



# ichroma™ Vitamin D

## POUŽITÍ

**ichroma™ Vitamin D** je imunofluorescenční test (FIA) pro kvantitativní stanovení celkové hladiny 25(OH)D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> v lidském séru/plazmě. Je to užitečný nástroj při managementu a monitoringu koncentrace vápníku a fosfátu 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 tučích rozpustný steroidní hormon, odpovědný za zvýšené vstřebávání vápníku ve střezech a při regulaci jeho homeostázy. U lidí jsou nejdůležitějšími sloučeninami v této skupině vitamín D<sub>3</sub> (také známý jako cholekalciferol) a vitamín D<sub>2</sub> (ergokalciferol).<sup>1</sup> V játrech je cholekalciferol (vitamín D<sub>3</sub>) přeměňován na kalcidiol, 25-hydroxycholekalciferol (zkráceně 25(OH)D<sub>3</sub>). Ergokalciferol (vitamín D<sub>2</sub>) je přeměňován v játrech na 25-hydroxyergokalciferol (25(OH)D<sub>2</sub>). Je obecně známo, že cirkulující 25(OH)D je nejlepším indikátorem pro stav vitamínu D.<sup>2,3</sup> 25(OH)D<sub>3</sub> je následně přeměněn v ledvinách (s pomocí enzymu 25(OH)D-1 $\alpha$ -hydroxylázy) na 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, což je steroidní hormon, který je aktivní formou vitamínu D. Může být také přeměněn v ledvinách na 24-hydroxykalcidiol prostřednictvím 24-hydroxylázy.<sup>4,5</sup> 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> cirkuluje jako hormon v krvi a reguluje koncentraci vápníku a fosfátu v krevním řečišti, čímž podporuje zdravý růst a přestavbu kostí. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> rovněž ovlivňuje neuromuskulární a imunitní funkce.<sup>6</sup> Vitamin D má významnou úlohu při homeostáze vápníku a metabolismu. Tento objev umožnilo úsilí při hledání látky v potravě, chybějící při krivici (dětská forma osteomalacie).<sup>7</sup>

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 ofenzivních terapií.<sup>8</sup> Test je také indikován u vysoce rizikových pacientů s osteoporózou, chronickým onemocněním ledvin, malabsorbci, obezitou a některými dalšími infekcemi.<sup>9,10</sup>

## PRINCIP

Test používá kompetitivní imunodetekční metodu. Při této metodě se cílová látka ve vzorku váže na fluorescein(FL)-označenou detekční protilátku v detekčním pufru pro zformování komplexu ve směsi. Komplex migruje nitrocelulózovou membránou, na níž je na testovacím proužku imobilizován kovalentní pár 25(OH)D<sub>3</sub> s hovězím sérovým albuminem (BSA). Tento pak soutěží s vazbou komplexu cílové látky s FL-označenou protilátkou. Čím více cílové látky je v krvi, tím méně detekčních protilátek je přítomno, s výsledkem slabšího fluorescenčního signálu.

## KOMPONENTY

**ichroma™ Vitamin D test** obsahuje kazety, lahvičku s detekčním pufrům, lahvičku s uvolňovacím pufrům, zkumavky na promíchání vzorku a ID čip. Kazeta obsahuje testovací proužek tj. membránu s konjugátem 25(OH)D<sub>3</sub>-BSA v testovací línii a králičí IgG v kontrolní línii.

- Každá kazeta je individuálně uzavřena v aluminiovém sáčku s desikantem. 25 uzavřených kazet je zabaleno v krabici společně s ID čipem.
- Uvolňovací pufr obsahuje NaOH a DMSO.
- Detekční pufr obsahuje anti 25(OH)D<sub>2</sub>/3-fluoresceinový konjugát, anti králičí IgG-fluoresceinový konjugát, želatínu jako stabilizátor a azid sodný v Tris-HCl pufru jako konzervans.
  - Uvolňovací pufr a detekční pufr jsou rozptýleny v lahvičkách. Lahvička s uvolňovacím pufrům a lahvička s detekčním

pufrům jsou zabaleny v krabici z polystyrenu se sáčky s ledem pro dopravu.

## VAROVÁNÍ A UPOZORNĚNÍ

- Pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
- Dodržujte pečlivě pokyny a postupy popsané v tomto příbalovém letáku.
- Používejte pouze čerstvé vzorky a vyhněte se přímému slunečnímu záření.
- Čísla šarží všech testovacích komponent (kazet, ID čipu, uvolňovacího pufru a detekčního pufru) musí souhlásit.
- 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 originálním obalu až do doby použití. Nepoužívejte kazetu, pokud je obal poškozený nebo již byl otevřený.
- Zmrzlé 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 vibrační 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 většinám 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 vyžaduje přesné a spolehlivé výsledky pouze za následujících podmínek.
  - Test **ichroma™ Vitamin D** musí být používán pouze s přístrojem pro **ichroma™** testy.
  - **Nesmí být používány žádná jiná antikoagulantia nežli EDTA, heparin, citrát sodný.**

## SKLADOVÁNÍ A STABILITA

- Kazeta je stabilní po dobu 20 měsíců (pokud je uzavřená v aluminiovém sáčku) a skladovaná při 4-30 °C.
- Detekční pufr v lahvičce je stabilní po dobu 20 měsíců skladovaný při 2-8 °C.
- Uvolňovací pufr v lahvičce je stabilní po dobu 20 měsíců skladovaný při 2-8 °C.
- Otevřený detekční pufr a uvolňovací pufr jsou stabilní po dobu 12 měsíců při 2-8 °C, pokud jsou uzavřeny víčkem v originální lahvičce a bez kontaminace.
- 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 protilátky
- 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**

- Krabice s kazetami:
  - Kazety 25
  - Zkumavky na míchání vzorku 25
  - ID Čip 1
  - Návod k použití 1
- Lahvička s detekčním pufrém (3 ml) 1
- Lahvička s uvolňovacím pufrém (2 ml) 1

## POŽADOVANÝ MATERIÁL, DODÁVANÝ NA VYŽÁDÁNÍ

Následující položky mohou být nakoupeny samostatně od **ichroma™**

### Vitamin D testu:

- Proším 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 vyhřívaným 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 týdně při 2-8 °C před testováním. Pokud je interval před testováním delší než 1 týden, vzorky musí být zmrazeny na -20 °C.
- Zmražené vzorky skladované při -20 °C po 6 měsících nevykazovaly žádné výkonnostní 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, lahvička s detekčním pufrém, lahvička s uvolňovacím pufrém, zkumavka pro smíchání vzorku a ID čip.
- Ujistěte se , že číslo šarže kazety souhlasí s číslem ID čipu stejně jako s detekčním pufrém a uvolňovacím pufrém.
- Ponechte zabalenou kazetu (pokud je skladována v ledničce),lahvičku s detekčním pufrém a lahvičku s uvolňovacím pufrém 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) Přeneste pipetou 50 µL uvolňovacího pufru do zkumavky na

míchání vzorku.

- 3) Pipetou přeneste 50 µL vzorku (lidského séra/plazmy/kontroly) do zkumavky na míchání vzorku obsahující uvolňovací pufr a důkladně promíchejte opakovaným nasátím a vymáčknutím pipety 10 krát.
- 4) Vložte zkumavku na míchání 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 pufru do zkumavky na míchání vzorku obsahující směs uvolňovacího pufru a vzorku.
- 6) Směs důkladně promíchejte opakovaným nasátím a vymáčknutím pipety 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 přeneste do jamky pro vzorek na testovací kazetě. Potom zcela zasuněte 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 vest 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)D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> v testovaném vzorku v hodnotách ng/mL.
- Cut-off (referenční rozmezí)

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

- Pracovní rozsah: 8.0-70 ng/mL
- Konverzní faktor: 2.5 x ng/mL = 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

S **ichroma™ Vitamin D** testem nebyla zjištěna žádná významná křížová reaktivita s uvedenými materiály.

Křivková reaktivita materiálů	Standardní koncentrace materiálu (ng/mL)		
	9.59	23.76	64.78
	Bias (%)		
Vitamin D2 (300 ng/ml)	9.37	8.32	2.97
Vitamin D3 (300 ng/ml)	5.98	6.65	-2.30

- Interference

S **ichroma™ Vitamin D** testem nemá zjištěna žádná významná interference těchto materiálů.

Interferenční materiál	Standardní koncentrace materiálu (ng/mL)		
	9.59	23.76	64.78
	Bias (%)		
EDTA (2 mg/ml)	0.17	5.44	-2.51
Heparin (200 U/ml)	-1.40	-0.93	-6.03
Citrát sodný (38 mg/ml)	-1.87	6.77	-3.61
Močovina (2.6 mg/ml)	7.68	-3.74	-3.64
Kyselina askorbová (300 µg/ml)	-2.25	4.14	1.09

■ **Přeciznost**

- Mezi šaržemi/osobami/dny/pracovišti

Přeciznost byla potvrzena 3 různými hodnotiteli s 3 různými šaržemi v průběhu 5 dní, testovaných 5 krát, každá při různých koncentracích.

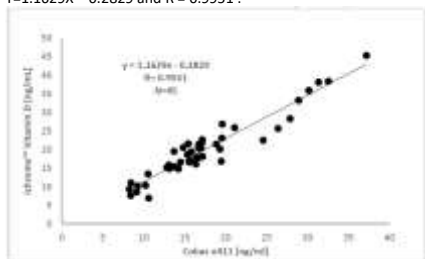
conc. (ng/mL)	Mezi šaržemi		Mezi osobami		Mezi dny		Mezi pracovišti	
	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)
9.59	9.63	9.12	9.37	8.80	9.40	11.26	9.53	10.03
23.76	23.08	5.87	23.03	5.87	24.26	6.11	23.02	6.68
64.78	64.29	5.30	64.21	4.65	64.58	4.25	64.64	3.56

■ **Přesnost**

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

conc. [ng/ml]	Lot1	Lot2	Lot3	AVG	SD	CV (%)	Recovery (%)
9.59	9.56	9.74	9.61	9.63	0.88	9.12	100.46
23.76	22.71	22.84	23.68	23.08	1.35	5.87	97.13
64.78	63.21	65.05	64.62	64.29	3.41	5.30	99.25

■ **Porovnatelnost:** 25(OH)D koncentrace ze 45 vzorků séra byly kvantifikovány nezávisle s **ichroma™ Vitamin D testem** a Roche Cobas e411 podle předepsaných testovacích postupů. Výsledky testů při porovnání a jejich porovnatelnost byla prověřena pomocí lineární regrese a korelačního koeficientu (R). Lineární regrese a korelační koeficient mezi těmito dvěma testy byly  $Y=1.1629X - 0.2829$  and  $R = 0.9951$ .



**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
	Zplnomocněný zástupce Evropského společenství
	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Skladujte 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](mailto: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](http://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](mailto:mail@obelis.net)

