

TRABAJO ORIGINAL

Comparación de la medición de 25 hidroxivitamina D por tres metodologías en pacientes sin y con suplementación de ergocalciferol, colecalciferol o ambos

Comparison of Three Methods for 25 Hydroxyvitamin D Measurement in Patients with No Supplementation or Supplemented with Ergocalciferol, Cholecalciferol or Both

Basilotta N¹, Insúa A², Reverendo A¹, Andrada R¹, Guerrero L¹, García L², Quiroga S¹

¹Laboratorio Endocrinología, Departamento de Análisis Clínicos, ²División Endocrinología, Departamento de Medicina Interna. Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC). Av. Galván 4102, 1431, CABA, Argentina

RESUMEN

Introducción: Para la determinación de 25 hidroxivitamina D, (25OHD) existen varias opciones metodológicas. La falta de estandarización entre las mismas puede arrojar resultados disímiles que podría acentuarse en el caso de pacientes suplementados con distintas formas de la vitamina D.

Objetivo: comparar tres metodologías para la cuantificación de 25OHD y evaluar los resultados de 25OHD de sujetos sin tratar con los que reciben ergocalciferol (D2), colecalciferol (D3), o ambos.

Materiales y métodos: Se analizaron 82 muestras por QLIA de Abbott Diagnostics (Architect i1000), EQLIA de Roche Diagnostics (Cobas 601) y RIA DiaSorin. Las muestras se distribuyeron en cuatro grupos: G1: sin tratamiento previo; G2: tratados con D2; G3: tratados con D3 y G4: tratados con D2 + D3.

Resultados: En el total de las muestras se observó una diferencia significativa entre las medias de 25OHD evaluadas por los tres métodos (F: 14,80, $p < 0,0001$), siendo similares entre RIA y EQLIA, pero menores con QLIA ($p < 0,05$). En los cuatro grupos estudiados las medias con RIA y EQLIA fueron comparables en presencia o no de tratamiento. En G2 se observó una tendencia significativa a niveles más bajos con QLIA, respecto de los otros dos métodos ($p = 0,0003$), y en G4 también ($p < 0,02$). En G3 dicha diferencia, aunque significativa ($p < 0,05$), fue menos marcada. En los gráficos de diferencias, Bland y Altman, QLIA subestimó las concentraciones medidas en comparación con EQLIA, Δ media de RIA: $-5,69$ a 14 ng/mL. Esto no se visualizó en la comparación de EQLIA y RIA (Δ : $-3,45$ a $0,47$ ng/mL).

Conclusiones: Existen diferencias metodológicas en el diseño y especificidad de los inmunoensayos que reconocen en distinta proporción la 25OHD y sus metabolitos. Se podría clasificar de manera diferente la suficiencia o insuficiencia de vit D, dependiendo de la metodología utilizada. Los resultados sugieren que RIA y EQLIA arrojan mediciones comparables en pacientes sin tratamiento, tratados con vitamina D2, D3 o ambas. **Rev Argent Endocrinol Metab 51:15-24, 2014**

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Palabras clave: vitamina D, 25 (OH) colecalciferol, inmunoensayos

ABSTRACT

Introduction: There are several methodological options for 25 hydroxyvitamin D (25OHD) measurement. The lack of standardization across methods can lead to discrepant results, which could be accentuated in the case of patients supplemented with different forms of vitamin D.

Objective: To compare three methods for 25OHD quantification and to compare the 25OHD results from untreated subjects with those obtained from subjects receiving ergocalciferol (D2), cholecalciferol (D3), or both.

Recibido: 23-05-2013 Aceptado: 26-11-2013

Correspondencia: Bqca. Natalia Basilotta, nbasilotta@cemic.edu.ar, Laboratorio de Endocrinología, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas – CEMIC. Tel.: (+54) 5299-0100 interno 2224, FAX: 52990197, Av. Galván 4102, 1431, CABA, Argentina

Materials and Methods: We analyzed 82 samples by QLIA of Abbott Diagnostics (Architect i1000), EQLIA Roche Diagnostics (Cobas 601) and RIA DiaSorin. Samples were divided into four groups: G1: untreated; G2: treated with D2, G3 treated with D3 and G4: treated with D2 + D3.

Results: Considering all samples, there was a significant difference between mean 25OHD results obtained by the three methods ($F: 14.80, p < 0.0001$), being similar with RIA and EQLIA but lower with QLIA ($p < 0.05$). In the four groups studied, RIA and EQLIA results were similar in the presence or absence of treatment. In G2, there was a significant trend to lower levels with QLIA, compared to the other two methods ($p = 0.0003$), and the same trend was observed in G4 ($p < 0.02$). This difference in G3, albeit significant ($p < 0.05$), was less marked. Bland and Altman showed that QLIA underestimated the measured concentrations compared with EQLIA, average Δ RIA: -5.69 to -14 ng/mL. This was not observed when comparing EQLIA vs. RIA (Δ : -3.45 to 0.47 ng/mL).

Conclusions: There are methodological differences in the design and specificity of immunoassays, which recognize 25OHD and its metabolites in different proportions. Therefore, patients might be classified as 25OHD sufficient or insufficient depending on the methodology used. Results suggest that RIA and EQLIA measurements are comparable in untreated patients and in patients treated with vitamin D2, D3 or both.

Rev Argent Endocrinol Metab 51:15-24, 2014

No financial conflicts of interest exist.

Key words: vitamin D, 25 (OH) cholecalciferol, immunoassays

INTRODUCCIÓN

La valoración del estatus de vitamina D mediante la determinación de los niveles séricos de 25 (OH) Vitamina D (25OHD) ha cobrado importancia creciente en la práctica clínico-endocrinológica, tanto en la población general⁽¹⁾, como en pacientes osteopénicos⁽²⁾, permitiendo la detección de insuficiencia o deficiencia de la misma, seleccionando así los sujetos pasibles de tratamiento sustitutivo⁽³⁾. La medición de 25OHD es también útil para el diagnóstico diferencial del hiperparatiroidismo secundario, el raquitismo y la osteomalacia, entre otras afecciones del metabolismo mineral⁽⁴⁾. Por otra parte, el descenso de los niveles de vitamina D se asocia epidemiológicamente a un aumento del riesgo de ciertos cánceres⁽⁴⁻⁸⁾ y de enfermedades cardiovasculares⁽⁹⁾. Si bien, no existe una cifra universalmente aceptada para definir el estatus de 25 hydroxivitamina D (25OHD) en una población determinada⁽¹⁰⁾, se suele aceptar como deficiencia cifras menores a 20 ng/mL (50 nmol/L) e insuficiencia a cifras comprendidas entre 20 y 29 ng/mL⁽⁵⁾. Para la mayoría de los autores se considera suficiencia de vitamina D a cifras mayores a 30 ng/mL (75 nmol/L)^(2,4).

Existe suficiente evidencia clínica para afirmar que, en pacientes con osteopenia u osteoporosis, un tratamiento con dosis iguales o mayores a 700 UI por día de vitamina D reduce la pérdida de masa ósea y la incidencia de fracturas⁽¹¹⁻¹⁶⁾. Así, el monitoreo del tratamiento con vitamina D2 (er-

gocalciferol) o D3 (colecalfiferol) puede también requerir de la medición de 25OHD.

En la medición de la vitamina D, pueden influir variables tanto preanalíticas⁽¹⁷⁾ como analíticas que afecten la interpretación de los resultados^(18,19). No obstante los avances recientes en este campo, existen varios aspectos conceptuales y metodológicos a definir:

- Diferentes metodologías de laboratorio para su determinación ya que en la última década se han desarrollado varios inmunoensayos automatizados orientados a medir Vitamina D en forma más rápida y económica, en comparación con el tradicional RIA. Igual que con el RIA, estos nuevos inmunoensayos representan desafíos metodológicos no resueltos aún, por ejemplo método de referencia, estándares internacionales, trazabilidad, especificidad, etc.⁽¹⁹⁾.
- Disparidad en la afinidad de las proteínas de captura de los ensayos por los metabolitos séricos de la vitamina D, de disímil actividad biológica y reactividad, lo que genera diferencias en la especificidad de los métodos utilizados.
- Múltiples fórmulas terapéuticas disponibles (D3, D2 o ambas), complican aún más la situación, en función de las diferencias antes mencionadas.

Dada la existencia de distintos inmunoensayos para la medición de 25OHD, resulta apropiado conocer las eventuales diferencias metodológicas entre los mismos, con el fin de emplearlos de modo eficiente, en el contexto clínico adecuado, tanto en pacientes sin o con tratamiento con D2, D3 o ambas.

OBJETIVOS

Comparar tres metodologías para la determinación de 25OHD en sujetos sin tratamiento previo y en aquellos que reciben ergocalciferol (D2), colecalciferol (D3) o ambos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 82 muestras de pacientes por tres metodologías: 25-OH Vitamina D por Quimioluminiscencia (QLIA) de Abbott Diagnostics (Architect i1000) revisado en junio de 2011, vitamina D Total Electroquimioluminiscencia (EQLIA) de Roche Diagnostics (Cobas 601) y radioinmunoensayo manual (RIA) de DiaSorin, considerado como método de comparación por ser utilizado habitualmente en nuestro medio y con el que se obtuvieron los valores de corte actualmente propuestos. Los métodos automatizados de Abbott y Roche Total son de presentación reciente en el mercado. La formulación de EQLIA vitamina D total es distinta al diseño de 2007 que solo reconocía 25OHD3 utilizando anticuerpo policlonal y sin extracción previa. Las muestras por RIA se midieron por duplicado.

Las tres metodologías tienen un paso de extracción previo, distinta especificidad de anticuerpos y diseño. (Tabla I y II)

Se incluyeron pacientes sin y con tratamiento (mínimo de dos meses) con vitamina D y se distribuyeron en cuatro grupos:

- grupo 1 (G1): pacientes sin tratamiento previo (n = 19)
- grupo 2 (G2): pacientes suplementados con D2 (n = 21)
- grupo 3 (G3): pacientes suplementados con D3 (n = 21)
- grupo 4 (G4): pacientes suplementados con D2 + D3 (n = 21).

Las muestras, una vez extraídas en tubos con gel, fueron centrifugadas dentro de la hora y almacenadas hasta su procesamiento a -20°C .

Los datos fueron evaluados por análisis de varianza (ANOVA) con ajuste de Bonferroni⁽²⁰⁾. ANOVA determina si las diferencias que existen entre las medias de tres o más grupos son estadísticamente significativas. Si las medias difieren por ANOVA, el ajuste de Bonferroni de comparaciones múltiples, determina cuáles grupos son homogéneos entre sí con una determinada significancia estadística. La correlación se obtuvo por la regresión lineal de Passing Bablok⁽²¹⁾, sin requerimientos especiales con respecto a la distribución de las muestras y los errores de medición. El resultado no depende de la asignación de los métodos a X e Y. La pendiente e intersección se calculan con un intervalo de confianza del 95 %.

Los promedios versus las diferencias se obtuvieron por Bland y Altman⁽²²⁾, que evalúa la concordancia entre dos métodos de medida. Consiste en representar la diferencia entre cada par de valores versus su media. En el caso de que no haya error sistemático, los puntos se distribuirán de forma aleatoria a uno y otro lado de la recta correspondiente a la diferencia cero entre medidas. Los programas estadísticos utilizados fueron Method Validator Software: comparison plots y Statistix Analytical Software 1985-2000.

RESULTADOS

Resultados del total de las muestras

En la Tabla III se muestran los resultados de todos los pacientes (del grupo 1 al 4), sin distinción del tipo de tratamiento recibido, ya que ésta es la modalidad con que se reciben las muestras en el laboratorio.

Tabla I. Características principales de tres ensayos de 25 (OH) vitamina D según indicación de los fabricantes

Diseño	RIA	QLIA	EQLIA
Extracción previa	Acetonitrilo	Metanol-TEA -ANSA	Ditiotreitol
Captura	Policlonal	Policlonal	Proteína de unión de vitamina D
Separación	2° Anticuerpo	Ac Monoclonal Antibiotina	Micropartículas Estreptavidina
Marca	125I Vitamina D	Acridina Vitamina D	Prot de unión Rutenilada + Biotina Vitamina D
Rango de medición	5-100 ng/mL	8-160 ng/mL	3-70 ng/mL
CV % entre ensayos	8,2 % (22,7 ng/mL)	4,6 % (19,5 ng/mL)	8,5 % (17,1 ng/mL)
según fabricante	11,0 % (49,0 ng/mL)	2,8 % (38,0 ng/mL)	5,8 % (29,4 ng/mL)

Tabla II. Especificidad de los tres ensayos para las distintas formas de vitamina D según indicación de los fabricantes

Especificidad	RIA %	QLIA %	EQLIA %
25 OH Vitamina D3	100	105	98
25 OH Vitamina D2	100	82*	81
24,25 (OH)2 Vitamina D3	100	112	121
24,25 (OH)2 Vitamina D2	100	–	–
1,25 (OH)2 Vitamina D3	11	12,6	5
1,25 (OH)2 Vitamina D2	11	--	6
Colecalciferol (Vitamina D3)	0,8	0,3	5
Ergocalciferol (Vitamina D2)	0,8	0,1	6
Epímero C3 de 25 (OH) vitamina D	–	2,7	93

Ref.: *82 % calculado por método no convencional a dosis bajas.

La especificidad se calcula habitualmente como:

$$\% \text{ Reactividad Cruzada} = \frac{\text{valor obtenido muestra con agregado (ng/mL)} - \text{valor obtenido muestra sin agregado (ng/mL)}}{\text{concentración agregada (ng/mL)}} \times 100$$

En el caso particular de la metodología de QLIA (*) la estimación fue realizada de otra manera: se utilizaron muestras sin agregado y que cumplían la relación 25-OH vitamina D3 /25-OH vitamina D2 > 10,0 y concentración de 25-OH vitamina D3 < 5,0 ng/mL.

$$\% \text{ Reactividad Cruzada D2} = \frac{25\text{-OH Vitamina D Total (Architect)} - 25\text{-OH vitamina D3 (LC-MS/MS)}}{25\text{-OH vitamina D2 (LC-MS/MS)}} \times 100$$

Tabla III. Resultados de todos los pacientes por las tres metodologías:

	Media (ng/mL)	Desv est (ng/mL)	Mínimo (ng/mL)	Máximo (ng/mL)	p 25 (ng/mL)	p 50 (ng/mL)	p 75 (ng/mL)
RIA N = 82	34,1	12,1	8,9	67,9	24,1	32,8	43,0
QLIA N = 82	25,9	7,7	11,1	48,9	20,7	24,4	31,9
EQLIA N = 82	33,1	11,2	3,6	53,3	24,4	32,9	42,1

Ref.: Anova: F =14,80; p < 0,0001; Bonferroni p < 0,05

Se observó una diferencia significativa entre las medias de 25OHD obtenidas por los tres métodos (F: 14,80, p < 0,0001). Las medias y los percentilos de los métodos RIA y EQLIA no difirieron significativamente, pero ambos fueron disímiles a la medición por QLIA (p < 0,05). Los datos obtenidos por QLIA y EQLIA respecto al RIA mostraron que, si bien la correlación es similar (r: 0,692 y 0,704 respectivamente), las pendientes difirieron significativamente. EQLIA mostró mayor similitud con RIA, como se aprecia en la Tabla IV y Gráfico 1. Con Bland y Altman la diferencia media QLIA vs.

Tabla IV. Parámetros de la curva de comparación de QLIA y EQLIA con RIA

	Pendiente	Intersección (ng/mL)	r
QLIA	0,59	4,93	0,692
EQLIA	0,92	2,09	0,704

RIA fue de – 8,64 (– 1,06 a – 6,72) ng/mL mientras que en el caso de EQLIA vs. RIA fue de – 0,987 (– 2,94 a 0,963) ng/mL, confirmando esta diferencia entre ambas metodologías.

Resultados de los grupos según tratamiento

Se muestran los resultados de 25OHD (ng/ml) de los 4 grupos (Tabla V), es decir para los pacientes sin tratamiento, **G1**; tratados con D2, **G2**;

con D3, **G3** y medicados con D2 + D3, **G4**. Las medias de 25OHD obtenidas midiendo con RIA y EQLIA fueron similares, independientemente de la presencia o no de tratamiento. En el grupo G1, se observó una tendencia a valores más bajos con

Tabla V. Resultados de 25OH D (ng/ml) de los grupos

		RIA	QLIA	EQLIA	F	p
G1	Media	26,1	20,9	24,8	1,57	0,2175
	DS	8,5	7,3	11,6		
	Rango	16,4-45,2	11,1-38,5	3,6-45,9		
G2	Media	37,9	25,1	34,9	9,08	0,0003
	DS	13,5	6,6	9,5		
	Rango	10,3-67,0	14,5-39,6	20,7-52,9		
G3	Media	36,2	29,8	36,7	3,28	0,0443
	DS	10	7,8	11,2		
	Rango	18,3-57,6	18,5-48,9	15,7-53,3		
G4	Media	35,1	26,9	34,9	4,55	0,0147
	DS	12,5	6,6	13,7		
	Rango	8,9-56,4	13,7-38,0	18,7-48,6		

Ref.: F: estadístico de ANOVA. p: valor de p.

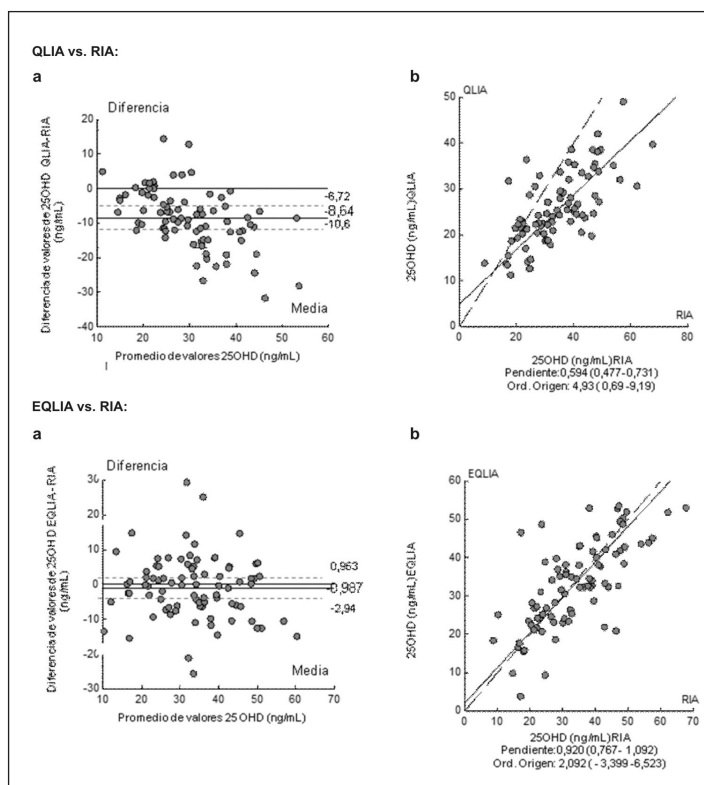


Gráfico 1. Resultados del total de muestras. Comparación de metodologías QLIA y EQLIA vs. RIA. Gráficos de a) Bland y Altman. Línea continua representa la diferencia media entre ambas metodologías. Líneas punteadas representan el intervalo de confianza del 95 % de la diferencia media entre ambas metodologías b) Passing- Bablok. Análisis de regresión: línea punteada: recta teórica; línea continua: recta obtenida de la comparación de los métodos.

QLIA no significativa ($p = 0,2175$), respecto de los otros dos métodos. La diferencia se acentuó en G2 ($p = 0,0003$), y algo menos en G4 ($p < 0,02$). En G3 dicha diferencia, aunque significativa ($p < 0,05$), fue menos marcada.

La concordancia de QLIA y EQLIA con RIA (Tabla VI) fue similar ($r: > 0,67$) en los grupos G1 a G3, pero disminuyó en G4 ($r: \sim 0,5$). Los grupos 2 y 4 mostraron menor pendiente para ambas metodologías, siendo más marcado en QLIA. (Gráfico 2 al 5).

El análisis de las diferencias por Bland y Altman mostró que QLIA subestimaría las concentraciones medidas en comparación con EQLIA sobre todo en los pacientes tratados con D2 (G2 y G4) (diferencia media de QLIA y RIA = $-5,69$ a $-14,0$ ng/mL según el grupo). Así, se observó con QLIA que en el G1 el 71 % de los pacientes tuvieron valores inferiores al promedio de RIA, esta diferencia ascendió a 90,5 % en el G2. En cambio, la diferencia media EQLIA y RIA fue de $-3,45$ a $0,47$ ng/mL según el grupo (Gráficos 2 al 5).

DISCUSIÓN

En los últimos años se ha incrementado la evaluación de los niveles séricos de 25OHD debido al avance del conocimiento de los efectos clásicos y no clásicos de la hormona en su asociación con distintas patologías. Tradicionalmente el ensayo RIA del fabricante DiaSorin fue el más empleado, pero el mismo es operador dependiente y los tiempos de procesamiento son prolongados. A los fines de acelerar la obtención de los resultados se han desarrollado varias metodologías que utilizan plataformas automatizadas.

Los diseños de las metodologías de medición de 25OHD considerados en este trabajo tienen similitudes y diferencias a conocer a la hora de evaluar el desempeño de cada uno. Para interpretar los resultados en la muestra total, es importante analizar las características que se muestran en la Tabla 1.

La proteína transportadora de vitamina D (VDBP)⁽²³⁾ liga entre el 85 y 88 % de la 25OHD y sus metabolitos séricos mientras que la albúmina

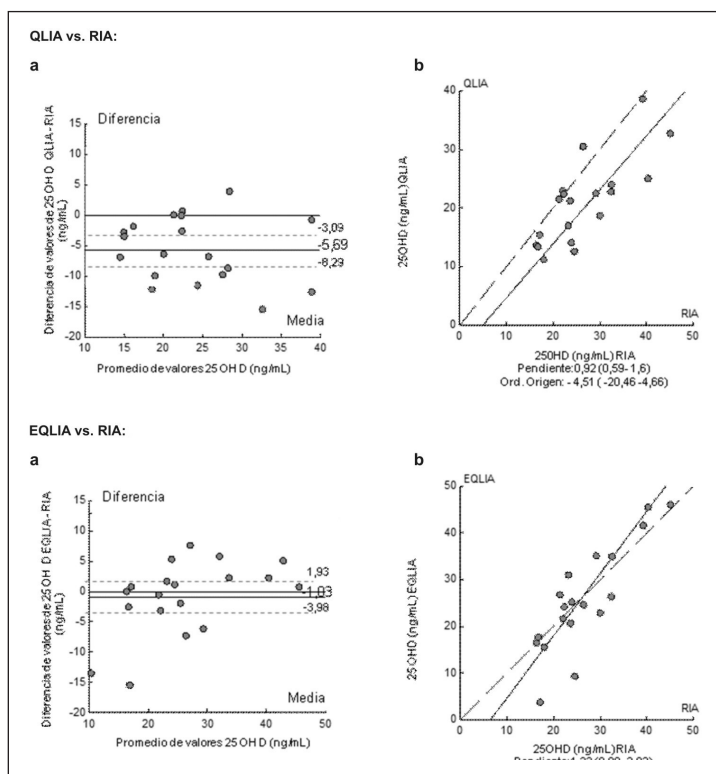


Gráfico 2. Resultados del Grupo 1 (G1) Comparación de metodologías QLIA y EQLIA vs. RIA. Gráficos de a) Bland y Altman. Línea continua representa la diferencia media entre ambas metodologías. Líneas punteadas representan el intervalo de confianza del 95 % de la diferencia media entre ambas metodologías b) Passing-Bablok. Análisis de regresión: línea punteada: recta teórica; línea continua: recta obtenida de la comparación de los métodos.

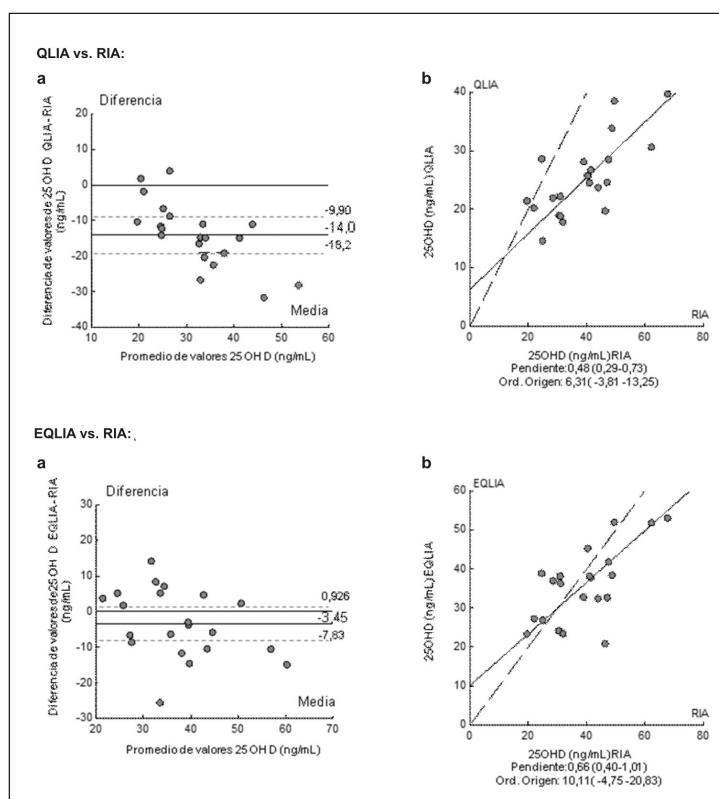


Gráfico 3. Resultados del Grupo 2 (G2) Comparación de metodologías QLIA y EQLIA vs. RIA. Gráficos de a) Bland y Altman. Línea continua representa la diferencia media entre ambas metodologías. Líneas punteadas representan el intervalo de confianza del 95 % de la diferencia media entre ambas metodologías b) Passing- Bablok. Análisis de regresión: línea punteada: recta teórica; línea continua: recta obtenida de la comparación de los métodos.

del 12 al 15 %; solo el 0,03 % circula libre. Para poder medir la vitamina D es indispensable liberarla de dichas proteínas mediante el pretratamiento del suero. Los tres métodos considerados utilizan distintos reactivos para su separación; se supone que los tres realizan una extracción completa⁽²⁴⁻²⁶⁾.

Además de 25OHD, en circulación plasmática se encuentran otros metabolitos tales como el colecalciferol (vitamina D3), calcitriol y los 24 hidroxilados, así como la vitamina D2 (ergocalciferol) si el paciente la estuviera recibiendo. El reactivo de captura es el componente más importante para otorgar especificidad a un inmunoensayo y su reacción cruzada definirá este parámetro. En dos de los inmunoensayos evaluados se utilizan anticuerpos policlonales (de distinta especificidad) mientras que el reactivo de EQLIA es la misma proteína transportadora, VDBP (Tabla 2).

De acuerdo a los fabricantes, las especificidades de los diferentes métodos son similares (aunque no idénticas). En función de nuestros resultados,

podrían no ser comparables, como también se sugiere en⁽²⁷⁾. Al analizar las muestras en conjunto se observa que QLIA arroja valores significativamente más bajos (ANOVA) en todo el rango de concentraciones (Tabla III). QLIA se diferencia significativamente del resto al aplicar el ajuste por Bonferroni. Los métodos Bland y Altman como Passing Bablok lo confirman. Sería de interés replicar y ampliar estas observaciones con un mayor número de muestras.

Al presente, la definición del status poblacional de vitamina D es universal e independiente de la metodología empleada^(2,5). En función de las diferencias observadas en nuestro estudio podrían surgir dificultades al momento de evaluar pacientes, los que podrían ser clasificados como insuficientes por una metodología y suficientes por otra, particularmente en niveles cercanos al valor de corte.

Cuando dividimos las muestras en los cuatro grupos, considerando la suplementación recibida,

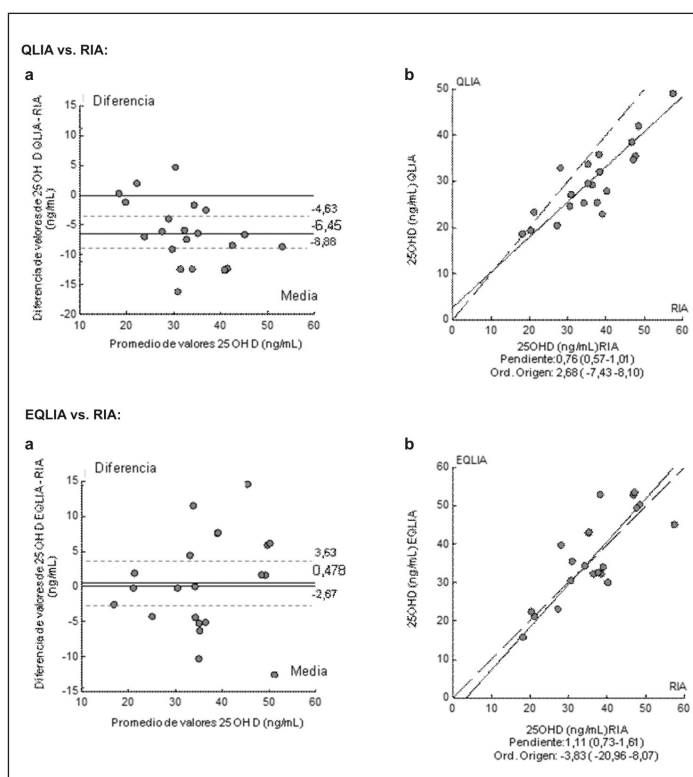


Gráfico 4. Resultados del Grupo 3 (G3) Comparación de metodologías QLIA y EQLIA vs. RIA. Gráficos de a) Bland y Altman. Línea continua representa la diferencia media entre ambas metodologías. Líneas punteadas representan el intervalo de confianza del 95 % de la diferencia media entre ambas metodologías b) Passing- Bablok. Análisis de regresión: línea punteada: recta teórica; línea continua: recta obtenida de la comparación de los métodos.

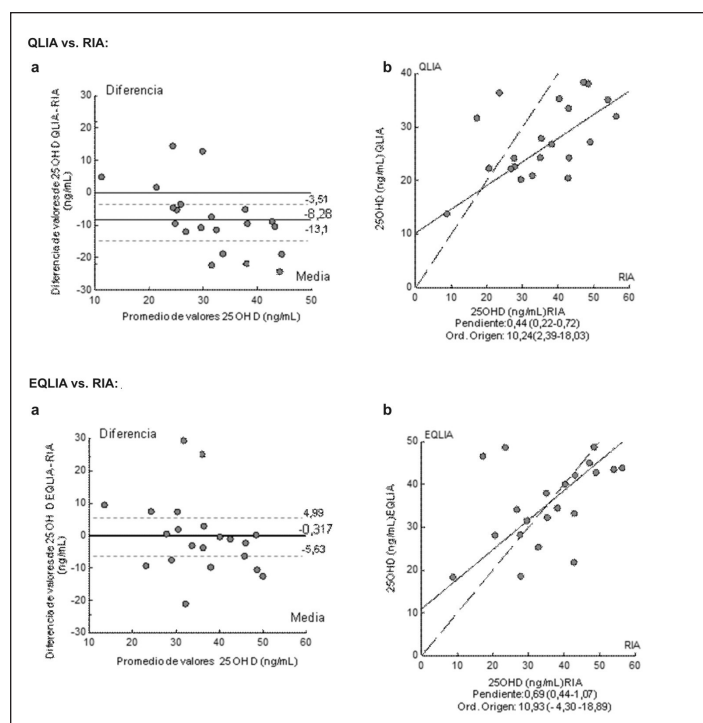


Gráfico 5. Resultados del Grupo 4 (G4) Comparación de metodologías QLIA y EQLIA vs. RIA. Gráficos de a) Bland y Altman. Línea continua representa la diferencia media entre ambas metodologías. Líneas punteadas representan el intervalo de confianza del 95 % de la diferencia media entre ambas metodologías b) Passing- Bablok. Análisis de regresión: línea punteada: recta teórica; línea continua: recta obtenida de la comparación de los métodos.

Tabla VI. Resultados de la correlación QLIA versus RIA y EQLIA versus RIA

	QLIA				EQLIA			
	Pendiente	Intersección	r	Bland y Altman	Pendiente	Intersección	r	Bland y Altman
G1	0,92	- 4,5	0,77	- 5,69	1,33	- 8,6	0,86	- 1,03
G2	0,48	6,31	0,73	- 14,0	0,66	10,11	0,67	- 3,45
G3	0,76	2,68	0,85	- 6,45	1,11	- 3,83	0,79	0,47
G4	0,44	10,24	0,54	- 8,28	0,69	10,93	0,47	- 0,32

estas diferencias entre metodologías se acentuaron (Tabla V). En el grupo de pacientes no tratados (G1) se verificó la tendencia de lo observado en el total de las muestras. Es probable que la ausencia de significación estadística se deba al número de muestras. En el grupo de pacientes tratados con vitamina D3 (G3) la tendencia a medir valores inferiores con QLIA alcanzó el nivel de significación. En los pacientes tratados con D2 (G2 y G4), la aparente subestimación de los niveles de 25OHD fue aún mayor (Tabla VI).

En nuestra opinión, los hallazgos en su conjunto podrían atribuirse a diferencias mayores en la especificidad de los métodos, que las descritas por los fabricantes en sus insertos.

Estos conceptos también son relevantes en el monitoreo de la terapia sustitutiva, donde por el QLIA considerado en este trabajo, podrían no verse reflejado el verdadero cambio del estatus de vitamina D.

En nuestro medio existen otros inmunoensayos cuya detección se realiza por QLIA. Por ejemplo, comparando los dos ensayos de DiaSorin, RIA con QLIA (LIAISON)⁽²⁸⁾ si bien hubo una buena concordancia entre sí, se observó con el último, un bias positivo en la población estudiada.

Finalmente, consideramos de importancia que el laboratorio al informar un resultado de 25OHD, indique la especificidad del método utilizado para ergo y colecalciferol, con el fin de que el médico tratante pueda monitorear correctamente la terapia sustitutiva.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S, Meunier PJ. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 7(5):439-443, 1997
2. Holick MF, Siris E, Binkley N, Beard MK, Khan A, Katzer JT, Petruschke RA, Chen E, de Papp AE. Prevalence of vitamin D inadequacy among postmenopausal North American women receiving osteoporosis therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 90:3215-3224, 2005
3. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: Consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocrine Rev* 22:477-501, 2001
4. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 357:266-281, 2007
5. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Heaney RP, Murad RP, Weaver CM, Endocrine Society. Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 96: 1911-1930, 2011
6. Gorham ED, Garland CF, Garland FC. Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 97:179-194, 2005
7. Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Garland FC. Vitamin D for cancer prevention: global perspective. *Ann Epidemiol* 19:468-83, 2009
8. Tretli S, Hernes E, Berg JP, Hestvik UE, Robsahm TE. Association between serum 25(OH)D and death from prostate cancer. *Br J Cancer* 100:450-454, 2009
9. Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol* 92:39-48, 2006
10. Cranney A, Horsley T, O'Donnell S, Weiler H, Puil L, Ooi D, Atkinson S, Ward L, Moher D, Hanley D, Fang M, Yazdi F, Garrity C, Sampson M, Barrowman N, Tsertvadze A, Mamaladze V. Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 158:1-325, 2007
11. Chapuy MC, Ariot ME, Dubuvel F, Brun J, Couzet B, Arnaud S, Delams PD, Meunier PJ. Vitamin D3 calcium prevent hip fractures in the elderly women. *N Engl J Med* 23:1637-42, 1992
12. Lips P, Graafmans WC, Ooms ME, Bezeemer PD, Bouter LM. Vitamin D supplementation and fracture incidence in elderly persons. A randomized, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med* 124:400-6, 1996
13. Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *N Engl J Med* 337:670-6, 1997
14. Feskanich D, Willett WC, Colditz GA. Calcium, vitamin D, milk consumption and hip fractures: a

- prospective study among postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 77:504-11, 2003
15. **Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B.** Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials 293:2257-64, 2005
 16. **Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M, Wallace RB, Robbins J, Lewis CE, Bassford T, Beresford SA, Black HR, Blanchette P, Bonds DE, Brunner RL, Brzyski RG, Caan B, Cauley JA, Chlebowski RT, Cummings SR, Granek I, Hays J, Heiss G, Hendrix SL, Howard BV, Hsia J, Hubbell FA, Johnson KC, Judd H, Kotchen JM, Kuller LH, Langer RD, Lasser NL, Limacher MC, Ludlam S, Manson JE, Margolis KL, McGowan J, Ockene JK, O'Sullivan MJ, Phillips L, Prentice RL, Sarto GE, Stefanick ML, Van Horn L, Wactawski-Wende J, Whitlock E, Anderson GL, Assaf AR, Barad D.** Women's Health initiative investigators. Calcium plus vitamin D supplementation and risk of fractures. *N Engl J Med*. 354:669-83, 2006
 17. **Mayor J M, Graubardi B I, Dodd MS, Feedman MD.** Variability and reproducibility of circulating vitamin D in a Nation wide U.S population. *J Clin Endocrinol Metab*. 98:97-104, 2013
 18. **Binkley N, Krueger D, Cowgill S.** Assay Variation confounds the Diagnosis of Hypovitaminosis D: A Call for Standardization. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3152-3157, 2004
 19. **Bordallo CF, Saavedra MS.** Controversias en la metodología de 25(OH) Vitamina D: Comparación de dos metodologías. *Rev Argent Endocrinol Metab* 48:69-77, 2011
 20. **Dunn, OJ.** Multiple Comparisons Among Means. *Journal of the American Statistical Association*, 56:52-64, 1961
 21. **Passing H, Bablok W, Bender R, Schneider B.** A general regression procedure for method transformation. *J Clin Chem Clin Biochem*, 26:783-790, 1988
 22. **Bland JM, Altman DG.** "Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement". *Lancet* 327:307-10, 1986
 23. **Imawari M, Kida K, Goodman DS.** The transport of vitamin D and its 25-hydroxy metabolite in human plasma. Isolation and partial characterization of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D binding protein. *J Clin Invest*. 58:514-523, 1976
 24. Inserto 25-hydroxyvitamina D ¹²⁵I RIA kit . Stillwater, Minnesota: DiaSorin Corporation.
 25. Inserto 25-OH Vitamin D Architect System. Abbott Diagnostics, Germany, 2011
 26. Inserto Vitamina D Total Roche Diagnostics, Indianapolis, USA, 2011
 27. **Cavalier E, Carlisi A, Bekaert AC, Rousselle O, Chappelle JP, Souberbielle JC.** Analytical evaluation of the new Abbott Architect 25-OH vitamin D assay. *Clin. Biochem*. 45 (6):505-8, 2012
 28. **Fuentes AM, Fierro MF, Medici M, Perharic C, Drnovsek M, Ercolano M, Glikman P.** Medición de 25- hidroxivitamina D sérica: comparación de dos inmunoensayos. *Rev Argent Endocrinol Metab* 47(4):11-17, 2010