

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

Para uso diagnóstico *in vitro*.

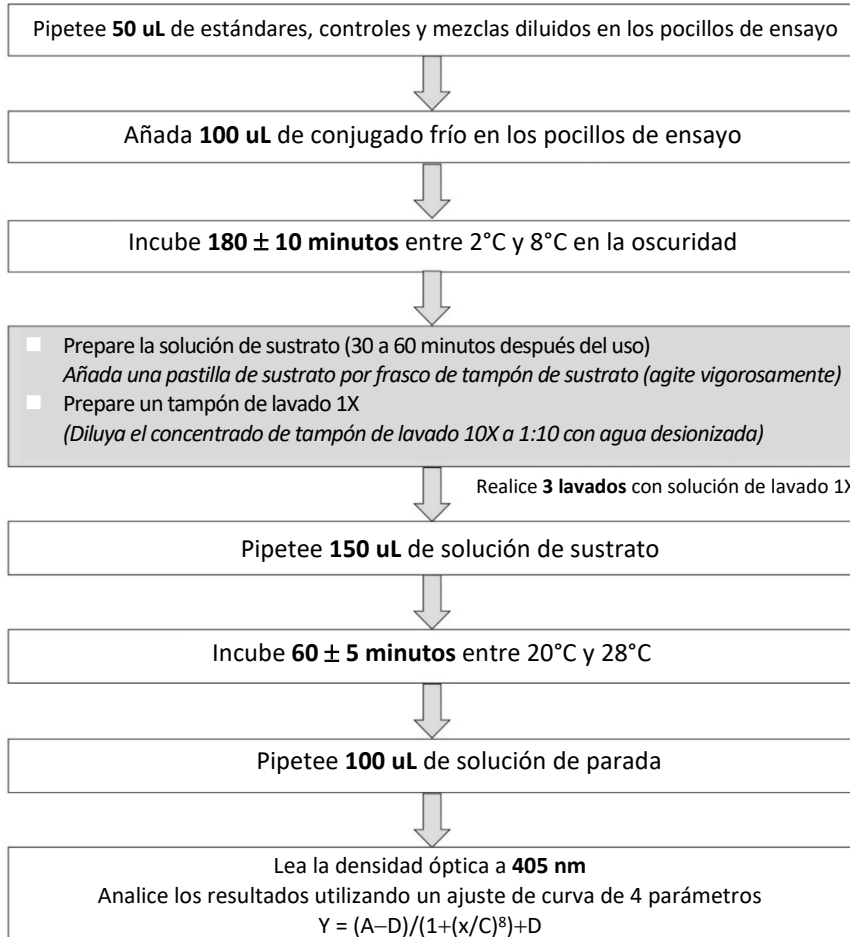
En quidel.com/glossary puede consultarse un glosario de símbolos.

RESUMEN

Preparación de reactivos, estándares, controles y muestras

- Prepare el conjugado enzimático con la solución de tampón de análisis; consérvelo entre 2°C y 8°C (*añada 7 ml de tampón de ensayo frío por vial de conjugado*).
- Diluya las muestras, controles, muestras de orina a 1:10 con la solución de tampón de análisis (50 uL de muestra + 450 uL de tampón de análisis).

Procedimientos del ensayo





USO PREVISTO

MicroVue 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 antirreabsortivas 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 hipercortisolismo, 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 corticoesteroides.⁷ Otras enfermedades caracterizadas por remodelación ósea anómala son la enfermedad de Paget y las metástasis óseas.³

Para el análisis MicroVue 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 MicroVue PYD permite una cuantificación sencilla, cómoda, reproducible y directa del PYD y la DPD en la orina.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El análisis MicroVue PYD es un ensayo inmunoanalítico 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 MicroVue PYD se corrigen para la concentración urinaria mediante creatinina.

REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS

96 análisis para entrecruzamientos de piridinio

El kit MicroVue PYD EIA contiene lo siguiente:

A	Patrones de piridinolina	Refs. 4251-4256	0,3 mL cada uno
B	PYD purificada de orina humana en 10 mmol/L de ácido fosfórico con azida sódica (0,05 %) como		
C	conservante		
D			
E			
F			
L	Controles bajo	Ref. 4257	0,3 mL cada uno
	PYD purificada de orina humana en 10 mmol/L de ácido fosfórico con azida sódica (0,05 %) como		
	conservante		
H	Controles alto	Ref. 4258	0,3 mL cada uno
	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 estabilizantes		
	Tapa de placa	Ref. 0047	3 cada uno

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Micropipetas de 50 µL a 300 µL
- Material adecuado para medir 7 mL a 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

- Para uso Diagnóstico *in vitro*.
- Trate las muestras como material potencialmente biopeligroso. Respete las precauciones universales al manipular el contenido de este kit y las muestras de los pacientes.
- Use los reactivos suministrados como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Guarde los reactivos de ensayo según lo indicado.
- No emplee las tiras recubiertas si la bolsa está pinchada.
- Analice cada muestra por duplicado.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Se recomienda utilizar pipetas multicanal o pipeteros de repetición para garantizar una administración oportuna de los reactivos.
- Para una medición exacta de las muestras, añada las muestras y los patrones con precisión. Pipetee cuidadosamente utilizando sólo equipo calibrado.
- No utilice un pocillo de microensayo para más de un ensayo.
- El uso de tiempos y temperaturas de incubación que no sean los indicados en la sección *PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS* puede dar resultados erróneos.
- Los patrones de piridinolina de MicroVue, 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*.
- No permita que los pocillos de microensayo se sequen una vez iniciado el ensayo.
- Al eliminar líquidos de los pocillos de microensayo, no raspe ni toque el fondo de los pocillos.
- Utilice una botella para lavado o un dispositivo de llenado automático para lavar la placa (*PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS*, Paso 8). Para obtener los mejores resultados, no utilice una pipeta multicanal para lavar la placa de microensayo.
- Este análisis ha sido validado para lavado manual.
- La prueba debe realizarse en una zona que disponga de la ventilación adecuada.
- Deseche los envases y contenido no utilizado conforme a los requerimientos locales, estatales y federales reglamentarios.
- Vista preferentemente ropa protectora, guantes y protección para ojos/cara cuando esté manipulando los componentes del kit.
- Lavarse bien las manos después de manipular el kit.
- Para obtener información adicional sobre símbolos de peligro, seguridad, manipulación y eliminación de los componentes de este kit, consulte la Ficha de datos de seguridad (*Safety Data Sheet*, SDS) que se encuentra en quidel.com.

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°C a 28°C. Utilice el tampón de lavado 1X en los 21 días siguientes a su preparación.

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

Conjugado enzimático

Prepare el conjugado enzimático en las 2 previas 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°C a 8°C hasta su uso.

Solución sustrato de trabajo

Ponga el tampón sustrato a 20°C a 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°C a 28°C (véase la tabla). Deje disolver las pastillas durante 30 a 60 minutos. Agite vigorosamente las botellas para mezclar completamente.

ALMACENAMIENTO

Almacene el kit a 2°C a 8°C.

Almacene los reactivos no utilizados a 2°C a 8°C.

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

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

El análisis MicroVue 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°C a 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 DEL 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 MicroVue PYD 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 previas a su uso. Reconstituya cada vial necesario de conjugado enzimático (véase la tabla) con 7 mL de tampón de análisis frío (2°C a 8°C). Guarde el conjugado enzimático reconstituido a 2°C a 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°C a 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°C a 28°C (véase la tabla). Deje disolver las pastillas durante 30 a 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°C a 8°C). Tras el último lavado, deje escurrir las tiras durante 5 a 10 minutos sobre toallitas de papel antes de añadir el sustrato.

Incubación del sustrato

9. Añada 150 µL de solución sustrato de trabajo a cada pocillo.
10. Incube durante 60 horas (± 5 minutos) a 20°C a 28°C.
NOTA: Si no pudiera mantenerse la temperatura ambiente entre 20°C a 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 a 1,5 y luego lea las tiras.

Parada/lectura

11. 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.

12. 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.
13. Utilice software de cuantificación con una ecuación de ajuste de curva de calibración de 4 parámetros para analizar los resultados del análisis MicroVue PYD.

$$\text{Ecuación: } y = (A-D)/(1 + (x/C)^B) + D$$

14. Determine la concentración de las muestras y los controles a partir de la curva estándar.
 - a. Diluya las muestras que resulten en valores que sean superiores al control estándar de mayor valor en tampón de análisis y repita la prueba. Incluya el factor de dilución en el cálculo final.
 - b. 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.

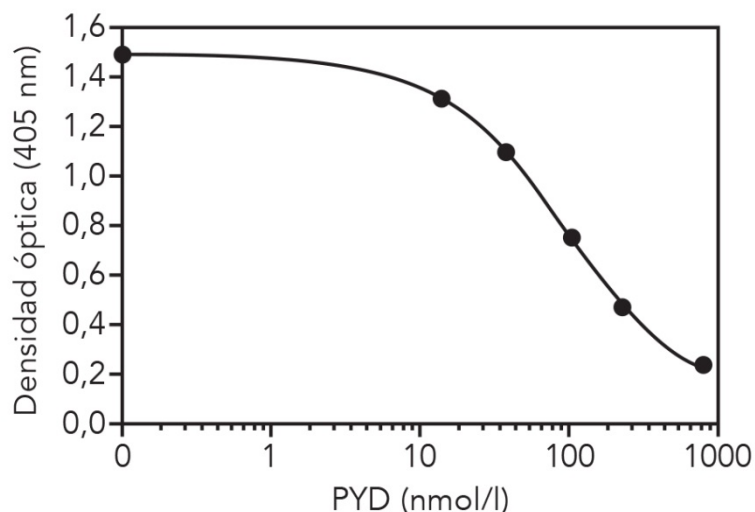
Se proporcionan los intervalos de control de calidad. Los valores de control están concebidos para verificar la validez de la curva y los resultados de las muestras. Cada laboratorio debe establecer sus propios parámetros para límites de análisis aceptables. Si los valores de control NO están dentro 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 MicroVue 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 MicroVue 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 MicroVue PYD se expresarán como nmol de PYD y DPD/mmol de creatinina.

Curva representativa estándar



LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Aunque el análisis MicroVue 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 MicroVue PYD deben interpretarse junto con los resultados clínicos y otros resultados diagnósticos.

VALORES DE LA MUESTRA

Se han establecido intervalos de referencia de MicroVue 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. corticoesteroides, 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 \geq 1000 PM	< 2.5%

Sensibilidad

El límite de detección mínimo del análisis MicroVue 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

¹n = 52 ²n = 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 MicroVue 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 MicroVue 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 a 49,4 nmol/mmol y en los pacientes entre 9,8 a 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

MicroVue 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 MicroVue 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 presentaran una elevada reabsorción ósea en el momento de la recogida de muestras. En este estudio, las personas sanas oscilaron entre 12,8 a 33,2 nmol/mmol. Los pacientes con enfermedad de Paget oscilaron entre 14,4 a 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

MicroVue PYD	
Sensibilidad relativa	89%
Especificidad	95%

Figura 2

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

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 customerservice@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. 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 cross-links. *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 (supplno.2S):001.

REF 8010 – MicroVue PYD EIA Kit

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PI8010003ES00 (11/19)

GLOSARIO

REF

Número de catálogo



Marca de conformidad CE

EC REP

Representante autorizado en la Comunidad Europea

LOT

Código de lote



Fecha de caducidad



Fabricante



Límite de temperatura



Uso previsto

Rx ONLY

Necesaria receta médica



Consulte las instrucciones de uso del etiquetado electrónico

IVD

Para uso diagnóstico *in vitro*



Cantidad suficiente para 96 determinaciones

CONT

Contenido / Contiene

CONTROL

Control
