

CHORUS

25OH Vitamin D Total


DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy

REF 86900

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	4





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS 25OH Vitamin D Total

Per la determinazione quantitativa della Vitamina D 25(OH)

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione quantitativa della Vitamina D 25(OH) nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

La Vitamina D è una vitamina liposolubile che interviene nel metabolismo calcio-fosforo. Esiste in due forme: il colecalciferolo (Vitamina D3), e l'ergocalciferolo (Vitamina D2). D2 e D3 si trovano nel circolo sanguigno coniugate a proteine carrier, principalmente VDBP (Vitamin D-Binding Protein). Entrambe le forme sono biologicamente inerti e subiscono, nell'organismo, due importanti idrossilazioni: la prima nel fegato, con formazione del calcidiolo (Vitamina D 25(OH)); la seconda nel rene, dove si forma il calcitriolo (1.25(OH)₂ Vitamina D) il metabolita biologicamente attivo.

La Vitamina D 25(OH) è generalmente considerata la principale forma di accumulo ed il dosaggio della sua concentrazione sierologica è ritenuto un indicatore affidabile dello stato totale di Vitamina D (più del 95% di vitamina D nel siero è rappresentata da 25(OH)).

La Vitamina D è essenziale per una buona salute delle ossa.

Ad una carenza di Vitamina D consegue una mineralizzazione difettosa della struttura ossea che può condurre a rachitismo infantile, osteoporosi ed osteomalachia negli adulti.

Un eccesso di Vitamina D, "Ipervitaminosi D", comporta effetti patologici sull'organismo.

La Vitamina D ha anche funzioni extra-scheletriche, inclusa quella immuno modulante e anti proliferativa, ha un possibile ruolo nelle malattie infiammatorie croniche e neoplastiche, nel diabete, nelle malattie cardiovascolari ed autoimmuni ed in ambito dermatologico, dove un deficit di Vitamina D è associato a psoriasi, vitiligine, dermatite atopica, melanoma e tumori epiteliali della cute.

Molteplici studi hanno dimostrato che, in paesi Mediterranei come l'Italia, nonostante la latitudine, la popolazione risulta tra quelle con i più bassi livelli sierici di Vitamina D in Europa.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus 25OH Vitamin D Total è pronto all'uso per la determinazione della Vitamina D 25(OH), negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) per competizione.

L'anticorpo monoclonale viene legato alla fase solida e la Vitamina D 25(OH) presente nel campione umano compete con Vitamina D biotinilata. Maggiore è la concentrazione di Vitamina D 25(OH) nel campione in esame, minore è la quantità di Vitamina D Biotinilata che si lega.

Dopo lavaggi per eliminare le componenti che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da Streptavidina coniugata con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi.

Il colore che si sviluppa è inversamente proporzionale alla concentrazione di Vitamina D 25(OH) nel siero in esame.

La reazione di competizione è eseguita usando un tampone di estrazione (Incubation buffer), necessario per liberare Vitamina D 25(OH) dal VDBP.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in ng/ml.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati dall'FDA sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus/Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Schede di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) ed impiegare entro 60 minuti.

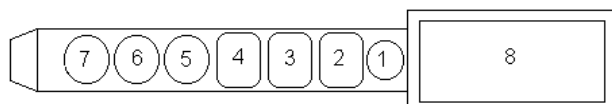
- Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
- Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
- Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
- I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
L'uso del kit è possibile solo con una versione aggiornata di software. Assicurarsi che il software installato nello strumento coincida o abbia Release (Rel.) superiore a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse (<http://www.diesse.it/it/Support/Download/strumento:39/>)
- Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
- Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
- Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
- Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
- Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
- Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
- Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
- Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: POZZETTO con VITAMINA D BIOTINILATA

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con anticorpi monoclonali anti-Vitamina D

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina e H₂O₂ stabilizzati in tampone.

Posizione 3: INCUBATION BUFFER

Contenuto: Soluzione proteica contenente conservante

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: Streptavidina marcata con perossidasi, in soluzione tampone fosfato contenente fenolo 0.05% e Bronidox 0.02%.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE

Contenuto: Siero umano diluito contenente Vitamina D e conservante. Liofilo.

Uso: ricostituire con il volume di acqua deionizzata indicato in etichetta, attendere almeno 5 minuti senza agitazione; miscelare per inversione evitando la formazione di schiuma.

CONTROL SIERO DI CONTROLLO

Contenuto: Siero umano diluito contenente Vitamina D e conservante. Liofilo.

Uso: ricostituire con il volume di acqua deionizzata indicato in etichetta, attendere almeno 5 minuti senza agitazione; miscelare per inversione evitando la formazione di schiuma.

ALTRO MATERIALE RICHiesto, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Strumento Chorus/Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso
- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8°C
CALIBRATORE	8 settimane a -20°C
SIERO DI CONTROLLO	8 settimane a -20°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; congelare per brevi periodi a -20°C. Evitare il congelamento dei campioni per lunghi periodi.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 90 µl di siero non diluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus/Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel Manuale Utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del siero di controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce il risultato in ng/ml, calcolati in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

Attenzione: ignorare la refertazione qualitativa N; D/E; P dello strumento.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato del test deve essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 4.0-115.0 ng/ml.

13. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

La tabella sotto presenta i valori attesi per i livelli di Vitamina D 25(OH), riportati in letteratura.

Stato	Range (ng/ml)
Carente	< 20
Insufficiente	20 – 30
Normale	30 – 100
Tossico	> 100

I valori osservati nella popolazione, determinati esaminando 399 sier, erano compresi fra 4.0 e 46.9 ng/ml con mediana di 14.2 ng/ml.

14. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 3 campioni ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44 IU/ml - 220 IU/ml)

Bilirubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Trigliceridi (10 mg/dl - 250 mg/dl)

Emoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

La presenza nel siero in esame di sostanze interferenti sopra riportate (con l'eccezione di emoglobina) non altera il risultato del test.

15. CROSS-REATTIVI

7 campioni sono stati testati aggiungendo Vitamina D2 e Vitamina D3.

Non si riscontra reattività crociata per valori di Vitamina D2 fino a 1000 ng/ml e di Vitamina D3 fino a 125 ng/ml.

16. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 217 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio.

Risultati della sperimentazione:

Correlazione	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

Il grado di correlazione tra i due metodi risulta essere molto alto.

17. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (ng/ml)	CV%	Media (ng/ml)	CV%
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6
8	38.3	1.4	41.7	10.5
9	78.1	3.1	77.9	5.3

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (ng/ml)	CV%	Media (ng/ml)	CV%
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. BIBLIOGRAFIA

1. Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
2. Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bacl D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; Endocr. Rev. (2012); 33 (3): 456-492
3. Adami S., Romagnoli E, Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; Reumatismo (2011); 63 (3): 129-147
4. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences Am J Clin Nutr (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
5. Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SIDeMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS 25OH Vitamin D Total

**For the quantitative determination of 25(OH)
Vitamin D**

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the quantitative determination of 25(OH) Vitamin D in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Vitamin D is a fat-soluble vitamin that is involved in calcium-phosphorus metabolism. It exists in two forms: cholecalciferol (Vitamin D3), and ergocalciferol (Vitamin D2). In the bloodstream D2 and D3 are conjugated to carrier proteins, mainly VDBP (Vitamin D-Binding Protein). Both the forms are biologically inert and suffer, in the body, two important hydroxylations: the first in the liver, with formation of calcidiol (25(OH) Vitamin D); the second in the kidney, with the formation of calcitriol (1.25(OH)₂ Vitamin D), the biologically active metabolite.

25(OH) Vitamin D is generally considered the main form of storage and the determination of its serological concentration is considered a reliable indicator of overall Vitamin D status (more than 95% of Vitamin D in the serum is represented by 25(OH)). Vitamin D is essential for good health of bones. A deficiency of Vitamin D results in a defective mineralization of the bone structure which can lead to childhood rickets, osteoporosis and osteomalacia in adults. An excess of Vitamin D, "Hypervitaminosis D" determines pathological effects on the organism.

Vitamin D has also extra-skeletal functions, including the immune modulating and anti-proliferative, has a possible role in chronic inflammatory and neoplastic diseases, diabetes, cardiovascular and autoimmune diseases and in dermatology, where a deficiency of Vitamin D is associated to psoriasis, vitiligo, atopic dermatitis, melanoma and epithelial tumors of the skin.

Several studies have shown that, in Mediterranean countries such as Italy, despite the latitude, the population is among those with the lowest serum levels of Vitamin D in Europe.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus 25OH Vitamin D Total device is ready to use for the detection of 25(OH) Vitamin D, in the Chorus/Chorus TRIO instruments.

The test is based on the ELISA (Enzyme linked ImmunoSorbent Assay) competition principle.

The monoclonal antibody is bound to the solid phase and 25(OH) Vitamin D, present in the sample, competes with biotinylated Vitamin D.

The higher the concentration of 25(OH) Vitamin D in the sample, the lower the amount of biotinylated Vitamin D that binds.

After washing to eliminate the components which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of Streptavidin conjugated to horseradish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added.

The colour which develops is inversely proportional to the concentration of 25 (OH) Vitamin D present in the serum sample.

The competition reaction is performed using an extraction buffer (Incubation buffer), required to release 25 (OH) Vitamin D from VDBP.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus/Chorus TRIO instruments.

The results are expressed in ng/ml.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response by FDA-approved methods for the presence of HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling reagents and samples.

Waste disposal: serum samples, calibrators and strips, once used, must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

Bring the devices to room temperature (18-30°C) before use; use within 60 min.

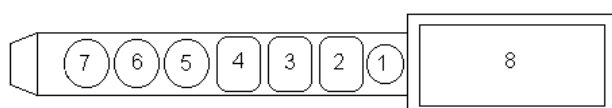
1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged. Do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the Chorus/Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use and the Instrument Operating Manual must be carefully followed.
The use of the kit is only possible with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Check that the Chorus/Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, of serum not completely coagulated or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: MICROPLATE WELL with BIOTYNILATED VITAMIN D

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with anti-Vitamin D monoclonal antibodies

Position 5: MICROPLATE WELL

Uncoated

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine and H₂O₂ stabilized in buffer.

Position 3: INCUBATION BUFFER

Contents: Proteic solution containing preservative

Position 2: CONJUGATE

Contents: Streptavidin labelled with horseradish peroxidase, in phosphate buffer containing phenol 0.05% and Bronidox 0.02%.

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted serum

Use: equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in the bag with the silica gel, expel the air and **seal** by pressing the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

Contents: Diluted human serum containing Vitamin D and preservative. Freeze-dried.

Use: reconstitute with the volume of deionised water reported on the label, wait at least 5 minutes without shaking; then mix by inversion avoiding froth formation.

CONTROL CONTROL SERUM

Contents: Diluted human serum containing Vitamin D and preservative. Freeze-dried.

Use: reconstitute with the volume of deionised water reported on the label, wait at least 5 minutes without shaking; then mix by inversion avoiding froth formation.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus/Chorus TRIO Instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated and the run validated using the control serum (see section 9, Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

Reagents have a limited stability after opening:

DEVICES	8 weeks at 2/8°C
CALIBRATOR	8 weeks at -20°C
CONTROL SERUM	8 weeks at -20°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

Possible consequences, in case of use of other biological liquids, are not known.

The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for short periods at -20°C. Avoid the freezing of the samples for long periods.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use.

Heat-inactivation can rise to erroneous results.

The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 90 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the instrument Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the control serum to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the instrument Operating Manual. If the instrument signals that the control serum has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected.

If the result of the control serum continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in ng/ml, calculated on the basis of a lot-dependent graph stored in the instrument.

Attention: do not consider the qualitative report N; D/E; P on the instrument.

11. LIMITATIONS

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient.

The test, indeed, cannot be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 4.0-115.0 ng/ml.

13. REFERENCE RANGE

The table below reports the expected values of 25(OH) Vitamin D, as reported in literature.

State	Range (ng/ml)
Lack	< 20
Insufficient	20 – 30
Normal	30 – 100
Toxic	> 100

The values observed in the population, determined by examining 399 sera, were between 4.0 and 46.9 ng/ml, with a median of 14.2 ng/ml.

14. ANALITICAL SPECIFICITY

3 samples were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Rheumatoid factor (44 IU/ml - 220 IU/ml)
Bilirubin (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglycerides (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Hemoglobin (5 mg/ml - 30 mg/ml)

The presence in the serum sample of the interfering substances described above (except for hemoglobin) does not affect the test result.

15. CROSS-REACTIONS

7 samples were tested adding Vitamin D2 and Vitamin D3. No significant cross-reactions were found for Vitamin D2 up to 1000 ng/ml and Vitamin D3 up to 125 ng/ml.

16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 217 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Results:

Correlation	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

The correlation between the two methods is very high.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (ng/ml)	CV%	Mean (ng/ml)	CV%
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6
8	38.3	1.4	41.7	10.5
9	78.1	3.1	77.9	5.3

Sample	Between lots		Between Instruments	
	Mean (ng/ml)	CV%	Mean (ng/ml)	CV%
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. REFERENCES

1. Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
2. Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bacł D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; Endocr. Rev. (2012); 33 (3): 456-492
3. Adami S., Romagnoli E., Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su

prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; Reumatismo (2011); 63 (3): 129-147

4. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences Am J Clin Nutr (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
5. Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SIDeMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS 25OH Vitamin D Total

Pro kvantitativní stanovení Vitamínu D 25(OH)

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda pro **kvantitativní** stanovení Vitamínu D 25(OH) v lidském séru za použití jednorázového nástroje aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Vitamin D je vitamin rozpustný v tucích, který je zapojen do metabolismu vápníku-fosforu. Existuje ve dvou formách: cholekalciferol (Vitamin D3) a ergokalciferol (Vitamin D2). D2 a D3 se nacházejí v krevním oběhu konjugované s nosnými proteiny, zejména VDBP (Vitamin D-binding protein). Obě formy jsou biologicky inertní a v organismu procházejí dvěma důležitými hydroxylacemi: první v játrech s vytvářením kalcidiolu (Vitamin D 25(OH)); druhá v ledvinách, kde se vytváří kalcitriol ($1.25(\text{OH})_2$ Vitamin D), biologicky aktivní metabolit.

Vitamin D 25(OH) je obecně považován za hlavní formu ukládání a dávka jeho sérologické koncentrace je považována za spolehlivý indikátor celkového stavu Vitamínu D (více než 95% Vitamínu D v séru je představována 25(OH)).

Vitamin D je zásadní pro dobré zdraví kostí.

Nedostatek Vitamínu D způsobuje vadnou mineralizaci struktury kostí, která může vést ke křivici u dětí nebo k osteoporóze a k osteomalacii u dospělých.

Příliš Vitamínu D "Hypervitaminóza D" má patologické účinky na organismus.

Vitamin D má také extraskeletální funkce, včetně imunomodulačních a antiproliferativních a pravděpodobně má svou roli v chronických zánětlivých a nádorových onemocněních, při cukrovce, v kardiovaskulárních a autoimunitních onemocněních a v dermatologii, kde je nedostatek Vitamínu D spojen s lupénkou, vitiligo, atopickou dermatitidou, melanomem a epitelálními nádory kůže.

Četné studie prokázaly, že populace ve středomořských zemích jako je Itálie patří navzdory zeměpisné šířce mezi země s nejnižší sérovou hladinou Vitamínu D v Evropě.

3. PRINCIP METODY

Nástroj s Chorus 25OH Vitamin D Total je připraven k použití pro zkoušku Vitamínu D 25(OH), v zařízení Chorus/Chorus TRIO.

Test je založen na principu ELISA (enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška) pomocí kompetice.

Monoklonální protilátka se váže na solidní fázi a Vitamin D 25(OH) přítomný v lidském vzorku kompetuje s biotinylovaným

Vitamínem D. Čím vyšší je koncentrace Vitamínu D 25(OH) ve zkušebním vzorku, tím menší je množství biotinylovaného Vitamínu D, který se váže.

Po promytí k eliminaci nereagujících složek se provede inkubace s konjugátem složeným ze Streptavidinu konjugovaných s křenovou peroxidázou. Konjugát, který nereagoval, je eliminován a přidá se peroxidázový substrát.

Barva, která se vyvíjí, je nepřímo úměrná koncentraci Vitamínu D 25(OH) ve zkušebním séru.

Reakce kompetice se provádí za použití odběrového tampónu (Incubation buffer), který je nutný pro uvolnění Vitamínu D 25(OH) z VDBP.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus / Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny jako ng/ml.

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykázaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomni, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: S použitými vzorky sér, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními rezidui a likvidovat je v souladu s legislativou.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus / Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
5. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.
6. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál s obsahem chlornanu sodného nevrháte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechejte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30°C) a použijte je do 60 min.

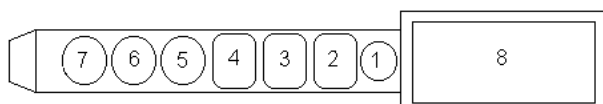
- Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
- Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
- Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen. Nepoužívejte nástroje, ve kterých chybí reagenty, nebo u nichž jsou v reagenční jamce při kontrole zrakem zjištěna cizí tělesa.
- Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus / Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod na použití a návod k obsluze.
Používání sady je možné pouze s aktualizovanou verzí softwaru. Zkontrolujte, jestli nainstalovaný software odpovídá či jestli má Release (Rel.) vyšší než je ten, který je uveden v tabulce zveřejněné na stránkách Diesse
(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
- Zkontrolujte, že je zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz návod k obsluze zařízení).
- Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
- Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrzájí.
- Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz návod k obsluze).
- Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chloranovým výparům.
- Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků, nedokonale koagulovaného séra nebo vzorků představujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
- Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
- Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení.

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: JAMKA s BIOTINYLOVANÝM VITAMÍNEM D

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Sensibilizována monoklonálními protilátkami antivitaminu D

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin a H₂O₂ stabilizovaná v pufru

Pozice 3: INCUBATION BUFFER

Obsah: Proteinový roztok obsahující konzervant

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: Streptavidin značený peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0.05% fenol a 0.02% Bronidox.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí neřaděné sérum.

Použití: přiveďte balení na pokojovou teplotu, otevřete balení a vyjměte požadované nástroje; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vytlačte vzduch a **uzavřete** stisknutím. Skladujte při teplotě 2–8°C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující Vitamin D a konzervační prostředek. Lyofilizovaný.

Použití: Rekonstituujte na štítku uvedeným objemem deionizované vody, alespoň 5 minut s obsahem netřepejte; poté vše promíchejte obrácením, ale pozor, nesmí se tvořit pěna.

CONTROL KONTROLNÍHO SÉRA

Obsahuje: Naředěné lidské sérum obsahující Vitamin D a konzervační prostředek. Lyofilizovaný.

Použití: Rekonstituujte na štítku uvedeným objemem deionizované vody, alespoň 5 minut s obsahem netřepejte; poté vše promíchejte obrácením, ale pozor, nesmí se tvořit pěna.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- Zařízení Chorus/Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagenty je nutné skladovat při teplotě 2–8°C. Skladujete-li reagenty při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz bod 9, Validace testu).

Datum spotřeby je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Reagenty mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2–8°C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě -20°C
KONTROLNÍHO SÉRA	8 týdnů při teplotě -20°C

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum získané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze skladovat 4 dny při teplotě 2–8°C, lze krátkodobě zmrazovat při –20°C. Nezmrazujte vzorky na dlouhou dobu.

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením. Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat. Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům. Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Vložte 90 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus / zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle příručky k obsluze zařízení.

9. OVĚŘENÍ TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu na obsluhu. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, kalibraci je třeba opakovat. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny. Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, zatelefonujte prosím do oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus / Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v ng/ml, vypočtených na základě křivky pro danou šarži, která je součástí nástroje.

Pozor: ignorujte kvalitativní zprávu N; D/E; P zařízení.

11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samotný. Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Kalibrační rozmezí 4.0-115.0 ng/ml.

13. REFERENČNÍ ROZMEZÍ

Níže uvedená tabulka uvádí očekávané hodnoty pro hladiny Vitamínu D 25(OH) uvedené v literatuře.

Stav	Rozmezí (ng/ml)
Chybějící	< 20
Nedostatečný	20 – 30
Normální	30 – 100
Toxický	> 100

Hodnoty zjištěné v populaci při prozkoumání 399 sér se pohybovaly mezi 4.0 a 46.9 ng/ml s průměrem 14.2 ng/ml.

14. ANALYTICKÁ SPECIFIČNOST

Bylo testováno 3 vzorků obsahujících následující rušivé substance.

Revmatoidní faktor (44 IU/ml - 220 IU/ml)

Bilirubin (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Triglyceridy (10 mg/dl - 250 mg/dl)

Hemoglobin (5 mg/ml - 30 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených rušivých látek ve vzorku séra (s výjimkou hemoglobin) nezměnila výsledky testu.

15. ZKŘÍŽENÉ REAKCE

Bylo testováno 7 vzorků s přidáním Vitamínu D2 a Vitamínu D3. Nebyla zjištěna křížová reaktivita pro hodnoty Vitamínu D2 do 1000 ng/ml a pro Vitamín D3 do 125 ng/ml.

16. SROVNÁNÍ METOD

V experimentu bylo testováno 217 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky zkoušky:

Korelace	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

Stupeň korelace mezi dvěma metodami je velmi vysoký.

17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (ng/ml)	CV %	Průměr (ng/ml)	CV %
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6
8	38.3	1.4	41.7	10.5
9	78.1	3.1	77.9	5.3

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (ng/ml)	CV %	Průměr (ng/ml)	CV %
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. REFERENČNÍ LITERATURA

1. Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
2. Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bacł D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The

- nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; *Endocr. Rev.* (2012); 33 (3): 456-492
3. Adami S., Romagnoli E, Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; *Reumatismo* (2011); 63 (3): 129-147
 4. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences *Am J Clin Nutr* (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
 5. Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SIdMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS 25OH Vitamin D Total

Zur quantitativen Bestimmung von 25-OH-Vitamin D

Ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt

1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay-Verfahren zur quantitativen Bestimmung von 25-OH-Vitamin D im Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit Chorus und Chorus TRIO Laboranalysatoren verwendet wird.

2. EINLEITUNG

La Vitamina D è una vitamina liposolubile che interviene nel Vitamin D ist ein fettlösliches Vitamin, das den Calcium- und Phosphat-Stoffwechsel reguliert. Es kommt in zwei Formen vor: als Cholecalciferol (Vitamin D3) und als Ergocalciferol (Vitamin D2). D2 und D3 befinden sich im Blutkreislauf und sind an Transportproteine, und zwar vorwiegend an das DBP (Vitamin D-Binding Protein) gebunden. Beide Formen sind biologisch inaktiv und durchlaufen im Organismus zwei signifikante Hydroxylierungen: die erste in der Leber mit Umwandlung in Calcidiol (25-OH-Vitamin D); die zweite in den Nieren mit Bildung des biologisch aktiven Metaboliten Calcitriol (1,25 OH₂-Vitamin D).

25-OH-Vitamin D gilt im Allgemeinen als die wichtigste Speicherform, weshalb sein Serumspiegel der zuverlässigste Indikator für den Vitamin-D-Gesamtstatus ist (über 95 % von Vitamin D im Serum besteht aus 25-OH).

Vitamin D ist grundlegend für eine gute Knochengesundheit.

Die Folge von Vitamin-D-Mangel ist eine unzureichende Mineralisierung des Knochengrundsubstanz, die im Kindesalter zu Rachitis und im Erwachsenenalter zu Osteoporose und Osteomalazie führen kann.

Der Überschuss an Vitamin D, die sogenannte „D-Hypervitaminose“, hat krankhafte Auswirkungen für den Organismus.

Vitamin D hat auch extraskelettale Effekte, einschließlich der immunmodulierenden und antiproliferativen Wirkung, spielt eine mögliche Rolle bei chronisch-entzündlichen und neoplastischen Erkrankungen, Diabetes, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen sowie im dermatologischen Bereich, wo ein Vitamin D-Mangel mit Psoriasis, Vitiligo, Neurodermatitis, Melanom und Hautkarzinomen assoziiert wird. Vielfache Studien zeigten, dass die Bewohner von Mittelmeerländern wie Italien trotz des Breitengrades zu denen mit dem niedrigsten Vitamin-D-Serumspiegel Europas gehören.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus 25OH Vitamin D Total ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von 25-OH-Vitamin D in Kombination mit Chorus/Chorus TRIO Laboranalysatoren.

Der Test basiert auf der kompetitiven ELISA-Methode (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Der monoklonale Antikörper wird an die feste Phase gebunden und das in der menschlichen Probe enthaltene 25-OH-Vitamin D konkurriert mit biotinyliertem Vitamin D. Je höher die 25-OH-Vitamin D-Konzentration in der untersuchten Probe ist, umso geringer ist die Menge von sich bindendem biotinyliertem Vitamin D.

Nach dem Ausspülen der Komponenten, die nicht reagiert haben, erfolgt die Inkubation mit dem Konjugat aus Meerrettichperoxidase-konjugierten Streptavidin. Das nicht gebundene Konjugat wird entfernt und das Peroxidasesubstrat hinzugefügt.

Die Intensität der Farbe entwickelt sich umgekehrt proportional zur Konzentration von 25-OH-Vitamin D im untersuchten Serum.

Die kompetitive Reaktion erfolgt unter Verwendung eines Extraktionspuffers (Incubation buffer), der zur Loslösung von 25-OH-Vitamin D vom DBP erforderlich ist.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als ng/ml.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK BESTIMMT.

Dieser Testsatz enthält Material humanen Ursprungs, das mit FDA zugelassenen Methoden sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 und Anti-HCV-Antikörper negativ getestet wurde. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Sämtliche Reagenzien und Proben müssen unter Einhaltung der üblicherweise in Labors geltenden Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Serumproben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und daher unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Warnhinweise für die Sicherheit des Personals

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte die Sicherheitsblätter (auf Anfrage erhältlich).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine

Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Eine 30-minütige Exposition mit 1 %igem Natriumhypochlorit sollte für die Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion ausreichen.

6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die beschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf das Natriumhypochlorit nicht verwendet werden, bevor die Fläche getrocknet wurde.

Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden.

Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Die zu verwendenden Testmodule vor dem Gebrauch auf Umgebungstemperatur (18–30 °C) bringen und innerhalb von 60 Minuten verwenden.

1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren, ob die Reagenzien im Testmodul vorhanden sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.

Die Verwendung des Kits ist nur mit einer aktualisierten Version der Software möglich. Stellen Sie sicher, dass die im Gerät installierte Software identisch ist oder eine neuere Version (Rel.) aufweist als in der auf der Diesse-Website veröffentlichten Tabelle

(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

5. Kontrollieren, ob der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Stark hämolytische, lipämische, ikterische Proben, Proben von nicht vollständig koagulierte Serum oder mikrobisch verunreinigte Proben können Fehlerquellen bergen.
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

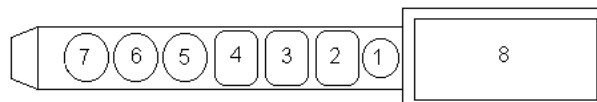
12. Kontrollieren, ob das Gerät mit dem Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004) verbunden ist.

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 8: Platz für Strichcode-Etikett

Position 7: VERTIEFUNG mit BIOTINYLIERTEM VITAMIN D

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Sensibilisiert mit monoklonalen Anti-Vitamin-D-Antikörpern

Position 5: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Nicht sensibilisiert

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin und H₂O₂, stabilisiert in puffer.

Position 3: INCUBATION BUFFER

Inhalt: Proteinlösung mit Konservierungsmittel

Position 2: KONJUGAT

Inhalt: peroxidase-markierte Streptavidin in Phosphatpufferlösung mit 0.05 % Phenol und 0.02 % Bronidox

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

In diese Vertiefung muss der Bediener das unverdünnte Serum füllen

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurück legen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss versiegeln. Bei 2–8 °C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR

Inhalt: Verdünntes Humanserum mit Vitamin D und Konservierungsmittel. Gefriergetrocknetes Serum.

Verwendung: Das Lyophilat mit dem auf dem Etikett angegebenen Volumen deionisierten Wassers rekonstituieren, mindestens 5 Minuten warten, ohne zu schütteln; durch Umkippen mischen, um Schaumbildung zu vermeiden.

CONTROL KONTROLLSERUM

Inhalt: Verdünntes Humanserum mit Vitamin D und Konservierungsmittel. Gefriergetrocknetes Serum.

Verwendung: Das Lyophilat mit dem auf dem Etikett angegebenen Volumen deionisierten Wassers rekonstituieren, mindestens 5 Minuten warten, ohne zu schütteln; durch Umkippen mischen, um Schaumbildung zu vermeiden.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- 5 %ige Natriumhypochlorit-Lösung
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8°C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe des Kontrollserums überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Außenetikett der Verpackung.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen bzw. der Vorbereitung eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8°C
KALIBRATOR	8 Wochen bei -20°C
KONTROLLSERUM	8 Wochen bei -20°C

7. PROBENART UND AUFBEWAHRUNG

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für kurze Zeiträume bei -20°C einfrieren. Das Einfrieren der Proben über längere Zeiträume vermeiden.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

Eine Hitzeinaktivierung kann zu falschen Ergebnissen führen. Durch eine mikrobiische Kontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinflusst werden, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

8. VORGEHENSWEISE

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls 90 µl des zu analysierenden, unverdünnten Serums geben. Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.
4. Die Testmodule in den Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDITÄT

Zur Überprüfung der Richtigkeit des Testergebnisses das positive Kontrollserum verwenden. Es wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für das Kontrollserum einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis des Kontrollserums weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Der Chorus/Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis in ng/ml, die aufgrund einer vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Grafik berechnet werden.

Achtung: die qualitative Befundung N übergehen; D/E; P des Instruments.

11. GRENZEN DES TESTS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind.

Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich 4.0-115.0 ng/ml.

13. REFERENZINTERVALLE

Die nachstehende Tabelle zeigt die erwarteten Werte für die 25-OH-Vitamin-D-Spiegel entsprechend den Angaben in der Literatur.

Status	Bereich (ng/ml)
Schwerer Mangel	< 20
Leichter Mangel	20 – 30
Normal	30 – 100
Toxisch	> 100

Die in der Bevölkerung beobachteten und durch Untersuchung von 399 Seren bestimmten Werte lagen zwischen 4.0 und 46.9 ng/ml bei einem Mittelwert von 14.2 ng/ml.

14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 3 Proben getestet, denen folgende Interferenten beigelegt wurden:

Rheumafaktor (44 IU/ml – 220 IU/ml)
Bilirubin (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglyceride (10 mg/dl – 250 mg/dl)
Hämoglobin (5 mg/ml – 30 mg/ml)

Die Präsenz der oben genannten Interferenten im untersuchten Serum hat (mit Ausnahme von Hämoglobin) keinen Einfluss auf das Testergebnis.

15. KREUZREAKTIONEN

7 Proben wurden unter Hinzufügung von Vitamin D2 und Vitamin D3 getestet.

Es zeigen sich keine Kreuzreaktionen für Vitamin D2-Werte bis zu 1000 ng/ml und Vitamin D3-Werte bis zu 125 ng/ml.

16. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 217 Proben mit dem Testsatz Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

Ergebnisse des Versuchs:

Korrelation	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

Der Korrelationsgrad zwischen den zwei Methoden ist sehr hoch.

17. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (ng/ml)	CV %	Mittelwert (ng/ml)	CV %
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6
8	38.3	1.4	41.7	10.5
9	78.1	3.1	77.9	5.3

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (ng/ml)	CV %	Mittelwert (ng/ml)	CV %
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. LITERATUR

1. Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
2. Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bacł D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; Endocr. Rev. (2012); 33 (3): 456-492
3. Adami S., Romagnoli E., Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; Reumatismo (2011); 63 (3): 129-147

4. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences Am J Clin Nutr (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
5. Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SIDeMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS 25OH Vitamin D Total

**Για τον ποσοτικό προσδιορισμό της
βιταμίνης D 25(OH)**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ποσοτικό προσδιορισμό της βιταμίνης D 25(OH) στον ανθρώπινο ορό με σετ μίας χρήσης που εφαρμόζεται στις συσκευές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η βιταμίνη D είναι μια λιποδιαλυτή βιταμίνη που συμμετέχει στο μεταβολισμό ασβεστίου-φωσφόρου. Απαντάται σε δύο μορφές: την χοληκαλσιφερόλη (βιταμίνη D3) και την εργοκαλσιφερόλη (βιταμίνη D2). Οι βιταμίνες D2 και D3 ανευρίσκονται στην αιματική κυκλοφορία συζευγμένες με πρωτεΐνες φορείς, κυρίως με την πρωτεΐνη σύνδεσης βιταμίνης D, VDBP (Vitamin D-Binding Protein). Και οι δύο μορφές είναι βιολογικά αδρανείς και, μέσα στον οργανισμό, υφίστανται δύο σημαντικές διεργασίες υδροξυλίωσης: η πρώτη υδροξυλίωση πραγματοποιείται στο ήπαρ, με σχηματισμό της καλσιδιόλης (βιταμίνη D 25(OH)), ενώ η δεύτερη πραγματοποιείται στους νεφρούς, όπου σχηματίζεται η καλσιτριόλη (1,25(OH)₂ βιταμίνη D), ο βιολογικά δραστικός μεταβολίτης.

Η βιταμίνη D 25(OH) θεωρείται γενικά η κύρια αποθηκευμένη μορφή της βιταμίνης, και η συγκέντρωσή της στον ορό θεωρείται αξιόπιστος δείκτης της συνολικής κατάστασης της βιταμίνης D στον οργανισμό (περισσότερο από το 95% της βιταμίνης D στον ορό αντιστοιχεί στη βιταμίνη 25(OH)).

Η βιταμίνη D έχει καθοριστική σημασία για την καλή υγεία των οστών.

Η ανεπάρκεια βιταμίνης D προκαλεί ανεπαρκή αναμετάλλωση της θεμελιώδους μάζας των οστών, που μπορεί να οδηγήσει σε ραχίτιδα στα παιδιά, και οστεοπόρωση και οστεομαλακία στους ενήλικες.

Η υπερβολική ποσότητα βιταμίνης D, "Υπερβιταμίνωση D", έχει παθολογικές επιπτώσεις στον οργανισμό.

Η βιταμίνη D έχει και εξωσκελετικές δράσεις, όπως ανοσορρυθμιστική και αντινεοπλασματική δράση, ενδέχεται να παίζει ρόλο στις χρόνιες φλεγμονώδεις και νεοπλασματικές παθήσεις, στο διαβήτη, στα καρδιαγγειακά και αυτοάνοσα νοσήματα, ενώ στο πεδίο της δερματολογίας, η έλλειψη βιταμίνης D έχει συσχετιστεί με ψωρίαση, λεύκη, αποπική δερματίτιδα, μελάνωμα και επιθηλιακούς όγκους του δέρματος.

Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι οι πληθυσμοί μεσογειακών χωρών όπως είναι η Ιταλία, παρά το γεωγραφικό πλάτος στο οποίο βρίσκονται, έχουν από τα χαμηλότερα ορολογικά επίπεδα βιταμίνης D στην Ευρώπη.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το σετ Chorus 25OH Vitamin D Total είναι έτοιμο προς χρήση για τον προσδιορισμό της βιταμίνης D 25(OH), στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Το τεστ βασίζεται στην ανταγωνιστική μέθοδο ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Το μονοκλωνικό αντίσωμα δεσμεύεται στη στερεά φάση και η βιταμίνη D 25(OH) που υπάρχει στο ανθρώπινο δείγμα ανταγωνίζεται την βιοτινυλιωμένη βιταμίνη D. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκέντρωση της βιταμίνης D 25(OH) στο εξεταζόμενο δείγμα, τόσο μικρότερη θα είναι η ποσότητα της βιοτινυλιωμένης βιταμίνης D που θα δεσμευτεί.

Μετά από πλύσεις για να απομακρυνθούν τα συστατικά που δεν αντέδρασαν, γίνεται η επώαση με το συζυγές, που αποτελείται από στρεπταβιδίνη συζευγμένη με υπεροξειδάση ραφανιδών.

Απομακρύνεται το συζυγές που δεν συνδέθηκε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση.

Το χρώμα που σχηματίζεται είναι αντιστρόφως ανάλογο προς τη συγκέντρωση της βιταμίνης D 25(OH) στον εξεταζόμενο ορό. Η ανταγωνιστική αντίδραση πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας ένα ρυθμιστικό διάλυμα εκχύλισης (ρυθμιστικό διάλυμα επώασης), το οποίο είναι απαραίτητο για να απελευθερωθεί η βιταμίνη D 25(OH) από την VDBP.

Τα σετ μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την εκτέλεση του τεστ στις συσκευές Chorus/Chorus TRIO.

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με τους εξής τρόπους ng/ml.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Αυτό το κιτ περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν περάσει από τεστ και έχουν βρεθεί αρνητικά σε τεστ που έχουν εγκριθεί από την FDA, για την ανίχνευση τόσο του HbsAg όσο και των αντισωμάτων anti-HIV-1, anti-HIV-2 και anti-HCV. Επειδή κανένα διαγνωστικό τεστ δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, οποιοδήποτε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται ως δυνητικά μολυσμένο. Τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να τα χειρίζεστε όλα σύμφωνα με τους κανονισμούς ασφαλείας που συνήθως εφαρμόζονται στο εργαστήριο.

Διάθεση καταλοίπων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιήθηκαν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως μολυσμένα κατάλοιπα και επομένως να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατεύετε τα μάτια όταν χειρίζεστε τα δείγματα.
3. Πλένετε σχολαστικά τα χέρια αφού τοποθετήσετε τα σετ ανάλυσης μέσα στην συσκευή Chorus/Chorus TRIO.
4. Όσον αφορά τα χαρακτηριστικά ασφαλείας των αντιδραστηρίων που περιέχει το κιτ συμβουλευτείτε το Δελτίο Ασφαλείας (διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος).

5. Ουδετεροποιημένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Η έκθεση στο υποχλωριώδες νάτριο 1% για 30 λεπτά θα πρέπει να είναι αρκετή για να εγγυηθεί μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Τυχόν χυμένα υλικά που θα μπορούσαν να είναι μολυσμένα πρέπει να αφαιρούνται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η μολυσμένη περιοχή πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Σε περίπτωση παρουσίας ενός οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να έχει στεγνώσει η περιοχή. Πρέπει όλα τα υλικά, καθώς και γάντια, που χρησιμοποιήθηκαν για να απολυμανθούν τυχόν χυμένα υγρά από ατύχημα, να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσμένα απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση, τα σετ πρέπει να αφεθούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και να χρησιμοποιηθούν μέσα σε 60 λεπτά.

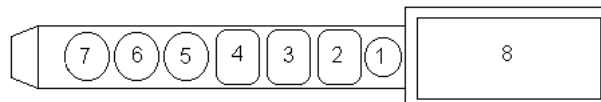
1. **Απορρίψτε το σετ του οποίου το υπόστρωμα (κυψελίδα 4) είναι χρώματος μπλε.**
2. Αφού βάλετε το δείγμα στην κυψελίδα, εξακριβώστε ότι έχει κατανεμηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Βεβαιωθείτε για την ύπαρξη των αντιδραστηρίων μέσα στο σετ και για την αρτιότητα του ίδιου του σετ. Μην χρησιμοποιείτε σετ τα οποία όταν εξετάζονται οπτικά παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστήριου και/ή ξένα σώματα στην κυψελίδα αντίδρασης.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται με την συσκευή Chorus/Chorus TRIO, ακολουθώντας αυστηρά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής.
Επιτρέπεται η χρήση του kit μόνο με ενημερωμένη έκδοση του λογισμικού. Βεβαιωθείτε ότι το λογισμικό που έχει εγκατασταθεί στον αναλυτή έχει την ίδια ή μεταγενέστερη ημ/νία έκδοσης (Rel.) από την αναφερόμενη ημ/νία στον κατάλογο που δημοσιεύεται στον ιστότοπο της Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Ελέγξτε αν η συσκευή Chorus/Chorus TRIO είναι ρυθμισμένη σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
6. Μην αλλοιώνετε τον γραμμωτό κωδικό που υπάρχει πάνω στη λαβή του σετ, ώστε η συσκευή να μπορεί να διαβάσει τον κωδικό σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την διατήρηση των δειγμάτων.
8. Αν υπάρχουν ελαττωματικοί γραμμωτοί κωδικοί, μπορείτε να τους περάσετε στην συσκευή με το χέρι (βλ. Εγχειρίδιο Χρήστη).
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φωτισμό ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη διατήρηση ή την χρήση.
10. Η χρήση έντονα αιμολυμένων, λυπαιμικών, ικτερικών δειγμάτων καθώς και δειγμάτων των οποίων ο ορός δεν έχει πήξει εντελώς ή δειγμάτων που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση μπορεί να προκαλέσει λάθη.
11. Μην χρησιμοποιείτε το σετ μετά την ημερομηνία λήξης.
12. **Βεβαιωθείτε ότι η συσκευή είναι συνδεδεμένη με το Washing Buffer Autoimmunity ΚΩΔ. 86004.**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς.

DD SET 6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα γραμμωτού κώδικα

Θέση 7: ΚΥΨΕΛΙΔΑ με BIOTINYΛΙΩΜΕΝΗ BITAMINΗ D

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Ευαισθητοποιημένη με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι βιταμίνης D

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑΣ

Μη ευαισθητοποιημένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: Τετραμεθυλβενζιδίνη και H₂O₂ σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα

Θέση 3: INCUBATION BUFFER

Περιεχόμενο: πρωτεϊνικό διάλυμα και συντηρητικό

Θέση 2: ΣΥΖΥΓΕΣ

Περιεχόμενο: Στρεπταβιδίνη σημασμένη με υπεροξειδάση, σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα που εμπεριέχει φαινόλη 0.05% και Bronidox 0.02%.

Θέση 1: ΑΔΕΙΑ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Σε αυτή την κυψελίδα ο χρήστης πρέπει να βάλει τον μη διαλυμένο ορό.

Χρήση: Ισορροπήστε μία σακούλα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε την σακούλα, βγάλτε όσα σετ χρειάζονται; επανατοποθετήστε τα υπόλοιπα πίσω στην σακούλα, η οποία περιέχει πυριτική γέλη (silica gel), αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε** πιέζοντας στο σημείο κλεισίματος. Διατηρείτε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρώπινου ορού που περιέχει βιταμίνη D και συντηρητικό. Κρυο-αφυδατωμένος.

Χρήση: Η ανασύσταση γίνεται με την προσθήκη της ποσότητας απιονισμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Περιμένετε 5 λεπτά τουλάχιστον χωρίς να ανακινήσετε. Ανακατέψτε μετά αναποδογυρίζοντας και προσέχοντας να μην σχηματιστεί αφρός.

CONTROL ΟΡΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Περιεχόμενο: Διάλυμα ανθρώπινου ορού που περιέχει βιταμίνη D και συντηρητικό. Κρυο-αφυδατωμένος.

Χρήση: Η ανασύσταση γίνεται με την προσθήκη της ποσότητας απιονισμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα. Περιμένετε 5 λεπτά τουλάχιστον χωρίς να ανακινήσετε. Ανακατέψτε μετά αναποδογυρίζοντας και προσέχοντας να μην σχηματιστεί αφρός.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΟΜΩΣ ΔΕΝ ΣΥΜΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608

- Συσκευή Chorus/Chorus TRIO
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Συνηθισμένος υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κλπ.
- Μικροπιπέτες που μπορούν να αναρροφήσουν με ακρίβεια όγκους 50-200 µl
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την συλλογή υλικών που μπορεί να είναι μολυσμένα

6. ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να διατηρούνται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που διατηρήθηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, η βαθμονόμηση πρέπει να επαναληφθεί και να ελεγχθεί η ορθότητα του αποτελέσματος μέσω του ορού ελέγχου (βλ. κεφ. 9: Εγκυρότητα του τεστ).

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε συστατικό μέρος και πάνω στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη σταθερότητα μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία:

ΣΕΤ	8 εβδομάδες στους 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες στους -20°C
ΟΡΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ	8 εβδομάδες στους -20°C

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ

Το είδος δείγματος αποτελείται από ορό που προέρχεται από αίμα που λήφθηκε με κανονική φλεβοκέντηση και που έχει περάσει από τις διαδικασίες που απαιτούνται από τους καθιερωμένους κανονισμούς εργαστηρίου.

Δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις από την χρησιμοποίηση άλλων βιολογικών υγρών.

Ο φρέσκος ορός μπορεί να διατηρηθεί για 4 ημέρες στους 2/8°C. Μπορεί να καταψυχθεί για σύντομα διαστήματα στους -20°C. Να αποφεύγετε την κατάψυξη των δειγμάτων για μεγάλο διάστημα.

Αποφεύγετε τη χρήση ψυγείων με αυτόματη απόψυξη για τη διατήρηση των δειγμάτων. Μετά από την απόψυξη ανακινήστε το δείγμα με προσοχή πριν την δοσομέτρηση.

Η απενεργοποίηση στην θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

Η ποιότητα του δείγματος μπορεί να επηρεαστεί σοβαρά από την μικροβιακή μόλυνση η οποία μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την σακούλα (πλευρά που περιλαμβάνει το σημείο κλεισίματος με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζονται για την διεξαγωγή των τεστ και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε οπτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες.
3. Βάλτε στην κυψελίδα αρ. 1 του κάθε σετ, 90 µl μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.

4. Τοποθετήστε τα σετ στη συσκευή Chorus/Chorus TRIO. Πραγματοποιήστε την βαθμονόμηση (αν απαιτείται) και τα τεστ σύμφωνα με το Εγχειρίδιο Οδηγιών της συσκευής.

9. ΕΓΚΥΡΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Χρησιμοποιήστε τον ορό θετικού ελέγχου για να εξακριβώσετε την ορθότητα του ληφθέντος αποτελέσματος, επεξεργάζοντας τον όπως υποδεικνύεται στο Εγχειρίδιο Χρήστη της συσκευής. Αν η συσκευή προειδοποιήσει ότι ο ορός ελέγχου έχει τιμή εκτός αποδεκτού ορίου χρειάζεται να επαναληφθεί η βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα.

Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η συσκευή Chorus/Chorus TRIO παρέχει το αποτέλεσμα σε ng/ml, που υπολογίζονται βάσει ενός γραφήματος που εξαρτάται από παρτίδα που έχει εγγραφεί στην μνήμη της συσκευής.

Προσοχή: αγνοήστε την ποιοτική αναφορά N, D/E, P της συσκευής.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΤΕΣΤ

Η κάθε τιμή που λήφθηκε πρέπει να ερμηνεύεται προσεκτικά χωρίς να εξαιρούνται άλλες ενδείξεις που αφορούν τον ίδιο ασθενή.

Το τεστ, πράγματι, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μία κλινική διάγνωση και το ληφθέν αποτέλεσμα πρέπει πάντα να αξιολογείται σε συνδυασμό με δεδομένα που προέρχονται από το ιστορικό του ασθενούς και/ή από άλλες διαγνωστικές έρευνες.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Εύρος Βαθμονόμησης 4.0-115.0 ng/ml.

13. ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Ο ακόλουθος πίνακας περιλαμβάνει τις αναμενόμενες τιμές για διάφορα επίπεδα βιταμίνης D 25(OH), όπως αναφέρονται στη βιβλιογραφία.

Κατάσταση	Εύρος (ng/ml)
Ανεπάρκεια	< 20
Έλλειψη	20 – 30
Φυσιολογική	30 – 100
Τοξική	> 100

Τα αποτελέσματα ελέγχου του πληθυσμού, κατόπιν εξέτασης 399 δειγμάτων ορού, κυμάνθηκαν μεταξύ 4,0 και 46,9 ng/ml με μέση τιμή 14.2 ng/ml.

14. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Έχουν εξετασθεί 3 δείγματα στα οποία έχουν προστεθεί οι ακόλουθες παρεμβατικές ουσίες:

Ρευματοειδής παράγοντας (44 IU/ml - 220 IU/ml)
Χολερυθρίνη (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

Τριγλυκερίδια (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Αιμοσφαιρίνη (5 mg/ml - 30 mg/ml)

Η παρουσία των προαναφερθέντων ουσιών παρεμβολής στον εξεταζόμενο ορό (με εξαίρεση την αιμοσφαιρίνη) δεν μεταβάλλει το αποτέλεσμα του τεστ.

15. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ

Εξετάστηκαν 7 δείγματα στα οποία προστέθηκε βιταμίνη D2 και βιταμίνη D3.

Δεν παρατηρήθηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα για τιμές βιταμίνης D2 έως 1000 ng/ml και για τιμές βιταμίνης D3 έως 125 ng/ml.

16. ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ

Κατά τη διεξαγωγή ενός πειράματος αναλύθηκαν 217 δείγματα με το kit DIESSE και με ένα άλλο kit του εμπορίου.

Αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης:

Συσχέτιση	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

Ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ των δύο μεθόδων είναι πολύ υψηλός.

17. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ

Δείγμα	Κατά την διαδικασία		Μεταξύ διαδικασιών	
	Μέση Τιμή (ng/ml)	CV%	Μέση Τιμή (ng/ml)	CV%
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6
8	38.3	1.4	41.7	10.5
9	78.1	3.1	77.9	5.3

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ συσκευών	
	Μέση Τιμή (ng/ml)	CV%	Μέση Τιμή (ng/ml)	CV%
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
- Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bac D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; Endocr. Rev. (2012); 33 (3): 456-492

- Adami S., Romagnoli E., Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; Reumatismo (2011); 63 (3): 129-147
- Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences Am J Clin Nutr (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
- Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SDeMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS 25OH Vitamin D Total

Para la determinación cuantitativa de la Vitamina D 25(OH)

Sólo para el uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación cuantitativa de la Vitamina D 25(OH) en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

La vitamina D es una vitamina liposoluble que interviene en el metabolismo de calcio y fósforo. Existe en dos formas: colecalciferol (vitamina D3) y ergocalciferol (vitamina D2). D2 y D3 se encuentran en el torrente sanguíneo conjugadas con proteínas transportadoras, principalmente VDBP (proteína de unión a la vitamina D). Ambas formas son biológicamente inertes y sufren en el organismo dos hidroxilaciones importantes: la primera en el hígado, con formación de calcidiol (vitamina D 25(OH)); la segunda en el riñón, donde se forma el calcitriol (1,25(OH)₂ vitamina D), el metabolito biológicamente activo.

La vitamina D 25(OH) suele considerarse la principal forma de acumulación y la dosificación de su concentración serológica se considera un indicador fiable del estado total de vitamina D (más del 95% de la vitamina D en el suero está representado por 25(OH)).

La vitamina D es esencial para una buena salud ósea.

La deficiencia de vitamina D da lugar a una mineralización defectuosa de la estructura ósea, que puede conducir a raquitismo en niños, osteoporosis y osteomalacia en adultos.

El exceso de vitamina D, «hipervitaminosis D», conlleva efectos patológicos en el organismo.

La vitamina D también tiene funciones extraesqueléticas, incluyendo la inmunomoduladora y antiproliferativa, tiene un posible papel en las enfermedades inflamatorias crónicas y neoplásicas, en la diabetes, en las enfermedades cardiovasculares y autoinmunes, y en dermatología, donde la deficiencia de vitamina D se asocia a psoriasis, vitiligo, dermatitis atópica, melanoma y tumores epiteliales de la piel.

Múltiples estudios han demostrado que, en los países mediterráneos como Italia, a pesar de la latitud, la población se encuentra entre aquellas con los niveles séricos más bajos de vitamina D en Europa.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus 25OH Vitamin D Total está listo para su uso para la detección de la Vitamina D 25(OH), en los equipos Chorus /Chorus TRIO.

El test se basa en la técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) por competición.

El anticuerpo monoclonal está unido a la fase sólida y la vitamina D 25(OH) presente en la muestra humana compete con la vitamina D biotinilada. Cuanto mayor es la concentración de vitamina D 25(OH) en la muestra examinada, menor es la cantidad de vitamina D biotinilada que se une.

Después de varios lavados para eliminar los componentes que no hayan reaccionado, tiene lugar la incubación con el conjugado, compuesto de Estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano.

El conjugado que no se ha unido se elimina y se añade el sustrato cromogénico de la peroxidasa.

El color que se desarrolla es inversamente proporcional a la concentración de Vitamina D 25(OH) presentes en la muestra de suero.

La reacción de competencia se lleva a cabo utilizando un tampón de extracción (Incubation buffer), necesario para liberar la vitamina D 25(OH) de la VDBP.

Los dispositivos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus/Chorus TRIO.

El resultado se expresa en ng/ml.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado resultados negativos en métodos aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Desecho de los residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras utilizadas se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, de acuerdo con las disposiciones normativas vigentes.

Advertencias para la seguridad personal

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos al manipular las muestras.
3. Lavarse bien las manos una vez introducidos los dispositivos en el instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Sobre las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consultar la Ficha de Seguridad (disponible bajo solicitud).
5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El derrame de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con

hipoclorito de sodio al 1%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en derrames que contengan ácido antes de que se limpie la zona. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Poner los dispositivos a utilizar a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

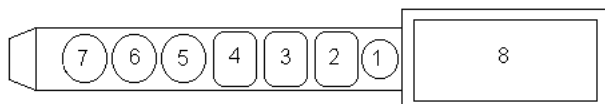
1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos que, en el control visual, presenten falta de algún reactivo y/o cuerpos extraños en el pocillo de reacción.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus/Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El uso del kit sólo es posible con una versión actualizada del software. Asegúrese de que el software instalado en el equipo coincida o tenga un release (Rel.) superior a lo que está indicado en la tabla publicada en el sitio (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus/Chorus TRIO sean correctas (ver Manual del Usuario).
6. No modificar el código de barras colocado en el asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente (ver Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presenten contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases con 6 dispositivos cada uno

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiquetas con código de barras

Posición 7: POCILLO con VITAMINA D BIOTINILADA

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anticuerpos monoclonales anti-Vitamina D

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbenzidina y H₂O₂ estabilizados en tampón.

Posición 3: INCUBATION BUFFER

Contenido: solución proteica con conservante

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: Estreptavidina marcada con peroxidasa, en una solución tampón fosfato con fenol al 0.05% y Bronidox al 0.02%.

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario dispensa el suero sin diluir.

Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente, abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y **cerrar** presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

Contenido: Suero humano diluido que contiene Vitamina D y conservante. Liofilizado.

Uso: reconstituir con el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta, esperar por lo menos 5 minutos sin agitar; mezclar por inversión y evitar la formación de espuma.

CONTROL SUERO DE CONTROL

Contenido: Suero humano diluido que contiene Vitamina D y conservante. Liofilizado.

Uso: reconstituir con el volumen de agua desionizada indicado en la etiqueta, esperar por lo menos 5 minutos sin agitar; mezclar por inversión y evitar la formación de espuma.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 – 83608
- Equipo Chorus/Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada por medio del suero de control (ver capítulo 9, "Validación de la prueba").

La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la apertura y/o preparación.

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	8 semanas a -20°C
SUERO DE CONTROL	8 semanas a -20°C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consta de suero extraído de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por la buena práctica de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8°C durante 4 días; congelar durante períodos cortos a -20°C. Evitar la congelación de las muestras durante períodos largos.

No deben ser utilizados congeladores autodescongelantes para la conservación de la muestra. Después de descongelar, agitar con cuidado antes de su uso.

La inactivación por calor puede dar resultados erróneos.

La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar 90 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo. Por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus/Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el suero de control para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario realizar de nuevo la calibración. Los resultados previos se corregirán automáticamente.

Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en ng/ml, calculado según un gráfico lote-dependiente grabado en el equipo.

Cuidado: ignorar la información cualitativa N; D/E; P del equipo.

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos precisan una atenta interpretación que no prescinda de otros indicadores relativos al mismo paciente.

Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 4.0-115.0 ng/ml.

13. VALORES DE REFERENCIA

La siguiente tabla muestra los valores esperados para los niveles de vitamina D 25(OH), publicados en la literatura.

Estado	Rango (ng/ml)
Carente	< 20
Insuficiente	20 – 30
Normal	30 – 100
Tóxico	> 100

Los valores observados en la población, determinados mediante la prueba de 399 sueros, oscilaron entre 4.0 y 46.9 ng/ml con una mediana de 14.2 ng/ml.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

3 muestras fueron analizadas a las cuales se añadieron los interferentes siguientes:

Factor reumatoide (44 IU/ml - 220 IU/ml)
Bilirrubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

La presencia en el suero de las sustancias interferentes antes mencionadas (con la excepción de hemoglobina) no afecta el resultado del test.

15. REACCIONES CRUZADAS

7 muestras se han examinado añadiendo vitamina D2 y vitamina D3.

No se ha encontrado reactividad cruzada para valores de vitamina D2 hasta 1000 ng/ml y de vitamina D3 hasta 125 ng/ml.

16. ESTUDIOS DE COMPARACIÓN

En una prueba, se analizaron 217 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

Resultados de la prueba:

Correlación	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

El grado de correlación entre los dos métodos resulta muy alto.

17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	INTRA-ENSAYO		ENTRE ENSAYOS	
	Media (ng/ml)	CV%	Media (ng/ml)	CV%
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6

8	38.3	1.4	41.7	10.5
9	78.1	3.1	77.9	5.3

Muestra	ENTRE LOTES		ENTRE EQUIPOS	
	Media (ng/ml)	CV%	Media (ng/ml)	CV%
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. BIBLIOGRAFÍA

1. Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
2. Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bacł D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; Endocr. Rev. (2012); 33 (3): 456-492
3. Adami S., Romagnoli E., Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; Reumatismo (2011); 63 (3): 129-147
4. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences Am J Clin Nutr (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
5. Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SIDeMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS 25OH Vitamin D Total

Pour la détermination quantitative de la Vitamine D 25(OH)

Uniquement pour diagnostic *in vitro*.

1. UTILISATION

Méthode immunoenzymatique pour la détermination quantitative de la Vitamine D 25(OH) dans le sérum humain en utilisant un dispositif à usage unique appliqué aux appareils Chorus et Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

La Vitamine D est une vitamine liposoluble intervenant dans le métabolisme calcio-phosphorique. Elle existe sous deux formes : le cholécalciférol (Vitamine D3), et l'ergocalciférol (Vitamine D2). Les D2 et D3 se trouvent dans le système sanguin associées à des porteurs de protéine, essentiellement VDBP (Vitamin D-Binding Protein). Les deux formes sont biologiquement inertes et subissent, dans l'organisme, deux hydroxylations importantes : la première est réalisée dans le foie, avec la formation des calcidiols (Vitamine D 25(OH)) ; la seconde dans le rein, où se forme le calcitriol (1.25(OH)₂ Vitamine D) le métabolite biologiquement actif.

La Vitamine D 25(OH) est généralement considérée comme la principale forme d'accumulation et le dosage de sa concentration sérologique se veut un indicateur fiable de la condition générale de Vitamine D (plus de 95% de Vitamine D dans le sérum est représenté par la 25(OH)).

La Vitamine D est essentielle à la bonne santé osseuse.

Une carence en Vitamine D entraîne une minéralisation défectueuse de la structure osseuse pouvant mener au rachitisme infantile, à l'ostéoporose et à l'ostéomalacie des adultes.

Un excédent de Vitamine D, "hypervitaminose D", comporte des effets pathologiques sur l'organisme.

La Vitamine D a également des fonctions extra-squelettiques, dont celle immuno-modulante et antiproliférative, a un possible rôle dans les maladies inflammatoires chroniques et néoplasiques, le diabète, les maladies cardiovasculaires et auto-immunes et en milieu dermatologique, où un déficit de Vitamine D est associé au psoriasis, au vitiligo, à la dermatite atopique, aux mélanomes et tumeurs épithéliales de la peau.

De multiples études ont démontré que, dans les pays Méditerranéens comme l'Italie, en dépit de la latitude, la population compte parmi celles ayant les niveaux sériques en Vitamine D les plus bas d'Europe.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Chorus 25OH Vitamin D Total est prêt à l'usage pour la détermination de la Vitamine D 25(OH), dans les appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le test se base sur le principe ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) par compétition.

L'anticorps monoclonal se lie à la phase solide et la Vitamine D 25(OH) présente dans l'échantillon humain rivalise avec la Vitamine D biotinylée. La concentration de Vitamine D 25(OH) est supérieure dans l'échantillon examiné, et la quantité de Vitamine D Biotinylée qui se lie est inférieure.

Après lavage pour éliminer les composants qui n'ont pas réagi, on effectue l'incubation avec le conjugué constitué de Streptavidine conjuguée avec du peroxyde de raifort. Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté.

La couleur qui se développe est inversement proportionnelle à la concentration de Vitamine D 25(OH) présente dans le sérum en examen.

La réaction de compétition est réalisée au moyen d'un tampon d'extraction (Incubation buffer), nécessaire pour libérer la Vitamine D 25(OH) du VDBP.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs pour réaliser le test lorsqu'ils sont appliqués aux appareils Chorus/Chorus TRIO.

Le résultat est exprimé en ng/ml.

4. PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine qui ont été contrôlés et trouvés négatifs à la suite de l'exécution de tests approuvés par la FDA, tant pour la recherche de HBsAg que pour la recherche des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériau d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

Mise au rebut des résidus : les échantillons de sérum, les calibrateurs et les barrettes utilisés doivent être traités comme des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

7. Ne pas pipeter avec la bouche.
8. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
9. Se laver soigneusement les mains après avoir inséré les dispositifs dans l'appareil Chorus/Chorus TRIO.
10. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le coffret, se référer aux Fiches de Données de Sécurité (disponibles sur demande).
11. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1% minimum. Une exposition à l'hypochlorite de sodium à une concentration de 1% pendant 30 minutes devrait suffire pour garantir une décontamination efficace.

12. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant et décontaminer la zone contaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1%), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+18-30°C) et utiliser dans les 60 minutes.

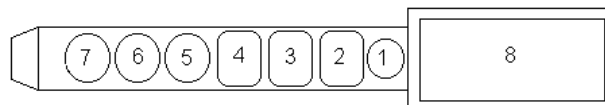
13. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
14. En ajoutant l'échantillon dans le puits, il faut s'assurer qu'il est parfaitement distribué sur le fond.
15. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Il ne faut pas utiliser des dispositifs qui, au contrôle visuel, présentent l'absence d'un réactif et/ou des corps étrangers dans le puits de réaction.
16. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus/Chorus TRIO, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel d'utilisation de l'instrument.
- L'utilisation du kit est possible seulement avec une version mise à jour. S'assurer que le logiciel installé dans le dispositif corresponde ou qu'il ait une version (Rel.) supérieure de celle reportée dans le tableau publié sur le site internet Diesse (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)**
17. S'assurer que l'instrument Chorus/Chorus TRIO est réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation).
18. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
19. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
20. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument (voir le Manuel d'utilisation).
21. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
22. Les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, de sérum pas totalement coagulé ou les échantillons présentant une contamination microbienne peuvent causer des résultats erronés.
23. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
24. **Contrôler si l'instrument a la connexion avec la Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004).**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 emballages contenant 6 dispositifs chacun

Description :



Position 8: Espace disponible pour l'étiquette avec le code à barres

Position 7: PUIITS avec VITAMINE D BIOTINYLÉE

Position 6: PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec anticorps monoclonaux anti-Vitamine D

Position 5: PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Non sensibilisé.

Position 4: SUBSTRAT TMB

Contenu: Tétraméthylbenzidine et H₂O₂ stabilisés dans un tampon.

Position 3: INCUBATION BUFFER

Contenu: Solution protéique contenant un agent conservateur

Position 2 : CONJUGUE

Contenu: Streptavidine marquée avec la peroxydase, dans une solution tamponnée au phosphate contenant du phénol à 0.05% et du Bronidox à 0.02%.

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'utilisateur doit distribuer le sérum non dilué.

Usage : équilibrer un sachet à température ambiante, découper le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les dispositifs non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR

Contenu : Sérum humain dilué contenant Vitamine D et un agent conservateur. Lyophilisé.

Usage : reconstituer avec le volume d'eau desionisée indiqué sur l'étiquette, attendre au moins 5 minutes sans agitation; mélanger par inversion en évitant la formation d'écume.

CONTROL SÉRUM DE CONTRÔLE

Contenu : Sérum humain dilué contenant Vitamine D et un agent conservateur. Lyophilisé.

Usage : reconstituer avec le volume d'eau desionisée indiqué sur l'étiquette, attendre au moins 5 minutes sans agitation; mélanger par inversion en évitant la formation d'écume.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrument Chorus/Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants à jeter
- Solution à 5% d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à 2/8°C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler l'exactitude du résultat en recourant au sérum de contrôle (voir paragraphe 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation :

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8°C
CALIBRATEUR	8 semaines à -20°C
SÉRUM DE CONTRÔLE	8 semaines à -20°C

7. TYPE D'ÉCHANTILLON ET CONSERVATION

L'échantillon est représenté par le sérum obtenu par du sang prélevé par prise de sang normale et manipulé conformément aux procédures standard de laboratoire.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours entre 2 et 8°C ; congeler pendant des périodes courtes à -20°C. Éviter la congélation des échantillons pendant des périodes prolongées. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons. Après décongélation, agiter avec soin avant le dosage.

La non-activation à la chaleur peut provoquer des résultats erronés.

La qualité de l'échantillon peut être sérieusement influencée par la contamination microbienne qui peut porter à des résultats erronés.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires pour réaliser les examens et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
3. Dispenser 90 µl de sérum non dilué dans le puits n° 1 de chaque dispositif à analyser; il faut utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus/Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le sérum de contrôle pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, en suivant les indications contenues dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument signale que le sérum de contrôle présente une valeur non comprise dans la plage d'acceptabilité, il faut refaire le calibrage. Les résultats précédents seront corrigés automatiquement.

Si le résultat du sérum de contrôle n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

Tél. : 0039 0577 319554
Fax : 0039 0577 366605
e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'appareil Chorus/Chorus TRIO fournit le résultat en ng/ml calculées sur la base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'appareil.

Attention : ignorer le compte-rendu qualitatif N ; D/E ; P de l'instrument.

11. LIMITES DU TEST

Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente ne négligeant pas d'autres indicateurs relatifs au même patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit être évalué avec des données provenant de l'anamnèse du patient et/ou d'autres enquêtes diagnostiques.

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'étalonnage 4.0-115.0 ng/ml.

13. INTERVALLES DE CONTRÔLE

Le tableau ci-dessous présente les valeurs attendues concernant les niveaux de Vitamine D 25(OH), reportées dans la littérature.

Etat	Plage (ng/ml)
Carence	< 20
Insuffisance	20 – 30
Normal	30 – 100
Toxique	> 100

Les valeurs observées dans la population, déterminées après l'examen de 399 sérums, étaient comprises entre 4.0 et 46.9 ng/ml, avec une médiane de 14.2 ng/ml.

14. SPÉCIFICITÉ DE L'ANALYSE

3 échantillons ont été testés, auxquels les perturbateurs suivants ont été ajoutés :

Facteur rhumatoïde (44 IU/ml - 220 IU/ml)
Bilirubine (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglycérides (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Hémoglobine (5 mg/ml - 30 mg/ml)

La présence dans le sérum examiné des perturbateurs susmentionnés (sauf hémoglobine) n'altère pas le résultat du test.

15. RÉACTIONS CROISÉES

7 échantillons ont été testés en ajoutant de la Vitamine D2 et Vitamine D3.

Aucune réaction croisée n'a été relevée concernant les valeurs de Vitamine D2 jusqu'à 1000 ng/ml et de Vitamine D3 jusqu'à 125 ng/ml.

16. ÉTUDES DE COMPARAISON

Au cours d'un essai, 217 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit en vente dans le commerce.

Résultats de l'expérience :

Corrélation	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

Le taux de corrélation entre les deux méthodes est très élevé.

17. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	INTRA-SÉANCE		INTER-SÉANCES	
	Moyenne (ng/ml)	CV %	Moyenne (ng/ml)	CV %
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6
8	38.3	1.4	41.7	10.5
9	78.1	3.1	77.9	5.3

Échantillon	INTER-LOTS		INTER-INSTRUMENTS	
	Moyenne (ng/ml)	CV %	Moyenne (ng/ml)	CV %
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. BIBLIOGRAPHIE

1. Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
2. Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bacł D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; Endocr. Rev. (2012); 33 (3): 456-492
3. Adami S., Romagnoli E., Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; Reumatismo (2011); 63 (3): 129-147
4. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences Am J Clin Nutr (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
5. Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SIDeMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italie





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS 25OH Vitamin D Total

Para a determinação quantitativa da Vitamina D 25(OH)

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação quantitativa da Vitamina D 25(OH) no soro humano com um dispositivo descartável aplicado nos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A Vitamina D é uma vitamina lipossolúvel que atua no metabolismo do cálcio e do fósforo. Apresenta-se em duas formas: o colecalciferol (Vitamina D3) e o ergocalciferol (Vitamina D2). D2 e D3 encontram-se na circulação sanguínea conjugadas com proteínas transportadoras, principalmente VDBP (Vitamin D-Binding Protein). Ambas as formas são biologicamente inertes e sofrem duas importantes hidroxilações no organismo: a primeira no fígado, com formação de calcidiol (Vitamina D 25(OH)); a segunda nos rins, onde se forma o calcitriol (1,25(OH)₂ Vitamina D), metabólito biologicamente ativo.

A Vitamina D 25(OH) é geralmente considerada a forma de acumulação principal e a dosagem da sua concentração no soro é um indicador de confiança do estado total da Vitamina D (mais de 95% da Vitamina D no soro é representada por 25(OH)).

A Vitamina D é essencial para a boa saúde dos ossos.

Da carência de Vitamina D resulta uma mineralização deficiente da estrutura óssea que pode levar ao raquitismo infantil, à osteoporose e à osteomalácia nos adultos.

O excesso de Vitamina D, "Hipervitaminose D", tem efeitos patológicos no organismo.

A Vitamina D também tem ações extra-esqueléticas, incluindo os efeitos imunomoduladores e antiproliferativos, tem um papel potencial nas doenças inflamatórias crônicas e neoplásicas, na diabetes, nas doenças cardiovasculares e autoimunes e no âmbito dermatológico, onde o déficit de Vitamina D está associado a psoríase, vitiligo, dermatite atópica, melanoma e tumores epiteliais da pele.

Vários estudos revelaram que nos países mediterrâneos, como a Itália, apesar da latitude, a população está entre as populações europeias com níveis mais baixos de Vitamina D no soro.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus 25OH Vitamin D Total está pronto para ser utilizado na determinação da Vitamina D 25(OH), nos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O teste baseia-se no princípio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) por competição.

O anticorpo monoclonal é ligado à fase sólida e a vitamina D 25(OH) presente na amostra humana compete com a Vitamina D biotinizada. Quanto maior for a concentração de vitamina D 25(OH) na amostra examinada, menor é a quantidade de Vitamina D Biotinizada que se liga.

Após as lavagens para eliminar as componentes que não reagiram, efetua-se a incubação com o conjugado constituído por Streptavidina conjugada com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado não ligado e adiciona-se o substrato para a peroxidase.

A cor que se forma é inversamente proporcional à concentração de Vitamina D 25(OH) presente no soro analisado.

A reação de competição é realizada utilizando um tampão de extração (Incubation buffer), necessário para libertar Vitamina D 25(OH) do VDBP.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para executar o teste, quando aplicados aos instrumentos Chorus/Chorus TRIO.

O resultado é expresso ng/ml.

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana com os quais foram testados, de acordo com os testes aprovados pela FDA e os resultados foram negativos para a presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. Visto que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer uma garantia completa em relação à ausência de agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infectados. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação de resíduos: as amostras de soro, os calibradores e as tiras usadas devem ser tratadas como resíduos infectados e, portanto, devem ser eliminados de acordo com as disposições de lei em vigor.

Advertências para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma proteção para os olhos quando manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos ao inserir os dispositivos no instrumento Chorus/Chorus TRIO.
4. Em mérito às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (Disponível a pedido).
5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afetada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um

ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infectado. Não esterilizar na autoclave materiais que contenham hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem em temperatura ambiente (18-30°C) e utilizar no prazo de 60 minutos.

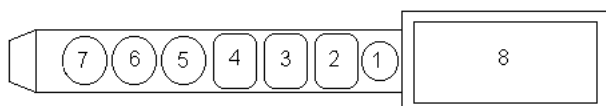
1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço, verificar se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do mesmo. Não usar dispositivos que, ao efetuar a verificação visual, demonstrem a falta de alguns reagentes e/ou apresentam corpos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus/Chorus TRIO, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual de Utilização do instrumento.
O kit pode ser utilizado somente com uma versão atualizada de software. Certificar-se de que a versão (Rel.) do software instalado no instrumento coincida ou é superior à referida na tabela publicada no site da Diesse
(<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)
5. Verificar se o instrumento Chorus/Chorus TRIO foi programado corretamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, para permitir uma correta leitura por parte do instrumento.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento (ver o Manual de Utilização).
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Amostras fortemente hemolisadas, lipêmicas, ictericas, de soro não coagulado completamente ou amostras com contaminação bacteriana podem gerar resultados errados.
11. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
12. **Verificar se o instrumento possui a conexão ao Washing Buffer Autoimmunity (REF 86004).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para o rótulo com o código de barras

Posição 7: POÇO com VITAMINA D BIOTINILADA

Posição 6: POÇO DA MICROPLACA

Sensibilizado com anticorpos monoclonais anti-Vitamina D

Posição 5: POÇO DA MICROPLACA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina e H₂O₂ estabilizados em tampão.

Posição 3: INCUBATION BUFFER

Conteúdo: solução proteica com conservante

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: Streptavidina marcada com peroxidase, em solução tampão de fosfato, contendo fenol 0.05% e Bronidox 0.02%

Posição 1: POÇO VAZIO

Onde o utilizador deve deitar o soro não diluído.

Uso: estabilizar um pacote em temperatura ambiente, abrir o pacote, retirar os dispositivos necessários; colocar os restantes no pacote com o gel de sílica, esvaziar o ar e fechar o pacote premindo o fecho. Conservar entre 2 e 8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

Conteúdo: Soro humano diluído que contém Vitamina D e conservante. Liofilizado.

Uso: reconstituir com água deionizada, usando o volume escrito no rótulo. Esperar no mínimo 5 minutos sem agitar; depois mesclar cuidadosamente por inversão, evitando a formação de espuma.

CONTROL SORO DE CONTROLO

Conteúdo: Soro humano diluído que contém Vitamina D e conservante. Liofilizado.

Uso: reconstituir com água deionizada, usando o volume escrito no rótulo. Esperar no mínimo 5 minutos sem agitar; depois mesclar cuidadosamente por inversão, evitando a formação de espuma.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumento Chorus/Chorus TRIO
- Água destilada ou deionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.
- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µL
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infectados

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8°C. Em caso de temperatura de conservação errada, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado por meio do soro de controlo (consultar o capítulo 9 - Validação do teste).

A data de validade está impressa em cada componente e no rótulo externo da embalagem.

Os reagentes têm uma estabilidade limitada depois da abertura e/ou da preparação:

DISPOSITIVOS	8 semanas entre 2 e 8°C
CALIBRADOR	8 semanas entre -20°C
SORO DE CONTROLO	8 semanas entre -20°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado por soro obtido de sangue recolhido das veias e manuseado de acordo com os procedimentos standard de laboratório.

Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8°C; congelar por períodos curtos, a -20°C. Evitar congelar as amostras durante longos períodos.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Depois de descongelar, misturar cuidadosamente antes da dosagem.

A inativação ao calor pode levar a resultados errados.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação bacteriana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo 90 µl de soro não diluído a testar; em cada mudança de lote utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus/Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo para verificar a exatidão do resultado obtido, testando-o de acordo com as indicações do Manual de Utilização do instrumento. Se o equipamento assinalar que o soro de controlo está fora do limite de aceitação, é necessário efetuar novamente a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do soro de controlo continuar fora do intervalo de aceitação, contatar il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece o resultado em ng/ml, calculado em função de um gráfico dependente do lote e memorizado no instrumento.

Atenção: Ignorar a determinação qualitativa N; D/E; P do equipamento.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação atenta independentemente dos outros indicadores relativos ao

mesmo paciente. O teste, de fato, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo e o resultado do teste deve ser sempre avaliado juntamente com os dados provenientes da anamnese do paciente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 4.0-115.0 ng/ml.

13. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

O quadro abaixo apresenta os valores dos níveis de Vitamina D 25(OH) esperados, indicados na literatura.

Estado	Intervalo (ng/ml)
Carente	< 20
Insuficiente	20 – 30
Normal	30 – 100
Tóxico	> 100

Os valores observados na população, determinados examinando 399 soros, estavam compreendidos entre 4.0 e 46.9 ng/ml, com mediana de 14.2 ng/ml.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 3 amostras às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Fator Reumatoide (44 IU/ml - 220 IU/ml)
Bilirrubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglicéridos (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

A presença, no soro em análise, das substâncias interferentes acima referidas (com a exceção de hemoglobina) não altera o resultado do teste.

15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 7 amostras, adicionando Vitamina D2 e Vitamina D3.

Não é observada reatividade cruzada para valores de Vitamina D2 até 1000 ng/ml e Vitamina D3 até 125 ng/ml.

16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação, foram analisadas 217 amostras com o kit Diesse e com outro kit do mercado.

Resultados da experimentação:

Correlação	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

O grau de correlação entre os dois métodos revela-se muito alto.

17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	No Ensaio		Entre Ensaio	
	Média (ng/ml)	CV%	Média (ng/ml)	CV%
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6
8	38.3	1.4	41.7	10.5
9	78.1	3.1	77.9	5.3

Amostra	Entre Lotes		Entre Equipamentos	
	Média (ng/ml)	CV%	Média (ng/ml)	CV%
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. BIBLIOGRAFIA

1. Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
2. Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bacl D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; Endocr. Rev. (2012); 33 (3): 456-492
3. Adami S., Romagnoli E, Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; Reumatismo (2011); 63 (3): 129-147
4. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences Am J Clin Nutr (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
5. Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SIDeMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Strada dei Laghi 39
 53035 Monteriggioni (SIENA)
 Italy





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS 25OH Vitamin D Total

Pentru determinarea cantitativa a Vitaminei D 25(OH)

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea cantitativa a Vitaminei D 25(OH) in seruri umane, folosind un dispozitiv de unica folosinta pe instrumentele Chorus si Chorus TRIO.

2. INTRODUCERE

Vitamina D este o vitamina solubila in grasime care intervine in metabolismul calciu-fosfor. Exista in doua forme: colecalciferol (Vitamina D3), si ergocalciferol (Vitamina D2). D2 si D3 se gasesc in fluxul sanguin conjugat cu proteine purtatoare, mai ales VDBP (Vitamin D-Binding Protein). Ambele forme sunt inerte biologic si sufera, in organism, doua hydroxylations importante: prima in ficat, cu formare de calcidio Vitamina D 25(OH)); a doua in rinichi, unde se formeaza calcitriolul ($1.25(\text{OH})_2$ Vitamina D) metabolitul biologic activ. Vitamina D 25(OH) este in general considerata principala forma de acumulare si dozarea concentratiei sale serologice este considerata un indicator fiabil al starii totale de Vitamina D (mai mult de 95% de Vitamina D in ser este reprezentat de 25(OH)).

Vitamina D este esentiala pentru buna sanatate a oaselor.

Unei deficiente de Vitamina D urmeaza o mineralizare defectuasa a oaselor, care poate duce la rahitism la copii, osteoporoza si osteomalacie la adulti.

Un exces de Vitamina D, "Hipervitaminoza D", implica efecte patologice asupra organismului.

Vitamina D are, de asemenea, functii extra scheletice, inclusiv imunomodulatoare si antiproliferative, are un posibil rol in bolile inflamatorii si neoplastice cronice, in diabet, in bolile cardiovasculare si autoimune si in dermatologie, unde un deficit de Vitamina D este asociat cu psoriazis, dermatita atopica, melanom si tumori cutanate epiteliale.

Multiple studii au aratat ca, in tarile mediteraneene, cum ar fi Italia, in ciuda latitudinii, populatia se numara printre cele cu cel mai scazut nivel seric de Vitamina D din Europa.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul Chorus 25OH Vitamin D Total este gata de utilizare pentru detectia Vitaminei D 25(OH), pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) pentru competitie.

Anticorpus monoclonal este legat la faza solida si la Vitamina D 25(OH) prezent pe esantion uman concureaza cu Vitamina D

biotilinata. Mai mare este concentratia de Vitamina D a probei de testat, mai mica este cantitatea de Vitamina D biotilinata. Dupa spalariile efectuate pentru a elimina componentele care nu au participat la reactie, se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din Streptavidina conjugate cu peroxidaza din hrean.

Conjugatul care nu a participat la reactie este eliminat si este adaugat substratul de peroxidaza.

Culoarea care se dezvoltă este invers proportionala cu concentratia de Vitamina D 25(OH) prezenta in proba de ser.

Reactia de concurs se realizeaza cu ajutorul unui tampon de extractie (Incubation buffer), necesar pentru eliberarea Vitaminei D 25(OH) din VDBP.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus/Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate in ng/ml.

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

Acest kit contine materiale de origine umana, care au fost testate si au indicat un rezultat negativ pentru prezenta HBsAg si pentru anticorpii anti-HIV-1, anti-HIV-2 si anti-HCV, prin testarea cu ajutorul metodelor aprobate de catre FDA. Deoarece nici un test de diagnosticare nu poate oferi garantii complete cu privire la absenta agentilor infectiosi, toate materialele de origine umana trebuie manevrate ca fiind potential infectioase. In cazul manevrarii materialelor de origine umana, trebuie urmate toate masurile de precautie adoptate in mod normal in practica de laborator.

Indepartarea deseurilor: probele de ser, calibratorii si stripurile utilizate trebuie tratate ca fiind reziduuri infectioase si eliminate conform legii.

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

7. Nu pipetati cu gura.
8. In timpul manevrarii specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
9. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul Chorus/ Chorus TRIO.
10. Consultati materialul corespunzator - Fisa Tehnica de Securitate (disponibila la cerere) pentru toate informatiile legate de securitatea reactivilor continuti de kit.
11. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1%. Un timp de expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.
12. Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri

potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

Inainte de utilizare, lasati dispozitivele sa ajunga la temperatura camerei (18-30°C); utilizati-le in decurs de 60 de minute.

13. Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.

14. La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.

1. Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat. Nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv si/sau care, la inspectia vizuala, prezinta corpuri straine in godeul de reactie.
2. Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus/Chorus TRIO; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.

Utilizarea kit-ului este posibilă numai cu versiunea actualizată a programului software. Asigurați-vă ca programul software instalat pe instrument să coincidă sau să aibă o versiune Release (Rel.) superioară celei indicate în tabelul publicat pe site-ul DIESSE (<http://www.diesse.it/en/Support/Download/strumento:39/>)

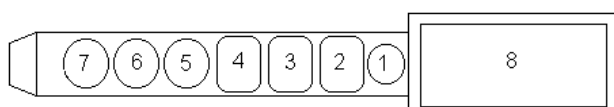
3. Verificati ca instrumentul Chorus/Chorus TRIO sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare).
4. Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
5. Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
6. Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument (vezi Manualul de Operare).
7. In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
8. Folosirea probelor accentuat hemolizate, lipemice, icterice, din seruri necoagulate complet sau din probe care prezinta contaminare microbiana, pot constitui toate surse de eroare.
9. Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
10. **Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Tampon de Spalare Autoimunitate (Ref. 86004).**

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari.

DD DISPOZITIVE 6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: GODEUL cu VITAMINA D BIOTINILATA

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII
Captusit cu anticorpi monoclonali anti-Vitamina D

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

Continut: Tetramethylbenzidine si H₂O₂ stabilizat in tampon

Pozitia 3: INCUBATION BUFFER

Continut: solutie proteica si conservant

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: Streptavidina tapetate cu peroxidaza din hrean, in solutie tampon fosfat continand 0.05% fenol and 0.02% Bronidox.

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca serul nediluat

Utilizare: lasati un pachet sa ajunga la temperatura

camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculetul cu silica gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

Continut: ser uman diluat care contine Vitamina D si conservant. Liofilizat.

Utilizare: Reconstituiti cu volumul de apa deionizata indicat pe eticheta, asteptati cel putin 5 minute fara agitare; amestecati prin inversare evitand formarea de spuma.

CONTROL SERUL DE CONTROL

Continut: ser uman diluat care contine Vitamina D si conservant. Liofilizat.

Utilizare: Reconstituiti cu volumul de apa deionizata indicat pe eticheta, asteptati cel putin 5 minute fara agitare; amestecati prin inversare evitand formarea de spuma

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER AUTOIMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- Instrumentul Chorus/Chorus TRIO
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlariie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200 µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

DISPOZITIVELE	8 saptamani la 2/8°C
CALIBRATORUL	8 saptamani la -20°C
SERUL DE CONTROL	8 saptamani la -20°C

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

Proba este compusa din ser recoltat normal din vena si manevrata cu toate precautiile impuse de buna practica in laborator.

Posibile consecinte aparute in urma folosirii altor lichide biologice, nu sunt cunoscute.

Serul proaspat poate fi depozitat timp de 4 zile la 2/8°C; se congeleaza pentru perioade scurte la -20°C. A se evita congelarea probelor pentru perioade lungi de timp.

Nu tineti probele in frigider care se dezgheata automat. Probele decongelate trebuie vortexate cu atentie inainte de utilizare.

Neutralizarea la caldura poate duce la rezultate eronate.

Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminarea microbiana, care poate duce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.
2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul 4, Masuri de Precautie Analitice.
3. Distribuiti 90 µl din serul de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrument Chorus/Chorus TRIO. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare al instrumentului. In cazul in care instrumentul semnaleaza faptul ca serul de control are o valoare care se situeaza in afara intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate in mod automat.

Daca rezultatul serului de control continua sa se situeze in afara intervalului acceptabil, apelati Suportul Stiintific.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprima rezultatele in ng/ml, calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memoria instrumentului.

Atentie: Ignorati raportarea calitativa N; D/E; P al instrumentului.

11. LIMITARI

Toate valorile obtinute necesita o interpretare atenta care trebuie sa ia in considerare alti indicatori referitori la pacient.

Testul, intr-adevar, nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele testului ar trebui interpretate in raport cu informatia disponibila din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

12. ARIA DE CALIBRARE

Aria de calibrare: 4.0-115.0 ng/ml.

13. ARIA DE REFERINTA

Tabelul de mai jos reprezinta valorile asteptate pentru nivelurile de Vitamina D 25 (OH)₂, raportate in literatura de specialitate.

Stato	Range (ng/ml)
Carente	< 20
Insuficiente	20 – 30
Normal	30 – 100
Toxic	> 100

Valorile observate la populatie, determinata prin examinarea a 399 seruri, a variat intre 4.0 si 46.9 ng/ml, cu o median de 14.2 ng/ml.

14. SPECIFICITATEA ANALITICA

Au fost testate 3 probe continand urmatoarele substante interferente:

Factor Reumatoid (44 IU/ml - 220 IU/ml)
Bilirubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
Trigliceride (10 mg/dl - 250 mg/dl)
Hemoglobina (5 mg/ml - 30 mg/ml)

Prezenta in serul testat a substantelor interferente metionate mai sus (exceptand hemoglobina), nu au modificat rezultatele testului.

15. REACTIVITATEA INCRUCISATA

7 probe au fost testate prin adaugarea de Vitamina D2 si Vitamina D3.

Nu se gaseste reactivitate incrucisata a Vitaminei D2 valori de pana la 1000 ng/ml si Vitamina D3 pana la 125 ng/ml.

16. COMPARAREA METODEI

Au fost testate 217 probe cu kitul Diesse si cu un alt kit disponibil pe piata.

Rezultatele studiilor:

Corelatie	r	95%CI
Pearson	0.92	0.89-0.94
Spearman	0.92	0.90-0.94

Corelatia dintre cele doua metode este foarte mare.

17. PRECIZIA SI REPETABILITATEA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media (ng/ml)	CV%	Media (ng/ml)	CV%
1	17.5	5.8	17.3	8.3
2	23.4	7.6	27.2	7.0
3	27.6	8.6	27.9	6.5
4	31.4	3.5	33.4	4.7
5	33.2	3.1	35.4	4.2
6	37.2	4.0	37.5	2.7
7	39.4	3.8	44.9	12.6
8	38.3	1.4	41.7	10.5

9	78.1	3.1	77.9	5.3
---	------	-----	------	-----

Proba	Precizia între loturi		Precizia între instrumente	
	Media (ng/ml)	CV%	Media (ng/ml)	CV%
1	12.9	14.4	12.9	3.9
2	22.5	9.4	22.5	3.6
3	21.9	8.4	21.9	2.3
4	26.4	10.3	26.4	4.6
5	30.9	4.0	30.9	2.3
6	32.6	4.5	32.6	2.2
7	36.1	3.4	36.1	2.5
8	35.8	2.7	35.8	4.8
9	73.4	7.1	73.4	9.3

18. BIBLIOGRAFIE

1. Opinder S. Osteoporosis and the role of Vitamin D and Calcium-Vitamin D deficiency, Vitamin-D insufficiency and Vitamin D sufficiency; Age and Aging (2000); 29:301-304.
2. Rosen C.J., Adams J.S., Bikle D.D., Bacł D.M., Demay M.B., Manson J.E., Murad M.H., Kovacs C.S. The nonskeletal effects of Vitamin D: an endocrine society scientific statement; Endocr. Rev. (2012); 33 (3): 456-492
3. Adami S., Romagnoli E, Carnevale V., Scillitani A., Giusti A., Rossini M., Gatti D., Nuti R., Minisola S. Linee guida su prevenzione e trattamento dell'ipovitaminosi D con colecalciferolo; Reumatismo (2011); 63 (3): 129-147
4. Holick M.F., Chen T.C. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences Am J Clin Nutr (2008); 87(suppl): 1080S – 6S
5. Gisondi P., Romanelli M., Dini V., Prignano F., Vinceti M., Pellacani G., Girolomoni G. Deficit di Vitamin D in dermatologia – Linee guida e raccomandazioni SIDeMaST (2015).



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi 39
53035 Monteriggioni (SIENA)
Italy



EN Date of manufacture
 ES Fecha de fabricación
 IT Data di fabbricazione



EN Use By
 ES Fecha de caducidad
 IT Utilizzare entro



EN Do not reuse
 ES No reutilizar
 IT Non riutilizzare



EN Caution, consult accompanying documents
 ES Atención, ver instrucciones de uso
 IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso



EN Manufacturer
 ES Fabricante
 IT Fabbricante



EN Contains sufficient for <n> tests
 ES Contenido suficiente para <n> ensayos
 IT Contenuto sufficiente per "n" saggi



EN Temperature limitation
 ES Límite de temperatura
 IT Limiti di temperatura



EN Consult Instructions for Use
 ES Consulte las instrucciones de uso
 IT Consultare le istruzioni per l'uso



EN Biological risks
 ES Riesgo biológico
 IT Rischio biologico



EN Catalogue number
 ES Número de catálogo
 IT Numero di catalogo



EN In Vitro Diagnostic Medical Device
 ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro
 IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro



EN Batch code
 ES Código de lote
 IT Codice del lotto