

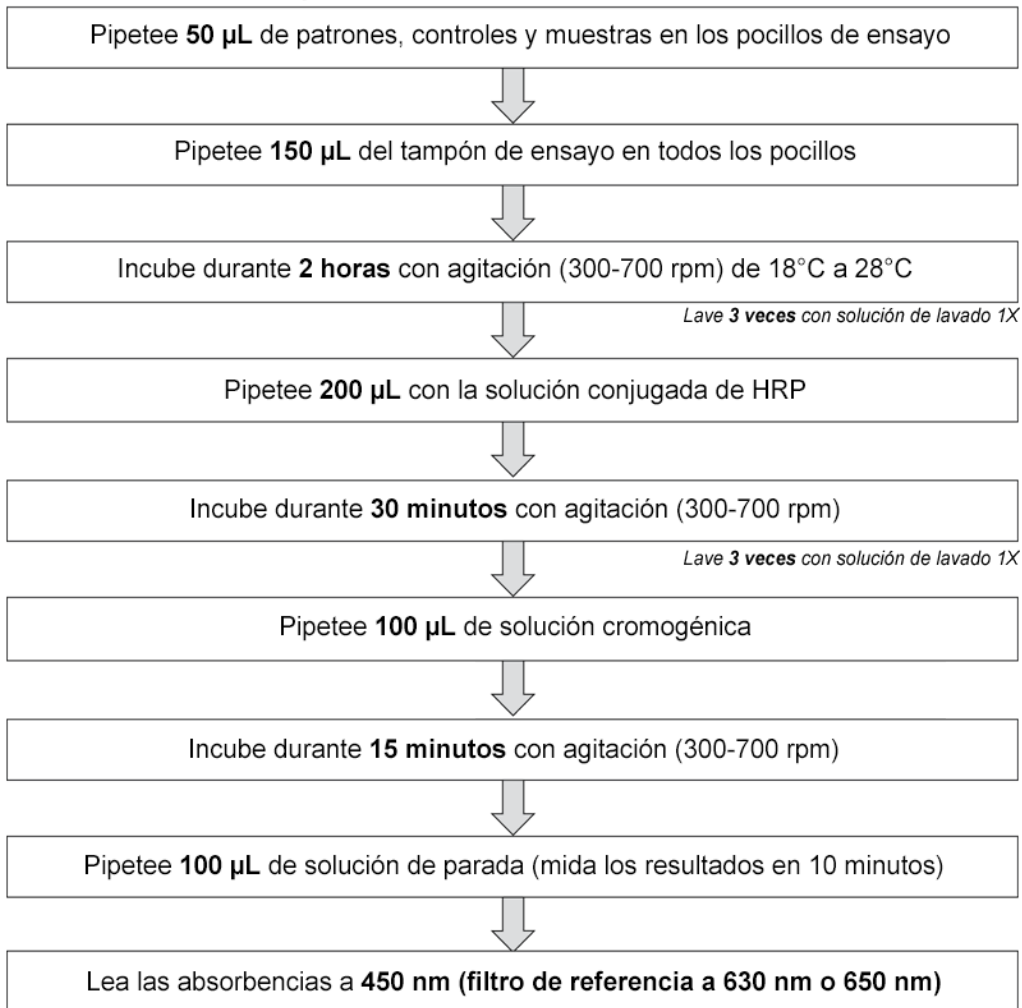
Inmunoensayo enzimático para cuantificar *in vitro* la 25-hidroxivitamina D₂ y D₃ (25OH-D₂ y 25OH-D₃) en suero.

RESUMEN

Reactivos y preparación de muestras

- Diluir el concentrado de tampón de lavado **1:200** con agua desionizada
- Reconstituir patrones y controles con agua desionizada o destilada

Procedimiento del ensayo





INDICACIONES

La prueba del EIA de la 25-OH vitamina D de MicroVue tiene como objetivo medir la 25-hidroxivitamina D₂ y D₃ (25OH D₂ y 25OH D₃) en suero humano. Los resultados se utilizarán en conjunto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio para evaluar el estado de vitamina D de pacientes.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Vitamina D es el término genérico utilizado para designar a la vitamina D₂ o el ergocalciferol y la vitamina D₃ o el colecalciferol. Los humanos naturalmente producen vitamina D₃ cuando la piel se expone a los rayos ultravioletas del sol. Principalmente, el hígado metaboliza la vitamina D₃ en 25-hidroxivitamina D₃ (25OH D₃) que es la forma principal de la vitamina D que circula por el organismo. La 25OH D₃ es la versión anterior de otro metabolito de vitamina D y también tiene una actividad limitada. El derivado más activo es la 1,25-hidroxivitamina D₃, producida en el riñón (o en la placenta) por la 1-hidroxilación de la 25OH D₃. La 25OH vitamina D estimula la absorción intestinal de calcio y fósforo, así como la reabsorción y mineralización ósea. La 25OH vitamina D también puede estar activa en otros tejidos responsables de transportar calcio (placenta, riñón, glándulas mamarias) y glándulas endocrinas (glándulas paratiroides, células beta).

La vitamina D₃ y la vitamina D₂ también se encuentran presentes en la digestión de alimentos o suplementos dietarios. Como la vitamina D₂ se metaboliza de una forma similar a la vitamina D₃, ambas contribuyen al estado general de la vitamina D de una persona. Esa es la razón por la cual es muy importante medir ambas formas de la 25OH vitamina D de igual manera para tener un diagnóstico preciso de la deficiencia, insuficiencia o intoxicación de vitamina D.

La deficiencia de vitamina D es un factor de riesgo importante del raquitismo, osteomalacia, osteoporosis senil, cáncer y consecuencias en el embarazo. La medición de ambas formas de la 25OH vitamina D también se requiere para determinar la causa de concentraciones de calcio sérico atípicas en pacientes. La intoxicación de vitamina D ha revelado que causa daños renales y en los tejidos.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El EIA de la 25-OH vitamina D de MicroVue es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida, desarrollado en microplacas. Durante las primeras dos horas de incubación, a temperatura ambiente, toda la 25OH vitamina D (D₂ y D₃) presente en patrones, controles y muestras se disocia de las proteínas séricas de unión para colocarse en los sitios de unión de un anticuerpo monoclonal específico. Después del primer lavado, una cantidad fija de 25OH vitamina D-marcada con biotina en presencia de peroxidasa de rábano picante (HRP) compite con la 25OH vitamina D₂ y la 25OH vitamina D₃ presentes en los sitios de unión del anticuerpo monoclonal específico. Después de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente, se lava la microplaca para detener la reacción de competencia. Se agrega la solución cromogénica (TMB) y se incuba durante 15 minutos. Se detiene la reacción al agregar la solución de parada y luego se lee la microplaca a la longitud de onda apropiada. La cantidad de sustrato invertido se determina colorimétricamente al medir la absorbancia, que es inversamente proporcional a la concentración total de la 25OH vitamina D (D₂ y D₃).

Se traza una curva de calibración y las concentraciones totales de la 25OH vitamina D (D₂ y D₃) de las muestras se determinan por interpolación de dosis desde la curva de calibración.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

El EIA de la 25-OH vitamina D de MicroVue contiene lo siguiente:

A	Patrones de la 25-OH vitamina D Liofilizado. El patrón cero es una matriz biológica (plasma humano) con gentamicina y ProClin®. Reconstituir con 2 ml de agua desionizada.	Parte A (Calibrador 0)	1 cada 2 ml (Patrón A)
B-F	Patrones B-F de la 25-OH vitamina D (Calibradores 1-5) Liofilizado. Suero de caballo con gentamicina y Proclin®. Reconstituir cada vial con 1 ml de agua desionizada.	Parte B-F	1 cada 1 ml (Patrones B-F)
L	Control de la 25-OH vitamina D (Control 1) Liofilizado. Suero humano con ProClin®. Reconstituir con 1 ml de agua desionizada.	Parte 4219716	1 cada 1 ml
H	Control de la 25-OH vitamina D (Control 2) Liofilizado. Suero humano con ProClin®. Reconstituir con 1 ml de agua desionizada.	Parte 4219717	1 cada 1 ml
1	Placa de microensayo (microplaca) Microplaca con 96 pocillos revestidos con anticuerpos monoclonales (Mab) de la 25OH vitamina D ₂ y D ₃ .	Parte 4219708	12 x 8 pocillos
2	Solución de parada Contiene 1M de ácido clorhídrico (HCl).	Parte SS04	12 ml
3	Concentrado de tampón de lavado 200X (Solución de lavado) Contiene TRIS-HCl. Diluir con agua desionizada.	Parte 4219711	10 ml
4	Sustrato TMB (Solución cromogénica TMB) Listo para utilizar. Contiene 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB).	Parte SB04	12 ml
5	25-OH vitamina D biotinilada (Conjugado concentrado) Conjugado concentrado de 25OH. Diluir con solución de reconstitución.	Parte de 4119703	0,4 ml
6	HRP concentrada Contiene HRP concentrada.	Parte 4119713	0,2 ml
7	Solución de reconstitución (Tampón de conjugado) Listo para utilizar. Tampón de conjugado con caseína y ProClin®.	Parte 4119705	30 ml
8	Tampón de ensayo (Tampón de incubación) Listo para utilizar. Tampón de incubación con caseína y ProClin®.	Parte 4219713	20 ml

ProClin® es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

Nota: Use el patrón A de la 25-OH vitamina D (Calibrador 0) para diluir muestras con valores mayores al patrón más alto. No hay material de referencia disponible

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

El siguiente material es necesario pero no se incluye en el kit:

- Agua desionizada o destilada
- Pipetas de: 50 µl, 150 µl, 200 µl y 1 ml (se recomienda utilizar pipetas adecuadas para puntas de plástico desechables)
- Agitador vórtex
- Agitador magnético
- Agitador de microplacas (de 300 a 700 rpm)
- Recipiente para lavar las placas de microensayo
- Lector de placas de microensayo capaz de realizar lecturas a 450 nm y 650 nm o 630 nm (lectura bicromática)

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Seguridad

- Solo para diagnósticos *in vitro*.
- Los componentes de sangre humana incluidos en este kit se han analizado de acuerdo con los métodos aprobados por las autoridades europeas o la FDA y se han obtenido resultados negativos para HBsAg, anti-VHC, anti-VIH-1 y 2. Ningún método conocido puede ofrecer una garantía total de que los derivados de la sangre humana no transmitan hepatitis, SIDA u otras infecciones. Por lo tanto, la manipulación de los reactivos o muestras de suero o plasma deben respetar los procedimientos de seguridad local.
- Todos los productos de origen animal y sus derivados se han recolectado de animales sanos. Los componentes bovinos proceden de países donde no se ha informado la presencia de EEB. Sin embargo, los componentes que contienen sustancias animales deben tratarse como potencialmente contagiosos.
- Evite cualquier contacto de reactivos con la piel. La solución de parada contiene HCl. En caso de contacto, lave con agua abundante.
- No fume, beba, coma o aplique cosméticos en la zona de análisis. No pipetee con la boca. Utilice ropa de protección y guantes desechables.
- Para obtener más información, consulte la Hoja de datos de seguridad, disponible en guidel.com.

CONSERVACIÓN

- Antes de la apertura o de su reconstitución, todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta del vial, siempre y cuando se mantenga a una temperatura de 2 a 8°C.
- Después de la reconstitución, los patrones y controles son estables durante ocho semanas a una temperatura de 2 a 8°C. Para períodos más largos de almacenamiento, las alícuotas deben realizarse y mantenerse a una temperatura de -20°C por un máximo de 3 meses. Evite ciclos continuos de congelación y descongelación.
- La solución de lavado recién preparada debe utilizarse el mismo día.
- Las alteraciones en la apariencia física de los reactivos del kit pueden indicar inestabilidad o deterioro.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Tampón de lavado

Prepare un volumen adecuado de solución de lavado de trabajo, agregando 199 volúmenes de agua destilada a 1 volumen de solución de lavado (200x). Utilice un agitador magnético para homogeneizar. Descarte la solución de lavado de trabajo que no se utilice al final del día.

Patrón A

Reconstituya el patrón A con 2 ml de agua destilada.

Patrones B-F

Reconstituya los patrones B-F con 1 ml de agua destilada.

Controles

Reconstituya los controles con 1 ml de agua destilada.

Solución conjugada de HRP de trabajo

La solución conjugada de HRP de trabajo debe prepararse absolutamente en 15 minutos justo después de las primeras 2 horas de iniciar la etapa de incubación.

Prepare un volumen adecuado de solución conjugada de HRP de trabajo mezclando el conjugado concentrado, HRP concentrada y el tampón de conjugado de acuerdo con el número de tiras utilizadas, como se indica a continuación:

- Por ejemplo, para 6 tiras (48 pocillos): 100 µl de conjugado concentrado y 50 µl de HRP concentrada para 10 ml de tampón de conjugado.
- Utilice un vórtex para homogeneizar.
- Mantenga el conjugado de HRP de trabajo a temperatura ambiente y evite la exposición directa a la luz solar o utilice viales de vidrio oscuro para esta preparación.
- La preparación del conjugado HRP de trabajo no es estable y se debe desechar si no se utilizará.

N.º de tiras	Volumen de la 25OH vitamina D biotinilada (µl)	Volumen de la HRP concentrada (µl)	Volumen de la solución de reconstitución (ml)
1	30	15	3
2	50	25	5
3	60	30	6
4	80	40	8
5	90	45	9
6	100	50	10
7	120	60	12
8	140	70	14
9	160	80	16
10	180	90	18
11	200	100	20
12	220	110	22

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Este kit es adecuado para muestras de suero.

El suero debe mantenerse a una temperatura de 2 a 8°C.

Si la prueba no se realiza dentro de las 24 horas, se recomienda almacenar las muestras a -20°C.

Evite ciclos continuos de congelación y descongelación.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Notas de manipulación

- No utilice el kit o los componentes después de la fecha de vencimiento.
- No mezcle materiales de diferentes lotes.
- Conserve todos los reactivos a temperatura ambiente antes de utilizarlos.
- Mezcle bien todos los reactivos y muestras agitándolas suavemente.
- Realice pruebas de patrones, controles y muestras por duplicado. Se recomienda la alineación vertical.
- Utilice un recipiente de plástico limpio para preparar la solución de lavado.
- Para evitar la contaminación cruzada, use puntas de pipeta desechables para la adición de cada reactivo y muestra.
- Para dispensar la solución cromogénica y la solución de parada, evite el uso de pipetas con partes metálicas.
- Las pipetas de alta precisión o equipo automático de pipeteado mejorarán la precisión.
- Respete los tiempos de incubación.
 - **Para evitar derivaciones, el tiempo entre el pipeteado del primer patrón y la última muestra debe limitarse al tiempo mencionado en la sección XIII, parágrafo E (Retardo).**
- Prepare una curva de calibración para cada análisis; no utilice los datos de pruebas anteriores.
- Dispense la solución cromogénica dentro de los 15 minutos después de lavar la microplaca.
- Durante la incubación con solución cromogénica, evite la exposición a la luz directa del sol sobre la microplaca.

Procedimiento

1. Seleccione el número requerido de tiras de microplacas para el análisis. Las tiras de microplacas que no se utilicen deben guardarse en la bolsa con el desecante y conservar a 2-8°C.
2. Asegure las tiras en un marco de apoyo.
3. Pipetee 50 µl de cada patrón, control y muestra en los pocillos adecuados.
4. Pipetee 150 µl de tampón de ensayo en todos los pocillos.
5. Incube durante 2 horas, a temperatura ambiente, en un agitador de microplacas (de 300 a 700 rpm).
6. Prepare la solución de conjugado de HRP de trabajo al comenzar la incubación (dentro de 15 minutos).
7. Aspire el líquido de cada pocillo.
8. Lave la placa 3 veces de la siguiente manera:
 - Dispensando 0,4 ml de solución de lavado en cada pocillo
 - Aspirando el contenido de cada pocillo
9. Pipetee 200 µl de la solución de conjugado de HRP de trabajo en cada pocillo. Incube la microplaca durante 30 minutos, a temperatura ambiente, en un agitador de microplacas (de 300 a 700 rpm).
10. Aspire el líquido de cada pocillo.
11. Lave la placa 3 veces de la siguiente manera:
 - Dispensando 0,4 ml de solución de lavado en cada pocillo
 - Aspirando el contenido de cada pocillo
12. Pipetee 100 µl del sustrato de TMB en cada pocillo, durante 15 minutos, luego de la etapa de lavado.
13. Incube la microplaca durante 15 minutos, a temperatura ambiente, en un agitador de microplacas (de 300 a 700 rpm); evite la exposición directa a la luz solar.
14. Pipetee 100 µl de solución de parada en cada pocillo.
15. Lea las absorbencias a 450 nm (filtro de referencia 630 nm o 650 nm) en 1 hora y calcule los resultados, como se describe en la sección Interpretación de los resultados.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para el Control L y/o Control H no se encuentran dentro del intervalo de valores especificado en la etiqueta del vial, los resultados no pueden utilizarse a menos que se cuente con una explicación satisfactoria de la discrepancia.
- Si se desea, cada laboratorio puede realizar sus propios grupos de muestras de control, que deben mantenerse congelados en alícuota. Los controles que contienen azida pueden interferir en la reacción enzimática y no pueden utilizarse.
- Los criterios de aceptación para la diferencia entre los resultados de muestras en duplicado deben basarse en las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- Se recomienda que los controles se analicen rutinariamente como muestras desconocidas a fin de medir la variabilidad del ensayo. Los resultados del ensayo deben revisarse con tablas de control de calidad.
- Es bueno comprobar visualmente el ajuste de la curva seleccionada por el computador.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Cálculo de resultados

1. Lea la placa a 450 nm contra el filtro de referencia configurado a 650 nm (o 630 nm).
2. Calcule la media de las determinaciones por duplicado.
3. Calcule cada patrón, control y muestra:

$$B/B0(\%) = \frac{\text{OD (Patrones B-F, control o muestra)}}{\text{OD (Patrón A (calibrador cero))}} \times 100$$

4. Con papel lineal o semi-logarítmico, trace los valores [B/B0(%)] para cada punto de calibración en función de la concentración de la 25OH vitamina D de cada punto de calibración. Rechace valores anómalos evidentes.
5. También se pueden utilizar métodos asistidos por ordenador para construir la curva de calibración. En caso de utilizar procesamiento automático de resultados, se recomienda una curva de función logística de 4-parámetros.
6. Mediante la interpolación de los valores [B/B0(%)] de la muestra, determine las concentraciones de la 25OH vitamina D de las muestras de la curva de calibración.

DATOS TÍPICOS

Los siguientes datos solo tienen fines ilustrativos y no deben utilizarse en lugar de una curva real de calibración en tiempo real.

Patrón	Absorbencia (OD)	Resultado (ng/ml)
A	2,54	0
B	1,71	10
C	1,27	25
D	0,61	55
E	0,23	100
F	0,09	180

VALORES ESPERADOS

Se sabe que la alimentación, la raza, la estación y la edad afectan a los niveles normales de la 25OH vitamina D₃. Cada laboratorio debe establecer su propio intervalo en función de la población local. Algunos estudios recientes sugieren los siguientes intervalos para clasificar el estado de la 25OH vitamina D:

Nivel	ng/ml
Deficiencia	<10
Insuficiencia	10-29
Suficiencia	30-100
Toxicidad posible	>100

INTERVALOS DE REFERENCIA

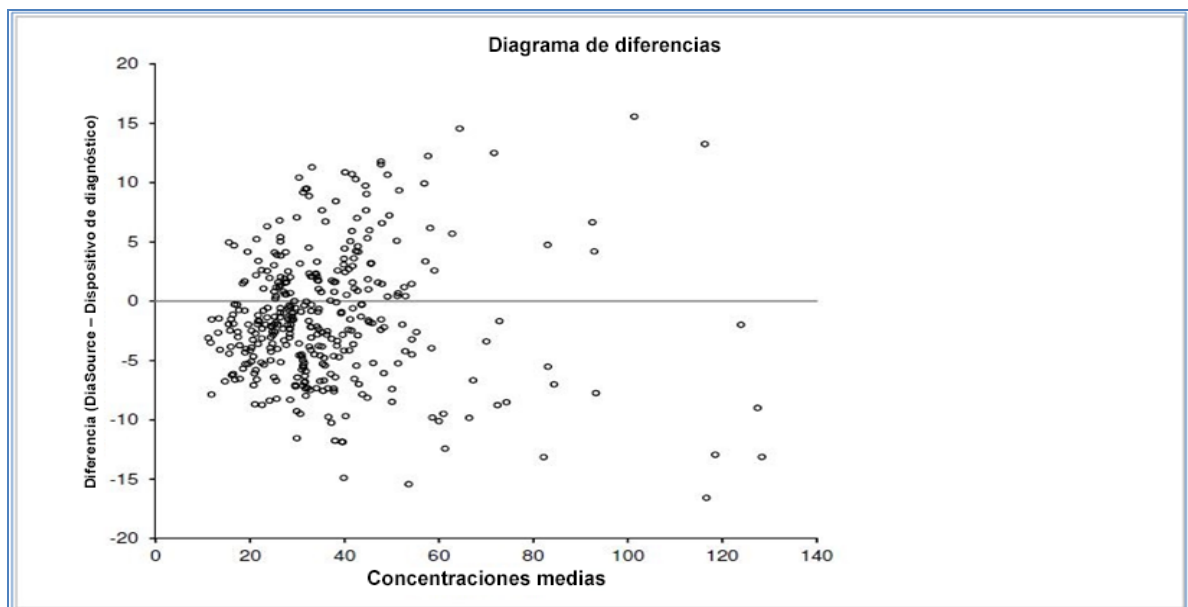
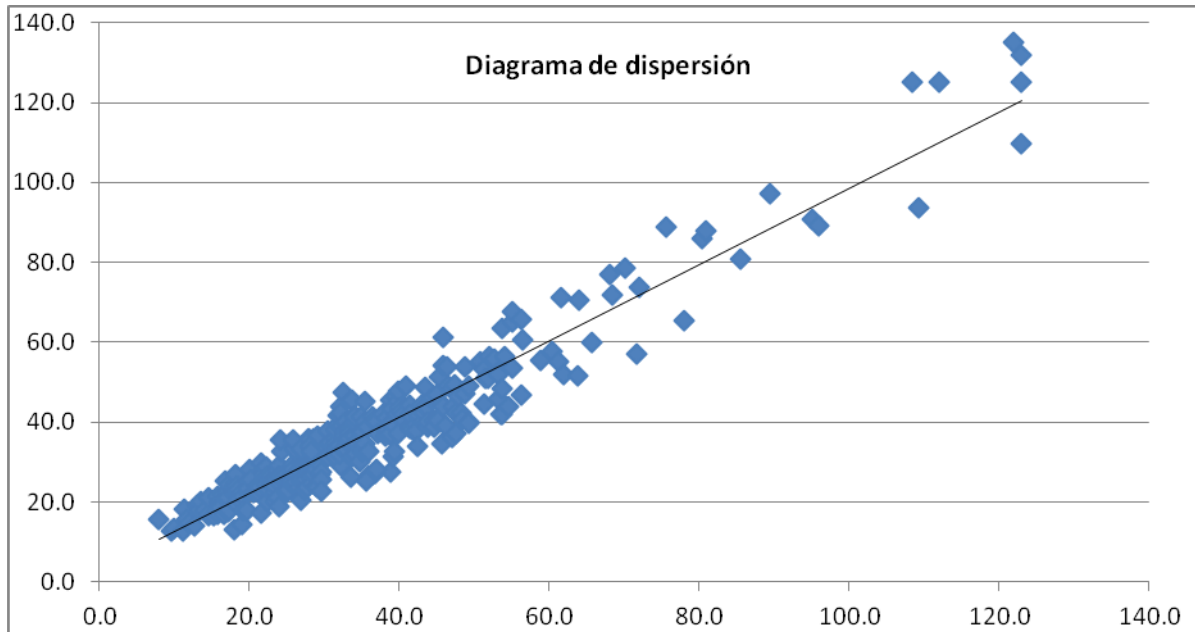
Los intervalos de referencia se han establecido en función de 150 individuos aparentemente sanos. Las muestras de suero de pacientes individuales utilizadas se obtuvieron de una fuente comercial certificada y se recopilaron en un Centro Donante con Licencia de la FDA a través de un consentimiento informado. 50 muestras eran del norte de los Estados Unidos (Pensilvania), 50 muestras eran del centro de los Estados Unidos (Tennessee) y 50 muestras eran del sur de los Estados Unidos (Florida). Las muestras recopiladas en los meses de invierno (de enero a marzo) eran de pacientes de entre 21 y 92 años de edad e incluían poblaciones blanca y negra. Las muestras recopiladas eran de pacientes que no ingerían suplementos de vitamina D; no tenían antecedentes familiares de enfermedades de la paratiroides ni de regulación de calcio; tampoco tenían antecedentes de enfermedades hepáticas, renales, de la paratiroides, relacionadas con el calcio, ni cirugía bariátrica. Además, no tomaban ningún medicamento conocido por afectar la absorción o el catabolismo de la vitamina D. Los resultados se resumen la siguiente tabla:

Concentración	Florida	Tennessee	Pensilvania	General
Concentración más alta (ng/ml)	88,6	71,7	54,6	88,6
Concentración más baja (ng/ml)	6,1	4,9	5,9	4,9
Concentración mediana (ng/ml)	20,8	15,9	14,3	17,2

Solo se utilizó el 95% central (2,5% - 97,5%) de los resultados observados.

MÉTODO DE COMPARACIÓN

El rendimiento de la prueba del EIA de la 25-OH vitamina D de MicroVue se determinó con un estudio de correlación probado en tres sitios diferentes en un total de 356 muestras. Las muestras se analizaron tanto en la prueba del EIA de la 25-OH vitamina D como en una prueba de EIA de la 25-OH vitamina D comercialmente disponible. Los resultados variaron de 8,0 ng/ml a 123,0 ng/ml; el coeficiente de correlación entre los dos métodos fue 0,917, con el intervalo de confianza del 95%, de 87,6% a 93,6%; una pendiente de 0,954, y la ordenada en el origen de 3,05. Los resultados se resumen en los siguientes gráficos:



RENDIMIENTO DE LA PRUEBA

Limitación de la prueba

1. La prueba es una ayuda para el diagnóstico y se utilizará junto con otros hallazgos clínicos.
2. El rendimiento de este ensayo no se ha establecido en una población pediátrica.

3. Las muestras sospechadas de contener concentraciones por debajo del calibrador más alto deben analizarse en dilución.
4. No se deben utilizar muestras hemolizadas.

Límites de detección

El límite de blanco (LOB), el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) se determinaron en función de la guía EP17-A del CLSI.

- El LOB se calculó midiendo el blanco en varias oportunidades y calculando el percentil 95 de la distribución de los valores de la prueba. El LOB fue 1,69 ng/ml.
- El LOD se calculó como se describe en la guía. El LOD fue 2,81 ng/ml.
- El LOQ se calculó evaluando 5 muestras de bajo valor, en 10 oportunidades, en pruebas diferentes.
- El LOQ fue 4,32 ng/ml con CV de 20%.

ESPECIFICIDAD

Reactividad cruzada

La reactividad cruzada del EIA de la 25-OH vitamina D de MicroVue se determinó al evaluar sueros con reactivos cruzados adicionados y no adicionados. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Compuesto y concentración	Vitamina D adicionada (ng/ml)	Vitamina D no adicionada (ng/ml)	Reactividad cruzada en %
1,25(OH) ₂ -Vitamina D ₃ a 200 ng/ml	57,3	16,7	20,3
1,25(OH) ₂ -Vitamina D ₂ a 690 ng/ml	29,9	16,7	1,9
Vitamina D ₃ a 200 ng/ml	22,5	16,7	2,9
Vitamina D ₂ a 200 ng/ml	19,3	16,7	1,3
24,25(OH) ₂ -Vitamina D ₃ a 20 ng/ml	87,9	16,7	>100
25,26(OH) ₂ -Vitamina D ₃ a 4 ng/ml	31,1	16,7	>100
3-epi-25 hidroxivitamina D ₃ a 20 µg/ml	31,58	16,7	0,07
25 OH vitamina D ₃ a 10 ng/ml	26,7	16,7	100
25 OH vitamina D ₂ a 10 ng/ml	25,0	16,7	83

Sustancias interferentes

Se evaluó el efecto de sustancias potencialmente interferentes en muestras con la prueba del EIA de la 25-OH vitamina D de MicroVue. Se evaluaron diferentes niveles de hemoglobina, bilirrubina, triglicéridos, vitamina C, bilirrubina conjugada y bilirrubina sin conjugar, y Zemplar en muestras séricas con diferentes concentraciones de 25OH vitamina D. Nuestro criterio de aceptación fue tener una interferencia menor al 10%. Las sustancias evaluadas no afectaron el rendimiento de la prueba del EIA de la 25-OH vitamina D de MicroVue.

Sustancia	25OH vitamina D (ng/ml)	Concentración de interferente (mg/dl)	Variación media en %
Hemoglobina	7,6	250	-0,5%
		500	
	29,3	250	
		500	
	42,5	250	
		500	
Bilirrubina conjugada	6,0	50	-3,5%
		100	
	21,5	50	
		100	
	38,6	50	
		100	
Bilirrubina conjugada		100	
Bilirrubina sin conjugar	7,6	50	2,5%
		100	
	29,3	50	

Sustancia	25OH vitamina D (ng/ml)	Concentración de interferente (mg/dl)	Variación media en %
	42,5	100	
		50	
		100	
Triglicéridos	7,6	7,5	-4,3%
		125	
		250	
		500	
	29,3	7,5	
		125	
		250	
		500	
	42,5	7,5	
		125	
		250	
		500	
Vitamina C	6,0	1	4,6 %
		10	
		100	
	21,5	1	
		10	
		100	
	38,6	1	
		10	
		100	
Biotina	8,7	0,2	4,6 %
		2	
		4	
	19,8	0,2	
		2	
		4	
	36,1	0,2	
		2	
		4	
Zemplar	17,6	0,0013	-4,3%
		0,0025	
		0,0050	
	33,5	0,0013	
		0,0025	
		0,0050	

Precisión

La precisión del ensayo se calculó al analizar muestras por un período de al menos 20 días en tres lotes diferentes. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Intra-ensayo				Inter-ensayo			
Muestra	N	<X> ± SD (ng/ml)	C.V. (%)	Muestra	N	<X> ± SD (ng/ml)	C.V. (%)
A	24	5,6 ± 0,4	7,8	A	42	17,7 ± 1,3	7,4
B	35	27,4 ± 1,5	5,5	B	10	26,3 ± 1,3	4,7
C	35	43,0 ± 1,2	2,7	C	10	42,0 ± 1,9	4,5
D	24	81,2 ± 2,0	2,5	D	21	85,4 ± 7,8	9,4

SD: Desviación estándar, CV: Coeficiente de variación

Reproducibilidad

La reproducibilidad del ensayo se realizó al evaluar tres muestras por duplicado durante cinco días, dos veces al día, en tres sitios con dos técnicos por sitio. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	n	ng/ml		En el análisis	Entre análisis	Día por medio	Entre tecnologías	Entre sitios	Total
1	60	25,5	SD	0,217	0,611	0,975	1,537	2,206	2,59
			CV	0,3%	0,9%	3,8%	6,0%	8,7%	10,2%
2	60	52,9	SD	0,638	1,571	1,108	2,285	4,310	5,192
			CV	0,9%	2,3%	2,1%	4,3%	8,2%	9,8%
3	60	124,8	SD	1,00	1,735	1,834	3,391	4,906	6,190
			CV	1,4%	2,5%	1,5%	2,7%	3,9%	5,0%

Recuperación

La recuperación se evaluó al agregar niveles diferentes de 25OH vitamina D a las muestras. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Prueba de recuperación	
25OH-Vit D ₃ agregada (ng/ml)	Recuperación (%)
0	100
25	95
50	92
25OH-Vit D ₂ agregada (ng/ml)	Recuperación (%)
0	100
25	105
50	95

Linealidad

Dos muestras con concentraciones distribuidas en todo el rango medible se evaluaron en diluciones equidistantes para determinar el rango lineal del ensayo. Se realizó un análisis de regresión lineal. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra 1

Dilución de la muestra	Concentración teórica (ng/ml)	Concentración medida (ng/ml)	Pendiente	Ordenada en el origen	R ²	Recuperación (%)
1/1	96,7	96,7	1,015	-0,298	0,99	100
1/2	48,5	47,6				98,1
1/4	24,2	24,5				101,2
1/8	12,1	11,1				91,7
1/16	6,0	6,2				103

Muestra 2

Dilución de la muestra	Concentración teórica (ng/ml)	Concentración medida (ng/ml)	Pendiente	Ordenada en el origen	R ²	Recuperación (%)
1/1	122,9	122,9	1,005	0,435	0,99	100
1/2	61,5	64,5				105
1/4	30,7	31,5				103
1/8	15,4	15,0				97,4
1/16	7,7	7,6				98,7

El rango lineal del ensayo resultó ser de 7,7 ng/ml a 122,9 ng/ml.

Retardo

La prueba de retardo entre el último patrón y la muestra proporcionando resultados se muestran en la siguiente tabla.

Retardo			
	0 min (ng/ml)	10 min (ng/ml)	20 min (ng/ml)
Muestra 1	27,9	30,5	30,2
Muestra 2	49,5	47,5	49,0

Los resultados del ensayo siguen siendo precisos incluso cuando el tampón de ensayo se dispense 10 y 20 minutos después de que el patrón se haya agregado en los pocillos revestidos.

ASISTENCIA

Para hacer un pedido u obtener servicio técnico, comuníquese con un representante de Quidel al 800.874.1517 (en los Estados Unidos) o al 858.552.1100 (fuera de los Estados Unidos), de lunes a viernes, de 8:00 a. M. A 5:00 p. M., hora de la costa este. También pueden realizarse pedidos por fax al 740.592.9820. Para solicitar asistencia por correo electrónico, envíe un correo electrónico a custserv@quidel.com o a technicalsupport@quidel.com.

Para obtener asistencia fuera de los Estados Unidos, comuníquese con su distribuidor local. Puede obtener información adicional sobre Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores en el sitio web: quidel.com.

REFERENCIAS

1. Zerwekh, J.E. Blood biomarkers of Vitamin D status. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 87(suppl):1087S-1091S.
2. Holick, M.F. Resurrection of Vitamin D deficiency and rickets. *J. Clin. Invest.* 2006; 116:2062-2072.
3. Heaney, R.P. Vitamin D: how much do we need and how much is too much. *Osteoporos. Int.* 2000; 11(7) 553-555.
4. Dawson-Hughes B., Heaney R.P., Holick M.F., Lips P., Meunier P.J. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos. Int.*, 1997; 7:439-443.
5. Bischoff-Ferrari, H.A., Giovannucci, E., Willett, W.C., Dietrich, T., Dawson-Hughes, B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006; 84(1):18-28.
6. Holick, M.F. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 80(6 suppl):1678S-1688S.
7. Heaney, R.P. Defining deficiency of vitamin D. En: *Clinical Laboratory International*. 2010; 34:16-19.
8. Holick, M.F. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357(3):266-281.
9. Taha, N.M., Vieth, R. The problem of an optimal target level for 25-Hydroxyvitamin D, the test for vitamin D nutritional status. En: *Clinical Laboratory International*. 2010; 34:28-30.
10. Holick M.F. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann. Epidemiol.*, 2009;19:73-78.
11. National Osteoporosis Foundation Prevention – Vitamin D.
<http://www.nof.org/aboutosteoporosis/prevention/vitamind>
12. EP17-A Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, STANDARD published by Clinical and Laboratory Standards Institute.

REF

8046 – Kit del EIA de la 25-OH vitamina D de MicroVue

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Alemania



Quidel Corporation

2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 EE. UU.
quidel.com

8046ES01 v2014MAY21

REF

Número de catálogo



Marca CE de conformidad

EC REP

Representante autorizado en la Comunidad Europea

LOT

Código de lote



Fecha de caducidad



Fabricante



Límites de temperatura



Indicaciones



Consulte las instrucciones electrónicas de uso



ADVERTENCIA: Nocivo en caso de ingestión (oral)

IVD

Para uso diagnóstico *in vitro*



Riesgos biológicos



Contiene una cantidad suficiente para X determinaciones

CONT

Contenido/Contiene

CONTROL

Control