

METRA[®] PYD

An enzyme immunoassay for the quantitation of pyridinium crosslinks (PYD) in human urine

Enzym-Immunoassay für die Quantifizierung von Pyridinium-Crosslinks (PYD) in Humanurin

Saggio immunoenzimatico per la quantizzazione dei legami crociati di piridinio (PYD) nell'urina umana

Un essai immunoenzymatique servant à quantifier les liaisons croisées de pyridinoline (PYD) dans l'urine humaine

Enzimoinmunoanálisis para la cuantificación de los enlaces cruzados de piridinio (PYD) en orina humana

Um imunoensaio enzimático para a quantificação de ligações cruzadas piridínicas (PYD) na urina humana

En immunanalyse til kvantisering af pyridinium (PYD)-tværbindinger i human urin

Enzymimmunoanalys för kvantitering av tvärbindingar av pyridin (PYD) i mänsklig urin

Ανοσοπροσδιορισμός ενζύμου για τον ποσοτικό προσδιορισμό διασταυρώσεων πυριδινίου (PYD) στα ανθρώπινα ούρα

ENGLISH

DEUTSCH

ITALIANO

FRANÇAIS

ESPAÑOL

PORTUGUÊS

DANSK

SVENSKA

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

GUÍA RÁPIDA DE LOS PASOS DEL ENSAYO

1. Añadir 50 µL de patrones, controles y muestras diluidos en una proporción 1:10.
2. Añadir 100 µL de conjugado enzimático frío.
3. Incubar durante 3 horas \pm 10 minutos a 2–8 °C en la oscuridad.
4. Lavar 3 veces con tampón de lavado 1X.
5. Añadir 150 µL de solución sustrato de trabajo a 20–28 °C.
6. Incubar durante 60 \pm 5 minutos a 20–28 °C.
7. Añadir 100 µL de solución de parada y leer la densidad óptica a 405 nm.

USO PREVISTO

Metra® PYD es un análisis de orina que permite una determinación cuantitativa de la excreción de enlaces cruzados de piridinio como indicador de la reabsorción de colágeno de tipo I, en especial del colágeno óseo.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Aproximadamente el 90% de la matriz orgánica de los huesos está constituida por colágeno de tipo I, una proteína helicoidal triple.¹ El colágeno de tipo I de los huesos forma enlaces cruzados con moléculas específicas que proporcionan rigidez y fuerza. El colágeno de tipo I óseo maduro forma enlaces cruzados con piridinio, piridinolina (PYD) y la deoxipiridinolina (DPD).^{1,2} El PYD y la DPD se forman mediante la acción enzimática de la lisiloxidasas sobre el aminoácido lisina.³ Se liberan a la circulación durante el proceso de reabsorción ósea.²⁻⁵ Los enlaces cruzados del piridinio se excretan sin metabolizar en la orina y no se ven afectada por la dieta,⁶ lo que les hace adecuados para evaluar la reabsorción.

El hueso experimenta un proceso metabólico constante denominado remodelación.^{2,7} La remodelación consiste en un proceso de degradación, la reabsorción ósea, que está mediada por la acción de los osteoclastos, y un proceso de construcción, la formación ósea, que está mediada por la acción de los osteoblastos.^{2,7} La remodelación es necesaria para el mantenimiento y la salud general de los huesos y es un proceso estrechamente acoplado, es decir, la reabsorción y la formación se encuentran en equilibrio.⁷ En estados anómalos del metabolismo óseo, este proceso se desacopla y, cuando la reabsorción excede a la formación, provoca una pérdida neta de hueso.⁷ La determinación de productos de degradación específicos de la matriz ósea proporciona datos analíticos sobre la tasa de metabolismo óseo.^{2,4,5}

La osteoporosis es una enfermedad ósea metabólica caracterizada por una remodelación ósea anómala. Se trata de una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por una baja masa ósea y un deterioro microarquitectónico del tejido óseo, con el consiguiente incremento de la posibilidad de sufrir fracturas.⁸ El tipo más habitual de osteoporosis se produce en mujeres posmenopáusicas como consecuencia de la carencia de estrógenos producida por la interrupción de la función ovárica.⁷ El restablecimiento de los niveles premenopáusicos de estrógenos mediante terapia de reposición impide la pérdida ósea y la osteoporosis.⁷⁻⁹ Los estrógenos y una clase de compuestos conocidos como bisfosfonatos constituyen terapias antireabsorptivas que pueden utilizarse para evitar la pérdida ósea o tratar la osteoporosis.⁷⁻¹⁰ Esta última también puede ser consecuencia de alcanzar una masa ósea máxima inadecuada durante los años de crecimiento, un desequilibrio de la remodelación ósea con un exceso neto de la reabsorción, relacionado con la edad y una serie de dolencias clínicas y terapias inductoras de pérdida ósea o desequilibrios de la remodelación ósea.⁷ Entre estas últimas se cuentan enfermedades endocrinas, como el hipogonadismo, el hipertiroidismo, el hiperparatiroidismo y el hiperkortisolismo, insuficiencia renal, cánceres con metástasis óseas; enfermedades gastrointestinales relacionadas con el metabolismo nutricional y mineral, enfermedades del tejido conjuntivo, mieloma múltiple, inmovilización crónica, alcoholismo, tabaquismo y terapia crónica con heparina o corticosteroides.⁷ Otras enfermedades caracterizadas por remodelación ósea anómala son la enfermedad de Paget y las metástasis óseas.³

Para el análisis Metra PYD, se empleó tecnología con el fin de producir un anticuerpo monoclonal que demostrara su especificidad por los enlaces cruzados de piridinio.¹¹ La especificidad del anticuerpo monoclonal utilizado en el análisis Metra PYD permite una cuantificación sencilla, cómoda, reproducible y directa del PYD y la DPD en la orina.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El análisis Metra PYD es un enzoinmunoanálisis competitivo en formato de tiras de microtitulación en el que se utiliza un anticuerpo monoclonal anti-enlaces cruzados de piridinio para medir el PYD y la DPD en orina. El PYD y la DPD de la muestra compiten por el anticuerpo con el PYD recubierto en la tira. La reacción se detecta con un sustrato pNPP. Los resultados del análisis Metra PYD se corrigen para la concentración urinaria mediante creatinina.

REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS

96 análisis para entrecruzamientos de piridinio

El kit Metra PYD EIA contiene lo siguiente:

| | | |
|-----------------------------------|---|------------------------|
| A Patrones de piridinolina | Refs. 4251 - 4256 | 0,3 ml cada uno |
| B | A = 0, B = 15, C = 40, D = 100, E = 250, F = 750 nmol/L de PYD | |
| C | PYD purificada de orina humana en 10 mmol/L de ácido fosfórico con azida sódica (0,05%) como | |
| D | conservante. | |
| E | | |
| F | | |
| L Controles bajo/alto | Refs. 4257, 4258 | 0,3 ml cada uno |
| H | PYD purificada de orina humana en 10 mmol/L de ácido fosfórico con azida sódica (0,05%) como | |
| | conservante. | |
| 1 Tiras recubiertas | Ref. 4668 | 12 cada uno |
| | PYD purificado de hueso de bovino adsorbido en pocillos en tiras. | |
| 2 Solución de parada | Ref. 4702 | 15 mL |
| | NaOH 0,5N | |
| 3 Tampón de lavado 10X | Ref. 4703 | 55 mL |
| | Detergente no iónico en una solución tamponada que contiene azida sódica (0,05%) como | |
| | conservante. | |
| 4 Tampón de análisis | Ref. 4704 | 55 mL |
| | Detergente no iónico en una solución tamponada que contiene azida sódica (0,05%) como | |
| | conservante. | |
| 5 Tampón de sustrato | Ref. 4705 | 3 x 10 mL |
| | Una solución de dietanolamina y cloruro de magnesio que contiene azida sódica (0,05%) como | |
| | conservante. | |
| 6 Pastillas de sustrato | Ref. 0012 | 3 x 20 mg |
| | Fosfato de p-nitrofenil. | |
| 7 Conjugado enzimático | Ref. 4250 | 3 cada uno |
| | Anticuerpo anti-enlaces cruzados de piridinio monoclonal de ratón liofilizado conjugado con fosfatasa | |
| | alcalina con sales amortiguadoras y | |
| Tapa de placa | Ref. 0047 | 3 cada uno |

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

Micropipetas de 50–300 μ L

Material adecuado para medir 7–300 mL de líquidos

Recipiente para dilución del tampón de lavado

Probetas para la dilución de muestras, patrones y controles

Agua desionizada o destilada

Lector de placas capaz de leer a 405 nm

Software de ajuste de curva de calibración de 4 parámetros

Valores de creatinina (mmol/L) para muestras de orina

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso Diagnóstico *in vitro*.
2. Trate las muestras como material potencialmente biopeligroso. Respete las precauciones universales al manipular el contenido de este kit y las muestras de los pacientes.
3. Deseche los recipientes y el contenido no utilizado de acuerdo con la normativa internacional, nacional y local.
4. Use los reactivos suministrados como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
5. Guarde los reactivos de ensayo según lo indicado.

6. No emplee las tiras recubiertas si la bolsa está pinchada.
7. Analice cada muestra por duplicado.
8. Use ropa protectora adecuada, guantes y protección ocular/facial al manipular el contenido de este kit.
9. El NaOH 0,5N se considera corrosivo y puede provocar irritación en la piel. No lo ingiera. Evite el contacto con la piel, los ojos y la ropa. En caso de contacto, lave con agua. En caso de ingestión, solicite asistencia médica.
10. La azida sódica se utiliza como conservante. El contacto o la ingestión accidentales de tampones que contienen azida sódica pueden provocar irritación en la piel, los ojos o la boca. Emplee únicamente los tampones para los fines previstos y evite el contacto con ácidos. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Después de desecharlo, enjuague con agua abundante para evitar la acumulación de la azida.
11. El tampón de sustrato contiene dietanolamina y puede causar irritación en los ojos y en la piel con el contacto prolongado. Las áreas que entren en contacto con el tampón deben lavarse de inmediato con agua y jabón.
12. Se recomienda utilizar pipetas multicanal o pipeteros de repetición para garantizar una administración oportuna de los reactivos.
13. Para una medición exacta de las muestras, añada las muestras y los patrones con precisión. Pipetee cuidadosamente utilizando sólo equipo calibrado.
14. Diluya las muestras superiores a 750 nmol/L en tampón de análisis y repita la prueba. Incluya el factor de dilución en el cálculo final.
15. Este análisis ha sido validado para lavado manual.
16. Si no pudiera mantenerse la temperatura ambiente entre 20 y 28 °C y no fuera compatible una absorbancia > 2,0 con el lector de placas, controle el desarrollo del sustrato en los pocillos de patrón A; detenga la reacción cuando la densidad óptica alcance 1,2–1,5 y luego lea las tiras.
17. Los patrones y controles están en de ácido fosfórico 10 mmol/L. Evite el contacto con la piel, los ojos y la ropa. No lo ingiera. En caso de contacto, lave con agua. En caso de ingestión, solicite asistencia médica.
18. Los patrones de piridolina, los controles, las tiras recubiertas y las muestras de orina son sensibles a la luz. Evite la exposición prolongada a la luz, especialmente a la luz solar directa o indirecta. Almacene los reactivos en la oscuridad cuando no los utilice. Las muestras y los reactivos no se ven afectados de forma significativa por la luz artificial normal del laboratorio cuando se manipulan según lo indicado en Procedimiento de análisis.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Tampón de lavado - Véase la nota del procedimiento en la sección **PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS**

Prepare la cantidad necesaria de tampón de lavado 1X (véase la tabla de **PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS**) diluyendo un concentrado 10X de tampón de lavado con agua desionizada en una proporción 1:10. Guárdelo a 20–28 °C. Utilice el tampón de lavado 1X en las 21 días siguientes a su preparación.

Instrucciones especiales de lavado: Prepare el tampón de lavado 1X según se indica anteriormente y almacene a 2–8 °C hasta su uso.

Conjugado enzimático

Prepare el conjugado enzimático en las 2 previos a su uso. Reconstituya cada vial necesario de conjugado enzimático (véase la tabla) con 7 mL de tampón de análisis frío. Guarde el conjugado enzimático reconstituido a 2–8 °C hasta su uso.

Solución sustrato de trabajo

Ponga el tampón sustrato a 20–28 °C antes de iniciar el ensayo (se recomiendan desde dos horas hasta toda la noche). Prepare la solución de sustrato de trabajo como máximo 1 hora antes de su uso. Introduzca una pastilla de sustrato en cada frasco necesario de tampón de sustrato a 20–28 °C (véase la tabla). Deje disolver las pastillas durante 30 y 60 minutos. Agite vigorosamente las botellas para mezclar completamente.

ALMACENAMIENTO

Almacene el kit y los reactivos no utilizados a 2–8 °C.

Almacene el tampón de lavado 1 X (diluido X10) a 20–28 °C.

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

El análisis Metra PYD puede llevarse a cabo utilizando las recogidas de orina sin conservantes de la primera micción de la mañana (First Morning Void - FMV) o de la segunda micción de la mañana (Second Morning Void - SMV). Las recogidas longitudinales (por ej. cuando se evalúan los cambios de reabsorción) deberán recogerse aproximadamente a la misma hora todos los días. Para conservar la muestra de orina menos de 7 días, manténgala en la nevera a 2–8 °C; para una conservación más prolongada congélela a ≤ -20 °C. No someta la muestra a más de 3 ciclos de congelación/descongelación. Evite la exposición prolongada a la luz, especialmente a la luz solar. Durante el procesamiento sistemático, las muestras no se ven afectadas por la iluminación artificial normal del laboratorio.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Lea todo el prospecto del producto antes de iniciar el análisis.

Vea *PREPARACIÓN DE REACTIVOS* antes de continuar.

NOTA SOBRE EL PROCEDIMIENTO: El ensayo Metra PDD es sensible a las condiciones de lavado. **Toda la etapa de lavado** deberá completarse en **2 minutos**. Si **NO pudiera completarse la etapa de lavado en 2 minutos, siga las Instrucciones especiales de lavado que se encuentran en las secciones PREPARACIÓN DE REACTIVOS y Paso de lavado.**

Determine la cantidad necesaria de cada reactivo para el número de tiras que se vayan a utilizar.

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|
| Nº de tiras | 4 | 6 | 8 | 12 |
| Nº de muestras (analizadas por duplicado) | 8 | 16 | 24 | 40 |
| Conjugado enzimático (vial) | 1 | 1 | 2* | 2* |
| Sustrato (frasco) | 1 | 1 | 2* | 2* |
| Tampón de lavado 1X (mL) | 100 | 150 | 200 | 300 |

*Cuando se vaya a utilizar más de un frasco o vial, combine el contenido y mezcle antes de usarlo.

Incubación de la muestra/conjugado de enzimas

1. Diluya las muestras, los patrones y los controles en una proporción 1:10 con tampón de análisis (por ej. 50 µL de muestra + 450 µL de tampón de análisis).
2. Extraiga la estructura de pocillos de tiras y el número necesario de tiras recubiertas de la bolsa (véase la tabla). Asegúrese de que la bolsa que contenga las tiras no utilizadas quede perfectamente sellada.
3. Introduzca el número deseado de tiras recubiertas en la estructura de pocillos en tiras. Etiquete las tiras para evitar la mezcla en caso de extracción accidental de la estructura de pocillos.
4. Añada 50 µL diluidos de patrón, control o muestra a cada pocillo de las tiras recubiertas. Este paso debe completarse en 30 minutos.
5. Prepare el conjugado enzimático en las 2 previos a su uso. Reconstituya cada vial necesario de conjugado enzimático (véase la tabla) con 7 mL de tampón de análisis frío (2–8 °C). Guarde el conjugado enzimático reconstituido a 2–8 °C hasta su uso.
6. Añada 100 µL de conjugado enzimático reconstituido a cada pocillo. Cubra las tiras con la cubierta de cinta proporcionada. Incube durante 3 horas (± 10 minutos) a 2–8 °C. Dicha incubación debe efectuarse en la oscuridad.
7. Prepare la solución de sustrato de trabajo como máximo 1 hora antes de su uso. Introduzca una pastilla de sustrato en cada frasco necesario de tampón de sustrato a 20–28 °C (véase la tabla). Deje disolver las pastillas durante 30 y 60 minutos. Agite vigorosamente las botellas para mezclar completamente.

Paso de lavado

8. Prepare la cantidad necesaria de tampón de lavado 1X (véase la tabla) diluyendo de tampón de lavado 10X con agua desionizada en una proporción 1:10. Invierta/vacíe manualmente las tiras (del paso 6). Añada como mínimo 250 µL de tampón de lavado 1X a cada pocillo e invierta/vacíe manualmente las tiras. Repita dos veces más hasta un total de tres lavados. Seque vigorosamente las tiras sobre toallitas de papel después del último lavado. Mientras las tiras se encuentran invertidas, limpie cuidadosamente en fondo con una toallita de papel sin pelusas para asegurarse de que queda perfectamente limpia.

Instrucciones especiales de lavado: Ejecute la etapa de lavado como se ha indicado anteriormente, empleando tampón de lavado 1X frío (2–8 °C). Tras el último lavado, deje escurrir las tiras durante 5–10 minutos sobre toallitas de papel antes de añadir el sustrato.

Incubación del sustrato

- Añada 150 µL de solución sustrato de trabajo a cada pocillo.
- Incube durante 60 horas (\pm 5 minutos) a 20–28 °C.

Parada/lectura

- Añada 100 µL de solución de parada a cada pocillo. Añada solución de parada de la misma forma y en los mismos intervalos de tiempo que en el caso de la solución sustrato.
- Lea la densidad óptica a 405 nm. Asegúrese de que no hay burbujas grandes en los pocillos y que el fondo de las tiras está limpia. Las tiras deben leerse dentro de los **15 minutos** siguientes a la adición de la solución de parada.
- Utilice software de cuantificación con una ecuación de ajuste de curva de calibración de 4 parámetros para analizar los resultados del análisis Metra PYD.
Ecuación: $y = (A-D)/(1 + (x/C)^B) + D$
- Determine la concentración de las muestras y los controles a partir de la curva estándar.
- Los valores de control deberán estar dentro del intervalo especificado en el certificado de análisis suministrado con el kit.

CONTROL DE CALIDAD

El certificado de análisis incluido en este kit es específico de lote y ha de emplearse para verificar que los resultados obtenidos por su laboratorio son similares a los obtenidos en Quidel. Se proporcionan los valores de densidad óptica, pero deberán utilizarse únicamente a efectos orientativos. Los resultados obtenidos por su laboratorio pueden ser diferentes.

Se proporcionan los intervalos de control de calidad. Los valores de control están concebidos para verificar la validez de la curva y los resultados de las muestras. Cada laboratorio debe establecer sus propios parámetros para límites de análisis aceptables. Si los valores de control NO están dentro de los límites de aceptación de su laboratorio, los resultados del análisis deben considerarse cuestionables y las muestras tendrán que repetirse.

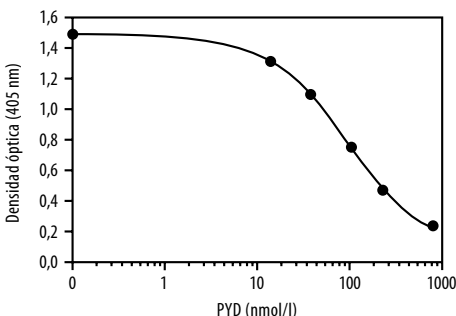
Si la densidad óptica del patrón A de Metra PYD es inferior a 0,8, los resultados deberán considerarse cuestionables y habrán de repetirse las muestras.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Deben corregirse los resultados obtenidos en el análisis Metra PYD para las variaciones de la concentración de orina dividiendo el valor de enlaces cruzados de piridinio (nmol/L) por el valor de creatinina (mmol/L) de cada muestra ($\text{mg/dL de creatinina} \times 0,088 = \text{mmol/L}$). Los resultados finales de Metra PYD se expresarán como nmol de PYD y DPD/mmol de creatinina.

Curva representativa estándar

Niveles de patrón de PYD: 0, 15, 40, 100, 250, 750 nmol/L



LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Aunque el análisis Metra PYD se utiliza como indicador de la reabsorción del colágeno de tipo I, en especial el colágeno óseo, no se ha establecido el uso de esta prueba para predecir el desarrollo de osteoporosis o el riesgo de fracturas futuras. No se ha establecido el uso de esta prueba en la menopausia, la enfermedad ósea de Paget, el hiperparatiroidismo primario ni el hipertiroidismo. Los resultados pueden verse confundidos en pacientes aquejados por dolencias clínicas de las que se sabe que afectan a la reabsorción del colágeno óseo, por ej. metástasis óseas, además de las enfermedades y dolencias indicadas anteriormente. Los resultados de Metra PYD deben interpretarse junto con los resultados clínicos y otros resultados diagnósticos.

VALORES DE LA MUESTRA

Se han establecido intervalos de referencia de Metra PYD para varones sanos (n = 118) y mujeres premenopáusicas sanas (n = 301) mayores de 25 años. A efectos de establecer los intervalos de referencia, las personas normales se definieron como:

- Básicamente sanos, sin trastornos óseos, endocrinos ni crónicos
- Ciclos menstruales regulares (mujeres)
- Sin embarazo ni en período de lactancia (mujeres)
- Que no estén tomando en la actualidad ninguna medicación que afecte al metabolismo óseo (por ej. corticosteroides, análogos de GnRH, anticonvulsivos, heparina, medicación para el tiroides).

Los valores pueden verse influidos por factores como una baja producción de estrógenos, una escasa ingesta de calcio, poca actividad física o enfermedades que afecten al metabolismo óseo, como la osteoporosis, la enfermedad de Paget, el hiperparatiroidismo, el hipertiroidismo y las metástasis óseas. La deficiencia de estrógenos en mujeres posmenopáusicas puede provocar una mayor reabsorción ósea. Se sugiere utilizar el intervalo de referencia premenopáusico para interpretar los resultados en las mujeres posmenopáusicas. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo de referencia normal. Los intervalos se expresan como intervalos de referencia no paramétricos (IC del 90%).

| Sexo | Intervalo (nmol/mmol) | Media (nmol/mmol) | DE (nmol/mmol) |
|---------|-----------------------|-------------------|----------------|
| Mujeres | 16,0 – 37,0 | 25,5 | 7,5 |
| Varones | 12,8 – 25,6 | 18,5 | 4,4 |

La variabilidad esperada en un mismo paciente se determinó a partir de muestras de orina de 49 personas sanas (26 mujeres premenopáusicas y 23 varones) recogidas durante cinco días no consecutivos a lo largo de dos semanas. El promedio de la variación longitudinal individual en una misma persona fue del 15%. La variabilidad entre pacientes se refleja en los intervalos de referencia no paramétricos mostrados anteriormente.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Especificidad del anticuerpo

El anticuerpo monoclonal anti-enlaces cruzados de piridinio presenta una afinidad selectiva y muy elevada por el PYD y la DPD libres y una unión insignificante con péptidos de PYD y DPD.

| | % Reactividad |
|---------------------|---------------|
| PYD libre | 100% |
| DPD libre | 100% |
| Péptidos de PYD/DPD | |
| ≥ 1000 PM | < 2,5% |

Sensibilidad

El límite de detección mínimo del análisis Metra PYD es de 7,5 nmol/L, determinado por el límite superior de 3 DE en un estudio de patrón cero.

Recuperación - Recuperación de concentración máxima

La recuperación de las concentraciones máximas se determinó añadiendo una cantidad conocida de PYD purificado a muestras de orina con diferentes niveles de PYD endógeno. A continuación se muestran los resultados típicos.

| Muestra | Endógeno (nmol/L) | Añadido (nmol/L) | Observado (nmol/L) | Recuperación (%) |
|---------|-------------------|------------------|--------------------|------------------|
| 1 | 16,7 | 68,2 | 84,1 | 99 |
| 2 | 71,0 | 68,2 | 140,8 | 102 |
| 3 | 141,0 | 68,2 | 215,5 | 109 |

Recuperación - Linealidad

La linealidad se determinó diluyendo en serie las muestras y comparando los valores observados con los valores esperados. A continuación se muestran los resultados típicos.

| Muestra | Factor de dilución | Observado (nmol/L) | Esperada (nmol/L) | Recuperación (%) |
|---------|--------------------|--------------------|-------------------|------------------|
| 1 | pura | 261,6 | - | - |
| | 1:2 | 127,8 | 130,8 | 98 |
| | 1:4 | 59,9 | 65,4 | 92 |
| | 1:8 | 31,1 | 32,7 | 95 |
| 2 | pura | 382 | - | - |
| | 1:2 | 183,2 | 191,0 | 96 |
| | 1:4 | 90,4 | 95,5 | 95 |
| | 1:8 | 57,9 | 57,1 | 95 |
| 3 | pura | 412,3 | - | - |
| | 1:2 | 199,0 | 206,2 | 96 |
| | 1:4 | 98,2 | 103,1 | 95 |
| | 1:8 | 47,8 | 54,5 | 98 |

Precisión

La precisión intra-análisis se determinó analizando 52 repeticiones de 3 muestras en 1 placa de cada uno de los tres lotes del kit (total, 3 placas). La precisión inter-análisis se determinó para 3 muestras analizadas en 8 placas independientes de cada uno de los tres lotes del kit (24 placas en total). La precisión intra-análisis e inter-análisis se determinó analizando 3 muestras de orina en 9 análisis diferentes. Las muestras que se presentan a continuación representan un intervalo de valores de nmol/L. Para un mujer con una creatinina de 5,0 mmol/L, las muestras 1 a 3 representan una reabsorción normal baja, normal alta y elevada (13,2 nmol/mmol, 32,0 nmol/mmol y 81,4 nmol/mmol, respectivamente).

| PYD (nmol/L) | Intra-análisis ¹ VC % | Intra-análisis ² VC % |
|--------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 66 | 9,9 | 11,2 |
| 160 | 7,0 | 5,8 |
| 407 | 6,6 | 3,9 |

¹ n = 52

² n = 8 análisis

ESTUDIOS CLÍNICOS

Se efectuaron estudios clínicos para evaluar los niveles de enlaces cruzados de piridinio en orina obtenidos mediante la utilización del análisis Metra PYD. El primer estudio se realizó en centros de investigación clínica empleando 52 muestras de voluntarios sanos y 138 muestras de pacientes con trastornos óseos conocidos (entre ellos osteoporosis, osteoporosis inducida por medicamentos, enfermedad de Paget, hiperparatiroidismo e hipertiroidismo). Estas enfermedades a menudo incluían una reabsorción elevada de colágeno óseo en el momento de la recogida de muestras.

En el estudio, el análisis Metra PYD se comparó con un método de cromatografía de líquido de alto rendimiento (High Performance Liquid Chromatography - HPLC) de investigación para medir el PYD.¹² Se determinó un umbral de HPLC, en un estudio de 84 individuos adultos sanos, de 50 nmol/mmol para los varones y de 60 nmol/mmol para las mujeres (límite superior de intervalo de confianza del 95% para cada sexo). Ciento uno de los 138 pacientes diagnosticados de alguna dolencia ósea no tenían valores elevados de PYD según se determinó mediante HPLC. Los valores de enlace cruzado de PYD en las personas sanas oscilaron entre 13,7 y 49,4 nmol/mmol y en los pacientes entre 9,8 y 135,9 nmol/mmol.

Utilizando el PYD elevado determinado mediante HPLC como método de clasificación, se empleó la técnica de característica operativa del receptor (Receiver Operating Characteristic - ROC) para definir una sensibilidad relativa y una especificidad óptimas en la población descrita. En la tabla 1 se presentan la sensibilidad relativa y la especificidad. En la figura 1 se muestra una tabla de contingencias de dos por dos en la que se indica el número de individuos dentro de cada clasificación.

Tabla 1

| Metra PYD | |
|-----------------------|-----|
| Sensibilidad relativa | 84% |
| Especificidad | 82% |

Figura 1

| | | PYD por HPLC | |
|-----------|---|--------------|-----------------|
| | | Elevada + | No elevada - |
| Metra PYD | + | 38 | 26 |
| | - | 7 | 119 |

En un segundo estudio, los resultados del análisis Metra PYD se compararon en una población mixta de 39 muestras de personas sanas y 99 muestras de pacientes con la enfermedad de Paget. Aunque la enfermedad de Paget representa un modelo para identificar la reabsorción activa del colágeno óseo, algunos de los pacientes de este estudio estaban recibiendo tratamiento o pueden haber estado en remisión y tal vez no presentarían una elevada reabsorción ósea en el momento de la recogida de muestras. En este estudio, las personas sanas oscilaron entre 12,8 y 33,2 nmol/mmol. Los pacientes con enfermedad de Paget oscilaron entre 14,4 y 667,6 nmol/mmol.

Empleando el diagnóstico de la enfermedad de Paget como método de clasificación, se utilizó la técnica de ROC para definir una sensibilidad relativa y una especificidad óptimas en esta población. En la tabla 2 se presentan la sensibilidad relativa y la especificidad. En la figura 2 se muestra una tabla de contingencia de dos por dos.

Tabla 2

| Metra PYD | |
|-----------------------|-----|
| Sensibilidad relativa | 89% |
| Especificidad | 95% |

Figura 2

| | | Diagnóstico de Paget | |
|-----------|---|----------------------|---------|
| | | Sí + | No - |
| Metra PYD | + | 88 | 2 |
| | - | 11 | 37 |

Cubierto por los números de patentes de los EE.UU. 5,620,861, 5,700,694, 6,121,002, y 5,283,197.

ASISTENCIA

Para realizar pedidos u obtener asistencia técnica, póngase en contacto con un representante de Quidel llamando a los teléfonos +1 408-616-4301 de lunes a viernes entre las 8:00 a.m. y las 5:00 p.m., hora del Pacífico. Los pedidos también pueden efectuarse por fax al número +1 408-616-4310.

Para servicios fuera de los EE.UU., póngase en contacto con su distribuidor local.

REFERENCES

LITERATURVERWEISE

BIBLIOGRAFIA

RÉFÉRENCES

REFERENCIAS

BIBLIOGRAFIA

REFERENCER

REFERENSER

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Seyedin SM, Rosen DM. Matrix Proteins of the Skeleton. *Curr.Opin.Cell Biol.* 1990;2:914-919.
2. Delmas PD. Biochemical markers for the assessment of bone turnover. In: Riggs BL, Melton LJ,III (eds): *Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management.* Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1995, pp. 319-333.
3. Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP. Urinary pyridinium crosslinks of collagen: specific markers of bone resorption in metabolic bone disease. *Trends Endocrinol.Metab.* 1992;3:263-270.
4. Delmas PD, Schlemmer A, Gineyts E, Riis B, Christiansen C. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J.Bone Miner.Res.* 1991;6:639-644.
5. Eastell R, Colwell A, Hampton L, Reeve J. Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis. *J.Bone Miner.Res.* 1997;12:59-65.
6. Colwell A, Russell RG, Eastell R. Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxypyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption. *Eur.J.Clin.Invest.* 1993;23:341-349.
7. Riggs BL. Overview of osteoporosis. *West.J.Med.* 1991;154:63-77.
8. Consensus Development Statement. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos.Int.* 1997;7:1-6.
9. The Writing Group for the PEPI Trial. Effects of hormone therapy on bone mineral density: results from the postmenopausal estrogen/progestin interventions (PEPI) trial. *JAMA* 1996;276:1389-1396.
10. Chesnut CH,III, McClung MR, Ensrud KE, et al. Alendronate treatment of the postmenopausal osteoporotic woman: Effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling. *Am.J.Med.* 1995;99:144-152.
11. Gomez B Jr, Ardakani S, Evans BJ, et al. Monoclonal antibody assay for free urinary pyridinium crosslinks. *Clin.Chem.* 1996;42:1168-1175.
12. Pratt DA, Daniloff Y, Duncan A, Robins SP. Automated analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in tissue and urine using solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Anal.Biochem.* 1992;207:168-175.
13. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.



Manufactured by
Hergestellt von
Fabbricato da
Fabriqué par
Fabricado por
Fabricado por
Tillverkare
Fremstillet a
Κατασκευαστής



Authorized Representative
Bevollmächtigter
Rappresentante autorizzato
Représentant agréé
Representante autorizado
Representante autorizado
Auktoriserad representant
Autoriseret repræsentant
Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος
στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα



Consult Instructions for Use
Gebrauchsanweisung beachten
Consultare le istruzioni per l'uso
Consulter la notice d'emploi
Consulte las instrucciones de uso
Consulte as instruções de utilização
Benyt brugsanvisninger
Läs bruksanvisningen
Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης



Temperature Limit
Temperaturlimit
Limite di temperatura
Limite de température
Limite de temperatura
Limite de temperatura
Temperaturgränser
Temperaturgrænse
Όριο θερμοκρασίας



For In Vitro Diagnostic Use
In Vitro Diagnosticum
Per Uso Diagnostico In Vitro
Usage In Vitro
Para Uso Diagnóstico In Vitro
Utilizar Apenas Em Diagnóstico In Vitro
För in-vitro diagnostiskt bruk
Til in Vitro diagnosticering
In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή



EXP



REF 8010 – Metra® PYD EIA Kit



MDSS
Burckhardtstrasse 1
30163 Hannover, Germany



Quidel Corporation
Worldwide Headquarters
10165 McKellar Court
San Diego, CA 92121 USA
www.quidel.com

QUIDEL®

0315E501 (2006/08)