

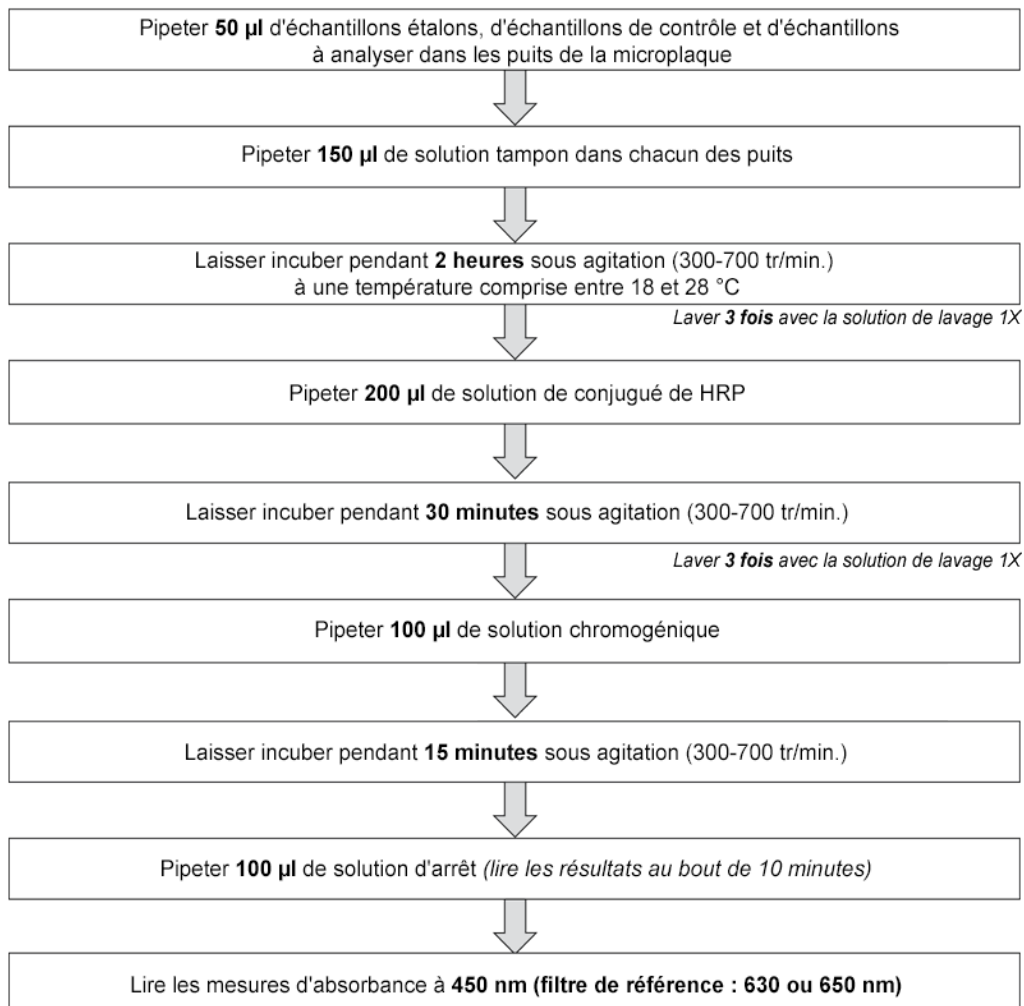
Essai immuno-enzymatique (EIE) de dosage *in vitro* de la 25-hydroxy-vitamine D₂ et D₃ (25-OH-vitamine D₂ et 25-OH-vitamine D₃) dans le sérum.

RÉSUMÉ

Préparation des réactifs et des échantillons

- Diluer la solution concentrée de tampon de lavage à hauteur de **1:200** au moyen d'eau déionisée
- Reconstituer les échantillons étalons et les échantillons de contrôle au moyen d'eau déionisée

Procédure d'essai





UTILISATION PRÉVUE

L'essai immuno-enzymatique de la 25-OH-vitamine D MicroVue a pour objectif de déterminer le dosage de la 25-hydroxy-vitamine D₂ et D₃ (25-OH vitamine D₂ et 25-OH-vitamine D₃) dans le sérum humain. Les résultats doivent être utilisés conjointement à ceux des autres tests cliniques et en laboratoire afin de déterminer le taux de vitamine D d'un patient.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Vitamine D est le terme générique utilisé pour désigner la vitamine D₂, ou ergocalciférol, et la vitamine D₃, ou cholécalciférol. Les êtres humains produisent naturellement de la vitamine D₃ lorsque la peau est exposée aux rayons UV émis par le soleil. La vitamine D₃ est métabolisée principalement dans le foie en 25-hydroxy-vitamine D₃ (25-OH-vitamine D₃), qui constitue la forme principale de vitamine D circulant dans le corps. La 25-OH-vitamine D₃ est un précurseur des autres métabolites de la vitamine D et son action utilisée seule est limitée. La forme dérivée la plus active est la 1,25-hydroxy-vitamine D₃, produite par le rein (ou le placenta) par 1-hydroxylation de la 25-OH-vitamine D₃. La 25-OH-vitamine D stimule l'absorption intestinale du calcium et du phosphore ainsi que la résorption et la minéralisation des os. La 25-OH-vitamine D peut également être active dans d'autres tissus responsables du transport du calcium (placenta, rein, glande mammaire, etc.) et dans la glande endocrine (glandes parathyroïdiennes, cellules bêta, etc.).

La vitamine D₃ et la vitamine D₂ sont également présentes par ingestion de nourriture ou de compléments alimentaires. Étant donné que la vitamine D₂ et la vitamine D₃ sont métabolisées de façon similaire, les deux contribuent au taux de vitamine D d'un individu. C'est pourquoi il est très important d'effectuer une mesure identique des deux formes de 25-OH-vitamine D afin d'établir un diagnostic correct de carence, d'insuffisance ou d'intoxication par la vitamine D.

Une carence en vitamine D est un facteur de risque important de rachitisme, d'ostéomalacie, d'ostéoporose sénile, de cancer et de grossesse difficile. La mesure des deux formes de 25-OH-vitamine D est également requise pour déterminer chez les patients la cause d'une concentration anormale de calcium du sérum. Il a été démontré qu'une intoxication par la vitamine D entraînait des dommages aux reins et aux tissus.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

L'essai immuno-enzymatique de dosage de la 25-OH-vitamine D MicroVue est un dosage immuno-enzymatique en phase solide quantitatif effectué sur des plaques de micro-titrage. Lors de la phase d'incubation de 2 heures, à température ambiante, la 25-OH-vitamine D totale (D₂ et D₃) présente dans les étalons, les contrôles et les échantillons est dissociée des protéines liant le sérum et se fixe aux liaisons d'un anticorps monoclonal spécifique. Après le premier cycle de lavage, une quantité fixe de 25-OH-vitamine D biotinylée mise en présence de peroxydase de raifort (HRP) entre en concurrence avec la 25-OH-vitamine D₂ et avec la 25-OH-vitamine D₃ présentes sur les liaisons de l'anticorps monoclonal spécifique. Au bout de 30 minutes d'incubation à température ambiante, la plaque de micro-titrage est lavée pour stopper la réaction de concurrence. La solution chromogénique (TMB) est ajoutée et incubée pendant 15 minutes. La réaction est stoppée par l'ajout d'une solution d'arrêt et la microplaque de dosage est alors lue à la longueur d'ondes appropriée. La quantité de substrat converti est déterminée par colorimétrie en mesurant l'absorption, laquelle est inversement proportionnelle à la concentration en 25-OH-vitamine D totale (D₂ et D₃).

Une courbe d'étalonnage est tracée, laquelle est utilisée pour calculer les concentrations en 25-OH-vitamine D totale (D₂ et D₃) des échantillons par interpolation des doses.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS

L'essai immuno-enzymatique de dosage de la 25-OH-vitamine D MicroVue est constitué des éléments suivants :

A	Échantillons-étalons de 25-OH-vitamine D	Partie A (échantillon-témoin 0)	1 x 2 ml (échantillon-étalon A)
	Lyophilisé. L'échantillon-étalon zéro est une matrice biologique (plasma humain) constituée de gentamycine et de ProClin®. Reconstituer avec 2 ml d'eau déionisée.		
B-F	Échantillons-étalons de 25-OH-vitamine D B-F (échantillons-témoins 1-5)	Partie B-F	1 x 1 ml (échantillons-étalons B-F)
	Lyophilisé. Sérum de cheval constitué de gentamycine et de ProClin®. Reconstituer chaque flacon avec 1 ml d'eau déionisée.		
L	Échantillon de contrôle de 25-OH-vitamine D (échantillon de contrôle 1)	Partie 4219716	1 x 1 ml
	Lyophilisé. Sérum humain constitué de ProClin®. Reconstituer avec 1 ml d'eau déionisée.		
H	Échantillon de contrôle de 25-OH-vitamine D (échantillon de contrôle 2)	Partie 4219717	1 x 1 ml
	Lyophilisé. Sérum humain constitué de ProClin®. Reconstituer avec 1 ml d'eau déionisée.		
①	Microplaque de dosage (plaque de micro-titrage)	Partie 4219708	12 x 8 puits
	Plaque de micro-titrage comportant 96 puits recouverts d'anticorps monoclonal anti-25-OH-vitamine D ₂ et D ₃ .		
②	Solution d'arrêt	Partie SS04	12 ml
	Contient de l'acide chlorhydrique (HCl) 1M.		
③	Solution concentrée de tampon de lavage 200X (Solution de lavage)	Partie 4219711	10 ml
	Contient du TRIS-HCl. Diluer avec de l'eau déionisée.		
④	Substrat de TMB (Solution chromogénique de TMB)	Partie SB04	12 ml
	Prêt à l'emploi. Contient du 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidène (TMB).		
⑤	25-OH-vitamine D biotinylée (Concentré conjugué)	Partie de 4119703	0,4 ml
	Concentré conjugué de 25-OH Diluer avec une solution de reconstitution.		
⑥	HRP concentré	Partie 4119713	0,2 ml
	Contient du HRP concentré.		
⑦	Solution de reconstitution (Tampon conjugué)	Partie 4119705	30 ml
	Prêt à l'emploi. Solution tampon conjuguée constituée de caséine et de ProClin®.		
⑧	Solution tampon de dosage (Tampon d'incubation)	Partie 4219713	20 ml
	Prêt à l'emploi. Solution tampon d'incubation constituée de caséine et de ProClin®.		

ProClin® est une marque déposée de la société Rohm and Haas.

Remarque : utiliser de la 25-OH-vitamine D échantillon-étalon A (échantillon-témoin 0) pour la dilution des échantillons dont les valeurs excèdent les limites normales supérieures. Aucun document international de référence n'est disponible.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Les éléments suivants sont requis, mais non fournis dans la trousse :

- Eau déionisée ou distillée
- Pipettes permettant de délivrer : 50 µl, 150 µl, 200 µl et 1 ml (l'utilisation de pipettes à contenance précise comportant un embout plastique jetable est recommandée)
- Vortex
- Agitateur magnétique
- Agitateur de plaques (300-700 tr/min)
- Laveur de microplaques de dosage
- Lecteur de microplaques de dosage capable de lire à 450 nm et à 650 nm ou à 630 nm (lecture bichromatique)

MISES EN GARDE

Sécurité

- Destiné au diagnostic *in vitro* uniquement.
- Les composants du sang humain inclus dans cette trousse ont été testés selon des méthodes approuvées par l'Union européenne et/ou la FDA et ont obtenu des résultats négatifs aux tests AgHBs, anti-VHC et anti-VIH 1 et 2. Aucune méthode connue ne permet de garantir à 100 % que les dérivés du sang humain ne transmettront pas l'hépatite, le SIDA ou d'autres infections. Aussi, la manipulation des réactifs, des échantillons de sérum ou de plasma doit être effectuée conformément aux procédures de sécurité locales.
- Tous les produits et dérivés d'origine animale ont été prélevés sur des animaux sains. Les composants bovins proviennent de pays dans lesquels aucun cas d'ESB n'a été recensé. Néanmoins, les composants contenant des substances d'origine animale doivent être traités comme des composants potentiellement infectieux.
- Éviter tout contact des réactifs avec la peau. Solution d'arrêt contenant de l'acide chlorhydrique. En cas de contact, laver abondamment à l'eau.
- Ne pas fumer, boire, manger, ni employer des produits cosmétiques dans l'espace de travail. Ne pas pipeter avec la bouche. Utiliser des vêtements de protection et des gants jetables.
- Pour plus d'informations, consulter la fiche de données de sécurité sur le site guidel.com.

CONSERVATION

- Avant ouverture ou reconstitution, tous les composants de la trousse n'ayant pas atteint la date de péremption, indiquée sur l'étiquette, sont stables s'ils sont conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C.
- Après reconstitution, les échantillons-étalons et les échantillons de contrôle sont stables pendant huit semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C. Pour des périodes de stockage plus longues, des aliquotes doivent être réalisées et conservées à une température de -20 °C pendant trois mois maximum. Évitez les cycles de congélation-décongélation successifs.
- Une solution de lavage active fraîchement préparée doit être utilisée le jour même.
- Des changements d'apparence physique des réactifs de la trousse peuvent indiquer leur instabilité ou leur détérioration.

PRÉPARATION DU RÉACTIF

Solution de tampon de lavage

Préparer un volume adéquat de solution de lavage active par ajout de 199 volumes d'eau déionisée pour 1 volume de solution de lavage (200X). Utiliser un agitateur magnétique pour homogénéiser le tout. Jeter le reste de la solution de lavage active non utilisée en fin de journée.

Échantillon-étalon A

Reconstituer l'échantillon-étalon A avec 2 ml d'eau distillée.

Échantillons-étalons B-F

Reconstituer les échantillons-étalons B-F avec 1 ml d'eau distillée.

Échantillons de contrôle

Reconstituer les échantillons de contrôle avec 1 ml d'eau distillée.

Solution de conjugué HRP active

La solution de conjugué de HRP active doit être absolument préparée dans les 15 minutes à compter du début des deux premières heures d'incubation.

Préparer un volume adéquat de solution de conjugué HRP active en mélangeant du conjugué concentré, du HRP concentré et de la solution tampon conjuguée en fonction du nombre de bandelettes utilisées, comme indiqué ci-dessous :

- Par exemple, pour 6 bandelettes (48 puits) : 100 µl de conjugué concentré et 50 µl de HRP concentré dans 10 ml de solution tampon conjuguée.
- Utiliser un vortex pour homogénéiser le tout.
- Conserver le conjugué de HRP actif à température ambiante jusqu'à son utilisation et éviter la lumière directe du soleil ou utiliser un flacon en verre marron pour réaliser la préparation.
- La préparation de conjugué HRP actif n'est pas stable et doit être jetée si elle n'est pas utilisée.

Nombre de bandelettes	Volume de 25-OH-vitamine D biotinylée (µl)	Volume de HRP concentré (µl)	Volume de solution de reconstitution (ml)
1	30	15	3
2	50	25	5
3	60	30	6
4	80	40	8
5	90	45	9
6	100	50	10
7	120	60	12
8	140	70	14
9	160	80	16
10	180	90	18
11	200	100	20
12	220	110	22

COLLECTE ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Cette trousse convient pour les échantillons de sérum.

Les échantillons de sérum doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Si l'essai n'est pas réalisé dans les 24 heures, il est recommandé de stocker les échantillons à une température de -20 °C.

Évitez les cycles de congélation-décongélation successifs.

PROCÉDURE D'ESSAI

Remarques concernant la manipulation

- Ne pas utiliser la trousse ou ses composants après la date de péremption.
- Ne pas mélanger les composants de lots de trousse différents.
- Amener tous les réactifs à température ambiante avant leur utilisation.
- Bien mélanger tous les réactifs et les échantillons en les agitant ou en les remuant doucement.
- Réaliser les échantillons-étalons, les échantillons de contrôle et les échantillons en double. L'alignement vertical est recommandé.
- Utiliser un récipient propre en plastique pour préparer la solution de lavage.
- Afin d'éviter une contamination croisée, utiliser un embout jetable pour pipette propre pour ajouter chaque réactif et chaque échantillon.
- Pour délivrer le substrat de TMB et la solution d'arrêt, ne pas utiliser de pipettes métalliques.
- L'utilisation de pipettes de grande précision ou d'un système automatisé de pipetage permettra d'améliorer le dosage.
- Respectez les temps d'incubation.
 - **Afin d'éviter toute dérive génétique, le temps entre le pipetage du premier échantillon-étalon et le pipetage du dernier échantillon ne doit pas dépasser la durée indiquée dans la section XIII, paragraphe E (Délai).**
- Préparer une courbe standard pour chaque série de tests ; ne pas réutiliser les données des séries de tests précédentes.

- Délivrer le substrat de TMB dans les 15 minutes suivant le lavage de la microplaque de dosage.
- Lors de l'incubation avec le substrat de TMB, éviter la lumière directe du soleil sur la microplaque de dosage.

Procédure

1. Sélectionner le nombre requis de bandelettes pour microplaque de dosage pour effectuer le test. Les bandelettes pour microplaque de dosage non utilisées doivent être rescellées dans la pochette contenant un dessiccant et conservées à une température comprise entre 2 et 8 °C.
2. Placer les bandelettes sur le support.
3. Pipeter 50 µl de chaque échantillon-étalon, de chaque échantillon-témoin et de chaque échantillon dans les puits appropriés.
4. Pipeter 150 µl de solution tampon de dosage dans l'ensemble des puits.
5. Incuber pendant deux heures à température ambiante, sur un agitateur de plaques (300-700 tr/min).
6. Préparer la solution conjuguée de HRP active une fois l'incubation commencée (dans les 15 minutes).
7. Aspirer le liquide contenu dans chaque puits.
8. Laver trois fois la plaque de la façon suivante :
 - délivrer 0,4 ml de solution de lavage dans chaque puits ;
 - aspirer le contenu de chaque puits.
9. Pipeter 200 µl de la solution conjuguée de HRP active dans chaque puits. Incuber la microplaque de dosage pendant 30 minutes à température ambiante, sur un agitateur de plaques (300-700 tr/min).
10. Aspirer le liquide contenu dans chaque puits.
11. Laver trois fois la plaque de la façon suivante :
 - délivrer 0,4 ml de solution de lavage dans chaque puits ;
 - aspirer le contenu de chaque puits.
12. Pipeter 100 µl de substrat de TMB dans les 15 minutes qui suivent le lavage de chaque puits .
13. Incuber la microplaque de dosage pendant 15 minutes à température ambiante, sur un agitateur de plaques (300-700 tr/min) ; éviter la lumière directe du soleil.
14. Pipeter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits.
15. Lire les valeurs d'absorption à 450 nm (filtre de référence de 630 nm ou 650 nm) dans l'heure qui suit et calculer les résultats comme décrits dans la section Interprétation des résultats.

CONTRÔLE QUALITÉ INTERNE

- Si les résultats obtenus pour l'échantillon de contrôle L et/ou pour l'échantillon de contrôle H ne sont pas compris dans la plage de valeurs indiquée sur l'étiquette du flacon, alors les résultats ne peuvent pas être utilisés, sauf si une explication satisfaisante a été donnée pour justifier la divergence.
- Chaque laboratoire peut, s'il le souhaite, préparer ses propres lots d'échantillons de contrôle, lesquels doivent être conservés à l'état congelé dans des aliquotes. Les échantillons de contrôle contenant de l'azote perturberont la réaction enzymatique et ne peuvent pas être utilisés.
- Les critères d'acceptation des divergences entre les résultats en double des échantillons doivent être conformes aux bonnes pratiques de laboratoire.
- Il est recommandé de procéder régulièrement au dosage des échantillons de contrôle en aveugle, afin de mesurer la variabilité des dosages. Les performances du dosage doivent être suivies à l'aide de graphiques de contrôle de la qualité des échantillons de contrôle.
- Il est d'usage de vérifier visuellement l'ajustement de courbe sélectionné par l'ordinateur.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Calcul des résultats

1. Lire la plaque à 450 nm par comparaison avec un filtre de référence à 650 nm (ou 630 nm).
2. Calculer la moyenne des déterminations.
3. Pour chaque étalon, contrôle et échantillon, calculer :

$$B/B_0 (\%) = \frac{DO (\text{échantillons-étalons B-F, échantillon de contrôle ou échantillon})}{DO (\text{échantillon-étalon A (échantillon-témoin 0)})} \times 100$$

4. En utilisant du papier quadrillé ou semi-logarithmique, placer sur la courbe les valeurs B/B₀(%) pour chaque point de l'échantillon-étalon comme fonction de la concentration en 25-OH-vitamine D de chaque point de l'échantillon-étalon. Rejeter les valeurs manifestement aberrantes.
5. Des méthodes assistées par ordinateur peuvent également être utilisées pour construire la courbe d'étalonnage. Si un traitement automatisé des résultats est utilisé, un ajustement de courbe de fonction logistique à quatre paramètres est recommandé.
6. Par interpolation de l'échantillon (valeurs B/B₀%), déterminer les concentrations en 25-OH-vitamine D des échantillons en se servant de la courbe d'étalonnage.

DONNÉES TYPIQUES

Les données suivantes ne sont indiquées qu'aux fins d'illustration et ne doivent en aucun cas être utilisées en lieu et place de la courbe d'étalonnage en temps réel.

Échantillon-étalon	Valeur d'absorption (DO)	Résultat (ng/ml)
A	2,54	0
B	1,71	10
C	1,27	25
D	0,61	55
E	0,23	100
F	0,09	180

VALEURS ATTENDUES

Le régime alimentaire, l'origine ethnique, la saison et l'âge sont des facteurs connus pour affecter les taux normaux de 25-OH-vitamine D₃. Chaque laboratoire doit fixer ses propres plages de valeurs acceptables en fonction de la population locale. Des articles récents suggèrent les plages de valeurs suivantes pour la classification du taux de 25-OH-vitamine D :

Niveau	ng/ml
Déficient	< 10
Insuffisant	10-29
Suffisant	30-100
Toxicité potentielle	> 100

PLAGES DE RÉFÉRENCE

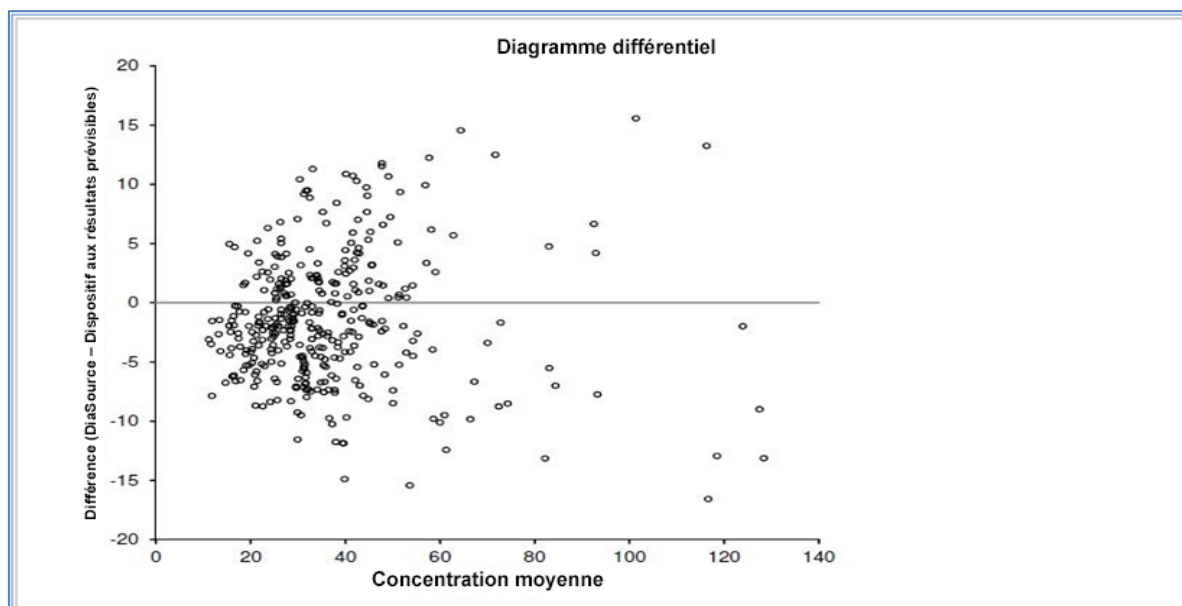
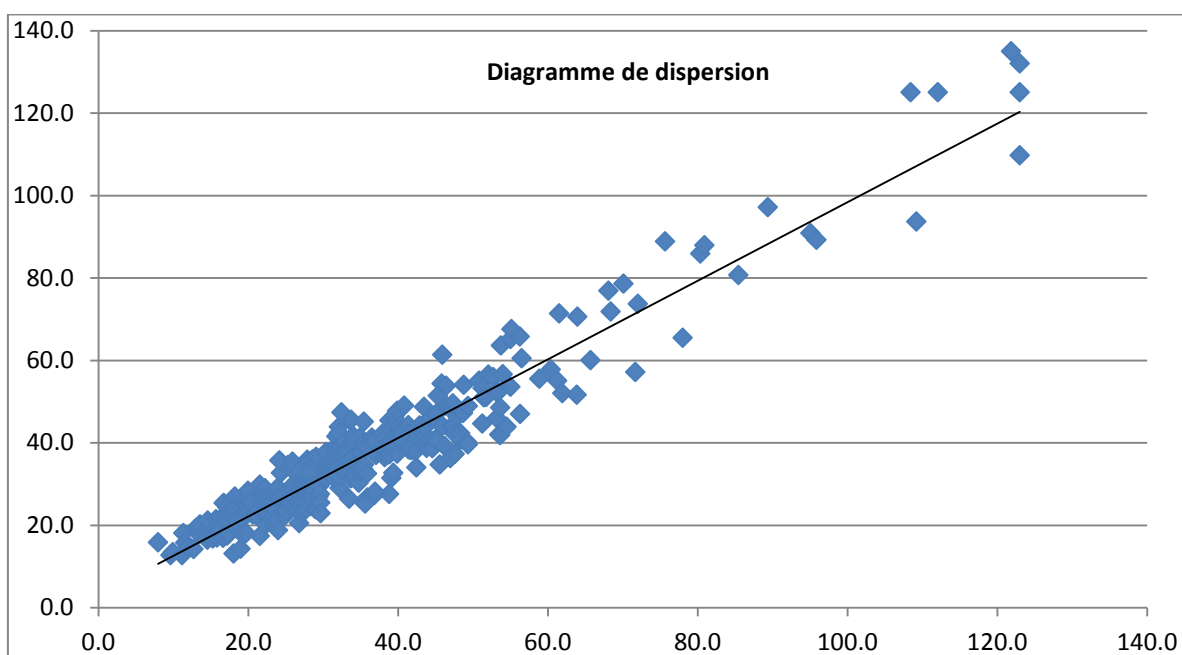
Des plages de référence ont été établies à partir des résultats obtenus sur 150 individus apparemment sains. Les échantillons de sérum de chaque patient ont été obtenus auprès d'une source commerciale certifiée et ont été prélevés dans un centre de dons agréé par la FDA sur des individus ayant fourni leur consentement éclairé. 50 échantillons provenaient du nord des É.-U. (Pennsylvanie), 50 autres du centre des É.-U. (Tennessee) et les 50 derniers du sud des É.-U. (Floride). Les échantillons prélevés durant la période hivernale (de janvier à mars) provenaient d'individus âgés de 21 à 92 ans appartenant à des populations à peau claire et à peau mate. Les individus sur lesquels ont été prélevés les échantillons ne prenaient pas de supplément en vitamine D, ne présentaient pas d'antécédents familiaux de pathologie parathyroïdienne ou liée à des troubles de la régulation de la calcémie, n'avaient jamais souffert de maladie rénale, hépatique, parathyroïdienne ou liée à des troubles de la calcémie, ni subi d'opération de chirurgie bariatrique, et ne prenaient aucun médicament connu pour affecter l'absorption ou le catabolisme de la vitamine D. Le tableau suivant résume les résultats obtenus :

Concentration	Floride	Tennessee	Pennsylvanie	Total
Conc. la plus élevée (ng/ml)	88,6	71,7	54,6	88,6
Conc. la plus faible (ng/ml)	6,1	4,9	5,9	4,9
Conc. médiane (ng/ml)	20,8	15,9	14,3	17,2

Seuls les 95 % centraux (2,5-97,5 %) des résultats observés ont été utilisés.

COMPARAISON DE LA MÉTHODE

Les performances de l'essai immuno-enzymatique de dosage de la 25-OH-vitamine D MicroVue ont été déterminées en procédant à une corrélation menée sur trois sites différents sur un total de 356 échantillons. Les échantillons ont été testés au moyen de l'essai immuno-enzymatique de dosage de la 25-OH-vitamine D MicroVue et d'un autre EIE de dosage de la 25-OH-vitamine D disponible dans le commerce. Les résultats obtenus étaient compris entre 8 et 123 ng/ml. Le coefficient de corrélation entre les deux méthodes était de 0,917 avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 87,6 et 93,6 %, une pente de 0,954 et un point d'intersection avec l'axe Y de 3,05. Les résultats sont résumés dans les courbes suivantes :



PERFORMANCES DU TEST

Limites du test

1. Cet essai constitue une aide au diagnostic et doit être utilisé conjointement avec les résultats cliniques.
2. Les performances de cet essai n'ont pas été évaluées chez les patients pédiatriques.
3. Les échantillons que l'on soupçonne de contenir des concentrations supérieures à l'échantillon témoin le plus élevé doivent être testés après dilution.
4. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés.

Limites de détection

La limite du blanc (LOB), la limite de détection (LOD) et la limite de dosage (LOQ) ont été déterminées conformément à la directive EP17-A du CLSI.

- La LOB a été calculée en mesurant le blanc plusieurs fois et en calculant le 95ème percentile de la distribution des valeurs obtenues lors des essais. Le calcul de la LOB a indiqué une valeur de 1,69 ng/ml.
- La LOD a été calculée conformément aux instructions de la directive. Le calcul de la LOD a indiqué une valeur de 2,81 ng/ml.
- La LOQ a été calculée en testant dix fois 5 échantillons de faible valeur dans un test différent.
- Le calcul de la LOQ a indiqué une valeur de 4,32 ng/ml avec un CV de 20 %.

SPÉCIFICITÉ

Réactivité croisée

La réactivité croisée de l'essai immuno-enzymatique de dosage de la 25-OH-vitamine D MicroVue a été déterminée en testant des échantillons de sérum au moyen de réactifs croisés dopés et non dopés. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Composé et concentration	Vitamine D dopée (ng/ml)	Vitamine D non dopée (ng/ml)	Pourcentage de réaction croisée
1,25 (OH) ₂ -Vitamine D ₃ à 200 ng/ml	57,3	16,7	20,3
1,25 (OH) ₂ -Vitamine D ₂ à 690 ng	29,9	16,7	1,9
Vitamine D ₃ à 200 ng/ml	22,5	16,7	2,9
Vitamine D ₂ à 200 ng/ml	19,3	16,7	1,3
24,25 (OH) ₂ -Vitamine D ₃ à 20 ng/ml	87,9	16,7	> 100
25,26 (OH) ₂ -Vitamine D ₃ à 4 ng/ml	31,1	16,7	> 100
3-épi-25 hydroxy-vitamine D ₃ à 20 µg/ml	31,58	16,7	0,07
25-OH-vitamine D ₃ à 10 ng/ml	26,7	16,7	100
25-OH-vitamine D ₂ à 10 ng/ml	25,0	16,7	83

Substances interférentes

L'effet des substances interférentes potentielles sur les échantillons lors de l'utilisation de l'EIE de dosage de la 25-OH-vitamine D MicroVue a été évalué. Différents niveaux d'hémoglobine, de bilirubine, de triglycérides, de vitamine C, de bilirubine conjuguée et non conjuguée et de Zemplar ont été testés dans des échantillons de sérum à différentes concentrations de 25-OH-vitamine D. Selon les critères que nous avons définis, le test était satisfaisant lorsque les interférences étaient inférieures à 10 %. Les substances testées n'ont pas altéré les performances de l'essai immuno-enzymatique de dosage de la 25-OH-vitamine D MicroVue.

Substance	25-OH-vitamine D (ng/ml)	Concentration en substances interférentes (mg/dl)	Variation moyenne (en %)
Hémoglobine	7,6	250	-0,5 %
		500	
	29,3	250	
		500	
	42,5	250	

Substance	25-OH-vitamine D (ng/ml)	Concentration en substances interférentes (mg/dl)	Variation moyenne (en %)
		500	
Bilirubine conjuguée	6,0	50	-3,5 %
		100	
	21,5	50	
		100	
Bilirubine non conjuguée	7,6	50	2,5 %
		100	
	29,3	50	
		100	
Bilirubine non conjuguée	7,6	50	2,5 %
		100	
	29,3	50	
		100	
Triglycérides	7,6	7,5	-4,3 %
		125	
	250		
		500	
Triglycérides	29,3	7,5	-4,3 %
		125	
	250		
		500	
Triglycérides	42,5	7,5	-4,3 %
		125	
	250		
		500	
Vitamine C	6,0	1	4,6 %
		10	
	100		
		1	
Vitamine C	21,5	10	4,6 %
		100	
	38,6	1	
		10	
		100	
Biotine	8,7	0,2	4,6 %
		2	
	4		
		0,2	
Biotine	19,8	2	4,6 %
		4	
	36,1	0,2	
		2	
		4	
Zemplar	17,6	0,0013	-4,3 %
		0,0025	
	0,0050		
		0,0013	
Zemplar	33,5	0,0025	-4,3 %
		0,0050	

Précision

La précision de l'essai a été calculée en testant des échantillons sur une période d'au moins 20 jours en utilisant des trousse d'essai provenant de trois lots différents. Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Intra-essai				Inter-essai			
Échantillon	N	<X> ± écart-type (ng/ml)	C.V. (%)	Échantillon	N	<X> ± écart-type (ng/ml)	C.V. (%)
A	24	5,6 ± 0,4	7.8	A	42	17,7 ± 1,3	7.4
B	35	27,4 ± 1,5	5.5	B	10	26,3 ± 1,3	4.7
C	35	43,0 ± 1,2	2.7	C	10	42,0 ± 1,9	4.5
D	24	81,2 ± 2,0	2.5	D	21	85,4 ± 7,8	9.4

Écart-type : Écart-type, CV : Coefficient de variation

Reproductibilité

La reproductibilité de l'essai a été évaluée en testant trois échantillons en double pendant cinq jours, à raison de deux fois par jour, sur trois sites comportant chacun deux techniciens. Les résultats moyens sont résumés dans le tableau suivant :

Échantillon	n	ng/ml		À l'intérieur d'une série	D'une série à l'autre	D'un jour à l'autre	D'une méthode à l'autre	D'un site à l'autre	Total
1	60	25,5	Écart-type	0,217	0,611	0,975	1,537	2,206	2,59
			CV	0,3 %	0,9 %	3,8 %	6,0 %	8,7 %	10,2 %
2	60	52,9	Écart-type	0,638	1,571	1,108	2,285	4,310	5,192
			CV	0,9 %	2,3 %	2,1 %	4,3 %	8,2 %	9,8 %
3	60	124,8	Écart-type	1,00	1,735	1,834	3,391	4,906	6,190
			CV	1,4 %	2,5 %	1,5 %	2,7 %	3,9 %	5,0 %

Récupération

La récupération a été évaluée en ajoutant différents niveaux de 25-OH-vitamine D aux échantillons. Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Test de récupération	
25-OH-vit. D ₃ ajoutée (ng/ml)	Récupération (%)
0	100
25	95
50	92
25-OH-vit. D ₂ ajoutée (ng/ml)	Récupération (%)
0	100
25	105
50	95

Linéarité

Deux échantillons présentant des concentrations connues à répartir sur la plage mesurable ont été testés à des dilutions équidistantes afin de déterminer la plage de linéarité de l'essai. Une analyse de régression linéaire a été réalisée. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Échantillon n° 1

Dilution de l'échantillon	Concentration théorique (ng/ml)	Concentration mesurée (ng/ml)	Pente	Point d'intersection avec l'axe Y	R ²	Récupération (%)
1/1	96,7	96,7	1,015	-0,298	0,99	100
1/2	48,5	47,6				98,1
1/4	24,2	24,5				101,2
1/8	12,1	11,1				91,7
1/16	6,0	6,2				103

Échantillon n° 2

Dilution de l'échantillon	Concentration théorique (ng/ml)	Concentration mesurée (ng/ml)	Pente	Point d'intersection avec l'axe Y	R ²	Récupération (%)
1/1	122,9	122,9	1,005	0,435	0,99	100
1/2	61,5	64,5				105
1/4	30,7	31,5				103
1/8	15,4	15,0				97,4
1/16	7,7	7,6				98,7

La détermination de la plage de linéarité de l'essai a indiqué une plage de valeurs comprises entre 7,7 et 122,9 ng/ml.

Délai

Le test temporel réalisé entre le dernier échantillon étalon et les résultats après ajout de l'échantillon sont représentés dans le tableau suivant.

	Délai		
	0 min. (ng/ml)	10 min. (ng/ml)	20 min. (ng/ml)
Échantillon n° 1	27,9	30,5	30,2
Échantillon n° 2	49,5	47,5	49,0

Les résultats de l'essai restent exacts, et ce, même lorsque la solution tampon est ajoutée 10 et 20 minutes après avoir introduit l'échantillon étalon dans les puits recouverts d'un anticorps monoclonal.

ASSISTANCE

Pour passer commande ou obtenir une assistance technique, veuillez contacter un conseiller commercial de Quidel au 800 874 1517 (depuis les États-Unis) ou au 858 552 1100 (si vous appelez de l'étranger), du lundi au vendredi, de 08 h 00 à 17 h 00 (heure de l'est des É.-U.). Les commandes peuvent être passées par fax au 740 590 9820. Pour obtenir une assistance par courriel, veuillez écrire à l'adresse custserv@quidel.com ou technicalsupport@quidel.com.

Pour toute demande de service à l'étranger, veuillez contacter votre distributeur local. Des informations supplémentaires sur Quidel, nos produits et nos distributeurs sont consultables sur notre site Web à l'adresse quidel.com.

RÉFÉRENCES

1. Zerwekh, J.E. Blood biomarkers of Vitamin D status. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008 ; 87(suppl.):1087S-1091S.
2. Holick, M.F. Resurrection of Vitamin D deficiency and rickets. *J. Clin. Invest.* 2006 ; 116:2062-2072.
3. Heaney, R.P. VitaminD: how much do we need and how much is too much. *Osteoporos. Int.* 2000 ; 11(7) 553-555.
4. Dawson-Hughes B., Heaney R.P., Holick M.F., Lips P., Meunier P.J. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos. Int.*, 1997 ; 7:439-443.
5. Bischoff-Ferrari, H.A., Giovannucci, E., Willett, W.C., Dietrich, T., Dawson-Hughes, B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006 ; 84(1):18-28.
6. Holick, M.F. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004 ; 80(6 suppl.):1678S-1688S.
7. Heaney, R.P. Defining deficiency of vitamin D. In : *Clinical Laboratory International*. 2010 ; 34:16-19.
8. Holick, M.F. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.* 2007 ; 357:266-281.
9. Taha, N.M., Vieth, R. The problem of an optimal target level for 25-Hydroxyvitamin D, the test for vitamin D nutritional status. In : *Clinical Laboratory International*. 2010 ; 34:28-30.
10. Holick M.F. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann. Epidemiol.*, 2009 ; 19:73-78.
11. National Osteoporosis Foundation, Prévention – Vitamine D.
<http://www.nof.org/aboutosteoporosis/prevention/vitaminD>
12. EP17-A Protocoles de détermination des limites de détection et des limites de dosage ; Directive approuvée, NORME publiée par le Clinical and Laboratory Standards Institute.

REF

8046 – Trousse MicroVue pour essai immuno-enzymatique de dosage de la 25-OH-vitamine D

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hanovre,
Allemagne



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 États-Unis
quidel.com

8046FR01 v2014MAY21

REF

Référence catalogue



Marquage CE de conformité

EC REP

Représentant autorisé
dans la Communauté européenne

LOT

Référence du lot



À utiliser avant le



Fabricant



Limite de température



Utilisation prévue



Consulter la notice en ligne



AVERTISSEMENT : Nocif en cas d'ingestion

IVD

Usage en diagnostic *In Vitro*



Risques biologiques



Contient une quantité suffisante
pour X déterminations

CONT

Contenu / Contient

CONTROL

Témoin