

Hormone

AFIAS

Vitamin D Neo

USO PRETENDIDO

AFIAS Vitamin D Neo é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para determinação quantitativa do nível de 25(OH)D₂/D₃ total em sangue total/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 esteroide 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).¹ 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.^{2,3} 25(OH)D₃ é então convertido nos rins (pela enzima 25(OH)D-1 α -hidroxilase) em 1,25-(OH)₂D₃, um hormônio esteroide que é a forma ativa da vitamina D. Também pode ser convertido em 24-hidroxicalcidiol nos rins via 24-hidroxição.^{4,5} 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.⁶ 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 osteomalácia).⁷

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.⁸ Pacientes com osteoporose, doença renal crônica, má absorção, obesidade e algumas outras infecções podem ser de alto risco e, portanto, ter maior indicação para este teste.^{9,10}

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção em sanduíche.

Os conjugados anticorpo-fluorescência do detector em tampão ligam-se aos antígenos na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo. Os conjugados de captura anticorpo-biotina também no tampão se ligam ao complexo

antígeno-anticorpo anterior e novos complexos formados migram para a matriz de nitrocelulose para serem capturados pela outra estreptavidina imobilizada 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 AFIAS para determinar a concentração de vitamina D na amostra.

COMPONENTES

AFIAS Vitamin D Neo consiste em 'cassetes'.

- Cada embalagem de alumínio selada contém dois cartuchos.
- Cada cartucho contém três componentes, um correspondente ao cassete, o outro ao detector e o outro correspondente ao tampão de extração.
- A parte do cassete contém uma tira de teste, a membrana que possui estreptavidina na linha teste e IgY de galinha na linha controle.
- A parte do detector contém 2 grânulos contendo conjugado anticorpo-fluorescente, conjugado anticorpo-biotina, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha, albumina de soro bovina (BSA) como estabilizante e azida sódica com conservante em tampão salina fosfato (PBS).
- A parte do tampão de extração contém cloreto de sódio, acetato de sódio, e azida sódica como conservante em tampão salina fosfato (PBS).

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente em diagnóstico in vitro.
- Seguir cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos nas 'Instruções de uso'.
- Usar somente amostras frescas e evitar exposição direta à luz do sol.
- Os números de lotes de todos os componentes do teste (cassetes e ID Chip) 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, resultados incorretos poderão ocorrer.
- Não reutilize cartuchos. Um cartucho deve ser usado para testar apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer selado em sua embalagem original até seu uso imediato. Não usar um cartucho se a embalagem estiver danificada ou já tiver sido aberta.
- A amostra congelada deve ser descongelada apenas uma vez. Para transporte, as amostras devem ser embaladas de acordo com os regulamentos locais. Amostras com hemólise severa e/ou hiperlipidemia não devem ser utilizadas.
- Se os componentes do teste e/ou a amostra forem armazenados na geladeira, deve-se deixar o cartucho e a amostra em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso.
- O equipamento AFIAS pode gerar leve vibração durante o uso.
- Os cartuchos e ponteiras utilizadas devem ser manuseadas cuidadosamente e descartadas de forma apropriado, de acordo com as regulamentações locais pertinentes.
- O cartucho contém azida sódica (NaN₃) e pode causar certos problemas de saúde, como convulsões, pressão arterial e frequência cardíaca baixa, perda de consciência, lesão pulmonar e insuficiência respiratória. Evite contato com pele, olhos e roupas. Em caso de contato, enxágue imediatamente

com água corrente.

- Não foi observada interferência de Biotina no teste **AFIAS Vitamin D Neo** quando a concentração de biotina na amostra foi inferior a 50 ng/mL. Caso um paciente tenha tomado biotina em dose superior a 0,03 mg por dia, recomenda-se testar novamente 24 horas após a interrupção da ingestão de biotina.
- **AFIAS Vitamin D Neo** fornecerá resultados precisos e confiáveis se sujeitos às condições abaixo.
- **AFIAS Vitamin D Neo** deve ser utilizado somente em conjunto com os instrumentos AFIAS.
- Tem que ser usado com anticoagulantes recomendados:

Anticoagulantes recomendados
Heparina de Sódio, Citrato de Sódio, K ₂ EDTA

- **O modo C-tip deve ser usado quando as seguintes condições forem atendidas:**
- O uso do C-tip fornecido junto ao kit é recomendado para a obtenção de resultados corretos.
- O sangue total deve ser imediatamente testado após a coleta.
- Não realizar um teste com o C-tip no 'Modo Geral'. Pode causar um resultado errado.
- O excesso de sangue ao redor do C-tip deve ser limpo.
- Para evitar contaminação cruzada, não reutilize de a ponteira C-tip para várias amostras.
- O cartucho AFIAS deve ser inserido e posicionado na entrada de cartuchos no equipamento antes da coleta da amostra de sangue.
- Ao coletar o sangue, tenha cuidado para não criar bolhas de ar no C-tip.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultados falso-positivos devido a reações cruzadas e/ou adesão não específica de certos componentes da amostra aos anticorpos de captura/detectores.
- O teste pode apresentar resultados falso-negativos devido à não responsividade do antígeno aos anticorpos, o que é o mais comum se o epítipo for mascarado por alguns componentes desconhecidos, portanto, não pode ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com tempo e/ou temperatura também pode causar resultado falso-negativo, pois torna o antígeno irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e causar resultados errôneos, como erros técnicos e de procedimento, degradação dos componentes/reagentes do teste ou presença de substâncias interferentes nas amostras do teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser apoiado por uma avaliação abrangente do médico em conjunto com sintomas clínicos e outros relevantes.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Componente	Condição de armazenamento		
	Temperatura de armazenamento	Validade	Nota
Cartucho	2 - 30 °C	20 meses	Fechado
		1 meses	Aberto

- Devolva o cartucho não utilizado à embalagem com zipperbag do cartucho sobressalente que contém o agente dessecante e feche novamente a embalagem até o uso.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **AFIAS Vitamin D Neo**

- A Caixa do kit contém:
 - Cartuchos 24
 - Ponteiras 24
 - Embalagem zipperbag para cartuchos 1
 - ID chip 1
 - Instrução de uso 1
 - C-tip (30 μ L) 24

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens a seguir podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS Vitamin D Neo**. Por favor, contate a **BIOSYS LTDA.** para maiores informações.

- **AFIAS-1**
- **AFIAS-6**
- **AFIAS-10**
- **Boditech Vitamin D Control**

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os tipos de amostras utilizadas com o kit **AFIAS Vitamin D Neo** são plasma/soro/sangue total humano.

- Recomenda-se testar a amostra em até 24h após a coleta.
- As amostras de soro e plasma devem ser separadas por centrifugação dentro de 3 horas após coleta do sangue total.
- As amostras de soro e plasma podem ser armazenadas por uma semana a 2-8 °C antes de serem testadas. Se os testes forem adiados por mais de uma semana, as amostras de soro e plasma devem ser congeladas a -20 °C.
- As amostras de soro e plasma congeladas a -20 °C durante 3 meses não mostraram diferença de desempenho.
- Amostras de sangue total podem ser armazenadas por 3 dias a 2-8 °C antes de serem testadas.
- No entanto, amostras de sangue total não devem ser mantidas congeladas em nenhum caso.
- Uma vez que as amostras forem descongeladas, essas devem ser utilizadas somente uma vez. O congelamento e descongelamento sucessivo pode afetar o resultado do teste.
- Coleta de amostra de sangue total usando C-tip.
 - ① Limpe a área que será feita a retirada da gota de sangue.
 - ② Fure o local com uma lanceta estéril.
 - ③ Descarte a primeira gota de sangue.
 - ④ Massageie gentilmente ao redor do local do furo para retirada da segunda gota de sangue.
 - ⑤ Segure a ponta do C-tip horizontalmente e toque na superfície do sangue com o C-tip.
 - ⑥ A ação da capilaridade irá automaticamente retirar a amostra de sangue para a ponta do C-tip e parar.
 - ⑦ Limpe o excesso de sangue ao redor da ponteira.
 - ⑧ Verifique duas vezes se o sangue total está preenchido corretamente no C-tip e se o equipamento AFIAS está pronto para uso no 'Modo C-tip'.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS Vitamin D Neo** conforme descrito: cartuchos, ponteiros, C-tips, ID chip, embalagem zipperbag para cartucho e instruções de uso.
- Confira se o lote do cartucho é o mesmo do lote do ID Chip.
- Se o cartucho selado tiver sido armazenado na geladeira, coloque-o em uma superfície plana à temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste.
- Ligue o equipamento AFIAS.
- Esvazie a caixa de ponteiros.
- Insira o ID chip na porta do chip 'ID'.
- ✘ **Favor consultar o Manual de Operações dos equipamentos AFIAS para obter informação completa e instruções de operação.**

PROCEDIMENTO DO TESTE

► AFIAS-1, AFIAS-6

Modo Geral

- Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- Insira a ponteira no orifício para ponteiros no cartucho.
- Selecione 'Modo Geral' no equipamento
- Pipete 100 µL de amostra e coloque-a no poço de amostra no cartucho.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo C-tip

- Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- Pegue 30 µL de sangue total usando C-tip.
- Insira o C-tip contendo o sangue total no orifício para ponteiros no cartucho.
- Selecione 'Modo C-tip' no equipamento.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

► AFIAS-10

Modo Geral

- Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- Insira a ponteira no orifício para ponteiros no cartucho.
- Selecione o botão 'Carregar' para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- Insira o tubo de amostra no rack de tubos.
- Insira o rack de tubos na parte de carregamento da estação de amostras.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo de Emergência – General tip

- O procedimento do teste é o mesmo do 'Modo Geral 1) - 3)'.
2) Passe para o 'Modo de Emergência' no AFIAS-10.
3) Selecione o tipo de ponteira (general tip) na tela.
4) Selecione o tipo de amostra (sangue total/soro/plasma) na tela.
5) Pipete 100 µL de amostra e coloque-a no poço de amostra no cartucho.

- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos

Modo de Emergência – C-tip

- Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- Pegue 30 µL de sangue total usando C-tip.
- Insira o C-tip contendo o sangue total no orifício para ponteiros no cartucho.
- Selecione 'Modo C-tip' no equipamento.
- Selecione o botão 'Carregar' para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- Passe para o 'Modo de Emergência' no equipamento.
- Selecione o tipo de ponteira (C-tip) na tela.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O equipamento AFIAS calcula automaticamente a concentração total de 25(OH)D₂/D₃ na amostra teste em ng/mL.
- Faixa de trabalho: 5 - 100 ng/mL
- Fator de Conversão: 1 ng/mL = 2,5 nmol/L
- Valores 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	Suficiência

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade (CQ) são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e a validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- Os testes de controle de qualidade também devem ser realizados sempre que houver qualquer dúvida sobre a validade dos resultados dos testes.
- Os controles do kit **AFIAS Vitamin D Neo** são fornecidos sob demanda. Para maiores informações sobre a obtenção do controle, entre em contato com o setor comercial da BioSys. (Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- Sensibilidade Analítica**
 - Limite do Branco (LoB) 1,888 ng/mL
 - Limite de detecção (LoD) 3,063 ng/mL
 - Limite de Quantificação (LoQ) 5,0 ng/mL
- Especificidade Analítica**
 - Cross-reactivity
Biomoléculas como as da tabela foram adicionadas à amostra em concentrações muito superiores aos seus níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados dos testes do kit **AFIAS Vitamin D Neo** não mostraram qualquer reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Material	Concentração (ng/mL)
Vitamina D ₂	300 ng/mL
Vitamina D ₃	300 ng/mL

- Interferências

As substâncias interferentes listadas na tabela a seguir foram adicionadas à amostra de ensaio na concentração mencionada abaixo. Os resultados dos testes do kit **AFIAS Vitamin D Neo** não mostraram qualquer interferência significativa com esses materiais.

Material	Concentração
D-Glicose	600 mM
Ácido L-Ascórbico	2 mM
Bilirrubina [não-conjugada]	4 mM
Hemoglobina (humana)	20 g/L
Colesterol	130 mM
Triglicerídeo	100 mg/mL
Biotina	50 ng/mL

■ Precisão

- Estudo em um único local
 - Repetibilidade (entre corridas)**
 - Precisão total (entre laboratórios)**
 - Lote a Lote**
3 lotes de **AFIAS Vitamin D Neo** foram testados por 20 dias. Cada material padrão foi testado duas vezes por dia. Para cada teste, cada material foi duplicado.
- Estudo em vários locais
 - Reprodutibilidade**
1 Lote de Vitamina D Neo AFIAS foi testado por 5 dias em 3 locais diferentes (1 pessoa por local, 1 instrumento por local). Cada material padrão foi testado 1 vez e 5 réplicas por dia.

Conc. [ng/mL]	Estudo em um único local					
	Repetibilidade			Entre-laboratório		
	Média	SD	CV (%)	Média	SD	CV (%)
10	9.99	1.18	11.79	9.88	1.16	11.76
30	30.14	3.77	12.52	30.09	3.80	12.63
50	48.85	6.30	12.90	48.82	5.77	11.83

Conc. [ng/mL]	Estudo único local			Estudo vários locais		
	Precisão lote a lote			Reprodutibilidade		
	Média	SD	CV (%)	Média	SD	CV (%)
10	9.94	1.14	11.50	10.11	1.15	11.40
30	29.91	3.63	12.12	30.94	3.40	10.98
50	49.92	5.88	11.77	50.34	5.58	11.09

■ Exatidão

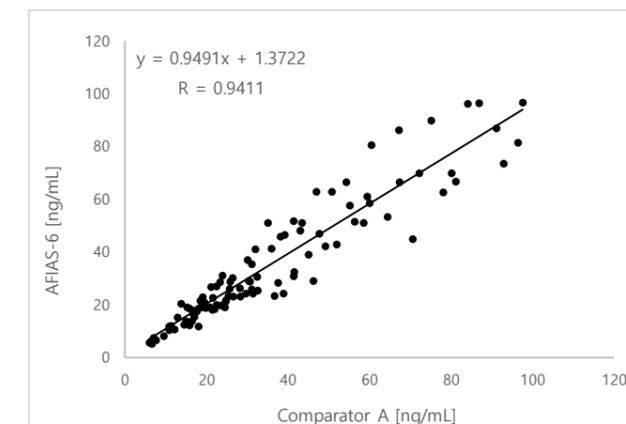
A exatidão foi realizada através do teste de 3 lotes diferentes do **AFIAS Vitamin D Neo**. Os testes foram repetidos 10 vezes em cada concentração do controle padrão.

Valor Esperado [ng/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	Recuperação
6.06	6.04	6.15	6.05	6.08	100.4%
10	9.73	9.95	9.91	9.86	98.6%
20.83	20.63	20.55	21.84	21.01	100.8%
36.67	38.57	36.98	37.39	37.65	102.7%
52.5	55.81	57.68	52.6	55.36	105.5%
76.25	74.65	79.27	81.79	78.57	103.0%
91.36	90.28	85.84	93.69	89.94	98.4%

■ Comparabilidade

A concentração de βhCG foi medida em 100 amostras clínicas,

independentemente com **AFIAS Vitamin D Neo (AFIAS-6)** e **Comparador A** de acordo com os procedimentos de teste prescritos. Os resultados dos testes foram comparados e sua comparabilidade foi investigada com regressão linear e coeficiente de correlação (R). A equação de regressão e o coeficiente de correlação são os seguintes:



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 em vigor sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

REFERÊNCIAS

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

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro

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.,

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

	Suficiente para <n> testes
	Consulte as instruções de uso
	Validade
	Lote
	Catálogo
	Cuidado, consulte documentos anexos
	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, 24398
Republic of Korea
Tel: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr

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 10350840423
SAC: sac@biosys.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414
www.biosys.com.br