**Instruções de Uso**
Somente para uso diagnóstico in vitro

Hormone

ichroma™

# Vitamin D Neo

## USO PRETENDIDO

**ichroma™ Vitamin D Neo** é um imunoensaio fluorescente (FIA) para determinação quantitativa do nível total de 25(OH)D2/D3 em **sangue total/soro/plasma humano**. É útil no auxílio do gerenciamento e monitoramento da regulação da concentração de cálcio e fosfato na corrente sanguínea e na promoção do crescimento saudável e do remodelamento ósseo.

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-1α-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-hidroxilação.[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 imunodetecção tipo 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 para testes ichroma™ para determinar a concentração de vitamina D na amostra.

## COMPONENTES

O kit **ichroma™ Vitamin D Neo** consiste em 'cassetes', 'tubos detectores' e 'tampão de extração'.

- O cassete contém uma membrana chamada de tira de teste que possui estreptavidina na linha teste e anticorpos IgY de galinha na linha controle. Cada cassete é individualmente selado em um invólucro de folha de alumínio contendo um dessecante.
- O tubo detector possui 2 grânulos contendo anticorpos conjugados fluorescentes, conjugado anticorpo-biotina, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha, albumina de soro bovino (BSA), sacarose como estabilizador e azida sódica como conservante em tampão fosfato-salino (PBS). Todos os detectores estão embalados em uma caixa.
- O tampão de extração contém cloreto de sódio e azida sódica em acetato de sódio e tampão fosfato-salino (PBS), e é pré-dispensado em um frasco. O tampão de extração 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 de lote de todos os componentes de teste (cassete, tubo detector, tampão de extração e ID chip) devem coincidir entre si.
- 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 reutilizar cassetes ou tubos detectores. O cassete deve ser utilizado para testar apenas uma amostra. Um tubo detector deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- O cassete deve permanecer em seu invólucro original selado 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 severa e/ou hiperlipidemia não podem ser utilizadas e devem ser coletadas novamente.
- **O CASSETE, O TUBO DETECTOR, O TAMPÃO DE EXTRAÇÃO E A AMOSTRA DEVEM ESTAR À TEMPERATURA AMBIENTE POR APROXIMADAMENTE 30 MINUTOS ANTES DE SUA UTILIZAÇÃO.**
- O leitor ichroma poderá emitir pequenas vibrações durante o uso.

**Instruções de Uso**
Somente para uso diagnóstico in vitro

- Os cassetes, os tubos detectores, as ponteiras e os tubos capilares utilizados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados da forma apropriada conforme as normas locais.
- O tubo detector e o tampão de extração contêm azida sódica ($NaN_3$) como conservante. 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. Evite o contato com pele, olhos e roupas. Em caso de contato, lave imediatamente com água corrente.
- Não foi observada interferência da biotina com o **ichroma™ Vitamin D Neo** quando a concentração de biotina na amostra foi inferior a 50 ng/mL. Se um paciente estiver tomando biotina em dose superior a 0,03 mg por dia, recomenda-se testar novamente 24 horas após a interrupção da ingestão de biotina.
- **ichroma™ Vitamin D Neo** fornecerá resultados precisos e confiáveis sujeitos às seguintes condições:
  - O kit **ichroma™ Vitamin D Neo** deve ser usado apenas em conjunto com instrumento para testes ichroma™.
  - Os seguintes anticoagulantes recomendados devem ser utilizados:

| Anticoagulante recomendado |
|---|
| Heparina sódica, Citrato de sódio, $K_2EDTA$ |

- **Os tubos capilares devem ser utilizados de acordo com os seguintes requerimentos**:
  - O sangue total capilar deve ser testado imediatamente após a coleta.
  - O excesso de sangue total capilar na parte externa do tubo capilar deve ser retirado.
  - A fim de evitar contaminação cruzada, não reutilize um tubo capilar.

## 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 dos antígenos aos anticorpos é mais comum onde o epítopo 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.

## ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

| Condição de armazenamento | | | |
|---|---|---|---|
| Componente | Temperatura de armazenamento | Validade | Nota |
| Cassete | 2 - 30 °C | 20 meses | Uso único |
| Tubo detector | 2 - 30 °C | 20 meses | Uso único |
| Tampão de extração | 2 - 30 °C | 20 meses | Fechado |
| | | 3 meses | Após aberto |

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

## MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma™ Vitamin D Neo**

- Caixa dos Cassetes:
  - Cassetes 25 unidades
  - Tubo detector 25 unidades
  - Tampão de extração 1 unidade
  - ID chip 1 unidade
  - Instrução de Uso 1 unidade

## MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma™ Vitamin D Neo**:

Por favor, contate a **BIOSYS LTDA.** para maiores informações.

- Equipamento ichroma™ para realização dos testes
  - **ichroma™ II**
  - **ichroma™ III**
  - **ichamber**
- **Boditech Vitamin D Control**
- **Tubo capilar**

## COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O tipo de amostra para utilização no kit de **ichroma™ Vitamin D Neo** é sangue total/soro/plasma humano.

- Recomenda-se testar a amostra dentro de 24 horas após a coleta.
- O soro ou plasma deve ser separado do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta de sangue total.
- As amostras (soro, plasma) podem ser armazenadas por até uma semana a 2-8 °C antes de serem testadas. Se os testes forem adiados por mais de uma semana, as amostras de soro ou plasma devem ser congeladas a -20 °C.
- A amostra de sangue total pode ser armazenada por até 3 dias a 2-8°C antes de ser testada.
- As amostras de soro ou plasma congeladas a -20°C durante 3 meses não mostraram diferença de desempenho.
- Entretanto, a amostra de sangue total não deve ser congelada de maneira alguma.
- Uma vez que a amostra foi congelada, deve ser usada uma vez apenas para teste, pois o congelamento e o descongelamento repetidos podem resultar na mudança dos valores do teste.
- A amostra de sangue capilar dever ser coletada de acordo com o procedimento abaixo:
  1. Utilize luvas e equipamento de proteção individual para a realização da coleta da amostra.
  2. Limpe a área que será feita a retirada da gota de sangue.

3. Fure o local com uma lanceta estéril.
4. Descarte a primeira gota de sangue.
5. Massageie gentilmente ao redor do local do furo para retirada da segunda gota de sangue.
6. Segure o tubo capilar e toque na superfície do sangue.
7. Preencha o tubo com o sangue capilar.
   (Certifique-se de que não há a presença de bolhas de ar no tubo. Não preencha com sangue até a superfície do tubo capilar. Se o sangue atingir a superfície do tubo capilar, remova-o suavemente com gaze).

## CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma™ Vitamin D Neo**: cassetes selados, tubos detectores, tampão de extração, ID Chip e instruções de uso.
- Assegure que o número do lote dos cassetes equivale ao do ID Chip, assim como o tubo detector e o tampão de extração.
- Mantenha o cassete, o tubo detector e o tampão de extração, se armazenados na geladeira, à temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste. Coloque o cassete sobre uma superfície limpa, isenta de poeira e plana.
- Ligue o i-chamber e configure-o para a temperatura de 35°C.
- Ligue o leitor de testes ichroma™.
  (Favor consultar o Manual de Operações do leitor ichroma para obter informação completa e instruções de operação.)

## CUIDADO

- Para minimizar resultados errôneos, sugerimos que a temperatura ambiente do cassete seja de 35°C durante o tempo de reação, após o carregamento da mistura da amostra no cassete.
- Para manter a temperatura ambiente a 35°C, você pode utilizar diferentes dispositivos tais como i-chamber ou uma incubadora.

## PROCEDIMENTO DO TESTE

- **ichroma™ II**

1. Transfira 150 µL do tampão de extração usando uma pipeta para o tubo detector contendo o grânulo. Quando o grânulo estiver completamente dissolvido, ele se torna o tampão de detecção.
   (**O tampão de detecção deve ser utilizado imediatamente. Não exceder 30 segundos**)
2. Pegue 30 µL da amostra (<u>sangue total/soro /plasma/controle</u>) usando uma pipeta, e dispense-a no tubo detector. Feche a tampa do tubo detector e misture bem a amostra agitando-a cerca de 10 vezes.
   ❖ Se um tubo capilar de 30 µL tiver sido utilizado para coletar o sangue total, coloque-o diretamente no tubo detector.
   **(A mistura de amostra deve ser usada imediatamente. Não exceder 30 segundos.)**
3. Transfira com a pipeta 75 µL da mistura para o poço de amostra do cassete.
4. Insira o cassete carregado com amostra no compartimento do i-chamber (35°C) ou para uma incubadora à 35°C.
5. Deixe o cassete carregado com a amostra no i-chamber ou incubadora durante 12 minutos.
   ⚠ *<u>Escaneie o cassete carregado com amostras imediatamente quando o tempo de incubação acabar. Caso contrário, isso causará resultado de testes imprecisos.</u>*
6. Para escanear o cassete carregado com a amostra, insira-o no suporte de cassetes do instrumento para testes 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.
7. Toque no botão 'INICIAR' no instrumento ichroma™ para iniciar o processo de escâner.
8. O instrumento ichroma™ começará a escanear o cassete carregado com a amostra imediatamente.
9. Leia o resultado do teste na tela de exibição do ichroma™.
   (Consulte o manual de operação ichroma™ II para obter informações completas e instruções de operação.)

- **ichroma™ III**

1. O procedimento do teste é o mesmo do 'ichroma II' das etapas 1 a 3.
2. Insira o cassete com a amostra carregada no suporte de cassetes do instrumento ichroma™ III. 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.
3. Toque no botão 'INICIAR' no instrumento ichroma™ III para iniciar o teste.
4. O cassete entra e o ichroma™ III inicia automaticamente a leitura do cassete com a amostra carregada após 12 minutos.
5. Leia o resultado do teste na tela de exibição do ichroma™ III.

## INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O equipamento ichroma™ calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de 25(OH)D2/D3 na amostra do ensaio na unidade de ng/mL.
- Faixa de referência:

| 25(OHD (ng/mL) | 25(OH)D (nmol/L) | Status |
|---|---|---|
| < 10 | < 25 | Deficiência |
| 10 - 30 | 25 - 75 | Insuficiência |
| 30 - 100 | 75 - 250 | Suficiência |

- Faixa de trabalho: 5 - 100 ng/mL
- Fator de conversão: 1 ng/mL = 2,5 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 a performance do teste não seja alterada ou quando houver dúvidas referentes à validade dos resultados dos testes.

**Instruções de Uso**
Somente para uso diagnóstico in vitro

- Os controles não são fornecidos com o kit **ichroma™ Vitamin D Neo**. Para mais informações sobre a obtenção dos materiais de controle de qualidade, entre em contato com a BioSys Ltda.
  (Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle.)

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- **Sensibilidade Analítica**

| | |
|---|---|
| Limite do Branco (LoB): | 1,61 ng/mL |
| Limite de Detecção (LoD): | 2,83 ng/mL |
| Limite de Quantificação (LoQ): | 5,00 ng/mL |

- **Especificidade Analítica**
  - **Reatividade Cruzada**
    A biomoléculas apresentadas na tabela abaixo foram adicionadas à amostra de teste em concentrações muito superiores aos seus níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados dos testes de **ichroma™ Vitamin D Neo** não mostraram nenhuma reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

| Material de Reatividade Cruzada | Concentração |
|---|---|
| Vitamina D2 | 300 ng/mL |
| Vitamina D3 | 300 ng/mL |

  - **Interferência**
    Os materiais de interferência listados na tabela abaixo foram adicionados às amostras em testes conforme as concentrações apresentadas. Os resultados dos testes **ichroma™ Vitamin D Neo** não mostraram qualquer interferência significativa com esses materiais.

| Material de Interferência | Concentração |
|---|---|
| D-glicose | 600 mM |
| Ácido L-Ascórbico | 2 mM |
| Bilirrubina (não conjugada) | 4 mM |
| Hemoglobina humana | 20 g/L |
| Colesterol | 130 mM |
| Triglicerídeos | 100 mg/mL |
| Biotina | 50 ng/mL |

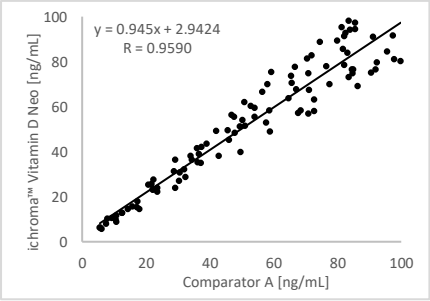
- **Precisão**
  - Estudo unicêntrico
  <u>Repetibilidade (precisão na corrida)</u>
  <u>Precisão total (precisão no laboratório)</u>
  <u>Precisão lote a lote</u>
  3 lotes do **ichroma™ Vitamin D Neo** foram testados por 20 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Cada teste foi testado em duplicata.
  - Estudo multicêntrico
  <u>Reprodutibilidade</u>
  1 lote do **ichroma™ Vitamin D Neo** foi testado durante 5 dias em 3 centros diferentes (1 operador por local, 1 instrumento por local). Cada material padrão foi testado 1 vez em 5 replicatas por dia.

| Conc. | Repetibilidade | | Precisão Total | |
|---|---|---|---|---|
| [ng/mL] | Média | CV (%) | Média | CV (%) |
| 10 | 9,69 | 10,94 | 9,82 | 10,48 |
| 30 | 30,35 | 10,38 | 30,12 | 10,57 |
| 50 | 50,71 | 9,86 | 50,56 | 9,71 |
| Conc. | Precisão lote a lote | | Reprodutibilidade | |
| [ng/mL] | Média | CV (%) | Média | CV (%) |
| 10 | 9,97 | 10,14 | 10,04 | 10,89 |
| 30 | 29,96 | 10,27 | 30,62 | 9,84 |
| 50 | 49,95 | 9,96 | 50,65 | 8,13 |

- **Acurácia**
  A acurácia foi confirmada por testes com 3 lotes diferentes de **ichroma™ Vitamin D Neo**. Os testes foram repetidos 10 vezes em cada concentração diferente.

| Valor Esperado [ng/mL] | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 | Média | Recuperação (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 6,06 | 6,39 | 6,23 | 6,15 | 6,26 | 103 |
| 10,00 | 9,97 | 10,03 | 10,35 | 10,12 | 101 |
| 20,83 | 20,40 | 21,32 | 21,34 | 21,02 | 101 |
| 36,67 | 36,18 | 35,26 | 35,58 | 35,67 | 97 |
| 52,50 | 56,33 | 52,15 | 53,36 | 53,95 | 103 |
| 76,25 | 74,76 | 82,00 | 83,48 | 80,08 | 105 |
| 91,36 | 88,09 | 87,80 | 87,94 | 87,94 | 96 |

- **Comparabilidade**
  A concentração de 100 amostras clínicas de Vitamina D foram independentemente testadas com **ichroma™ Vitamin D Neo** (ichroma™ II) e um comparador A conforme procedimentos de testes prescritos. 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 as 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 sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

## REFERÊNCIAS


1. Holick MF (March 2006). "High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health". Mayo Clin. Proc. 81 (3): 353–73.
2. 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.
3. 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.
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.

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

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

**Boditech Med Incorporated** CE IVD
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

**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 10350840431**
**SAC:** sac@biosys.com.br - **(21) 3907-2534 / 0800 015 1414**
www.biosys.com.br