

# Inmunoensayo

**REF**

CMS0401 / CMS0402 / CMS0403 / CMS0404 / CMS0405

50 pruebas\*1 / 100 pruebas\*1 / 100 pruebas\*2 / 100 pruebas\*5 / 50 pruebas\*2

## Micropartículas de 25- OH vitamina D CLIA

Este ensayo se basa en un inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) para la determinación cuantitativa de 25-OH vitamina D en suero o plasma humano (EDTA o heparina).

Todas las marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

### Clave de los símbolos gráficos

**LOT**

lote



Uso para



fabricante



Contiene suficiente para &lt;n&gt; pruebas

**IVD**

Dispositivo médico de diagnóstico in vitro



Limitación de temperatura

**REF**

referencia



Consulte instrucciones de uso

EC

REP

Representante autorizado por la comunidad Europea

EC REP

OBELIS S.A.  
Bd. Général Wahis, 53  
1030 Bruselas  
Belgica



AUTOBIO DIAGNOSTICS CO., LTD.  
No.87 Jingbei Yi Road  
National Eco & Tech Development Area  
Zhengzhou  
China  
450016



Para cualquier asistencia técnica, comuníquese con nosotros en inglés a:  
Correo electrónico: servicio al cliente @autobio.com.cn.

Póngase en contacto con sus distribuidores locales para todas las preguntas relacionadas con el producto en su idioma local.

## Introducción

La vitamina D es un grupo de precursores de hormonas esteroideas liposolubles responsables de aumentar la absorción intestinal de calcio,<sup>1</sup> magnesio y fosfato, y otros múltiples efectos biológicos, que se produce principalmente en la piel por la exposición a la luz solar. La vitamina D de la síntesis de la piel es biológicamente inactiva; Se requiere hidroxilación en el hígado y el riñón para la activación.<sup>2</sup>

En el ser humano, los compuestos más importantes de este grupo son la vitamina D<sub>3</sub> y la vitamina D<sub>2</sub>, ambos pueden ingerirse de la dieta y de los suplementos. Solo unos pocos alimentos contienen vitamina D. La principal fuente natural de la vitamina es la síntesis de vitamina D<sub>3</sub> en la piel a partir del colesterol a través de una reacción química que depende de la exposición al sol.<sup>3,4</sup> La vitamina D se transporta al hígado en combinación con un proteína de unión en el torrente sanguíneo, convertida en 25-hidroxivitamina D en el hígado y luego convertida en 1,25-hidroxivitamina D en el riñón. Este es un ingrediente activo en el que funciona la vitamina D. El contenido de 1,25 hidroxí vitamina D en la circulación es extremadamente bajo, con una vida media de sólo 4 h. Esta forma circulante primaria de vitamina D (25-OH) es biológicamente inactiva con niveles aproximadamente 1000 veces mayores que los de la 1,25-dihidroxi vitamina D circulante. La vida media de la vitamina D (25-OH) circulante es de 3 semanas.<sup>5</sup> Vitamina D puede regular el equilibrio del metabolismo del calcio y fósforo y la formación ósea, y está estrechamente relacionado con enfermedades cardiovasculares, enfermedades autoinmunes, diabetes e hipertensión, etc.<sup>6</sup>

## Principio de medición

Este ensayo se basa en el método competitivo de un solo paso. Se combinan la muestra, las micropartículas recubiertas de anticuerpo de 25-OH vitamina D y el derivado de 25-OH vitamina D marcado con enzima. Durante la incubación, el derivado de vitamina D 25-OH marcado con enzima y el antígeno de vitamina D 25-OH presentes en la muestra compiten por unirse al anticuerpo de vitamina D 25-OH que recubre las micropartículas. Después del lavado, se genera un complejo entre la fase sólida y el derivado ligado a enzimas por reacciones inmunológicas. El complejo cataliza el sustrato, dando como resultado una reacción quimioluminiscente. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como RLU. El RLU es inversamente proporcional a la cantidad de 25-OH Vitamina D en las muestras.

## Materiales proporcionados


### 1. Calibradores

6 viales liofilizados de calibrador A a F. La matriz contiene PBS (solución salina tamponada con fosfato) que contiene BSA (albúmina de suero bovino). Contiene una selección de conservantes.

Reconstituya cada calibrador liofilizado con 1.0 mL de agua destilada. Deje reposar el material reconstituido durante al menos 10 minutos. Luego invierta el calibrador para mezclarlo completamente.

### 2. Paquete de reactivos

El paquete de reactivos se proporciona listo para usar.

	50*1	100*1	100*2	100*5	50*2
Solución de Micropartículas	1.2mL*1	2.3mL*1	2.3mL*2	2.3mL*5	1.2mL*2
Conjugado de enzimas	5.5mL*1	11.0mL*1	11.0mL*2	11.0mL*5	5.5mL*2
Solución de disociación	5.5mL*1	11.0mL*1	11.0mL*2	11.0mL*5	5.5mL*2

### ● Solución de Micropartículas

Contiene micropartículas recubiertas de anticuerpo de 25-OH vitamina D en tampón PBS que contiene BSA. Contiene una selección de conservantes.

### ● Conjugado enzimático

Contiene derivado de vitamina D 25-OH marcado con peroxidasa de rábano picante en tampón Tris-NaCl que contiene caseína. Contiene una selección de conservantes.

### ● Solución de disociación

Contiene tampón DMSO.

## Analizadores de ensayo en los que se puede utilizar el kit

- AutoLumo A2000 Plus
- AutoLumo A2000 Plus B
- AutoLumo A1000

El inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (micropartículas CLIA) está diseñado para su uso en analizadores de ensayo que son AutoLumo A2000 Plus, AutoLumo A2000 Plus B y AutoLumo A1000.

## Materiales necesarios pero no suministrados

1. Analizador de ensayo
2. Vaso (s) de reacción para la muestra y la reacción del reactivo
3. Tubo (s) de muestra o taza (s) para la muestra que contiene
4. Sustrato quimioluminiscente
5. Lavador de sistema para lavar las agujas de pipeteado
6. Tampón de lavado utilizado en el procedimiento de lavado
7. Agua destilada o desionizada

## Trazabilidad metrológica de calibradores

Este método se ha estandarizado frente a LC - MS / MS, que a su vez se ha estandarizado según el estándar NIST.<sup>7</sup>

## Advertencias y Precauciones

1. Solo para uso profesional.
2. Siga cuidadosamente las instrucciones de uso. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si hay alguna desviación de las instrucciones de estas instrucciones de uso.
3. Consulte la hoja de datos de seguridad del material y el etiquetado del producto para conocer los peligros químicos que puedan estar presentes en este ensayo.
4. Manipule los materiales y desechos potencialmente contaminados de manera segura de acuerdo con los requisitos locales.
5. PRECAUCIÓN: Este ensayo contiene materiales de origen animal. Los componentes bovinos proceden de países donde no se ha informado de la EEB.
6. Algunos reactivos que contienen ProClin 300® pueden causar sensibilización por contacto con la piel, que debe evitarse si entra en contacto con la piel. Este material y su recipiente deben eliminarse de forma segura. En caso de ingestión, consulte con un médico inmediatamente.
7. No fume, beba, coma ni use cosméticos en el área de trabajo.
8. Utilice ropa protectora y guantes desechables cuando manipule muestras y reactivos. Lávese las manos después de las operaciones.
9. Realice el ensayo lejos de las malas condiciones ambientales. p.ej. aire ambiente que contenga gas corrosivo de alta concentración, como ácido hipoclorito de sodio, alcalino, acetaldehído, etc., o que contenga polvo.
10. No mezcle ni utilice componentes de kits con diferentes códigos de lote.
11. Al almacenar los calibradores, asegúrese de que los viales estén bien sellados.
12. Asegúrese de que las micropartículas se vuelvan a suspender antes de cargarlas en el analizador.
13. Evite la formación de espuma en todos los reactivos y tipos de muestras (muestras, calibradores y controles).
14. No sustituya ningún reactivo de este kit de otros fabricantes u otros lotes.
15. Cuando se observe algún daño en el embalaje protector o cualquier cambio en el rendimiento analítico, no utilice el kit.
16. No utilice reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

## Almacenamiento

1. Guarde el kit a 2-8 °C. No congele. Evite la luz fuerte.
2. Refrigere el paquete de reactivo a 2-10 °C durante un mínimo de 2 horas antes de su uso.
3. Almacene el paquete de reactivos sin sellar en posición vertical sobre el analizador o 2-10 °C durante un máximo de 28 días. Después de 28 días, se debe desechar el paquete de reactivos. Una vez que se retiran del analizador, guárdelos a 2-10 °C en posición vertical.
4. Selle y devuelva los calibradores restantes a 2-8 °C inmediatamente después del experimento, bajo cuyas condiciones se mantendrá la estabilidad durante 7 días.

## Muestra

1. Recoja las muestras de suero de acuerdo con las prácticas médicas correctas.
2. Las muestras recogidas en tubos que contienen EDTA o heparina no tienen ninguna interferencia notable con este ensayo.
3. No utilice muestras inactivadas por calor. No utilice conservante de azida sódica en las muestras.
4. Los sedimentos y los sólidos en suspensión en las muestras pueden interferir con el resultado de la prueba, que debe eliminarse mediante centrifugación. Asegúrese de que se haya producido la formación completa del coágulo en las muestras de suero antes de la centrifugación. Algunas muestras, especialmente las de pacientes que reciben terapia anticoagulante o trombolítica, pueden exhibir un mayor tiempo de coagulación. Si la muestra se centrifuga antes de que se forme un coágulo completo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos. Asegúrese de que las muestras no se deterioren antes de su uso.
5. Antes del envío, se recomienda que las muestras se extraigan del coágulo, del separador de suero o de los glóbulos rojos.
6. El procesamiento insuficiente de la muestra o la interrupción de la muestra durante el transporte puede causar resultados deprimidos.
7. Evite las muestras extremadamente hemolíticas, lipémicas o turbias.
8. Tape y almacene las muestras a 18-25 °C durante no más de 8 horas; para un uso prolongado, las muestras deben taparse y almacenarse a 2-8 °C hasta 7 días. O congele las muestras que necesiten ser almacenadas o transportadas por más de 7 días a -20 °C. Evite múltiples ciclos de congelación-descongelación. Mezcle bien las muestras descongeladas con un vórtice a baja velocidad o invirtiéndolas 10 veces. Inspeccione visualmente las muestras, si se observa estratificación o estratificación, continúe mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Después de descongelar, lleve a temperatura ambiente y mezcle bien agitando suavemente.
9. Centrifugue las muestras descongeladas que contengan glóbulos rojos o partículas, o que tengan un aspecto turbio o turbio antes de usarlas para asegurar la consistencia de los resultados.
10. Tenga en cuenta que pueden estar presentes niveles interferentes de fibrina en muestras que no tienen partículas obvias o visibles.
11. Si no se puede verificar la recolección y preparación adecuadas de la muestra, o si las muestras se han interrumpido debido al transporte o manipulación de la muestra, se recomienda un paso de centrifugación adicional. Las condiciones de centrifugación deberían ser suficientes para eliminar las partículas.
12. Para obtener resultados óptimos, inspeccione todas las muestras en busca de burbujas. Elimine las burbujas con una punta antes del análisis. Utilice una nueva punta para cada muestra para evitar la contaminación cruzada.

## Procedimiento de medición

1. Verifique los materiales consumibles
  - Verifique que haya un volumen adecuado de materiales consumibles antes de ejecutar la prueba.
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.

2. Cargue el kit
  - Mezcle el contenido de los paquetes de reactivos nuevos (sin perforar) invirtiendo suavemente el paquete varias veces antes de cargarlo en el analizador. No invierta los paquetes abiertos (perforados). Si es necesario, agite suavemente para mezclar horizontalmente después de la primera carga.
  - Lea el código de barras en el paquete de reactivo automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
  - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
3. Solicitar pruebas
  - Coloque los vasos o tubos de muestra en la gradilla de muestras, 50 µL de muestras para cada prueba. Pero considere el recipiente de muestra y 150 µL de volúmenes muertos del sistema, que se pueden consultar en los manuales de Assay Analyzer correspondientes para conocer el volumen mínimo de muestra requerido.
  - Cargue la gradilla de muestras e ingrese la información de la muestra en la interfaz del software del sistema.
  - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba, el analizador opera automáticamente las pruebas. Realiza las siguientes funciones:
    - Mueve la muestra al punto de ajuste
    - Carga un recipiente de reacción en la ruta del proceso
    - Aspira y transfiere la muestra al recipiente de reacción
    - Agrega solución de micropartículas, conjugado enzimático y solución de disociación al recipiente de reacción
    - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción
    - Agrega sustrato quimioluminiscente
    - Mide la emisión quimioluminiscente para determinar la cantidad de 25-OH vitamina D en la muestra
    - Desecha el recipiente de reacción usado I
    - Calcula el resultado
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos
4. Calibre la curva
  - El analizador puede leer el código de barras en el paquete de reactivo automáticamente para obtener los parámetros requeridos para la prueba.
  - Si el código de barras no se puede leer en casos excepcionales, se pueden reconocer manualmente.
  - Transfiera los calibradores a los vasos o tubos de muestras y colóquelos en la gradilla de muestras. Realice la detección de duplicados en el sistema.
  - Cargue la gradilla de muestras y la información de los calibradores de entrada en la interfaz del software del sistema.
  - Seleccione "ejecutar" para iniciar la prueba y generar la curva de calibración, se requiere calibración cada 28 días.
  - Una vez que se acepta y se almacena una curva de calibración, todas las muestras posteriores pueden analizarse sin más calibración a menos que:
    - Los controles están fuera de rango después de mediciones repetidas
    - Se utiliza un kit de reactivos y una solución de sustrato con un nuevo código de lote
    - Más allá de la fecha de vencimiento de una curva de calibración
    - Se reemplazan o reparan piezas importantes del analizador
  - Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos.
5. Diluir la muestra

Las muestras con un valor de 25-OH vitamina D superior a 150 ng / ml se pueden diluir manualmente. Se utiliza suero humano con una concentración de analito baja para diluir las muestras. Después de la dilución, multiplique el resultado por el factor de dilución.

## Resultados de la medición

Los resultados de la prueba de muestra los determina automáticamente el software del sistema. La cantidad de 25-OH vitamina D en las

muestras se determina a partir de la producción de luz medida mediante los datos de calibración almacenados. Consulte el manual de funcionamiento del analizador de ensayos sobre cómo revisar los resultados de las muestras.

La unidad predeterminada para este ensayo es ng / mL.

Fórmula de conversión: ng / mL × 2.5 = nmol / L

### Procedimiento de control

Los controles para los distintos rangos de concentración deben ejecutarse individualmente cuando la prueba esté en uso, una vez por kit de reactivos y después de cada calibración.

Los intervalos y límites de control deben adaptarse a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los valores obtenidos deben estar dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debe establecer las medidas correctivas a tomar si los valores caen fuera de los límites definidos.

Siga las normativas gubernamentales aplicables y las directrices locales para el control de calidad.

### Limitaciones del procedimiento

1. Este ensayo está destinado a ayudar al diagnóstico clínico. Realice este ensayo junto con el examen clínico, el historial médico del paciente y otros resultados de la prueba.
2. Si los resultados no concuerdan con la evidencia clínica, se sugiere realizar pruebas adicionales para confirmar el resultado.
3. Los anticuerpos heterofílicos y los factores reumatoideos en las muestras pueden interferir con los resultados de la prueba. Los anticuerpos heterofílicos en suero humano pueden reaccionar con inmunoglobulina reactivo, interfiriendo con los inmunoensayos in vitro. Los pacientes expuestos habitualmente a animales o productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y pueden observarse valores anómalos. Es posible que se requiera información adicional para el diagnóstico. Este tipo de muestras no es adecuado para ser analizado por este ensayo.
4. No se ha establecido el rendimiento de esta prueba con muestras neonatales.
5. Esta prueba mide concentraciones dentro del rango de 4.5-150 ng / mL. Si las concentraciones de 25-OH Vitamina D están por encima del rango de medición esperado, se recomienda diluir las muestras con suero humano con una concentración de analito baja. La dilución recomendada es 1: 3 de esta prueba, lo que permite que las muestras alcancen aproximadamente 600 ng / ml.
6. Como recomendó la International Endocrine Society, los niveles séricos de 25-OH vitamina D son los siguientes<sup>8</sup>:

Estado de la Vitamin D	Concentración de 25-OH Vitamina D Rango (ng/ml)
Deficiente	<20
Insuficiente	20 to <30
Suficiente	30-100
Límite de seguridad superior	>100

### Intervalo de referencia biológica

Se obtuvo un rango normal de 7,86 ng / ml a 45,5 ng / ml (intervalo central del 95%) analizando muestras de suero de 457 individuos definidos como normal por el médico. Como la vitamina D 25-OH en el cuerpo humano se ve afectada por cambios estacionales, radiación ultravioleta, especie humana, dieta y otros factores, se recomienda que cada laboratorio establezca un intervalo de referencia normal de acuerdo con sus condiciones reales y contacto con la población.

### Características de presentación

#### 1. Precisión de medición

Se analizaron 3 muestras por duplicado de 2, dos veces al día durante 20 días de prueba. Los datos de este estudio se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	n	Media (ng/mL)	Dentro de corrida %CV	Total %CV
1	80	16.17	4.56	7.50
2	80	41.06	3.21	5.22
3	80	65.56	3.36	4.71

\*Datos representativos; los resultados en laboratorios individuales pueden diferir de estos datos.

#### 2. Sensibilidad analítica

Límite de Blanco: 2.0 ng/mL.

Límite de Detección: 3.5 ng/mL.

Límite de cuantificación: 4.5 ng/mL con un coeficiente de variación del 20%.

#### 3. Especificidad analítica

Reacción cruzada: Se probaron las siguientes sustancias y concentraciones y no se encontró reacción cruzada con la prueba.

Sustancias	Concentración (ng/mL)
vitamina D <sub>2</sub>	1000
vitamina D <sub>3</sub>	1000
Rocalirol	5
Paricalcitol	2

Interferencia: Sin interferencia con 125 mg / dL de hemoglobina, 80 mg / dL de Bilirrubina, 1000 mg / dL de Triglicéridos.

#### 4. Comparación de métodos

- 1) Una comparación de las micropartículas CLIA de 25-OH vitamina D (y) utilizando muestras medidas con LC-MS / MS (x) dio las siguientes correlaciones (ng / mL):

Número de muestras medidas:: 134

Pases/Bablock<sup>9</sup>  $y=0.979x+2.663$

Pearson  $r=0.917$

Las concentraciones de la muestra estuvieron entre aproximadamente 6.44 ng / mL y 55,2 ng / ml.

- 2) Una comparación de las micropartículas CLIA de 25-OH vitamina D con un ensayo disponible comercialmente utilizando muestras clínicas dio las siguientes correlaciones (ng / mL):

Método de correlación	Numero de muestras	Interceptar	Pendiente	Coefficiente de correlación
Regresión lineal	383	-0.5281	1.016	0.9406

### Referencias literarias

1. Holick M. Vitamina D: la hormona D-lightful subestimada que es importante para la salud esquelética y celular. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2002;9(1):87-98
2. Holick MF. Deficiencia de vitamina D. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
3. Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN (Febrero de 2005). "Ingesta de vitamina D: una perspectiva global del estado actual". *La Revista de Nutrición*. 135 (2): 310-6

4. Norman AW (Agosto de 2008). " De la vitamina D a la hormona D: fundamentos del sistema endocrino de la vitamina D esenciales para una buena salud". La Revista Estadounidense de Nutrición Clínica. 88 (2): 491S–499S.
5. Christakos S, Ajibade DV, Dhawan P, et al. Vitamina D: metabolismo [J]. Clínicas de Endocrinología y Metabolismo de América del Norte, 2010, 39(2):243.
6. Melamed ML, Michos ED, Post W, et al. 25-Hydroxyvitamin D Niveles de 25-hidroxivitamina D y riesgo de mortalidad en la población general [J]. Archivos de Medicina Interna, 2008, 168(15):1629.
7. Vogeser M, Kyriatsoulis A, Huber E, et al. Método de referencia candidato para la cuantificación de 25-hidroxivitamina D3 circulante mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem. Clin Chem 2004;50:1415-1417.
8. Phinney KW. Desarrollo de un material de referencia estándar para vitamina D en suero. Am J Clin Nutr 2008;88(suppl):511-512.
9. Bablock W, Passing H, Bender R, et al. (1988 Un procedimiento de regresión general para la transformación de métodos. Aplicación de procedimientos de regresión lineal para estudios de comparación de métodos en química clínica, Parte III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.