na tabela seguinte:

Amostra	n.º	Lote	Operador	Média (pmol/l)	% de CV intra-ensaio	% de CV total
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%
Controlo baixo	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%

Controlo 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%

Limite de branco

Num estudo representativo, foram efectuadas determinações do limite de branco utilizando duas amostras de holotranscobalamina de concentração baixa e dois lotes de reagentes (120 replicados por lote de reagente). Verificou-se que o limite de branco do EIA Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) era de 4,9 pmol/l (arredondado à primeira casa decimal).

Limite de detecção

Num estudo representativo, foram efectuadas determinações do limite de detecção utilizando cinco amostras de holotranscobalamina de concentração baixa e dois lotes de reagentes (120 replicados por lote de reagente). Verificou-se que o limite de detecção do EIA Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) era de 8,1 pmol/l (arredondado à primeira casa decimal).

Limite de quantificação / Sensibilidade funcional

As determinações do limite de quantificação foram efectuadas utilizando cinco amostras de holotranscobalamina de concentração baixa e dois lotes de reagentes (120 replicados por lote de reagente). Verificou-se que o limite de quantificação do EIA Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) era de 8,3 pmol/l (arredondado à primeira casa decimal).

Efeito de gancho de dose elevada ("High Dose Hook")

O efeito de gancho de dose elevada é um fenómeno em que amostras com níveis muito elevados podem ter leituras dentro do intervalo dinâmico do ensaio. Com o EIA Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina), não foi detectado efeito de gancho de dose elevada em duas amostras com uma concentração de aproximadamente 419 e 2236 pmol/l.

não foi detectado qualquer efeito de gancho de dose elevada ao analisar diluições em série de uma amostra com uma concentração de aproximadamente 2236 pmol/L.

Reactividade cruzada

O Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) EIA foi concebido para assumir um desvio máximo na concentração de holotranscobalamina de $\leq 10\%$ na presença de apotranscobalamina ou haptocorrina.

Foi efectuado um estudo tendo por base as orientações do documento EP7-A2¹² do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Três amostras com níveis de holotranscobalamina ao longo do intervalo de medição foram suplementadas com 500 pmol/L de apotranscobalamina ou 5000 pmol/L de haptocorrina. O desvio máximo na concentração de holotranscobalamina situou-se entre -5% e 1%.

Interferência

O Axis-Shield Active-B12 (Holotranscobalamina) EIA foi concebido para assumir um desvio máximo na concentração de holotranscobalamina de $\leq 10\%$ na presença de compostos potencialmente interferentes.
















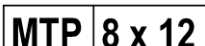




Foi efectuado um estudo tendo por base as orientações do documento EP7-A2¹² do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Amostras com níveis de holotranscobalamina ao longo do intervalo de ensaio foram suplementadas com os compostos potencialmente interferentes listados na tabela abaixo. O desvio máximo na concentração de holotranscobalamina situou-se entre -10% e 8%.

Substância potencialmente interferente	Interferência não encontrada até à concentração seguinte
Hemoglobina	500 mg/dl
Bilirrubina	30 mg/dl
Triglicérido (solução intra-lipídica)	3000 mg/dl
Factor reumatóide	7500 IU/dl
Proteína total	9000 mg/dl

BIBLIOGRAFIA

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.

EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS

	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Controle de baixo
	Número de catálogo		Controle alta
	Lote		Conjugado
	96 testes		Substrato
	Cuidado		Solução de paragem
	Consultar as instruções de utilização		Pré-tratamento
	Proteger da luz		Tampão de lavagem
	Prazo de validade		Tiras (separáveis) de microtitulação
	Conservar a 2-8°C		Calibradores A a F
	Apenas para utilização mediante receita 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