



# ichroma™ Vitamin D

## USO PRETENDIDO

**ichroma Vitamin D** é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para determinação quantitativa do nível de 25(OH)D2/D3 total em soro/plasma humano. Este teste é útil no auxílio ao diagnóstico e monitoramento da regulação da concentração de cálcio e fosfato na corrente sanguínea e promove o crescimento saudável e a remodelação do osso.

Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

## INTRODUÇÃO

A vitamina D da dieta ou da síntese dérmica da luz solar é biologicamente inativa e é um hormônio esteróide solúvel em gordura envolvido na absorção intestinal ativa do cálcio e na regulação de sua homeostase. Em seres humanos, os compostos mais importantes neste grupo são a vitamina D3 (também conhecida como colecalciferol) e a vitamina D2 (ergocalciferol). No fígado, o colecalciferol (vitamina D3) é convertido em calcidiol, 25-hidroxicolecalciferol (abreviado 25(OH)D3). Ergocalciferol (vitamina D2) é convertido no fígado para 25-hydroxyergocalciferol (25 (OH) D2). É amplamente conhecido que a circulação de 25 (OH) D é o melhor indicador do estado de vitamina D. 25(OH)D3 é então convertido nos rins (pela enzima 25(OH)D-1 $\alpha$ -hidroxilase) em 1,25-(OH)2D3, um hormônio esteróide que é a forma ativa da vitamina D. Também pode ser convertido em 24-hidroxicalcidiol nos rins via 24-hidroilação. 1,25-(OH)2D3 circula como um hormônio no sangue, regulando a concentração de cálcio e fosfato na corrente sanguínea e promovendo o crescimento saudável e remodelação óssea. A 1,25-(OH)2D3 também afeta a função neuromuscular e imune. A vitamina D tem um papel significativo na homeostase e metabolismo do cálcio. Sua descoberta ocorreu devido ao esforço para encontrar a substância dietética que falta no raquitismo (a forma infantil de osteomalacia).

Este teste pode ser utilizado para diagnosticar deficiência de vitamina D e é indicado em pacientes com alto risco de deficiência de vitamina D e quando os resultados do teste seriam usados como evidência de apoio para o início de terapias agressivas. Pacientes com osteoporose, doença renal crônica, mau absorção, obesidade e algumas outras infecções podem ser de alto risco e, portanto, ter maior indicação para este teste.

## PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção em sanduíche; os anticorpos detectores presente no tampão ligam-se aos antígenos presentes na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo e migram para a matriz de nitrocelulose, onde são capturados por outros anticorpos imobilizados na tira de teste.

Quanto mais antígenos na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo são formados, gerando uma intensidade mais forte do sinal de fluorescência no anticorpo detector, que é processado pelo instrumento ichroma™ para determinar a concentração de vitamina D na amostra.

## COMPONENTES

O kit **ichroma Vitamin D** consiste em 'Cassetes', 'Tubos do detector', 'Tampão de Liberação', 'Diluyente do detector', 'ID Chip' e 'Instruções de Uso'.

- O cassete contém uma tira teste, a membrana que apresenta estreptavidina na linha teste, com IgY de galinha na linha controle. Todos os cassetes são individualmente selados em um invólucro

de folha de alumínio contendo um dessecante.

- O tubo do detector contém 2 grânulos contendo conjugado biotina-complexo anticorpo para vitamina D, conjugado fluorescente conjugado fluorescente de anticorpo para captura da Vitamina D e conjugado fluorescente anti-IgY de galinha em tampão salina fosfato (PBS) como estabilizante. Todos os tubos do detector estão embalados em folha de alumínio.
- O tampão de liberação contém azida sódica em água deionizada e está previamente dispensado em um frasco. O tampão de liberação está embalado em uma caixa.
- O diluyente do detector contém azida sódica em PBS como conservante e está previamente dispensado em um frasco. O diluyente do detector está embalado em uma caixa.

## ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente em diagnóstico *in vitro*.
- Seguir cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos neste folheto informativo.
- Usar somente amostras frescas e evitar exposição direta à luz do sol.
- Os números dos lotes de todos os componentes do teste (cassete, ID chip, tampão de liberação, diluyente do detector e tubos do detector) devem ser correspondentes.
- Não misturar materiais de diferentes lotes do produto ou usar o produto após a data de validade, em qualquer um dos casos poderá oferecer resultados incorretos.
- Não reutilizar cassetes ou tubos do detector. O cassete e o tubo do detector devem ser usados para o processamento de apenas uma amostra.
- O cassete deve permanecer em seu invólucro original até imediatamente antes do uso. Não usar o cassete caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas somente uma vez. Para transportá-las, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise e hiperlipemia severas não podem ser utilizadas.
- **O CASSETE, TUBOS DO DETECTOR, TAMPÃO DE LIBERAÇÃO, DILUYENTE DO DETECTOR E A AMOSTRA DEVEM ESTAR À TEMPERATURA AMBIENTE POR APROXIMADAMENTE 30 MINUTOS ANTES DE SUA UTILIZAÇÃO.**
- O equipamento ichroma poderá emitir pequenas vibrações durante seu uso.
- Os cassetes, os tubos do detector, o tampão de liberação, o diluyente do detector e as ponterias devem ser manuseados cuidadosamente e descartados de uma forma apropriada conforme as normas locais.
- Como o tampão de liberação é básico e contém solvente orgânico, evite o contato com os olhos, a pele ou a roupa.
- Uma exposição a grandes quantidades de azida sódica pode causar sérios problemas de saúde como convulsões, diminuição da pressão sanguínea e frequência cardíaca, perda de consciência, dano pulmonar e falha respiratória.
- O kit **ichroma Vitamin D** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
  - O kit **ichroma™ Vitamin D** deve ser usado somente em conjunto com os instrumentos para testes ichroma™.
  - - Os seguintes anticoagulantes recomendados devem ser utilizados:

### Anticoagulantes Recomendados

K<sub>2</sub>EDTA, Heparina de sódio e Citrato de sódio

## ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condição de Armazenamento			
Componente	Temperatura	Validade	Nota
Cassete	2-30°C	20 meses	Uso único
Tubo do detector	2-30°C	20 meses	Uso único
Tampão de liberação	2-30°C	20 meses 3 meses	Fechado Após aberto
Diluyente do Detector	2-30°C	20 meses 3 meses	Fechado Após aberto

- Após a abertura da embalagem do cassete, o teste deve ser realizado imediatamente.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado falso-positivo devido à reação cruzada e/ou adesão não-específica de certos componentes da amostra aos anticorpos detectores/captura.
- O teste pode apresentar resultado falso-negativo. A não-responsividade do antígeno aos anticorpos é mais comum onde o epítipo é mascarado por algum componente desconhecido, de modo a não ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com o tempo e/ou temperatura pode levar ao resultado falso-negativo, uma vez que se torna irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e levar a resultados errôneos, tais como erros de procedimento/técnico, degradação dos componentes do teste/reagentes ou presença de substâncias interferentes nas amostras-teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser suportado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

## MATERIAIS FORNECIDOS

### Componentes do kit **ichroma Vitamin D**

- Caixa do Cassete:
  - Cassetes 25
  - Tubos do detector 25
  - Tampão de liberação 1 x 2,5 mL
  - Diluyente do detector 1 x 5 mL
  - ID Chip 1
  - Instrução de uso 1

## MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma Vitamin D**.

Por favor, contate nossos representantes para maiores informações.

- Equipamento para testes **ichroma**:
  - ichroma Reader (MS: 10350849001)**
  - ichroma II (MS: 10350840297)**
  - ichamber: (MS: 10350840301)**
- ichroma Printer (Impressora térmica)**
- Boditech Vitamin D Control**

## COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os tipos de amostras utilizados com o kit **ichroma Vitamin D** são soro / plasma humano.

- É recomendado testar as amostras dentro de 24 horas após a coleta.
- As amostras podem ser armazenadas por até uma semana a 2-8 °C antes de serem testadas. Se o teste for adiado mais de uma semana, as amostras devem ser congeladas a -20 °C.
- As amostras armazenadas congeladas abaixo de -20 °C por 6 meses não apresentaram diferença no desempenho.

- Uma vez que as amostras forem descongeladas, essas devem ser utilizadas somente uma vez. O congelamento e descongelamento sucessivos podem resultar em mudanças nos valores do teste.

## CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma Vitamin D**: Cassetes selados, tubos do detector, tampão de liberação, diluyente do detector e ID Chip.
- Assegure que o número do lote dos cassetes equivale ao do ID Chip, assim como ao dos tubos do detector, tampão de liberação, diluyente do detector.
- Quando selados o cassete, o detector, o tampão de liberação e o diluyente do detector devem ser armazenados na geladeira. Coloque os itens sobre uma superfície limpa, isenta de poeira e plana à **temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste**.
- Ligue o leitor **ichroma**.
- Ligue o **i-Chamber** e ajuste a temperatura a 35 °C.
- Insira o bloco do tubo de inserção no encaixe do **i-Chamber** pelo menos 10 minutos antes do teste.
- (Consulte o "Instrumento para o Manual de Operação do Teste **ichroma**, para obter informações completas e instruções de operação.)

## PROCEDIMENTO DO TESTE

- Coloque o cassete no encaixe do **i-chamber**
- Transfira 50 µL do tampão de liberação usando uma pipeta para um tubo do detector contendo os grânulos. Quando os grânulos estão completamente dissolvidos no tubo, ele torna-se o tampão de detecção (o tampão de detecção deve ser utilizado dentro de 1 minuto).
- Adicione 50 µL amostra (soro/plasma humano/controle) usando uma pipeta para o tubo do detector contendo o tampão de liberação e misture bem por pipetagem (10 vezes)
- Insira o tubo do detector no bloco do tubo de inserção e deixe-o no bloco do tubo de inserção a 35 °C durante 5 min.
- Adicione 100 µL do diluyente do detector, usando uma pipeta com uma nova ponteira, para o tubo do detector contendo o tampão de liberação e a mistura da amostra.
- Misture bem por pipetagem 10 vezes e o deixe no bloco do tubo de inserção novamente a 35°C por 15 minutos.
- Retire a metade dos cassetes do **i-chamber**, pipete 75 µL da mistura incubada e coloque-a na cavidade da amostra no cassete. Em seguida, empurre o cartucho de teste totalmente para o compartimento **i-Chamber**.
- Deixe o cassete de teste carregado com a amostra no **i-Chamber** por 8 minutos.  
 *Digitalize o cassete carregado com a amostra imediatamente após o tempo de incubação terminar. Caso contrário, isso causará resultados de teste inexatos.*
- Para escanear o cassete carregado com a amostra, insira-o no suporte de cassetes do instrumento **ichroma**. Certifique-se da orientação correta do cassete antes de empurrá-lo totalmente para o interior do suporte de cassetes do leitor, respeitando a direção da seta marcada no cassete.
- Para iniciar o escaneamento pressionar o botão **Select**.
- O leitor irá iniciar imediatamente o escaneamento do cassete.
- Ler o resultado do teste na tela do leitor.

## INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

O leitor **ichroma** calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de 25(OH)D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> total da amostra de teste em ng/mL.

- O cut off (valor de referência):

25(OH)D		status
<10 ng/mL	<25 nmol/L	Deficiência
10-30 ng/mL	25-75 nmol/L	Insuficiência
30-100 ng/mL	75-250 nmol/L	Eficiente

- Faixa de medição: 8,0 – 70ng/mL
- Fator de conversão: 1 ng/mL = 2,5 x nmol/L

## CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade (CQ) são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- Os testes de CQ deverão ser realizados imediatamente antes de usar um novo lote do teste para garantir que o desempenho do teste não seja alterada ou quando houver dúvidas referentes à validade dos resultados dos testes.
- O kit **Boditech Vitamin D Control** não é fornecido com o kit **ichroma Vitamin D**.  
Para mais informações sobre a obtenção do kit **Boditech Vitamin D Control**, entre em contato com a **BioSys Ltda.**  
(Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle.)

vezes cada concentração do material padrão.

- Entre leitores

Uma pessoa testou **ichroma Vitamin D** com três leitores diferentes, dez vezes cada concentração do material padrão.

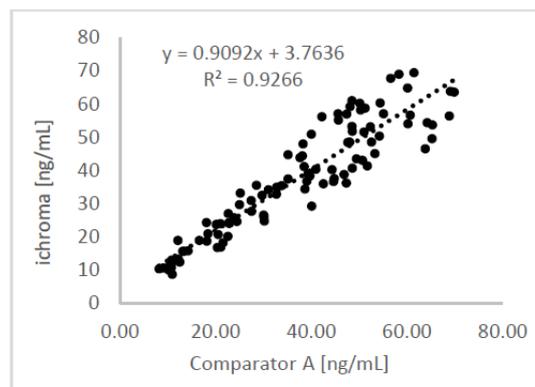
Conc. [ng/mL]	Entre pessoas		Entre locais		Entre leitores	
	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)
10	10,20	10,2	10,14	11,0	10,23	11,4
30	29,26	12,3	29,94	12,6	30,01	11,9
50	49,0	12,1	48,8	12,7	49,98	11,7

#### ■ Acurácia

A acurácia foi confirmada por 3 lotes diferentes, testando dez vezes cada uma das diferentes concentrações.

conc. [ng/ml]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	AVG	Recovery (%)
8,10	8,29	8,13	8,49	8,30	103%
10,91	10,60	10,20	10,75	10,51	96%
15,83	16,24	16,06	15,94	16,08	102%
21,25	20,51	20,83	20,06	20,47	96%
37,50	38,20	37,39	38,74	38,11	102%
53,75	54,86	55,25	51,00	53,70	100%
70,00	66,72	67,74	67,12	67,19	96%

- Comparabilidade:** As concentrações de 100 amostras de soro de 25(OH)D foram quantificadas de forma independente com **ichroma Vitamin D** e um comparador A, de acordo com os procedimentos de teste descritos. Os resultados dos testes foram comparados e sua comparabilidade foi investigada com regressão linear e coeficiente de correlação (R). A regressão linear e o coeficiente de correlação entre os dois testes foram  $Y = 0,9092X - 3,7636$  e  $R = 0,9266$ , respectivamente.



#### GARANTIA

Esta instrução de uso deve ser lida atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do teste não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

#### DESCARTE

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

#### REFERENCIAS

- Holick MF (March 2006). "High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health". Mayo Clin. Proc. **81** (3): 353–73.
- Hollis BW (January 1996). "Assessment of vitamin D nutritional and hormonal status: what to measure and how to do it". Calcif. Tissue Int. **58** (1): 4–5.
- Holick MF, Schnoes HK, DeLuca HF, Suda T, Cousins RJ (1971). "Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol. A

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

#### ■ Sensibilidade Analítica

Limite do Branco (LoB)	2,39 ng/mL
Limite de Detecção (LoD)	4,89 ng/mL
Limite de Quantificação (LoQ)	8 ng/mL

#### ■ Especificidade Analítica

##### - Reatividade cruzada

Biomoléculas foram adicionadas à amostra teste em concentrações superiores aos níveis fisiologicamente normais do sangue. Os resultados dos testes com **ichroma™ Vitamin D** não apresentaram reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas, listadas na tabela a seguir:

Nº	Biomolécula	Concentração
1	Vitamina D2	300 ng/mL
2	Vitamina D3	300 ng/mL

##### - Interferência

Materiais interferentes foram adicionados às amostras nas concentrações especificadas na tabela abaixo. Os resultados com o kit **ichroma™ Vitamin D** não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Nº	Material interferente	Concentração
1	D-glicose	600mM/L
2	Ácido L-ascórbico	2mM/L
3	Bilirrubina (não conjugada)	4mM/L
4	Hemoglobina humana	20g/L
5	Colesterol	130 mM/L
6	Triglicérides	100 mg/dL

#### ■ Precisão:

3 lotes do **ichroma Vitamin D** foram testados por 21 dias (7 dias por lote, em um local por um operador). Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material foi testado em duplicata.

- Repetibilidade (precisão na mesma corrida)

A repetibilidade do **ichroma Vitamin D** foi avaliada com o resultado de 1 lote.

- Precisão total (precisão no mesmo laboratório)

A precisão total (mesma corrida, entre corridas, entre dias) do **ichroma Vitamin D** foi avaliada com resultados de 1 lote.

- Precisão lote a lote

A precisão lote a lote do **ichroma Vitamin D** foi avaliada com o resultado de 3 lotes.

Conc. [ng/mL]	Repetibilidade		Precisão Total		Precisão lote a lote	
	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)
10	9,75	11,5	9,83	11,4	9,88	11,4
30	30,29	12,1	30,17	11,9	29,99	11,7
50	49,76	11,2	50,09	11,8	49,88	12,2

- Entre pessoas

Três pessoas testaram **ichroma Vitamin D**, dez vezes cada concentração do material padrão.

- Entre locais

Uma pessoa testou **ichroma Vitamin D** em três locais diferentes, dez

**Instruções de Uso**

Somente para uso diagnóstico in vitro

- metabolite of vitamin D active in intestine". *Biochemistry* **10** (14): 2799–804.
4. Bender, David A.; Mayes, Peter A (2006). "Micronutrients: Vitamins & Minerals". In Victor W. Rodwell; Murray, Robert F.; Harper, Harold W.; Granner, Darryl K.; Mayes, Peter A. *Harper's Illustrated Biochemistry*. New York: Lange/McGraw-Hill. pp. 492–3.
  5. Institute of Medicine (1997). "Vitamin D". *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington, D.C: National Academy Press. p. 254.
  6. "Dietary Supplement Fact Sheet: Vitamin D". Office of Dietary Supplements (ODS). National Institutes of Health (NIH). Retrieved April 11, 2010.
  7. Wolf G (June 2004). "The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus". *J Nutr* **134** (6): 1299–302.
  8. Sattar, N.; Welsh, P.; Panarelli, M.; Forouhi, N. G. (2012). "Increasing requests for vitamin D measurement: Costly, confusing, and without credibility". *The Lancet* **379** (9811): 95–96.
  9. Bilinski, K. L.; Boyages, S. C. (2012). "The rising cost of vitamin D testing in Australia: Time to establish guidelines for testing". *The Medical Journal of Australia* **197** (2): 90.
  10. Lu, Chuanyi M. (May 2012). "Pathology consultation on vitamin D testing: Clinical indications for 25(OH) vitamin D measurement [Letter to the editor]". *American Journal Clinical Pathology (American Society for Clinical Pathology)* (137): 831–832.,

**Fabricado por: Boditech Med Incorporated**  
**Importado e Distribuído por: BioSys Ltda**  
**Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ**  
**Cep: 24020-112**  
**CNPJ: 02.220.795/0001-79**  
**MS – nº 10350840310**  
**SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414**  
**sac@biosys.com.br**  
**www.biosys.com.br**

**Observação:** Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos símbolos:

	Suficiente para <n> testes
	Consulte as instruções de uso
	Validade
	Lote
	Catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Representante autorizado da Comunidade Europeia
	Diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limites de temperatura
	Não reutilizar
	Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i>

 **Boditech Med Incorporated**  

43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon,

Chuncheon-si, Gang-won-do

Republic of Korea

Tel: +(82) -33-243-1400

Fax: +(82) -33-243-9373

[www.boditech.co.kr](http://www.boditech.co.kr)