

ВІТАМІН D3/D2 (25-OH)

25-OH Vitamin D3/2

Кат. №: **ORG 270**

Дата випуску інструкції: **2018-01-02**

Версія **5**



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

ПРИЗНАЧЕННЯ

25-OH Вітамін D₃/D₂ для Alegria® є тест-системою ІФА для кількісного визначення загальної концентрації 25-(ОН)-Вітамін D₂ та 25-(ОН)-Вітамін D₃ у зразках сироватки або плазмі людини (ЕДТА плазма, гепаринова плазма, цитратна плазма). Цей продукт призначається тільки для професійного використання в in-vitro діагностиці.

Концентрація 25-OH вітаміну D є показником надходження вітаміну D в організм. Вважається, що концентрації 25-OH вітаміну D більше ніж 20 нг/мл вказують на достатню кількість вітаміну D; значення 12-20 нг/мл вказують на брак вітаміну D; концентрації нижче 12 нг/мл вказують на серйозний дефіцит вітаміну D. Рівень 25-OH вітаміну D залежить від клінічних симптомів дефіциту вітаміну D.

СИМВОЛИ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ

	Медичний пристрій для діагностики in vitro		Alegria® Тест Смужки
	Каталоговий номер		Промивний буфер
	Містить достатньо для 24 випробувань		Рідинна система
	Код партії		Готовий до використання
	Використати до		
	Обмеження температури		
	Звернутися до інструкції з використання		
	Не піддавати впливу сонячних променів		
	Не використовувати повторно		
	Дата виробництва		
	Знак CE відповідно до 98/79/EC		

ПРИНЦИП ТЕСТУ

Аналіз Alegria® включає в себе 8-лункові мікрополоски зі штрих-кодами, які називаються Тест-смужками Alegria®. Кожна смужка призначена для аналізу одного зразка пацієнта. Набір складається з повного комплексу реагентів. Сюди входять ферментний кон'югант, ферментний субстрат, буфер для зразків і специфічний тестовий контроль. Дві лунки Тест-смужки Alegria®, покриті антитілом 25-OH вітаміну D₃/D₂, які служать в якості реакційних лунок для контролю та зразка пацієнта.

Дві інші лунки Тест-смужки Alegria® покриті 25-OH вітаміном D індикатор або 25-OH вітамін D контроль відповідно.

Визначення ґрунтується на конкурентному ферментно-пов'язаному імуносорбентному аналізі (ІФА) за наступними кроками: Зразок піпетують у лунку №1. В межах аналізатора випадкового доступу Alegria® зразок змішують з індикаторним реагентом і 25-OH вітаміном D₃/D₂ постачається із білка зв'язаного з вітаміном D. 25-OH вітамін D та індикаторний реагент покриті у лунці № 2, суспендують з буфером. Зразок і контроль потім переносять у реакційні лунки № 3 і № 4, де 25-OH вітамін D₃ / D₂ і 25-OH вітамін D індикаторний реагент конкурують за зв'язування з покритим антитілом 25-OH вітаміну D₃ / D₂. Комплекси формуються між 25-OH вітаміном D₃/D₂ та антитілом, або 25-OH вітаміном D індикаторним реагентом та антитілом. Після інкубації, на першому етапі промивання видаляються непов'язані і неспецифічно пов'язані молекули. Послідовно доданий ферментний кон'югант зв'язується з іммобілізованим комплексом індикатор-антитіло. Після інкубації під час другої промивки видаляється незв'язаний ферментний кон'югант. Додавання розчину ферментного субстрату призводить до гідролізації і розвитку кольору під

час інкубації. Інтенсивність синього кольору відповідає концентрації комплексу антитіло-антиген і може бути виміряна фотометрично при 650 нм. Інтенсивність синього кольору корелює з обсягом концентрації вітаміну D у зразку.

Alegria® Тестова Смужка заснована на запатентованій SMC®-технології (Sensotronic Memorized Calibration): інформація про аналіз, аналіз та його оцінка, а також термін придатності для конкретної партії містяться на штрих-коді, зазначеному на кожній тест-смужці Alegria®.

Тест-смужку Alegria® можна використовувати з діагностичним інструментом Alegria® - повністю автоматизованим аналізатором з довільним доступом. За допомогою SMC®-Технології дані, закодовані на штрих-коді, передаються від тест-смужки Alegria® до приладу та аналіз автоматично обробляється і оцінюється. Прилад зчитує дату терміну придатності і відкидає подальшу обробку, якщо вищев термін придатності тест-смужки Alegria®.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Всі реагенти набору призначені тільки для професійної діагностики in vitro.
- Компоненти, що містять людську сироватку, були протестовані методами, схваленими ІФА, та визнані негативними для HBsAg, HCV, ВІЛ-1 та ВІЛ-2. Жоден тест не може гарантувати відсутність HBsAg, HCV, HIV1 або HIV2, тому всі реагенти на основі людської сироватки в цьому наборі повинні бути оброблені так, якби вони здатні передавати інфекцію.
- Бічачий сироватковий альбумін (БСА), використаний в компонентах, був протестований на BSE і виявився негативним.
- Уникайте контакту із субстратом ТМБ (3,3', 5,5' - Тетраметилбензидином).
- Системна рідина містить кислоти, класифікація є безпечною. Уникайте контакту зі шкірою.
- Контроль, буфер для зразків і промивний буфер містять азид натрію 0,09% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.
- Ферментний кон'югант містить ProClin 300 0.05% в якості консерванту. Ця концентрація класифікується як безпечна.

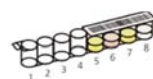
Під час обробки всіх реагентів, контролів і зразків сироватки дотримуватися існуючих правил лабораторної безпеки і належної лабораторної практики:

- Заходи першої допомоги: При попаданні на шкіру, негайно ретельно промити водою з милом. Зняти забруднений одяг і взуття і вимити перед повторним використанням. Якщо рідина системи вступає в контакт зі шкірою, ретельно промийте водою. Після контакту з очима ретельно промити відкрите око проточною водою щонайменше протягом 10 хвилин. Зверніться до лікаря, якщо це необхідно.
- Особиста безпека, захисне спорядження і надзвичайні заходи: Дотримуватися правил техніки безпеки лабораторії. Уникайте контакту зі шкірою та очима. Не ковтайте. Не піпетуйте ротом. Не їжте, не пийте, не куріть і не наносіть макіяж в тих місцях, де знаходяться зразки або реагенти набору. При розливанні зберіть інертним матеріалом і утилізуйте.
- Засоби індивідуального захисту: Одягайте захисні рукавички з нітритного каучуку або натурального латексу. Носіть захисні окуляри. Застосовуються відповідно за призначенням.
- Умови, яких слід уникати: Так як розчин субстрату є світлочутливим, зберігати смужки Alegria® в темряві.
- Для утилізації лабораторних відходів дотримуватися національного або регіонального законодавства.

Дотримуйтеся рекомендацій для виконання контролю якості в медичних лабораторіях шляхом аналізу контролю і/або об'єднаних сироваток.

ВМІСТ НАБОРУ

24 ORG 270 Достатньо для проведення 24 аналізів
Тестові смужки Тест-смужки Alegria® є модулями з 8 лунок кожна, які складаються з:



Лунка 1: зелена; покрита 25-OH Вітамін D індикатором
Лунки 2: коричневого кольору; покрита 25-OH вітаміном D індикатором + 25-OH вітамін D контролем.
Лунка 3+4: покрита антитілом (реакційні лунки)

Лунка 5: Буфер: жовтий.
Лунка 6: Ферментний кон'югант; світло-червоний; містить HRP кон'югант; PBS, BSA, миючий засіб, консервант ProClin 0.05%.

Лунка 7: Матриця; непрозора; містить матрицю сироватки людини, Трис, BSA, консервант азиду натрію 0,09%.

Лунка 8: TMB субстрат: прозорий; містить 3,3', 5,5' - Тетраметилбензидин.

Антитіла, що виявляють 25-ОН Вітамін D₂ та 25-ОН Вітамін D₃ зв'язані з реакційними лунками 3 + 4.

Штрих-код: **VitD** На роздруківці: **VitD3/D2**

1 x 20 мл **Промивний буфер**, що містить Трис, миючий засіб, консервант азиду натрію 0,09%; 50 x концентрат

1 x 2.5 мл **Системна рідина**, містить кислоту; 1000 x концентрат

1 **Сертифікат аналізу**

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

- Зберігати набір при 2 - 8 °C у темряві.
- Не піддавати реагенти впливу тепла, сонця або сильного світла в перебігу зберігання та використання.
- Зберігати Alegria® Тестові смужки в герметичному пакеті з осушувачем.
- Термін придатності закритого набору становить **12 місяців** від дати виготовлення. Закриті реагенти стабільні до закінчення терміну придатності набору. Дивитись етикетки для окремих партій.
- Розведений Промивний Буфер та Системна Рідина стабільні щонайменше 30 днів при 2-8 °C. Рекомендується використання в той же день.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ

- Вихровий міксер
- Піпетки на 80 мкл
- Мірний циліндр на 1000 мл і 2500 мл
- Дистильована або деіонізована вода

ДОПОМІЖНІ РЕАГЕНТИ

ORG 271 25-ОН Вітамін D₃/D₂ контрольний набір

25-ОН Вітамін D₃/D₂ контрольний набір - це зовнішній матеріал контролю якості для кількісного аналізу вітаміну 25-ОН D₃ / D₂ Alegria®. Цей продукт призначений тільки для професійного використання in vitro діагностики. Контрольний набір містить Контроль А і контроль В 2.5 мл кожен з визначеною концентрацією 25-ОН D₃ / D₂ (див. етикетку) у Трис 0.7%, NaCl 0.8%, з матрицею людської сироватки, BSA 0.5% та азидом натрію 0.09% в якості консерванту. Готовий до використання. Для 30 визначень. Зберігати ORG 217 при 2-8°C у темряві.

Закриті контролі є стабільними до закінчення терміну придатності (див. етикетку). Після відкриття, використовувати протягом 4 місяців.

Процедура в аналізі Alegria: піпетуйте 80 мкл контролю на дно лунки 1 тестової смужки Alegria.

Цей контрольний набір доступний окремо.

ЗБІР, ЗБЕРІГАННЯ І ОБРОБКА ЗРАЗКА

- Зберіть зразки цільної крові, використовуючи прийнятну медичну технологію, щоб уникнути гемолізу.
- Дайте можливість крові згуститися і відокремте сироватку або плазму центрифугуванням.
- Сироватка повинна бути чистою і негемолізованою. Необхідно уникати гемолітичної або ліпемічної сироватки.
- Зразки повинні зберігатися в холодильнику при 2-8 °C до 5 днів або при -20 °C до шести місяців.
- Не піддавайте зразки впливу тепла, сонця чи сильного світла під час зберігання та використання.
- Уникайте повторного заморожування і розморожування зразків сироватки або плазми.
- Не рекомендується тестування інактивованої теплом сироватки.

ПРОЦЕДУРНІ ЗАУВАЖЕННЯ

- Не використовуйте компоненти набору після закінчення терміну придатності.
- Всі матеріали слід привести до кімнатної температури (20-28°C) перед використанням.
- Для запобігання забруднення мінуйте наконечники піпетки між зразками.

ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Промивний буфер

Розбавте вміст концентрату Промивного буфера (50x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 1000 мл перед використанням. Внести розбавлений промивний буфер в контейнер для реагенту інструменту. Якщо проводиметься тільки один аналіз на день, ми рекомендуємо вносити тільки 500 мл розведеного Промивного Буфера.

Системна рідина

Розбавте вміст концентрату Системної Рідини (1000x) дистильованою або деіонізованою водою до кінцевого об'єму 2500 мл перед використанням. Перенесіть розбавлену Системну Рідину в контейнер для реагенту інструменту.

Тестові смужки

Дістаньте необхідну кількість Alegria® тест-смужок з упаковки і доведіть їх до кімнатної температури (20-28 °C). Не знімайте покриття з порожніх лунок, поки ви не готові розпочати аналіз.

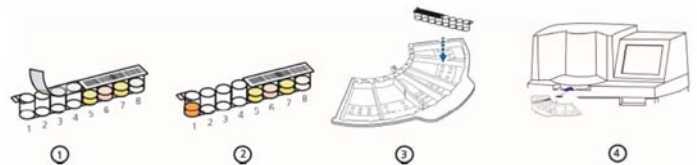
ПРОЦЕДУРА ТЕСТУ

Тест-смужки Alegria® з технологією SMC® використовуються з діагностичним інструментом Alegria®.

Детальну інформацію про роботу з приладом можна знайти в інструкції щодо застосування.

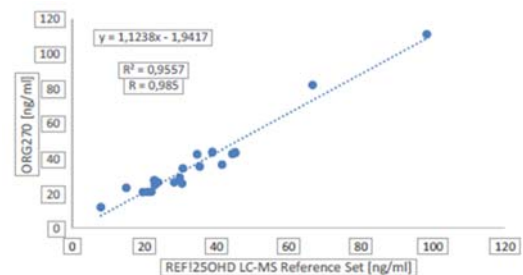
- Зніміть покриття з порожніх лунок 1-4 на тест-смужках Alegria®.
Не знімайте покриття з лунок 5-8 з нанесеним на них штрих-кодом.
- Піпетуйте 80 мкл нерозбавленого зразка (сироватки або плазми) або готового до використання контролю ORG 271 на дно лунки 1.
- Помістіть смужку в SysTray.
- Розмістіть завантажений SysTray в правильному положенні на приладі Alegria® і почніть роботу. Всі подальші кроки будуть зроблені автоматично. Проведення аналізу вважається завершеним, коли прилад починає друкувати результати.

Застереження: Тест-смужки Alegria® 25-ОН Вітамін D₃/D₂ потребує спеціальної експлуатації, і крім того їх не можна об'єднувати з іншими тестами Alegria® в тому ж режимі.



КАЛІБРУВАННЯ

Калібрування простежується на ID-LC / Tandem MS еталонний препарат REF1 25OHD (Labquality, IQAS).



ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

За допомогою SMC® Технології всі тестові дані передаються в систему через окремі штрих-коди на тест-смужках Alegria®. Розрахунок та інтерпретація результатів виконуватимуться автоматично.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Діапазон вимірювання

Діапазон розрахунку цього аналізу Alegria®: 5-200 нг/мл

Інтерпретація результатів

Дефіцит:	< 12 нг/мл	(<30 нмоль/л)
Недостатність:	12- 20 нг/мл	(30 – 50 нмоль/л)
Достатність:	> 20 – 150 нг/мл	(> 50 – 375 нмоль/л)

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

За даними літератури, пропонується кілька референтних діапазонів.

Приклади:

Посилання 5

Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), (ÖGE), (SGE), (SVE), Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Vitamin D. 2012; ISBN 978-3-86528-128-9).

Дефіцит: <12 нг/мл; Недостатність: 12-20 нг/мл; Достатність: > 20-160 нг / мл; Гіпервітаміноз 160-500 нг/мл

Посилання 9

Holick, M.F. Vitamin D deficiency. N. Engl. J.M. 2007, 357: 266-281.

Дефіцит: <20 нг/мл; Недостатність: 21-29 нг/мл; Достатність: >30 нг/мл; Інтоксикація > 150 нг/мл

Посилання 16

Національне товариство з остеопорозу 2013 року, вітамін D та здоров'я кісток: практичне клінічне керівництво для управління пацієнтами. Дефіцит: <12 нг/мл; Недостатність: 12-20 нг/мл; Достатність: > 20 нг/мл

Згідно з літературою, такі фактори, як харчування, сезон, колір шкіри, вік чи культура, впливають на нормальний рівень 25-ОН вітаміну D.

Діапазони концентрацій для класифікації вітаміну D повинні розглядатися як рекомендація.

Кожна лабораторія повинна встановити власні діапазони відповідно до стандарту ISO 15189: 2007. Вимоги до якості та компетенції, особливо для медичних лабораторій, або інших застосовних критеріїв.

Лінійність

Зразки, які містять високі рівні 25-ОН Вітаміну D, серійно розводили, щоб продемонструвати динамічний діапазон аналізу. Концентрацію 25-ОН Вітаміну D для кожного розведення було розраховано за допомогою технології SMC®.

Зразок	Розведення	Отримане значення	Очікуване значення	Очк/Отр [%]
		Од/мл	Од/мл	
1	1:1	170.2	200.0	85
	1:2	101.6	100.0	102
	1:4	44.6	50.0	89
	1:8	21.7	25.0	87
2	1:16	12.9	12.5	104
	1:1	129.2	120.0	107
	1:2	62.6	60.0	104
	1:4	25.1	30.0	84
3	1:8	15.3	15.0	102
	1:1	58.5	62.6	94
	1:2	28.5	31.3	91
	1:4	14.7	15.6	94
	1:8	9.7	7.8	124
	1:16	4.1	3.9	105

Межа виявлення

Найменша кількість виявленого Вітаміну D: 5 нг/мл

Відтворюваність

Точність в межах тесту: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 24 визначень в одному аналізі. Результати для точності в межах аналізу наведені в таблиці нижче.

Між серійна точність: Коефіцієнт варіації (CV) розраховували для кожного з трьох зразків за результатами 6 визначень в 5 різних аналізах. Результати для виконання до запуску точності наведені в таблиці нижче.

В середині аналізу		
Зразок	Середнє значення Од/мл	CV [%]
1	16.3	10.7
2	50.1	6.1
3	107.5	3.9

Між аналізами		
Зразок	Середнє значення Од/мл	CV [%]
1	16.5	14.7
2	45.6	7.9
3	98.9	4.2

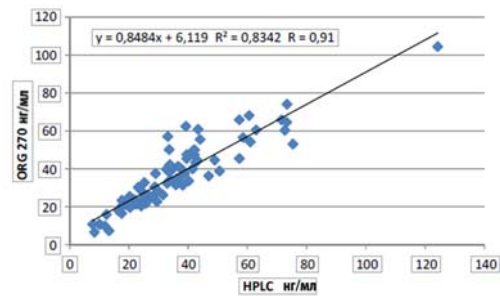
Інтерферуючі речовини

Не спостерігалось інтерференції при тестуванні зразків з гемолізом (до 1000 мг/дл) або ліпемічною сироваткою (до 3 г/дл тригліцеридів) або плазмою, або білірубіном (до 40 мг/дл) який містить сироватку або плазму. Не спостерігалось будь-якого впливу при використанні антикоагулянтів (Цитрат, ЕДТА, Гепарин). Проте з практичних міркувань рекомендується уникати сильно гемолізованих або ліпемних зразків.

Результати досліджень

У порівняльному дослідженні було проаналізовано 74 зразки сироватки вітаміну D у осіб віком від 8 до 89 років, 2/3 жінок та 1/3 чоловіків були проаналізовані. Було виявлено високу кореляцію між методом Alegria® 25-ОН Вітамін D₃/ D₂ та методом HPLC:

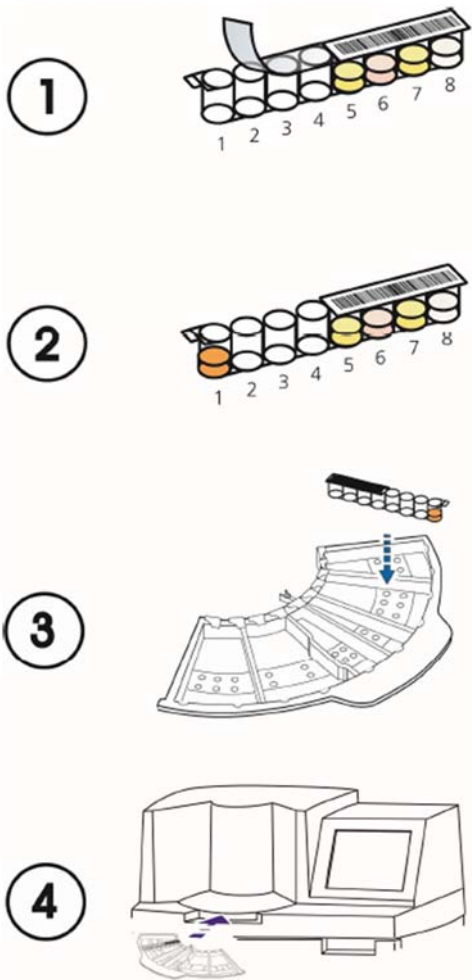
R=0.91



Специфічність

Специфічність було визначено шляхом вимірювання перехресної реактивності до 25-ОН Вітаміну D споріднених домішок. Перехресна реактивність вказується у % щодо реактивності 25-ОН Вітаміну D₃:

25-ОН Вітамін D ₃	100 %
25-ОН Вітамін D ₂	100.4 %
Вітамін D ₃ (Холекальциферол)	< 0.1 %
Вітамін D ₂ (Ергокальциферол)	< 0.6 %



ВИРОБНИК

ОРДЖЕНТЕК Діагностика ГмбХ
 Карл-Цайс-Штрассе 49-51
 55129 Майнц-Німеччина
 Телефон: +49(0) 61 31/92 58-0
 Факс: +49 (0) 61 31/92 58-58
 Інтернет: www.orgentec.com



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
 вул. Чорновола, 97
 м. Івано-Франківськ, 76005
 тел.: +38 (0342) 775 122
 факс: +38 (0342) 775 123
 e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

