

# MAGLUMI<sup>®</sup> Vitamina B12 (CLIA)

## USO INDICADO

El kit es un inmunoensayo por quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de Vitamina B12 en suero humano usando el analizador de inmunoensayo por quimioluminiscencia totalmente automático de la serie MAGLUMI (se incluyen Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8)

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La vitamina B<sub>12</sub>, también denominada cobalamina, es una vitamina hidrosoluble que desempeña un papel clave en el funcionamiento normal del cerebro y del sistema nervioso a través de la síntesis de mielina (mielinogénesis) y la formación de glóbulos rojos. Es una de las ocho vitaminas B. Participa en el metabolismo de cada célula del cuerpo humano, afectando en especial la síntesis de ADN, el metabolismo de ácidos grasos y de aminoácidos<sup>1-2</sup>. No hay hongos, plantas ni animales (incluidos los seres humanos) que sean capaces de producir vitamina B12. Solo las bacterias y las arqueas tienen las enzimas necesarias para su síntesis<sup>3</sup>. Algunas fuentes importantes de B12 son los productos de origen animal (carne, mariscos), los productos alimenticios fortificados y los suplementos dietéticos. La B12 es la vitamina más grande y más complicada estructuralmente y puede ser producida industrialmente por medio de síntesis de fermentación bacteriana, que normalmente se usa para elaborar B12 para alimentos fortificados y suplementos. También puede ser producida sintéticamente a través de la síntesis total de la vitamina B12<sup>4</sup>.

La deficiencia de vitamina B12 es más comúnmente causada por su ingesta reducida, pero también puede ser el resultado de la malabsorción, de determinados trastornos intestinales, de la baja presencia de proteínas vinculantes y del uso de ciertos medicamentos. La vitamina B12 es escasa en los vegetales, por lo que los vegetarianos tienen más probabilidades de sufrir de deficiencia de vitamina B12. Los bebés corren un mayor riesgo de deficiencia de vitamina B12 si nacieron de madres vegetarianas. Los ancianos que tienen dietas con poca carne o productos de origen animal son también poblaciones vulnerables. La deficiencia de vitamina B12 puede suceder entre el 40 % y el 80 % de la población vegetariana que no consuma también un suplemento de vitamina B12<sup>5</sup>.

La deficiencia de vitamina B12 puede causar daño grave e irreversible, especialmente al cerebro y al sistema nervioso<sup>6</sup>. En niveles levemente inferiores a los normales, pueden experimentarse una variedad de síntomas como fatiga, letargia, depresión, memoria deficiente, dificultad respiratoria, dolor de cabeza y palidez de la piel, entre otros, en especial en adultos mayores (mayores de 60 años) que producen menos jugo gástrico a medida que envejecen, lo que aumenta la probabilidad de deficiencia de vitamina B12. La deficiencia de vitamina B12 también puede causar síntomas de manía y psicosis<sup>7-8</sup>.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de Vitamina B12 es un inmunoensayo competitivo por quimioluminiscencia.

Se agregan la muestra (o calibrador/control, si procede), el diluyente y el búfer, y se incuban. Luego añada la proteína ligadora de VB12 marcada con ABEI, incube, y se formarán inmunocomplejos. Después añada las microperlas magnéticas recubiertas con antígeno VB12 purificado y deje incubar. La VB12 presente en la muestra (o calibrador/control, si corresponde) compite con la VB12 inmovilizada en las microperlas magnéticas por un número limitado de sitios de unión en la proteína ligadora de VB12 marcada con ABEI. Después de la precipitación en un campo magnético, decante el sobrenadante, luego realice un ciclo de lavado. Posteriormente, se agrega el Sustrato 1+2 para iniciar una reacción quimioluminiscente rápida. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU, por sus siglas en inglés), las cuales son inversamente proporcionales a la concentración de VB12 presente en la muestra (o calibrador/control, si procede).

## COMPONENTES DEL KIT

### Material proporcionado

Componentes	Contenido	100 pruebas (REF.: 130213002M)	50 pruebas (REF.: 130613002M)
<b>Microperlas magnéticas</b>	Microperlas magnéticas recubiertas con antígeno VB12, que contienen BSA, NaN <sub>3</sub> (<0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
<b>Calibrador bajo</b>	Contiene BSA y antígeno VB12, NaN <sub>3</sub> (<0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
<b>Calibrador alto</b>	Contiene BSA y antígeno VB12, NaN <sub>3</sub> (<0,1 %).	3,0 ml	2,0 ml
<b>Búfer</b>	0,4 mol/l de NaOH.	15,0 ml	15,0 ml
<b>Marca de ABEI</b>	Proteína vinculante de VB12 marcada con ABEI, que contiene BSA, NaN <sub>3</sub> (<0,1 %).	12,5 ml	7,5 ml
<b>Diluyente</b>	Búfer fosfato, NaN <sub>3</sub> (<0,1 %).	15,0 ml	15,0 ml
<b>Control de calidad interno</b>	Contiene BSA y antígeno VB12, NaN <sub>3</sub> (<0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml
<b>Agente 1 de liberación de la muestra</b>	DTT (30,0 mg, liofilizadas)	1 frasco	1 frasco

### Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

Módulo de reacción	REF.: 630003
Iniciador 1 + 2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.:130299005M
Comprobación de luz	REF.:130299006M
Vaso de reacción	REF: 130105000101

Por favor, realice los pedidos de los accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

## CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método ha sido estandarizado con el Primer Estándar Internacional 03/178 de la OMS.

El test de prueba de calibradores específicos permite que los valores RLU se ajusten a la curva maestra asignada. Los resultados se determinan

mediante una curva de calibración que es específica del instrumento y generada por una calibración de 2 puntos, y se proporciona una curva maestra (10 calibraciones) mediante el reactivo CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID, por sus siglas en inglés).

Se recomienda la recalibración si se produce cualquiera de las siguientes condiciones:

- Después de cada cambio de lotes (reactivo o sustrato 1+2).
- Cada semana o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de requerir servicio del instrumento.
- Si los controles se encuentran fuera del rango esperado.

## CONTROL DE CALIDAD

Respete la frecuencia de control de calidad que se señale en las regulaciones gubernamentales o en los requisitos de autorización.

El control de calidad interno solo corresponde para el sistema MAGLUMI y Biolumi. Para obtener instrucciones de uso y el valor diana, consulte la **Información de control de calidad de Vitamina B12 (CLIA)**. El usuario debe juzgar los resultados según sus propias normas y conocimientos.

Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema y las tendencias de la tabla, se requieren materiales de control de calidad disponibles en el mercado que cubran al menos dos niveles (alto y bajo) de analito. Trate todas las muestras de control de calidad con las mismas medidas aplicables a las muestras del paciente. El nivel satisfactorio de rendimiento se obtiene cuando los valores obtenidos del analito se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, tal cual queda determinado por un plan adecuado de control de calidad interno del laboratorio. Si los resultados del control de calidad no están dentro de los valores previstos ni dentro de los valores establecidos por el laboratorio, no informe los resultados. Lleve a cabo lo siguiente:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Compruebe que se haya llevado a cabo el servicio de mantenimiento requerido.
- Asegúrese de que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Repita el ensayo con muestras de control de calidad nuevas.
- Si es necesario, póngase en contacto con sus distribuidores o técnicos locales para recibir asistencia.

## OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- Utilice tubos de muestreo estándares o tubos que contengan gel de separación. Recoja la sangre asépticamente siguiendo las precauciones universales para venopunción.
- Asegúrese de que se haya efectuado la formación completa del coágulo en las muestras de suero antes de llevar a cabo la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de los pacientes que reciben tratamiento anticoagulante o trombolítico, pueden presentar un mayor tiempo de coagulación.
- Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Las muestras no deben contener fibrina ni otro material particulado.
- No use muestras hemolizadas o sumamente lipémicas ni muestras que contengan material particulado o que tengan una evidente contaminación microbiana. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimine las burbujas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Evite repetir los ciclos de congelamiento y descongelamiento. La muestra sérica se puede congelar y descongelar solo una vez. Las muestras deben mezclarse cuidadosamente después de la descongelación.
- Las muestras centrifugadas con una capa lipídica en la parte superior deben ser trasladadas a un recipiente para muestras o a un tubo secundario. Debe tenerse cuidado en transferir únicamente la muestra aclarada sin el material lipémico.
- Todas las muestras (muestras de los pacientes y controles) deben ser analizadas dentro de las 3 horas siguientes tras ser instaladas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio SNIBE para un análisis más detallado de las limitaciones de almacenamiento de muestras del sistema.
- La muestra que ha estado a temperatura ambiente por más de 8 horas no puede volver a utilizarse.
- Las muestras removidas del separador, las células o los coágulos se pueden almacenar hasta por 48 horas a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.
- La muestra de suero con alta concentración de proteína (>90 g/l) no puede ser utilizada para realizar las pruebas. Esto es porque la alta dosis de proteína bloqueará la aguja.
- Las muestras se pueden almacenar hasta por 1 mes congeladas a -20 °C o a temperaturas inferiores. Las muestras almacenadas deben mezclarse bien antes de su uso (mezclador Vórtex).
- Antes del envío de las muestras, se recomienda que estas se retiren del separador de suero, los glóbulos rojos o coágulos. Cuando se despachan, las muestras deben ser envasadas y etiquetadas de acuerdo con las regulaciones estatales, federales e internacionales aplicables al transporte de muestras clínicas y sustancias infecciosas. Las muestras deben ser enviadas congeladas.
- El volumen de muestra requerido para una sola determinación de Vitamina B12 es 100 µl.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

### IVD

- Para uso diagnóstico in vitro.
- Siga las instrucciones del folleto cuidadosamente. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si se presenta cualquier desviación de las instrucciones de este prospecto.

### Precauciones de seguridad

- **ATENCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras de origen humano. Se recomienda que todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y deben manejarse de acuerdo con la norma 29 CFR 1910.1030 sobre Exposición ocupacional a patógenos de transmisión hemática. Se deben utilizar prácticas de Bioseguridad Nivel 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para los materiales que contienen o se sospecha que contienen agentes infecciosos
- Todas las muestras, los reactivos y los materiales biológicos utilizados en el ensayo deben ser considerados como potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben ser eliminados de conformidad con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y cumpla con los requisitos reglamentarios vigentes.
- Este producto contiene azida sódica. La eliminación del contenido y de los recipientes debe realizarse conforme a todas las normas locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a petición.

### Precauciones de manipulación

- No utilice los kits de reactivos después de la fecha de caducidad.
- No intercambie los componentes de reactivos de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit requiere ser mezclado para volver a dejar en estado de suspensión las microperlas magnéticas que se han asentado durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre la mezcla de las microperlas magnéticas, consulte la sección de Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, utilice guantes limpios cuando manipule un kit de reactivos y las muestras.
- Con el tiempo, pueden secarse líquidos residuales en la superficie del diafragma. Estas son generalmente sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.
- Para una discusión detallada de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenado a entre 2 °C y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Abierto a entre 2 °C y 8 °C: La estabilidad mínima es de 4 semanas.
- Dentro: La estabilidad es de 4 semanas.
- Para asegurar el mejor desempeño del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador tras finalizar el trabajo de prueba del día.
- Mantenga el kit en posición vertical durante el almacenamiento para facilitar la resuspensión posterior adecuada de las microperlas magnéticas.
- Mantenga el kit lejos de la luz solar.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

### Preparación del agente 1 de liberación de la muestra

- El agente 1 de liberación de la muestra se proporciona en forma liofilizada. El frasco que contiene el agente 1 de liberación de la muestra liofilizada debe abrirse con cuidado y debe reconstituirse con 1 ml de diluyente (caja D).
- Cubra el tapón de la botella y agite suavemente para evitar que se produzcan burbujas.
- Dejar reposar durante 3 minutos el agente liberación de la muestra disuelta.
- Transferir el agente 1 de liberación de la muestra disuelta a la caja D y girarla lentamente hacia arriba y hacia abajo 10 veces para que quede bien mezclado.
- Después de su uso, los kits que incluyan el agente 1 de liberación de la muestra disuelta deben almacenarse a una temperatura entre 2 y 8 °C en posición vertical.

### Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza automáticamente cuando el kit se carga correctamente, asegurando que las microperlas magnéticas estén totalmente resuspendidas de manera homogénea antes de su uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

## DILUCIÓN

En este kit de reactivos no está disponible la dilución de las muestras mediante el analizador.

Las muestras con concentraciones superiores al intervalo de medición pueden diluirse manualmente. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Por favor, elija diluyentes aplicables o solicite asesoría a SNIBE antes de una dilución manual.

## LIMITACIONES

- Para obtener resultados confiables es necesaria una técnica habilidosa y el apego estricto a las instrucciones.
- La contaminación bacteriana o la inactivación por el calor de las muestras puede afectar los resultados del test.
- Un resultado dentro del rango esperado no descarta la presencia de enfermedades y debe ser interpretado junto con otros procedimientos de diagnóstico.
- Los resultados del test se informan cuantitativamente. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad no debe basarse en el resultado de un único test, sino que debe determinarse en relación con los resultados clínicos en asociación con el juicio médico.
- Cualquier decisión terapéutica también debe tomarse caso por caso.
- Las muestras de pacientes con anticuerpos humanos antirratón (HAMA, *Human Anti-Mouse Antibodies*) pueden arrojar valores erróneos elevados o disminuidos. Aunque se añaden agentes neutralizantes de HAMA, las concentraciones séricas extremadamente altas de HAMA pueden influir ocasionalmente en los resultados.

## RESULTADOS

### Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de Vitamina B12 en cada muestra por medio de una curva de calibración que es generada por un procedimiento de curva maestra de calibración de 2 puntos. Los resultados se expresan en pg/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

### Interpretación de los resultados

Los rangos esperados para el ensayo de Vitamina B12 se obtuvieron mediante el análisis de 180 personas sanas en China, y arrojaron los siguientes valores de referencia: 200 – 1100 pg/ml (percentiles 2,5° y 97,5°); deficiencia de VB12 <200 pg/ml.

Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en el método de prueba y en la población. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios intervalos esperados.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

### Precisión

La precisión del ensayo de Vitamina B12 se determinó de conformidad con CLSI EP5-A2. Se analizaron 3 controles y 3 *pools* de suero humano con diferente concentración de analito, en duplicado en dos ejecuciones independientes por día, durante 20 días de prueba. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	Media (pg/ml) (N = 80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		DE (pg/ml)	% CV	DE (pg/ml)	% CV	DE (pg/ml)	% CV
Pool 1 con suero	200,440	11,779	5,88	7,652	3,82	14,046	7,01
Pool 2 con suero	1102,935	35,533	3,22	24,883	2,26	43,379	3,93
Pool 3 con suero	1499,221	40,090	2,67	26,767	1,79	48,204	3,22
Control 1	386,291	17,083	4,42	17,297	4,48	24,311	6,29
Control 2	511,972	19,890	3,89	7,074	1,38	21,192	4,14
Control 3	746,544	23,307	3,12	20,379	2,73	30,960	4,15

### Límite de blanco (LoB)

El LoB para el ensayo de Vitamina B12 es 12,5 pg/ml.

### Rango de medición

12,5 – 2000 pg/ml (definido por el límite de blanco y el máximo de la curva maestra). Los valores por debajo del límite de blanco se informan como <12,5 pg/ml. Los valores por encima del rango de medición se informan como >2000 pg/ml.

### Recuperación

El ensayo de Vitamina B12 tiene una recuperación media del 90 % – 110 %. Se agregaron dos niveles diferentes de Vitamina B12 en tres muestras, con los siguientes datos:

Muestra	Agregada (pg/ml)	Observada (pg/ml)	% de recuperación
---------	------------------	-------------------	-------------------

S1	-	143,892	/
	65,11	208,742	99,60
	841,37	1000,827	101,85
S2	-	525,155	/
	65,11	591,632	102,10
	841,37	1340,442	96,90
S3	-	1045,848	/
	65,11	1110,633	99,50
	841,37	1890,584	100,40

#### Comparación de métodos

Se analizaron un total de 100 muestras clínicas en el rango de 60,73 y 1999,31 pg/ml mediante un ensayo de Vitamina B12 (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen del siguiente modo:  
 $y = 1,009 x - 4,008$ ,  $r^2 = 0,985$ .

#### Especificidad analítica

La especificidad del ensayo se obtuvo mediante el agregado de FA (100 ng/ml) a muestras de suero en las concentraciones indicadas. No se encontraron interferencias.

#### Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 20 mg/dl
- Hemoglobina 150 mg/dl
- Triglicérido 3000 mg/dl

#### REFERENCIAS

1. Miller, Ariel; Korem, Maya; Almog, Ronit; Galboiz, Yanina (June 15, 2005). "Vitamin B12, demyelination, remyelination and repair in multiple sclerosis". *Journal of the Neurological Sciences*. 233 (1-2): 93–97.
2. Yamada, Kazuhiro (2013). "Chapter 9. Cobalt: Its Role in Health and Disease". In Astrid Sigel, Helmut Sigel and Roland K. O. Sigel. *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases. Metal Ions in Life Sciences*. 13. Springer. pp. 295–320.
3. Martens, J. H., Barg, H., Warren, M., & Jahn, D. (2002). Microbial production of vitamin B12. *Applied microbiology and biotechnology*, 58(3), 275-285.
4. Watanabe, F. (2007). Vitamin B12 sources and bioavailability. *Experimental Biology and Medicine*, 232(10), 1266-1274.
5. Pawlak, Roman; Parrott, Scott James; Raj, Sudha; Cullum-Dugan, Diana; Lucas, Debbie (1 February 2013). "How prevalent is vitamin B(12) deficiency among vegetarians?". *Nutrition Reviews*. 71 (2): 110–117.
6. Put, Nathalie M. J. van der; Straaten, Henny W. M. van; Trijbels, Frans J. M.; Blom, Henk J. (2001-04-01). "Folate, Homocysteine and Neural Tube Defects: An Overview". *Experimental Biology and Medicine*. 226 (4): 243–270.
7. Sethi, N. K., Robilotti, E., & Sadan, Y. (2005). Neurological manifestations of vitamin B-12 deficiency. *The Internet Journal of Nutrition and Wellness*, 2(1), 61-3.
8. Masalha R, Chudakov B, Muhamad M, Rudoy I, Volkov I, Wirguin I (2001). "Cobalamin-responsive psychosis as the sole manifestation of vitamin B12 deficiency". *Israeli Medical Association Journal*. 3 (9): 701–703.



#### Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.

No.23, Jinxiu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China  
 Tel.: +86-755-21536601 Fax: +86-755-28292740



#### Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany  
 Tel.: +49-40-2513175 Fax: +49-40-255726

#### EXPLICACIONES DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Límite de temperatura (Almacenar a entre 2 °C y 8 °C)		Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para		Mantener lejos de la luz solar
	Este lado hacia arriba		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Componentes del kit
	Número de catálogo		Código de lote