



# MicroVue™ Bone

25-OH Vitamin D EIA

Ensayo inmunoenzimático para la medición cuantitativa *in vitro* de 25-hidroxivitamina D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> (25OH-D<sub>2</sub> y 25OH-D<sub>3</sub>) en suero.

**Rx ONLY**

## RESUMEN

### Preparación del Reactivo y de la Muestra

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

### Procedimiento de

Pipetear **50 µl** de patrones, controles y muestras en pocillos de ensayo

Pipetear **150 µl** de tampón de ensayo en todos los pocillos

Incubar durante **2 horas** con agitación (400 rpm) a temperatura ambiente. Preparar\* la solución de trabajo de conjugado de peroxidasa de rábano durante la incubación al menos 1 hora y 45 minutos antes del uso.

\*NOTA: la secuencia de preparación es extremadamente importante. Consulte

#### PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Lavar **3 veces** con solución de lavado (1x)

Pipetear **200 µl** de solución de trabajo de conjugado de peroxidasa de rábano

Incubar durante **30 minutos** con agitación (400 rpm) a temperatura ambiente

Lavar **3 veces** con solución de lavado (1x)

Pipetear **100 µL** de solución cromogénica

Incubar durante **15 minutos** con agitación (400 rpm) a temperatura ambiente; evitar la luz solar directa

Pipetear **100 µL** de solución quelante (resultados de lectura inmediata en una hora)

Leer las absorbancias a **450 nm** (filtro de referencia de 630 nm o 650 nm)



## USO PREVISTO

El ensayo inmunoenzimático MicroVue 25-OH vitamina D está destinado a la determinación cuantitativa de 25-hidroxivitamina D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> (25OH D<sub>2</sub> y 25OH D<sub>3</sub>) en suero humano. Los resultados se utilizarán junto con otros resultados clínicos y analíticos para evaluar el estado en vitamina D de un paciente.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN

«Vitamina D» es el término genérico utilizado para designar la vitamina D<sub>2</sub> (o ergocalciferol) y la vitamina D<sub>3</sub> (o colecalciferol). Las personas producen vitamina D<sub>3</sub> de forma natural al exponer la piel a los rayos solares ultravioletas. La vitamina D<sub>3</sub> se metaboliza principalmente en el hígado en 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub> (25OH D<sub>3</sub>), la principal forma de vitamina D que circula por el cuerpo. La 25OH D<sub>3</sub> es un precursor de otros metabolitos de vitaminas D y su actividad por sí solo es limitada. El derivado más activo es la 1,25-hidroxivitamina D<sub>3</sub>, que se produce en el riñón (o la placenta) por 1-hidroxilación de 25OH D<sub>3</sub>. La 25OH vitamina D estimula la absorción intestinal de calcio y fósforo, y también la resorción y la mineralización ósea. La 25OH vitamina D también puede estar activa en otros tejidos responsables del transporte de calcio (placenta, riñón, glándula mamaria u otros) y en las glándulas endocrinas (glándulas paratiroides, células β y otras).

La vitamina D<sub>3</sub> y la vitamina D<sub>2</sub> también pueden obtenerse mediante la ingesta de alimentos o complementos alimenticios. Dado que la vitamina D<sub>2</sub> se metaboliza de manera similar a la vitamina D<sub>3</sub>, ambas aportan al total de vitamina D de una persona. Por este motivo, es muy importante medir ambas formas de 25OH vitamina D de la misma manera, con el objetivo de garantizar un diagnóstico correcto de la deficiencia o insuficiencia de vitamina D, o de intoxicación por ella.

La deficiencia de vitamina D constituye un factor de riesgo importante de raquitismo, osteomalacia, osteoporosis senil, cáncer o los resultados del embarazo. La medición de ambas formas de 25OH vitamina D también es necesaria para determinar la causa de las anomalías en las concentraciones de calcio sérico. La intoxicación por vitamina D ha demostrado provocar daños renales y tisulares.

## PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo inmunoenzimático MicroVue 25-OH vitamina D es un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas en fase sólida realizado en placas de microvaloración. Durante un primer paso de incubación de 2 horas a temperatura ambiente, el total de 25OH vitamina D (D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub>) presente en los patrones, controles y muestras se disocia de las proteínas séricas para fijarse en puntos de unión de un anticuerpo monoclonal específico. Tras un proceso de lavado, una cantidad fija de 25OH vitamina D marcada con biotina en presencia de peroxidasa de rábano (HRP) compite con la 25OH vitamina D<sub>2</sub> y 25OH vitamina D<sub>3</sub> sin marcar presente en los puntos de unión del anticuerpo monoclonal específico. Tras un período de incubación de 30 minutos a temperatura ambiente, se lava la placa de microvaloración para detener la reacción en competencia. Se añade la solución cromogénica (TMB) y se incuba durante 15 minutos. La reacción se detiene con la adición de la solución quelante y, a continuación, se lee la placa de microvaloración a la longitud de onda apropiada. La cantidad de recambio de sustrato se determina colorimétricamente midiendo la absorbancia, que es inversamente proporcional al total de la concentración de 25OH vitamina D (D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub>).

Se traza una curva de calibración y se determinan las concentraciones totales de 25OH vitamina D (D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub>) de las muestras mediante la interpolación de dosis a partir de la curva de calibración.

## REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

El ensayo inmunoenzimático MicroVue 25-OH vitamina D contiene lo siguiente:

<b>A</b>	<b>El patrón de 25-OH vitamina D</b> (calibrador 0) Liofilizado. El patrón cero es una matriz biológica (plasma humano) con gentamicina y ProClin®. Reconstituir con 1 ml de agua desionizada.	<b>Pieza A</b>	<b>1 × 1 ml (Patrón A)</b>
<b>B-F</b>	<b>Los patrones B-F 25-OH vitamina D</b> (calibradores 1-5) Liofilizado. Suero equino con gentamicina y Proclin®. Reconstituir cada vial con 1 ml de agua desionizada.	<b>Pieza B</b>	<b>1 × 1 ml (Patrón B-F)</b>
<b>L</b>	<b>Control de 25-OH vitamina D</b> (control 1) Liofilizado. Suero humano con ProClin®. Reconstituir con 1 ml de agua desionizada.	<b>Pieza 4219716</b>	<b>1 × 1 ml</b>
<b>H</b>	<b>Control de 25-OH vitamina D</b> (control 2) Liofilizado. Suero humano con ProClin®. Reconstituir con 1 ml de agua desionizada.	<b>Pieza 4219717</b>	<b>1 × 1 ml</b>
<b>1</b>	<b>Placa de microanálisis</b> (placa de microvaloración) Placa de microvaloración con 96 pocillos recubiertos con anticuerpos monoclonales contra 25OH vitamina D <sub>2</sub> y D <sub>3</sub> .	<b>Pieza 4219708</b>	<b>12 × 8 pocillos</b>
<b>2</b>	<b>Solución quelante</b> Contiene 1M de ácido clorhídrico (HCl).	<b>Pieza SS04</b>	<b>12 ml</b>
<b>3</b>	<b>Concentrado de tampón de lavado 200×</b> (solución de lavado) Contiene TRIS-HCl. Diluir con agua desionizada.	<b>Pieza 4219711</b>	<b>10 ml</b>
<b>4</b>	<b>Sustrato de tetrametilbencidina (TMB)</b> (solución cromogénica de TMB) Listo para usar. Contiene 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB).	<b>Pieza SB04</b>	<b>12 ml</b>
<b>5</b>	<b>25-OH vitamina D</b> biotilada (conjugado concentrado) 25OH conjugado concentrado. Diluir con solución de reconstitución.	<b>Pieza de 4119703</b>	<b>0,3 ml</b>
<b>6</b>	<b>Peroxidasa de rábano concentrada</b> Contiene peroxidasa de rábano concentrada.	<b>Pieza 4119713</b>	<b>0,2 ml</b>
<b>7</b>	<b>Solución de reconstitución</b> (tampón conjugado) Listo para usar. Tampón conjugado con caseína y ProClin®.	<b>Pieza 4119705</b>	<b>30 ml</b>
<b>8</b>	<b>Tampón de ensayo</b> (tampón de incubación) Listo para usar. Tampón de incubación con caseína y ProClin®.  ProClin® es una marca comercial registrada de Rohm and Haas Company.	<b>Pieza 4219713</b>	<b>20 ml</b>

**Nota:** usar control de 25-OH vitamina D reducido (control 1) o una muestra sérica cuantificada con anterioridad con una concentración de 25-OH menor de (<) 25 ng/ml y mayor de (>) 4,4 ng/ml para la dilución de las muestras con valores superiores al patrón más alto.

Utilizar el control 1 o la muestra sérica apropiada para diluir las muestras de alta concentración 2×. Utilizar la concentración calculada del control 1, o la muestra sérica apropiada, al calcular el resultado de la dilución.

### Cálculos para las muestras diluidas:

Valor de la muestra = (valor medido – F1\*Control medido 1) / F2

Donde los valores siguientes para F1 y F2 son:

- Muestra diluida 2x, F1 = 0,5; F2 = 0,5
- Muestra diluida 4x, F1 = 0,75; F2 = 0,25
- Muestra diluida 8x, F1 = 0,875; F2 = 0,125

### Ejemplo:

Se diluye una muestra de la curva de calibración 4x con control 1 y se mide a 70 ng/ml. El control 1 se mide en la misma serie a 20 ng/ml.

Dilución 4x, F1 = 0,75; F2 = 0,25

Valor calculado de muestra =  $(70 - 0,75 \cdot 20) / 0,25 = 220$  ng/ml

No existe material de referencia disponible a nivel internacional.

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Es necesario disponer del siguiente material, pero no se suministra en el kit:

- Agua desionizada o destilada
- Pipetas para distribución de: 50 µl, 150 µl, 200 µl y 1 ml (se recomienda el uso de pipetas exactas con puntas de plástico desechables)
- Mezclador vórtex
- Agitador magnético
- Agitador de placas (400 rpm)
- Dispositivo de lavado para placas de microanálisis
- Lector de placas de microanálisis capaz de leer a 450 nm y 650 nm o 630 nm (lectura bicromática)

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

### Seguridad

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Los componentes de sangre humana incluidos en este kit se han analizado utilizando métodos aprobados en Europa o por la FDA, y han obtenido resultado negativo en HBsAg, anticuerpos contra el VHC, VIH-1 y 2. No existe ningún método conocido que pueda garantizar categóricamente que los hemoderivados humanos no vayan a transmitir la hepatitis, el SIDA u otras infecciones. Por consiguiente, la manipulación de los reactivos, el suero o las muestras de plasma debe realizarse de conformidad con los procedimientos de seguridad locales.
- Todos los productos y derivados de animales se han recogido de animales sanos. Los componentes bovinos proceden de países donde no se ha informado de encefalopatía espongiforme bovina. No obstante, los componentes que contienen sustancias animales deben tratarse como potencialmente infecciosos.
- Debe evitarse el contacto de la piel con ninguno de los reactivos. La solución quelante contiene HCl. En caso de contacto, debe lavarse bien con agua.
- En la zona de trabajo se prohíbe fumar, beber, comer o aplicar cosméticos. No debe usarse la boca para pipetear. Debe usarse ropa protectora y guantes desechables.
- Los análisis debe realizarse en una zona bien ventilada.
- Los envases y el contenido sin usar debe desecharse conforme a la normativa nacional, regional y local.
- Al manipular el contenido de este kit, deben utilizarse ropa de protección, guantes y protección ocular/facial adecuados.
- Deben lavarse bien las manos después de la manipulación.

- Para obtener información adicional sobre los 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](http://quidel.com).

## CONSERVACIÓN

- Antes de la apertura o la reconstitución, todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad, que se indica en la etiqueta, siempre que se mantengan entre 2 °C y 8 °C.
- Tras la reconstitución, los patrones y controles son estables durante ocho semanas si se conservan entre 2 °C y 8 °C. En caso de períodos de conservación más prolongados, deben hacer alícuotas y conservar a –20 °C durante un máximo de 4 meses. Deben evitarse ciclos de congelación-descongelación posteriores.
- Una solución de lavado recién preparada debe usarse el mismo día.
- Las alteraciones en el aspecto físico de los reactivos del kit pueden indicar inestabilidad o deterioro.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

### Tampón de lavado

Preparar un volumen adecuado de solución de lavado añadiendo 199 volúmenes de agua desionizada a 1 volumen de solución de lavado (200×). Usar un agitador magnético para homogeneizar. Descartar la solución de lavado sin usar al finalizar la jornada.

### Patrones A-F

Reconstituir los patrones A-F con 1 ml de agua destilada.

### Controles

Reconstituir los controles con 1 ml de agua destilada.

### Solución de conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo

***La solución de conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo debe prepararse durante el período de incubación de 2 horas y al menos 1 hora y 45 minutos antes del uso.***

Preparar un volumen adecuado de solución de conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo mezclando los tres (3) reactivos en el orden siguiente:

1. Solución de reconstitución (tampón conjugado)
2. 25-OH vitamina D biotinilada (conjugado concentrado)
3. Vórtex
4. Peroxidasa de rábano concentrada
5. Vórtex

***El orden de adición de los tres (3) reactivos es extremadamente importante y debe respetarse rigurosamente para obtener densidades ópticas reproducibles.***

Preparar un volumen adecuado de solución de conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo según el número de tiras utilizadas, tal y como se indica a continuación:

- Por ejemplo: para 6 tiras (48 pocillos): 100 µl de conjugado concentrado y 50 µl de peroxidasa de rábano concentrada a 10 ml de tampón conjugado.
- Utilizar un vórtex para homogeneizar.
- Hasta su uso, mantener el conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo a temperatura ambiente y evitar la luz solar directa o usar un vial de vidrio marrón para su preparación.
- La preparación del conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo no es estable y debe desecharse si no se utiliza.

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

## OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

Este kit es adecuado para las muestras séricas.

Las muestras séricas deben conservarse entre 2 °C y 8 °C.

Si no se realiza la prueba en un plazo de 24 horas, se recomienda el muestreo y la conservación a -20 °C.

Deben evitarse ciclos de congelación-descongelación posteriores.

## PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

### Notas de manipulación

- No deben utilizarse el kit o los componentes tras la fecha de caducidad.
- No deben mezclarse materiales de kits de lotes distintos.
- Debe asegurarse que todos los reactivos están a temperatura ambiente antes de su uso.
- Mezclar bien todos los reactivos y muestras agitándolos o dándoles vueltas.
- Realizar los patrones, controles y muestras por duplicado. Se recomienda la alineación vertical.
- Usar un recipiente de plástico limpio para preparar la solución de lavado.
- Para evitar la contaminación cruzada, usar una punta de pipeta desechable limpia para añadir cada reactivo y cada muestra.
- Para dispensar el sustrato de tetrametilbencidina y la solución quelante deben evitarse las pipetas con partes metálicas.
- Las pipetas de alta precisión o los equipos de pipeteado automático mejorarán la precisión.
- Respetar los tiempos de incubación.
  - **Para evitar la deriva, el tiempo transcurrido entre el pipeteado del primer patrón y de la última muestra debe limitarse al tiempo estipulado en la sección *ESPECIFICIDAD* (retraso).**
- Preparar una curva estándar para cada serie; no deben utilizarse datos de series anteriores.
- Dispensar el sustrato de tetrametilbencidina en un máximo de 15 minutos siguientes al lavado de la placa de microanálisis.
- Durante la incubación con el sustrato de tetrametilbencidina, evitar la luz solar directa sobre la placa de microanálisis.

## Procedimiento

1. Seleccione el número necesario de tiras de placa de microanálisis para la serie. Las tiras de placa de microanálisis sin utilizar deben resellarse en la bolsa con un desecante y almacenarse entre 2°C y 8°C.
2. Ajustar las tiras al marco de soporte.
3. Pipetear 50 µl de cada patrón, control y muestra en los pocillos adecuados.
4. Pipetear 150 µl del tampón de análisis en todos los pocillos.
5. Incubar durante 2 horas a temperatura ambiente en un agitador de placas (400 rpm).
6. Preparar la solución de conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo una vez comenzada la incubación (15 minutos a más tardar).
7. Aspirar el líquido de cada pocillo.
8. Lavar la placa 3 veces haciendo lo siguiente:
  - Dispensando 0,35 ml de solución de lavado en cada pocillo
  - Aspirando el contenido de cada pocillo
9. Pipetear 200 µl de solución de conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo en cada pocillo. Incubar la placa de microanálisis durante 30 minutos a temperatura ambiente en un agitador de placas (400 rpm).
10. Aspirar el líquido de cada pocillo.
11. Lavar la placa 3 veces haciendo lo siguiente:
  - Dispensando 0,35 ml de solución de lavado en cada pocillo
  - Aspirando el contenido de cada pocillo
12. Pipetear 100 µl de sustrato de tetrametilbencidina en cada pocillo en un máximo de 15 minutos tras la fase de lavado.
13. Incubar la placa de microanálisis durante 15 minutos a temperatura ambiente en un agitador de placas (400 rpm); evitar la luz solar directa.
14. Pipetear 100 µl de solución quelante en cada pocillo.
15. Leer las absorbancias a 450 nm (filtro de referencia de 630 nm o 650 nm) en un plazo de 1 hora y calcular los resultados según se describe en el apartado Interpretación de resultados.

## CONTROL DE CALIDAD INTERNO

- Si los resultados obtenidos para los controles L o H no se encuentran dentro del rango especificado en la CoA del kit, los resultados no pueden utilizarse a menos que se haya dado una explicación satisfactoria para la discrepancia existente.
- Si se desea, cada laboratorio puede realizar sus propios grupos de muestras de control, que deben mantenerse congeladas en alícuotas. Los controles que contienen azida interfieren con la reacción enzimática y no pueden utilizarse.
- Los criterios de aceptación para la diferencia entre los resultados duplicados de las muestras deben seguir las buenas prácticas de laboratorio
- Se recomienda realizar análisis periódicos sobre los controles como muestras desconocidas para medir la variabilidad del ensayo. Los resultados del ensayo deben supervisarse mediante gráficas de control de los controles.
- Entra dentro de las buenas prácticas comprobar visualmente el ajuste de curva seleccionado por el ordenador.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

### Cálculo de los resultados

1. Leer la placa a 450 nm frente a un filtro de referencia fijado en 650 nm (o 630 nm).
2. Calcular la media de las determinaciones duplicadas.

- Utilizando un papel cuadrulado lineal-lineal o semilogarítmico, trazar los valores de densidad óptica para cada punto estándar como una función de la concentración de 25OH vitamina D de cada punto estándar. Rechazar los valores atípicos obvios.
- Para generar la curva de calibración también pueden utilizarse métodos asistidos por ordenador. Si se utiliza un procesamiento de resultados automático, se recomienda una función logística con curva de ajuste de 4 parámetros.
- Mediante la interpolación de los valores de densidad óptica de la muestra, determinar las concentraciones de 25OH vitamina D de las muestras a partir de la curva de calibración.

## DATOS TÍPICOS

Los siguientes datos son meramente ilustrativos y no deben utilizarse nunca en lugar de la curva de calibración en tiempo real.

Patrón	Absorbancia (densidad óptica)	Resultado (ng/ml)
A	2,66	0
B	2,39	5,3
C	1,83	15
D	1,46	25,7
E	0,81	54,3
F	0,21	133

## VALORES ESPERADOS

Se sabe que la ingesta alimentaria, la raza, la estación y la edad afectan a los niveles normales de 25OH vitamina D<sub>3</sub>. Cada laboratorio debe establecer su propio rango en su población local. Una revisión de las publicaciones actuales ha indicado los rangos siguientes para la clasificación del estado de la 25OH vitamina D:

Nivel	ng/ml
Deficiente	< 10
Insuficiente	10-29
Suficiente	30-100
Posible toxicidad	> 100

## RANGO DE REFERENCIA

Los rangos de referencia se han establecido basándose en 150 personas aparentemente sanas. Las muestras séricas individuales de paciente utilizadas se obtuvieron de una fuente comercial certificada y se recogieron de un centro de donación autorizado por la FDA con consentimiento informado. Del total, 50 muestras procedían de la zona norte de EE. UU. (Pensilvania), 50 muestras, de la zona central de EE. UU. (Tennessee) y 50 muestras de la zona sur de EE. UU. (Florida). Las muestras obtenidas en los meses de invierno (enero-marzo) pertenecían a personas de entre 21 y 92 años de poblaciones de pieles clara y oscura. Las muestras obtenidas eran de personas que no tomaban complementos de vitamina D, no presentaban antecedentes familiares de trastorno paratiroideo ni trastorno regulador de calcio, no presentaban antecedentes de nefropatías, hepatopatías, trastornos paratiroideos ni cálculos, ni se habían sometido a cirugía bariátrica, y no estaban tomando medicamentos que se sabe que afectan a la absorción o al catabolismo de la vitamina D. En la siguiente tabla se presenta el resumen de los resultados:

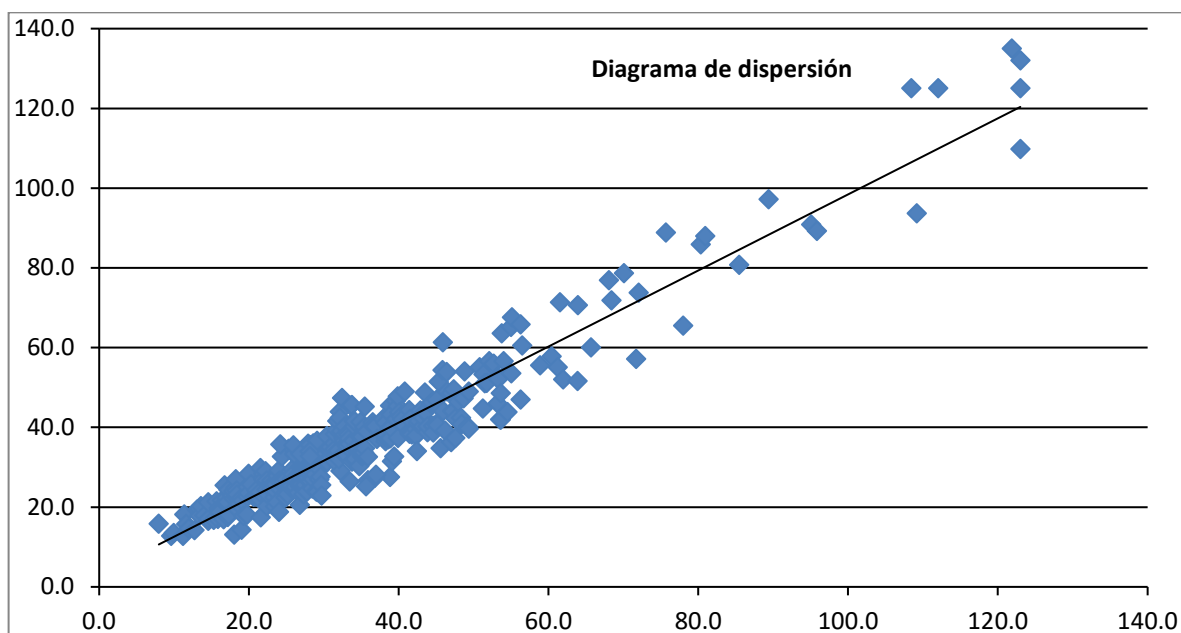


Concentración	Florida	Tennessee	Pensilvania	Global
Concentración máxima (ng/ml)	88,6	71,7	54,6	88,6
Concentración mínima (ng/ml)	6,1	4,9	5,9	4,9
Mediana de la concentración (ng/ml)	20,8	17,2	14,3	17,3

Solo se usó la parte del 95 % central (2,5 %-97,5 %) de los resultados observados.

## COMPARACIÓN DE MÉTODOS

El rendimiento del ensayo inmunoenzimático MicroVue 25-OH vitamina D se determinó realizando un estudio correlacional comprobado en tres centros distintos con un total de 356 muestras. Las muestras se analizaron tanto en el ensayo inmunoenzimático MicroVue 25-OH vitamina D y en un ensayo inmunoenzimático 25OH vitamina D comercializado. El rango de los resultados varió entre 8,0 ng/ml y 123,0 ng/ml, el coeficiente de correlación entre ambos métodos fue de 0,917, con un intervalo de confianza del 95 % entre el 87,6 % y el 93,6 %, con una pendiente de 0,954 y una ordenada en el origen de 3,05. En las siguientes gráficas se resumen los resultados:



## RENDIMIENTO DE LA PRUEBA

### Limitaciones de la prueba

1. La prueba es una ayuda diagnóstica y se utiliza junto con las manifestaciones clínicas.
2. El rendimiento de este ensayo no se ha establecido en la población pediátrica.
3. Las muestras cuyas concentraciones se sospeche que superan el calibrador máximo deben analizarse en dilución.
4. No deben utilizarse muestras hemolizadas.

## Límites de detección

El Límite de blanco (LdB), el límite de detección (LdD) y el límite de cuantificación (LdC) se determinaron de acuerdo con la norma CLSI EP17-A.

- El límite de blanco se calculó midiendo el blanco varias veces y calculando el percentil 95 % de la distribución de los valores de análisis. El cálculo del límite de blanco resultó en 1,69 ng/ml.
- El límite de detección se calculó según lo descrito en la guía. El cálculo del límite de detección fue 2,81 ng/ml.
- El límite de cuantificación se calculó mediante el análisis de 5 muestras de valores bajos 14 veces en diferentes análisis.
- El límite de cuantificación se calculó como 4,39 ng/ml con un coeficiente de variación del 20 %.

## ESPECIFICIDAD

### Reactividad cruzada

La reactividad cruzada del ensayo inmunoenzimático MicroVue 25-OH vitamina D se determinó mediante pruebas serológicas con reactivos cruzados enriquecidos y no enriquecidos. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Composición y concentración	% de reacción cruzada
25 OH-vitamina D <sub>3</sub> a 10 ng/ml	100
25 OH-vitamina D <sub>2</sub> a 10 ng/ml	86
1,25(OH) <sub>2</sub> -vitamina D <sub>3</sub> a 200 ng/ml	20
1,25(OH) <sub>2</sub> -vitamina D <sub>2</sub> a 690 ng/ml	1,9
Vitamina D <sub>3</sub> a 200 ng/ml	2,9
Vitamina D <sub>2</sub> a 200 ng/ml	1,3
24,25(OH) <sub>2</sub> -vitamina D <sub>3</sub> a 20 ng/ml	> 100
25,26(OH) <sub>2</sub> -vitamina D <sub>3</sub> a 4 ng/ml	> 100
3-epi-25-OH-vitamina D <sub>3</sub> a 20 µg/ml	0,1

### Sustancias interferentes

El efecto de las sustancias potencialmente interferentes en las muestras se evaluó mediante el ensayo inmunoenzimático MicroVue 25-OH vitamina D. Se analizaron distintas concentraciones de hemoglobina, bilirrubina, triglicéridos, vitamina C, bilirrubina conjugada y no conjugada, y Zemplar en muestras séricas con distintas concentraciones de 25OH vitamina D. Nuestro criterio de aceptación fue garantizar una interferencia como máximo del 10 %. Las sustancias analizadas no afectaron al rendimiento del ensayo inmunoenzimático MicroVue 25-OH vitamina D.

Sustancia	25-OH vitamina D (ng/ml)	Concentración de sustancia interferente (mg/dl)	Media del % de variación
Hemoglobina	7,6	250	-0,6 %
		500	
	29,3	250	
		500	
	42,5	250	
		500	

Sustancia	25-OH vitamina D (ng/ml)	Concentración de sustancia interferente (mg/dl)	Media del % de variación
Bilirrubina conjugada	6,0	50	-3,4 %
		100	
	21,5	50	
		100	
	38,6	50	
		100	
Bilirrubina no conjugada	7,6	50	2,5 %
		100	
	29,3	50	
		100	
	42,5	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	2,5 %
		10	
		100	
	21,5	1	
		10	
		100	
	38,6	1	
		10	
		100	
Biotina	8,7	0,2	4,7 %
		2	
		4	
	19,8	0,2	
		2	
		4	
	36,1	0,2	
		2	
		4	

Sustancia	25-OH vitamina D (ng/ml)	Concentración de sustancia interferente (mg/dl)	Media del % de variación
Zemplar	17,6	0,0013	-4,4 %
		0,0025	
		0,0050	
	33,5	0,0013	
		0,0025	
		0,0050	

## Precisión

La precisión del análisis se calculó con series de muestras durante un período mínimo de 20 días en tres lotes distintos. Los resultados se resumen en la tabla que se incluye a continuación:

Intraanálisis				Interanálisis			
Muestra	N	<X> ± DE (ng/ml)	CV (%)	Muestra	N	<X> ± DE (ng/ml)	CV (%)
A	24	5,5 ± 0,4	7,8	A	39	17,7 ± 1,3	7,4
B	35	27,4 ± 1,5	5,7	B	10	26,3 ± 1,2	4,7
C	35	43,0 ± 1,2	2,7	C	10	42,1 ± 1,8	4,3
D	24	81,2 ± 2,0	2,5	D	21	85,4 ± 7,8	9,2

DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación

## Reproducibilidad

La reproducibilidad del análisis se demostró analizando tres muestras en duplicado durante cinco días, dos veces al día, en tres centros con dos técnicos cada uno. La media de los resultados se resume en la tabla a continuación:

Muestra	n	ng/ml		Dentro de la serie	Entre las series	Entre los días	Entre los técnicos	Entre los centros	Total
1	57	25,5	DE	0,22	0,61	0,98	1,54	2,21	2,59
			CV	0,3 %	0,9 %	3,8 %	6,0 %	8,7 %	10,2 %
2	57	52,9	DE	0,64	1,57	1,11	2,28	4,29	5,19
			CV	0,9 %	2,3 %	2,1 %	4,3 %	8,1 %	9,8 %
3	57	124,9	DE	1,00	1,74	1,84	3,39	4,98	6,25
			CV	1,4 %	2,5 %	1,5 %	2,7 %	4,0 %	5,0 %

## Recuperación

La recuperación se evaluó añadiendo distintas concentraciones de 25-OH vitamina D a las muestras. Los resultados se resumen en la tabla que se incluye a continuación:

Prueba de recuperación	
25OH-Vit D <sub>3</sub> añadida (ng/ml)	Recuperación (%)
0	100

25	96
50	92
<b>25OH-Vit D<sub>2</sub> añadida (ng/ml)</b>	<b>Recuperación (%)</b>
0	100
25	105
50	95

## Linealidad

Para determinar el rango lineal del ensayo, se realizaron análisis sobre una muestra con una concentración conocida distribuida por el rango mensurable en diluciones equidistantes siguiendo el protocolo de dilución de muestras. Se realizó un análisis de regresión lineal. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Dilución de muestras		Concentración teórica (ng/ml)	Concentración medida (ng/ml)	Pendiente	Ordenada en el origen	R <sup>2</sup>	Recuperación (%)
1/1	Con el control 1 medido a 27,1 ng/ml	101,8	101,8	1,02	-1,91	> 0,98	100
1/2		64,4	62,9				98
1/4		45,7	52,0				114
1/8		36,4	34,8				96
1/16		31,7	33,6				106

Se halló que el rango lineal del ensayo fue de 33,6 ng/ml a 101,8 ng/ml.

## Retraso

En la tabla siguiente se muestran los resultados de la prueba de retraso entre el último patrón y la dispensación de la muestra.

Retraso			
	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 análisis siguen siendo exacto incluso cuando se dispensa el tampón de ensayo 10 y 20 minutos después de añadir el patrón en los pocillos recubiertos.

## ASISTENCIA

Para realizar un pedido o para recibir asistencia técnica, póngase en contacto con un representante de Quidel en los números de teléfono 800-874-1517 (en EE. UU.) o +1 858-552-1100 (desde fuera de EE. UU.) de lunes a viernes, de 8:00 a. m. a 5:00 p. m. (horario de la costa este). Los pedidos también pueden realizarse por fax en el 740-592-9820. Para recibir asistencia técnica por correo electrónico, envíe un mensaje a [customerservice@quidel.com](mailto:customerservice@quidel.com) o [technicalsupport@quidel.com](mailto:technicalsupport@quidel.com).

Para la prestación de servicios fuera de EE. UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Puede encontrar más información sobre Quidel, nuestros productos y distribuidores en nuestro sitio web: [quidel.com](http://quidel.com).

## BIBLIOGRAFÍA

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. VitaminD: 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. In: *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 – MicroVue 25-OH Vitamin D EIA Kit

**IVD**



MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover,  
Alemania



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

**PI8046002ES00 (11/19)**

<b>Cambios introducidos en la revisión:</b>	<b>Ítem</b>
PI8046000EN00	Publicación inicial para Quidel Corporation.
PI8046001EN00	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Se añadió texto para aclarar los pasos del proceso para la preparación de la «solución de conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo».</li><li>2. Se añadió el volumen que se utiliza en la solución de reconstitución (tampón conjugado, n. de pieza: 411913) a la tabla para la preparación de la solución de conjugado de peroxidasa de rábano de trabajo.</li><li>3. Se actualizó el apartado de «Advertencias y Precauciones».</li></ol>
PI8046002EN00	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Se optimizó la formulación del patrón cero A (CAL A).</li><li>2. Se cambió la dilución de las muestras, que pasan de utilizar el patrón A (CAL A) al control 1 (n.º de pieza: 4219716) u otra muestra sérica de concentración conocida.</li><li>3. El rango de resultados lineales se cambió de 7,7 a 122,9 ng/ml a entre 33,6 y 101,8 ng/ml.</li><li>4. Se cambió la concentración de conjugado optimizada resultante en un cambio de volumen de 0,4 ml a 0,3 ml.</li><li>5. Se cambió el valor de las r.p.m. de la agitación de placas de 300 a 700 rpm a 400 rpm, en todos los pasos de agitación de placas.</li><li>6. Se cambió el volumen de «lavado» de las placas de 0,4 ml a 0,35 ml en todos los pasos de lavado.</li><li>7. Se actualizaron las etiquetas de los componentes para hacer coincidir los cambios de volumen en los siguientes criterios:<ol style="list-style-type: none"><li>a. CAL A-F (patrón A-F), reconstitución (RCNS) 1 ml</li><li>b. Pieza: 4119703 - 25-OH vitamina D biotinilada (conjugado concentrado), 0,3 ml</li><li>c. Pieza: 4219716 - control 1, reconstitución (RCNS) 1 ml</li><li>d. Pieza 4219717 - control 2, reconstitución (RCNS) 1 ml</li></ol></li></ol>

## GLOSARIO

---

**REF**

Número de referencia



Marca de conformidad de la CE

---

**EC REP**

Representante autorizado en la Comunidad Europea

**LOT**

Código del lote

---



Fecha de caducidad



Fabricante

---



Límite de temperatura



Uso previsto

---

**Rx ONLY**

Por prescripción facultativa exclusivamente



Consulte la etiqueta electrónica para ver las instrucciones de uso

---

**IVD**

Para uso diagnóstico *in vitro*



Contiene cantidad suficiente para 96 determinaciones

---

**CONT**

Contenido/Contiene

**CONTROL**

Control

---