



ichroma™ Vitamin D

POUŽITÍ

ichroma™ Vitamin D je imunofluorescenční test (FIA) pro kvantitativní stanovení celkové hladiny 25(OH)D₂/D₃ v lidském séru/plazmě. Je to užitečný nástroj při managementu a monitoringu koncentrace vápníku a fosfátů v krevním řečišti a podporu zdravého růstu a přestavby kostí.

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

ÚVOD

Vitamin D, získaný stravou nebo syntézou v kůži při vystavení slunci je biologicky neaktivní. Je to v tucích rozpustný steroidní hormon, odpovídá za zvýšené vstřebávání vápníku ve střevě a při regulaci jeho homeostázy. U lidí jsou nejdůležitějšími sloučeninami v této skupině vitamin D3 (také známý jako cholekalciferol) a vitamin D2 (ergokalciferol).⁴ V játrech je cholekalciferol (vitamin D3) přeměňován na kalcidiol, 25-hydroxycholecalciferol (zkráceně 25(OH)D₃). Ergokalciferol (vitamin D2) je přeměňován v játrech na 25-hydroxyergokalciferol (25(OH)D₂). Je obecně známo, že cirkulující 25(OH)D je nejlepším indikátorem pro stav vitamínu D.^{2,3} 25(OH)D₃ je následně přeměněn v ledvinách (s pomocí enzymu 25(OH)D-1- α -hydroxylázy) na 1,25-(OH)₂D₃, což je steroidní hormon, který je aktivní formou vitamínu D. Může být také přeměněn v ledvinách na 24-hydroxykalcidiol prostřednictvím 24-hydroxylázy.^{4,5} 1,25-(OH)₂D₃ cirkuluje jako hormon v krvi a reguluje koncentraci vápníku a fosfátů v krevním řečišti, čímž podporuje zdravý růst a přestavbu kostí. 1,25-(OH)₂D₃ rovněž ovlivňuje neuromuskulární a imunitní funkce.⁶ Vitamin D má významnou úlohu při homeostáze vápníku a metabolismu. Tento objev umožnilo usilí při hledání látky v potravě, chybějící při křivici (dětská forma osteomalálie).⁷

Tento test může být využit při diagnostice deficitu vitamínu D. Je indikován u pacientů s vysokým rizikem deficitu vitamínu D a výsledky testu mohou být rovněž využity jako podpůrný faktor pro začátek oenzymových terapií.⁸ Test je také indikován u vysoce rizikových pacientů s osteoporózou, chronickým onemocněním ledvin, malabsorbicí, obezitou a některými dalšími infekcemi.^{9,10}

PRINCIP

Test používá sendvičovou imunodetekční metodu. Při této metodě se detekční protilátky v pufru váží na antigeny ve vzorku, tvořící antigen-protilátkové komplexy, které migrují nitrocelulózovou membránou, aby byly zachyceny jinými imobilizovanými protilátkami v testovacím proužku.

Více antigenů ve vzorku vytvoří více komplexů antigen-protilátka, což vede k silnějšímu fluorescenčnímu signálu detekčních protilátek, který je zpracován přístrojem **ichroma™** testy, aby ukázal koncentraci vitamínu D ve vzorku.

KOMPONENTY

ichroma™ Vitamin D test obsahuje kazety, detekční zkumavky, lahvičku s uvolňovacím pufrém a detekční ředidlo.

Kazeta obsahuje testovací proužek tj. membránu s streptavidinem v testovací linii , kuřecím IgY v kontrolní linii.

- Každá kazeta je individuálně uzavřena v aluminiovém sáčku s desikantem.
- Detekční zkumavka má 2 granule obsahující komplex vitamínu D protilátka-biotin konjugát , vitamín D zachytný protilátka -fluorescenční konjugát a anti-kuřecí IgY-fluorescenční konjugát ve fyziologickém roztoku puřovaném fosfátem. Všechny detekční trubice jsou baleny v sáčku.
- Uvolňovací pufr obsahuje azid sodný v DMSO a je rozpuštěn v lahvičce. Uvolňovací pufr je zabalený v krabičce.
- Detekční ředící roztok obsahuje azid sodný ve fyziologickém roztoku puřovaném fosforečnanem a je předem dávkován v lahvičce. Je zabalený v krabičce.

VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Dodržte pečlivě pokyny a postupy popsané v tomto příbalovém letáku.
- Používejte pouze čerstvé vzorky a vyhněte se přímému slunečnímu záření.
- Je možno použít zmrazené vzorky. Viz Odběr a zpracování vzorků
- Číslo šarží všech testovacích komponent (kazet, ID čipu, uvolňovacího pufru a detekčního pufru) musí souhlasit.
- Nezaměňujte testovací komponenty různých šarží nebo nepoužívejte testovací komponenty po jejich době expirace, obojí může vést k nepřesným výsledkům testu.
- Nepoužívejte opakovaně. Zkumavka na smíchání vzorku může být použita pouze pro jeden vzorek, stejně jako kazeta.
- Kazeta musí zůstat zabalená v orgánálním obalu až do doby použití. Nepoužívejte kazetu , pokud je obal poškozený nebo již byl otevřený.
- Zmrazené vzorky mohou být rozmrazeny pouze jedenkrát. Pro přepravu musí být vzorky zabaleny v souladu s místními nařízeními. Vzorky značně hemolytické a/nebo hyperlipemické nesmí být použity.
- Ponechte kazetu, detekční pufr, uvolňovací pufr a vzorek vytemperovat při pokojové teplotě cca 30 minut před použitím.
- **ichroma™ Vitamin D** stejně jako přístroj **ichroma™** testy by se při použití měly vyvarovat vibraci nebo magnetického pole. Při normálním použití může přístroj pro **ichroma™** testy vytvářet slabé vibrace.
- S použitými zkumavkami od detekčního pufru, uvolňovacího pufru, špičkami pipet a kazetami musí být zacházeno opatrně a musí být zlikvidovány vhodnými metodami v souladu s příslušnými místními nařízeními.
- Uvolňovací pufr obsahuje organické rozpouštědlo, vyhněte se kontaktu s očima, kůží nebo oblečením.
- Expozice většímu množství azidu sodného může způsobovat jisté zdravotní obtíže jako křeče, nízký krevní tlak a srdeční tep, ztrátu vědomí, poškození plic a respirační selhání.
 - **ichroma™ Vitamin D** test vykazuje přesné a spolehlivé výsledky pouze za následujících podmínek.
 - Test **ichroma™ Vitamin D** musí být používán pouze s přístrojem pro **ichroma™** testy.
 - Musí být používány pouze doporučená antikoagulantia

Doporučená antikoagulantia

K₂EDTA, Sodium heparin, Citrát sodný

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Podmínky skladování			
Komponenty	Teplota skladování	Trvanlivost	Note
Kazeta	4 – 30 °C	20 měsíců	Disposable
Detekční zkumavka	4 – 30 °C	20 měsíců	Disposable
Uvolňující pufr	4 – 30 °C	3 měsíců	Neotevřené
	4 – 30 °C		
Detekční ředidlo	4 – 30 °C	20 měsíců	Neotevřené
	4 – 30 °C		

Po vyjmutí kazety ze sáčku se test musí provést neprodleně.

OMEZENÍ TESTU

- Test může zobrazovat falešně pozitivní výsledky způsobené křížovou reakcí a/nebo nespecifickou adhezí jistých komponent vzorku na navázané /detekční protilátky.
- Test může zobrazovat falešně negativní výsledky způsobené nereagováním antigenu s protilátkami , což je obvyklé, pokud je epitop maskovaný nějakou neznámou komponentou, takže antigen nemůže být rozeznán nebo zachycen protilátkou. Nestabilita nebo degradace antigenu , která je výsledkem degradace v čase nebo tepelná degradace, může rovněž způsobovat falešně negativní výsledky a způsobit, že antigen není rozpoznatelný pro protilátku
- Dalšími faktory, které mohou interferovat s testem a způsobovat chybné výsledky, jsou např. technické /procesní chyby, degradace komponent testu nebo přítomnost interferujících látek v testovacích vzorcích.
- Každá klinická diagnóza založená na výsledku testu musí být podepřena komplexním posouzením příslušným lékařem, včetně klinických symptomů a dalších relevantních výsledků testů.

DODÁVANÝ MATERIÁL

Komponenty **ichroma™ Vitamin D**

- Krabičce s kazetami:
 - Kazety 25
 - Detekční zkumavky 25
 - ID Čip 1
 - Návod k použití 1
- Lahvička s detekčním puřem (3 ml) 1
- Lahvička s uvolňovacím puřem (2 ml) 1

POŽADOVANÝ MATERIÁL, DODÁVANÝ NA VYŽÁDÁNÍ

Následující položky mohou být nakoupeny samostatně od **ichroma™ Vitamin D** testu:

Prosím kontaktujte svého distributora pro další informace.

- Přístroj **ichroma™** testy
 - **ichroma™** Reader
 - **ichroma™ II**
 - **ichroma™**
 - **i-chamber**
 - **Boditech Vitamin D Control**
 - **Zásuvný zkumavkový blok do i-chamberu** (Může být nahrazen vyhříváním blokem.)

ODBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorky pro **ichroma™ Vitamin D** jsou **lidské sérum/plazma**.

- Doporučuje se otestovat vzorek do 24 hod. po odběru .
- Vzorky se mohou skladovat po dobu max.1 týdne při 2-8 °C před testováním. Pokud je interval před testováním delší než 1 týden, vzorky musí být zamrazeny na -20 °C.
- Zmrazené vzorky skladované při -20 °C po 6 měsíců nevykazovaly žádné výkonostní rozdíly.
- Pokud byl vzorek zmrazen, může být použit pro test pouze jednou, protože opakované zmrazení a rozmrazení může způsobit změnu testovaných hodnot.

PŘÍPRAVA TESTU

- Zkontrolujte obsah **ichroma™ Vitamin D** testu: kazeta uzavřená v sáčku, detekční zkumavky, lahvička s uvolňovacím puřem, detekční ředidlo a ID čip a návod k použití
- Ujistěte se, že číslo šarže kazety souhlasí s číslem ID čipu stejně jako s detekčním zkumavkou , uvolňovacím puřem a detekčním ředidlem
- Ponechte zabalenou kazetu (pokud je skladována v ledničce),lahvičku s detekčním puřem a lahvičku s uvolňovacím puřem při pokojové teplotě po dobu cca 30 minut před testem. Položte kazetu na čistý, bezprašný a rovný povrch.
- Zapněte přístroj pro **ichroma™** testy.
- Vložte ID čip do portu pro ID čip na přístroji pro **ichroma™** testy.
- Stiskněte tlačítko 'Select' na přístroji pro **ichroma™** testy.
- Zapněte i-chamber a nastavte teplotu na 35 °C.
- Vložte 'zásuvný zkumavkový blok' do i-chamberu minimálně 10 minut před testováním. (Pro kompletní informace a operační pokyny viz operační manuál.)

Testovací postup

- 1) Vložte testovací kazetu do otvoru v i-chamberu .
- 2) Pipetou přenešte 50 µl uvolňovacího pufru do detekční zkumavky obsahující granule. Když se granule ve zkumavce úplně rozpustí , vytvoří detekční pufr. (Detekční pufr musí být použit do 1 minuty.)
- 3) Pomocí pipety přidejte 50 µL vzorku (lidského séra/plazmy/kontroly) do zkumavky s uvolňovacím puřem a dobře promíchejte 10x pipetováním.
- 4) Vložte zkumavku na smíchání vzorku do zásuvného zkumavkového bloku a ponechte zkumavku v zásuvném bloku při 35 °C po dobu 5 min.
- 5) Pomocí pipety s novou špičkou přidejte 100 µl detekčního ředidla do detekční zkumavky obsahující uvolňující pufr a směs vzorku.
- 6) Směs důkladně promíchejte pipetou 10 krát a opět ponechte v zásuvném zkumavkovém bloku při 35 °C po dobu 15 min.
- 7) Vysuňte polovinu testovací kazety z i-chamberu, odeberte pipetou 75 µl inkubované směsi a přenechte do jamky pro vzorek na testovací kazetě. Potom zcela zasuňte testovací kazetu do i-chamberu.
- 8) Ponechte kazetu se vzorkem v i-chamberu po dobu 8 minut.
⚠ Provedte skenování kazety se vzorkem ihned po uplynutí inkubační doby. V opačném případě to může vést k nepřesným výsledkům.
- 9) Pro skenování kazety se vzorkem vložte kazetu do nosiče přístroje pro **ichroma™** testy. Ujistěte si správnou orientaci kazety před úplným zasunutím kazety dovnitř nosiče. K tomuto účelu slouží na kazetě zobrazená šipka .
- 10)Stiskněte tlačítko 'Select' nebo 'Start' na přístroji pro **ichroma™** testy pro zahájení skenovacího procesu.
- 11)Přístroj **ichroma™** testy okamžitě zahájí skenování kazety se vzorkem .
- 12)Odečtěte výsledek testu na displeji přístroje pro **ichroma™** testy.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

- Přístroj **ichroma™** vypočítá výsledky testu automaticky a zobrazí celkovou koncentraci

25(OH)D₂/D₃ v testovaném vzorku v hodnotách ng/mL.

Cut-off (referenční rozmezí)

25(OH)D	hladina
<10 ng/mL	<25 nmol/L
10-30 ng/mL	25-75 nmol/L
30-100 ng/mL	75-250 nmol/L

- Pracovní rozsah: 8.0-70 ng/mL
- Konverzní faktor: 1 ng/mL = 2,5 x nmol/L

KONTROLA KVALITY

- Kontrola kvality, jako součást správné laboratorní praxe, slouží k potvrzení očekávaných výsledků a platnosti testu. Měla by se provádět v pravidelných intervalech.
- K ověření, zda nedošlo k poškození testu, by se kontrolní testy měly provádět před použitím každé nové testovací šarže.
- Kontrola kvality by se měla provést v případě pochybnosti o platnosti výsledků testu.
- K testům **ichroma™ Vitamin D** jsou poskytovány separátně kontrolní materiály. **Vitamin D kontrola** může být použita jako kalibrace stejně jako test kontroly kvality.
- Pro více informací o dostupnosti kontaktujte EXBIO Olomouc s.r.o.

VLASTNOSTI TESTU

Analytická citlivost

- Limit Blanku (LoB) 6.50 ng/mL (16.25 nmol/L)
- Limit detekce (LoD) 7.40 ng/mL (18.50 nmol/L)
- Limit kvantifikace (LoQ) 7.99 ng/mL (19.98 nmol/L)

Analytická specifita

- Křížová reaktivita
- Biomolekuly, jako jsou níže uvedené v tabulce, byly přidány do testovaného vzorku (vzorků) v koncentracích mnohem vyšších, než jsou jejich normální fyziologické hladiny v krvi. Výsledky testu **ichroma™ Vitamin D** neprokázaly žádnou významnou zkříženou reaktivitu s těmito biomolekulami.

Křížová reaktivita materiálů	Standardní koncentrace materiálů (ng/mL)		
	7.01	21.97	65.83
	Bias (%)		
Vitamin D2 (300 ng/ml)	107.05	105.67	96.39
Vitamin D3 (300 ng/ml)	101.83	107.14	93.29

- Interference
- interferenční materiály, jako jsou níže uvedené materiály v tabulce, byly přidány k testovanému vzorku (vzorkům) stejně jako níže uvedené koncentrace. Výsledky testu **ichroma™ Vitamin D** neprokázaly žádnou významnou interferenci s těmito materiály.

Interferenční materiál	Standardní koncentrace materiálů (ng/mL)		
	7.01	21.97	65.83
	Bias (%)		
EDTA (2 mg/ml)	106.48	98.09	96.27
Heparin (200 U/ml)	94.89	93.12	95.36
Sodium citrate (38 mg/ml)	94.29	93.20	95.34
Urea (2.6 mg/ml)	98.92	91.79	95.25
Ascorbic acid (300 µg/ml)	101.70	95.64	100.63

Přesnost

- Intra-assay
- jedna osoba testovala tři různé šarže **ichroma™** vitaminu D, desetkrát při každé koncentraci kontrolního standardu.

Conc. (ng/mL)	Lot 1		Lot 2		Lot 3	
	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)
7.01	6.73	10.91	6.57	11.22	7.09	14.07
21.97	20.53	9.06	20.67	8.03	23.31	9.76
65.83	64.26	3.18	63.67	2.76	65.19	2.16

Inter-assay

Tři různé osoby testovaly 3 různé šarže **ichroma™** vitaminu D, třikrát při každé koncentraci kontrolního standardu.

Konc. (ng/mL)	Mezi šaržemi		Mezi dny		Celkem	
	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)
7.01	6.80	12.24	7.04	14.76	6.91	13.53
21.97	21.51	10.63	22.63	9.74	22.04	10.43
65.83	64.37	4.21	63.05	5.22	63.75	4.80

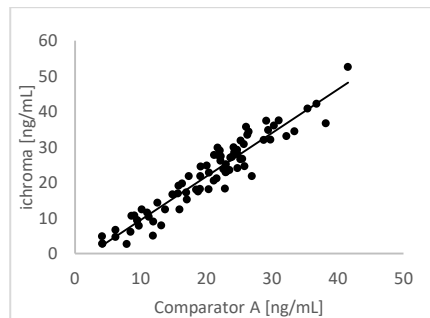
Přesnost

Přesnost byla potvrzena na 3 různých šaržích testovaných 10 krát, každá při různých koncentracích.

Conc. (ng/mL)	Lot 1		Lot 2	
	AVG	Recovery (%)	AVG	Recovery (%)
7.01	7.48	106.75	7.61	108.50
21.97	21.51	97.93	21.70	98.76
65.83	62.71	95.27	64.00	97.22

Conc. (ng/mL)	Lot 3	
	AVG	Recovery (%)
7.01	7.63	108.90
21.97	22.04	100.32
65.83	64.51	98.00

- Porovnatelnost:** Koncentrace 25(OH)D 79 vzorků séra byly kvantifikovány nezávisle pomocí **ichroma™ Vitamin D** a **Comparator A** podle předepsaných testovacích postupů. Výsledky testů byly porovnány a jejich srovnatelnost byla zkoumána pomocí lineární regrese a korelačního koeficientu (R). Lineární regrese a korelační koeficient mezi těmito dvěma testy byly $Y = 1,2267X - 2,7861$, respektive $R = 0,9540$.



LITERATURA

- Holick MF (March 2006). "High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health". *Mayo Clin. Proc.* **81** (3): 353–73.
- Hollis BW (January 1996). "Assessment of vitamin D nutritional and hormonal status: what to measure and how to do it". *Calcif. Tissue Int.* **58** (1): 4–5.
- Holick MF, Schnoes HK, DeLuca HF, Suda T, Cousins RJ (1971). "Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D active in intestine". *Biochemistry* **10** (14): 2799–804.
- Bender, David A.; Mayes, Peter A (2006). "Micronutrients: Vitamins & Minerals". In Victor W. Rodwell; Murray, Robert F.; Harper, Harold W.; Granner, Darryl K.; Mayes, Peter A. *Harper's Illustrated Biochemistry*. New York: Lange/McGraw-Hill. pp. 492–3.
- Institute of Medicine (1997). "Vitamin D". *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington, D.C: National Academy Press. p. 254.
- "Dietary Supplement Fact Sheet: Vitamin D". Office of Dietary Supplements (ODS). National Institutes of Health (NIH). Retrieved April 11, 2010.
- Wolf G (June 2004). "The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus". *J Nutr* **134** (6): 1299–302.
- Sattar, N.; Welsh, P.; Panarelli, M.; Forouhi, N. G. (2012). "Increasing requests for vitamin D measurement: Costly, confusing, and without credibility". *The Lancet* **379** (9811): 95–96.
- Bilinski, K. L.; Boyages, S. C. (2012). "The rising cost of vitamin D testing in Australia: Time to establish guidelines for testing". *The Medical Journal of Australia* **197** (2): 90.
- Lu, Chuanyi M. (May 2012). "Pathology consultation on vitamin D testing: Clinical indications for 25(OH) vitamin D measurement [Letter to the editor]". *American Journal Clinical Pathology (American Society for Clinical Pathology)* (137): 831–832.,

UPOZORNĚNÍ: Pro identifikaci různých symbolů slouží níže uvedená tabulka.

	Dostačující pro <n>
	Čtěte návod k použití
	Spotřebujte do (datum expirace)
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Upozornění
	Výrobce
	Zpřomocněný zástupce Evropského společenství
	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Skládejte při (omezení teploty)
	Nepoužívejte opakovaně
	Tento produkt splňuje požadavky směrnice 98/79/EC pro diagnostické prostředky in vitro

Pro technickou podporu kontaktujte:

EXBIO Olomouc s.r.o.
Tel: 587 301 011
Email: info@exbio.com

Boditech Med Incorporated
43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si, Gang-won-do, 24398 Republic of Korea
Tel: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr

Obelis s.a
Bd. Général Wahis 53,
1030 Brussels, BELGIUM
Tel: +(32) -2-732-59-54
Fax: +(32) -2-732-60-03
E-Mail: mail@obelis.net

