

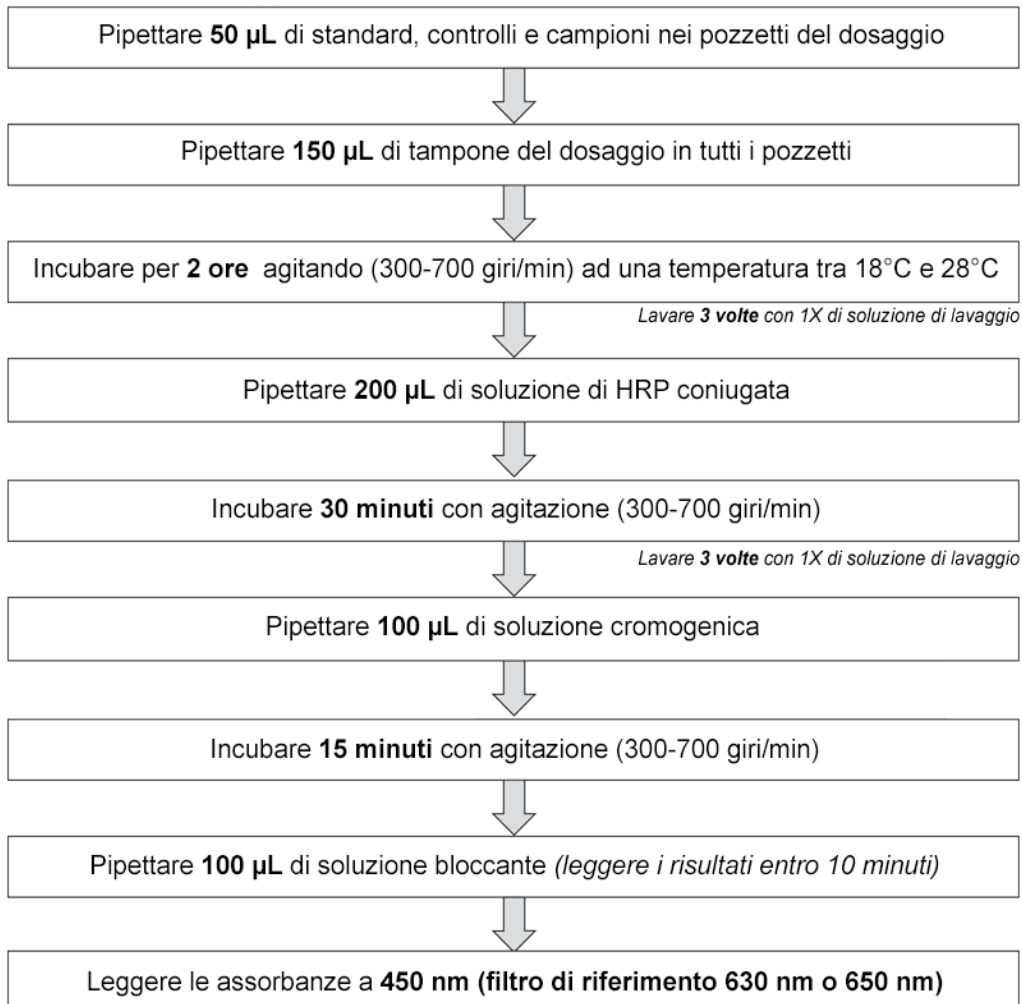
Dosaggio immunoenzimatico per la determinazione quantitativa *in vitro* della 25-idrossivitamina D₂ e D₃ (25OH-D₂ e 25OH-D₃) nel siero.

RIEPILOGO

Preparazione di reagenti e campioni

- Diluire il tampone di lavaggio concentrato **1:200** con acqua deionizzata DI
- Ricostituire standard e controlli con acqua deionizzata o distillata)

Procedura del dosaggio





USO PREVISTO

Il dosaggio immunoenzimatico MicroVue per 25-OH vitamina D è indicato per la determinazione quantitativa di 25-idrossivitamina D₂ e D₃ (25OH D₂ e 25OH D₃) nel siero umano. I risultati devono essere utilizzati in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio per la valutazione dello stato vitaminico D in un paziente.

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE

Vitamina D è il termine generico utilizzato per indicare la vitamina D₂, o ergocalciferolo, e la vitamina D₃, o colecalciferolo. L'uomo produce naturalmente vitamina D₃ esponendo la pelle ai raggi solari ultravioletti. In particolare nel fegato, la vitamina D₃ viene metabolizzata in 25-idrossivitamina D₃ (25OH D₃), cioè la forma principale della vitamina D in circolazione nel corpo. Il 25OH D₃ è un precursore di altri metaboliti della vitamina D ed ha anche una propria attività limitata. Il derivato più attivo è 1, 25-idrossivitamina D₃, prodotto dai reni (o dalla placenta) tramite 1-idrossilazione di 25OH D₃. La 25OH vitamina D stimola l'assorbimento di calcio e fosforo a livello intestinale, oltre al riassorbimento e alla mineralizzazione ossea. La 25OH vitamina D può anche essere attiva in altri tessuti responsabili del trasporto del calcio (placenta, rene, ghiandola mammaria, ecc.) e nelle ghiandole endocrine (ghiandole paratiroidee, cellule beta, ecc.).

Le vitamine D₃ e D₂ sono inoltre disponibili tramite ingestione di alimenti o integratori alimentari. Poiché la vitamina D₂ viene metabolizzata in modo simile alla vitamina D₃, entrambe contribuiscono allo stato vitaminico D globale di un individuo. Questo è il motivo per cui è molto importante misurare allo stesso modo entrambe le forme di 25OH vitamina D per una diagnosi corretta di carenza, insufficienza o intossicazione da vitamina D.

La carenza di vitamina D rappresenta un importante fattore di rischio in caso di rachitismo, osteomalacia, osteoporosi senile, cancro e esito della gravidanza. La misurazione di entrambe le forme di 25OH vitamina D è necessaria anche per determinare la causa di concentrazioni sieriche di calcio anomale nei pazienti. È stato dimostrato che l'intossicazione da vitamina D provochi danni a reni e tessuti.

PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

Il dosaggio immunoenzimatico MicroVue per 25-OH vitamina D è un dosaggio immunoassorbente legato a un enzima eseguito su piastre microtitolo. Nel corso di una prima fase di incubazione di 2 ore, a temperatura ambiente, la 25OH vitamina D totale (D₂ e D₃) presente in standard, controlli e campioni viene dissociata dalle proteine leganti del siero per fissarsi sui siti leganti di un anticorpo monoclonale specifico. Dopo una fase di lavaggio, una quantità fissa di 25OH vitamina D marcata con biotina in presenza di perossidasi di rafano (HRP) compete con la 25OH vitamina D₂ e la 25OH vitamina D₃ non marcate presenti sui siti leganti dell'anticorpo monoclonale specifico. Dopo un'incubazione di 30 minuti a temperatura ambiente, la micropiastra viene lavata per interrompere la reazione di competizione. La soluzione cromogenica (TMB) viene aggiunta e incubata per 15 minuti. La reazione viene interrotta con l'aggiunta di una soluzione bloccante e la piastra per microdosaggio viene quindi letta alla lunghezza d'onda appropriata. La quantità di substrato di turnover viene determinata colorimetricamente misurando l'assorbanza, che è inversamente proporzionale alla concentrazione di 25OH vitamina D totale (D₂ e D₃).

Viene tracciata una curva di calibrazione e le concentrazioni di 25OH vitamina D totale (D₂ e D₃) nei campioni vengono determinate tramite interpolazione della dose dalla curva di calibrazione.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI

Il dosaggio immunoenzimatico MicroVue per la 25-OH vitamina D contiene:

A	Standard di 25-OH vitamina D Liofilizzato. Lo standard zero è la matrice biologica (plasma umano) con gentamicina e ProClin®. Ricostituire con 2 mL di acqua deionizzata.	Codice A (Calibratore 0)	1 ciasc. x 2 mL (Std A)
B-F	Standard per 25-OH vitamina D B-F (Calibratori 1-5) Liofilizzato. Siero di cavallo con gentamicina e Proclin®. Ricostituire ciascun flacone con 1 mL di acqua deionizzata DI.	Codice B-F	1 ciasc. x 1 mL (Std B-F)
L	Controllo per 25-OH vitamina D (Controllo 1) Liofilizzato. Siero umano con ProClin®. Ricostituire con 1 mL di acqua deionizzata DI.	Codice 4219716	1 ciasc. x 1 mL
H	Controllo per 25-OH vitamina D (Controllo 2) Liofilizzato. Siero umano con ProClin®. Ricostituire con 1 mL di acqua deionizzata DI.	Codice 4219717	1 ciasc. x 1 mL
1	Piastra per microdosaggio (Piastra microtitolo) Piastra microtitolo con 96 pozzetti rivestiti con anticorpo monoclonale anti-25OH vitamina D ₂ e D ₃ .	Codice 4219708	12 x 8 pozzetti
2	Soluzione bloccante Contiene 1M di acido cloridrico (HCl).	Codice SS04	12 mL
3	Soluzione di lavaggio concentrata 200X (Soluzione di lavaggio) Contiene TRIS-HCl. Diluire con acqua deionizzata.	Codice 4219711	10 mL
4	Substrato TMB (Soluzione cromogenica TMB) Pronto all'uso. Contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidene (TMB).	Codice SB04	12 mL
5	25-OH vitamina D biotinilata (Coniugato concentrato) Coniugato concentrato 25OH. Diluire con soluzione di ricostituzione.	Codice 4119703	0,4 mL
6	HRP concentrata Contiene HRP concentrata.	Codice 4119713	0,2 mL
7	Soluzione di ricostituzione (Tampone coniugato) Pronto all'uso. Tampone coniugato con caseina e ProClin®.	Codice 4119705	30 mL
8	Tampone di dosaggio (Tampone di incubazione) Pronto all'uso. Tampone di incubazione con caseina e ProClin®.	Codice 4219713	20 mL

ProClin® è un marchio depositato di Rohm and Haas Company.

Nota: per la diluizione di campioni con valori superiori allo standard massimo, utilizzare standard A per 25-OH vitamina D (Calibratore 0). Non è disponibile alcun materiale di riferimento internazionale

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Sono richiesti i seguenti materiali ma non sono contenuti nel kit:

- Acqua deionizzata o distillata
- Pipette per l'erogazione di: 50 µL, 150 µL, 200 µL e 1 mL (è consigliato l'uso di pipette accurate con punta in plastica monouso)
- Agitatore rotatore
- Agitatore magnetico
- Agitatore per piastre (da 300 a 700 giri/min.)
- Contenitore di lavaggio per le piastre del microdosaggio
- Lettore per piastre per microdosaggio in grado di effettuare letture a 450 nm e 650 nm o 630 nm (lettura bicromatica)

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Sicurezza

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- I componenti ematici umani inclusi in questo kit sono stati testati con metodi approvati dalle autorità europee e/o dall'FDA e sono risultati negativi a HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e 2. Nessun metodo noto può offrire una garanzia completa che i prodotti derivati dal sangue non trasmettano epatite, AIDS o altre infezioni. Pertanto, occorre trattare i reagenti, il siero o i campioni di plasma in conformità con le procedure di sicurezza vigenti.
- Tutti i prodotti animali e derivati sono stati prelevati da animali sani. I componenti bovini provengono da paesi in cui non sono stati segnalati casi di encefalopatia spongiforme bovina. Ciononostante, i componenti contenenti sostanze animali devono essere trattati come potenzialmente infettivi.
- Evitare il contatto della pelle con tutti i reagenti. La soluzione bloccante contiene HCl. In caso di contatto, lavare abbondantemente con acqua.
- Non fumare, bere, mangiare o applicare cosmetici nell'area di lavoro. Non pipettare usando la bocca. Usare indumenti protettivi e guanti monouso.
- Per ulteriori informazioni, consultare le Schede sulla sicurezza disponibili sul sito guidel.com.

CONSERVAZIONE

- Prima dell'apertura o della ricostituzione, tutti i componenti dei kit sono stabili fino alla data di scadenza, indicata sull'etichetta, se conservati ad una temperatura compresa tra 2°C e 8°C.
- Dopo la ricostituzione, gli standard e i controlli sono stabili per otto settimane ad una temperatura compresa tra 2°C e 8°C. Per periodi di conservazione più lunghi, creare delle aliquote e conservare a -20°C per un massimo di 3 mesi. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente.
- La soluzione di lavaggio di lavoro deve essere utilizzata lo stesso giorno di preparazione.
- Eventuali alterazioni nell'aspetto fisico dei reagenti del kit possono indicare instabilità o deterioramento.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Tampone di lavaggio

Preparare un adeguato volume di soluzione di lavaggio di lavoro aggiungendo 199 volumi di acqua deionizzata a 1 volume di soluzione di lavaggio (200x). Omogeneizzare usando un agitatore magnetico. A fine giornata eliminare la soluzione di lavaggio di lavoro inutilizzata.

Standard A

Ricostituire lo standard A con 2 mL di acqua distillata.

Standard B-F

Ricostituire gli standard B-F con 1 mL di acqua distillata.

Controlli

Ricostituire i controlli con 1 mL di acqua distillata.

Soluzione di lavoro di HRP coniugata

La soluzione di lavoro di HRP coniugata deve essere preparata assolutamente entro 15 minuti dall'inizio della prima fase di incubazione di 2 ore.

Preparare un volume adeguato di soluzione di lavoro di HRP coniugata miscelando la il coniugato concentrato, l'HRP concentrata e il tampone coniugato in base al numero di strisce utilizzate, come indicato di seguito:

- Ad esempio, per 6 strisce (48 pozzetti): 100 µL di coniugato concentrato e 50 µL di HRP concentrata a 10 mL di tampone coniugato.
- Omogenizzare utilizzando un miscelatore.
- Fino al momento dell'uso, conservare il coniugato HRP di lavoro a temperatura ambiente ed evitare la luce solare diretta oppure usare un flacone in vetro marrone per la preparazione.
- La preparazione del coniugato HRP di lavoro non è stabile e in caso di inutilizzo deve essere eliminato.

Numero di strisce	Volume di 25-OH vitamina D biotinilata (μL)	Volume di HRP concentrata (μL)	Volume di soluzione di ricostituzione (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

PRELIEVO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Questo kit è adatto per i campioni di siero.

I campioni di siero devono essere conservati ad una temperatura compresa tra 2°C e 8°C.

Se il test non viene eseguito entro 24 ore, il campionamento e la conservazione devono avvenire a -20°C.

Evitare di congelare e scongelare ripetutamente.

PROCEDURA DEL DOSAGGIO

Note per la conservazione

- Non usare il kit o i componenti oltre la data di scadenza.
- Non miscelare materiali provenienti da lotti di kit differenti.
- Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso.
- Miscelare completamente tutti i reagenti e i campioni tramite una delicata agitazione o rotazione.
- Eseguire gli standard, controlli e campioni in duplicati. È consigliato l'allineamento verticale.
- Per preparare la soluzione di lavaggio utilizzare un contenitore in plastica pulito.
- Per evitare la contaminazione incrociata, usare una punta della pipetta pulita monouso per l'aggiunta di ciascun reagente e campione.
- Per la dispensazione del substrato TMB e della soluzione bloccante, evitare di usare pipette con parti in metallo.
- Per aumentare la precisione, usare pipette di alta precisione o attrezzature per la pipettatura automatizzata.
- Rispettare i tempi di incubazione.
 - **Per evitare derive, il tempo tra la pipettatura del primo standard e dell'ultimo campione deve essere limitato al tempo indicato nella sezione XIII paragrafo E (Ritardo).**
- Preparare una curva standard per ogni ciclo; non usare i dati di cicli precedenti.
- Dispensare il substrato TMB entro 15 minuti dal lavaggio della piastra per microdosaggio.
- Durante l'incubazione con il substrato TMB, evitare l'esposizione della piastra per microdosaggio alla luce solare diretta.

Procedura

1. Selezionare il numero richiesto di strisce per piastre per microdosaggio per il ciclo. Le strisce per piastre per microdosaggio inutilizzate devono essere riposte nella busta, che va sigillata e conservata a 2-8°C dopo aver aggiunto un desiccante.
2. Fissare le strisce nel telaio di supporto.
3. Pipettare 50 µL di standard, controllo e campione nei pozzetti corrispondenti.
4. Pipettare 150 µL di tampone per microdosaggio in tutti i pozzetti.
5. Incubare per 2 ore a temperatura ambiente su un agitatore per piastre (da 300 a 700 giri/min)
6. Dopo l'avvio dell'incubazione preparare la soluzione di lavoro di HRP coniugata (entro 15 minuti).
7. Aspirare il liquido da ogni pozzetto.
8. Lavare la piastra 3 volte:
 - Dispensando 0,4 mL di soluzione di lavaggio in ciascun pozzetto
 - Aspirando il contenuto di ciascun pozzetto
9. Pipettare 200 µL di soluzione di lavoro di HRP coniugata in ciascun pozzetto. Incubare la piastra per microdosaggio per 30 minuti a temperatura ambiente su un agitatore (da 300 a 700 giri/min).
10. Aspirare il liquido da ogni pozzetto.
11. Lavare la piastra 3 volte:
 - Dispensando 0,4 mL di soluzione di lavaggio in ciascun pozzetto
 - Aspirando il contenuto di ciascun pozzetto
12. Pipettare 100 µL di substrato TMB in ciascun pozzetto entro 15 minuti dalla fase di lavaggio.
13. Incubare la piastra per microdosaggio per 15 minuti a temperatura ambiente, su un agitatore per piastre (da 300 a 700 giri/min) ed evitare l'esposizione alla luce solare diretta.
14. Pipettare 100 µL di soluzione bloccante in ciascun pozzetto.
15. Leggere le assorbanze a 450 nm (filtro di riferimento 630 nm o 650 nm) entro un'ora e calcolare i risultati come descritto nella sezione Interpretazione dei risultati.

CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO

- Se i risultati ottenuti per il controllo L e/o il controllo H non rientrano nell'intervallo specificato sull'etichetta del flacone, potranno essere utilizzati solo se è possibile fornire una spiegazione soddisfacente sulla differenza.
- Se lo si desidera, ogni laboratorio può creare i propri pool di campioni di controllo, che devono essere conservati congelati in aliquote. I controlli che contengono azide interferiranno con la reazione enzimatica e non possono essere utilizzati.
- I criteri di accettazione per la differenza tra i risultati duplicati dei campioni devono essere basati sulle buone pratiche di laboratorio
- Si consiglia di eseguire i dosaggi di routine dei controlli come campioni sconosciuti per misurare la variabilità del dosaggio. Le prestazioni del dosaggio devono essere monitorate con i grafici di controllo qualità dei controlli.
- È buona pratica controllare visivamente l'adeguamento della curva selezionata dal computer.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Calcolo dei risultati

1. Leggere la piastra a 450 nm rispetto ad un filtro di riferimento impostato a 650 nm (o 630 nm).
2. Calcolare la media delle determinazioni in duplicato.
3. Per ogni standard, controllo e campione calcolare:

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{OD (standard B-F, controllo o campione)}}{\text{OD (standard A (calibratore zero))}} \times 100$$

4. Utilizzando carta per grafico lineare-lineare o semi-logaritmica, tracciare i valori (B/B₀(%)) per ogni punto standard in funzione della concentrazione di 25OH vitamina D di ogni punto standard. Rifiutare i valori palesemente anomali.

5. Per costruire la curva di calibrazione si possono utilizzare anche i metodi computerizzati. Se si esegue un'elaborazione automatica dei risultati, è consigliato un adeguamento della curva con funzione logistica a 4 parametri.
6. Tramite interpolazione dei valori del campione (B/B₀ (%)), determinare le concentrazioni di 25OH vitamina D dei campioni dalla curva di calibrazione.

DATI TIPICI

I seguenti dati hanno solo scopo illustrativo e non devono essere utilizzati al posto della curva di calibrazione in tempo reale.

Standard	Assorbanza (OD)	Risultato (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

VALORI PREVISTI

L'alimentazione, l'etnia, la stagione e l'età influiscono notoriamente sui livelli normali di 25OH vitamina D₃. Ciascun laboratorio deve stabilire il proprio intervallo in base alla popolazione locale. In articoli pubblicati recentemente sono stati suggeriti i seguenti intervalli per la classificazione dello stato della 25OH vitamina D:

Livello	ng/mL
Carenza	<10
Insufficienza	10-29
Sufficienza	30-100
Potenziale tossicità	>100

INTERVALLO DI RIFERIMENTO

Sono stati determinati degli intervalli di riferimento sulla base di 150 individui apparentemente sani. I campioni di siero dei singoli pazienti utilizzati provenivano da una fonte commerciale certificata e sono stati raccolti presso un centro autorizzato FDA dietro acquisizione di consenso informato. 50 campioni dagli Stati Uniti settentrionali (Pennsylvania), 50 campioni dagli Stati Uniti centrali (Tennessee) e 50 campioni dagli Stati Uniti meridionali (Florida). I campioni raccolti nei mesi invernali (gennaio-marzo), erano compresi nella fascia di età da 21 a 92 anni e includevano popolazioni di pelle sia chiara che scura. I campioni raccolti provenivano da soggetti che non assumevano integratori di vitamina D, non presentavano anamnesi familiari di paratiroidi o disfunzione di regolazione del calcio, nessuna anamnesi di patologie correlate a reni, fegato, paratiroidi, calcio o chirurgia bariatrica, e non assumevano farmaci in grado di alterare l'assorbimento o il catabolismo della vitamina D. I risultati sono riepilogati nella tabella seguente:

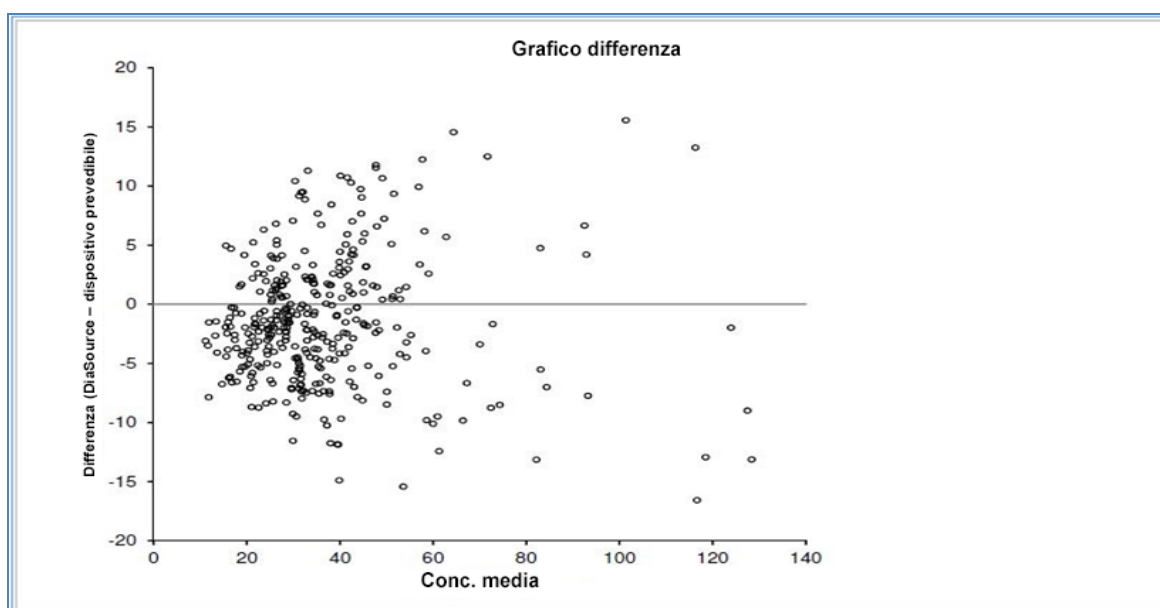
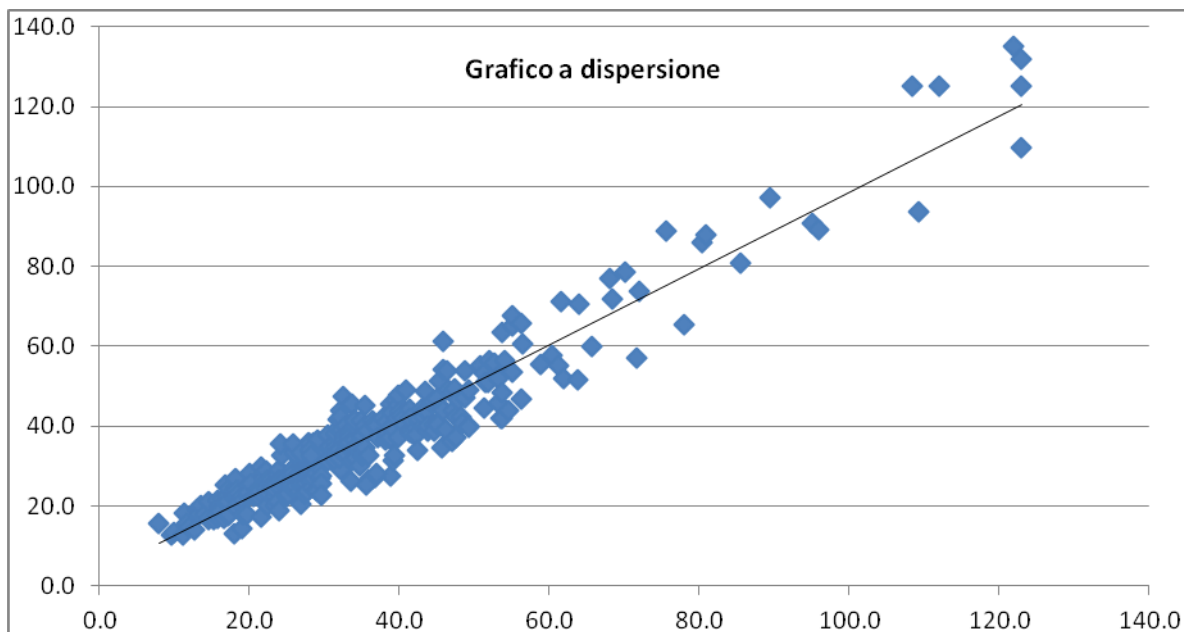
Concentrazione	Florida	Tennessee	Pennsylvania	Generale
Conc. max. (ng/mL)	88,6	71,7	54,6	88,6
Conc. min. (ng/mL)	6,1	4,9	5,9	4,9
Conc. media (ng/mL)	20,8	15,9	14,3	17,2

È stato usato solo il 95% centrale (2,5% - 97,5%) dei risultati osservati.

CONFRONTO DEI METODI

Le prestazioni del test MicroVue per 25-OH vitamina D sono state determinate conducendo uno studio di correlazione testato in tre diversi siti usando un totale di 356 campioni. I campioni sono stati testati sia con il dosaggio immunoenzimatico MicroVue per 25-OH vitamina D che con un dosaggio immunoenzimatico per 25OH vitamina D disponibile in commercio. I risultati erano compresi tra 8,0 ng/mL e 123,0 ng/mL, con coefficiente di

correlazione tra i due metodi 0,917, intervallo di confidenza del 95% compreso tra 87,6% e 93,6%, pendenza di 0,954 e intercetta y 3,05. I risultati sono riepilogati nei seguenti grafici:



PRESTAZIONI DEL TEST

Limitazioni del test

1. Il test contribuisce alla diagnosi e deve essere utilizzato insieme ai risultati clinici.
2. Le prestazioni di questo dosaggio non sono state determinate sulla base di una popolazione pediatrica.
3. I campioni sospettati di contenere concentrazioni superiori al calibratore massimo devono essere sottoposti a dosaggio in diluizione.
4. I campioni emolizzati non devono essere usati.

Limiti di rilevamento

Il limite di bianco (LOB), il limite di rilevazione (LOD) e il limite di quantificazione (LOQ) sono stati determinati in conformità con le linee guida CLSI EP17-A.

- Il LOB è stato calcolato misurando più volte il bianco e calcolando il 95° percentile della distribuzione dei valori del test. Il LOB è stato calcolato pari a 1,69 ng/mL.

- Il LOD è stato calcolato come descritto nelle linee guida. Il LOD è stato calcolato pari a 2,81 ng/mL.
- Il LOQ è stato calcolato testando 10 volte 5 campioni di valore basso con test diversi.
- Il LOQ è stato calcolato pari a 4,32 ng/mL con CV del 20%.

SPECIFICITÀ

Reattività crociata

La reattività crociata del dosaggio immunoenzimatico MicroVue per 25-OH vitamina D è stata determinata testando i sieri con reattanti crociati con l'aggiunta e senza l'aggiunta di vitamina D. I risultati sono riepilogati nella tabella seguente:

Composto e concentrazione	Con l'aggiunta di vitamina D (ng/mL)	Senza l'aggiunta di vitamina D (ng/mL)	Reattività crociata (%)
1,25(OH) ₂ -Vitamina D ₃ a 200 ng/mL	57,3	16,7	20,3
1,25(OH) ₂ -Vitamina D ₂ a 690 ng/mL	29,9	16,7	1,9
Vitamina D ₃ a 200 ng/mL	22,5	16,7	2,9
Vitamina D ₂ a 200 ng/mL	19,3	16,7	1,3
24,25(OH) ₂ -Vitamina D ₃ a 20 ng/mL	87,9	16,7	>100
25,26(OH) ₂ -Vitamina D ₃ a 4 ng/mL	31,1	16,7	>100
3-epi-25 idrossi-vitamina D ₃ a 20 µg/mL	31,58	16,7	0,07
25 OH Vitamina D ₃ a 10 ng/mL	26,7	16,7	100
25 OH vitamina D ₂ a 10 ng/mL	25,0	16,7	83

Sostanze interferenti

È stato valutato l'effetto delle potenziali sostanze interferenti sui campioni usando il dosaggio immunoenzimatico MicroVue per 25-OH vitamina D. Sono stati testati livelli differenti di emoglobina, bilirubina, trigliceridi, vitamina C, bilirubina coniugata e non coniugata e Zemplar in campioni di siero su campioni con diverse concentrazioni di 25OH vitamina D. I nostri criteri di accettazione prevedevano un'interferenza inferiore al 10%. Le sostanze testate non influivano sulle prestazioni del dosaggio immunoenzimatico MicroVue per 25-OH vitamina D.

Sostanza	25OH Vitamina D (ng/mL)	Concentrazione di sostanza interferente (mg/dL)	Variazione media (%)
Emoglobina	7,6	250	-0,5%
		500	
	29,3	250	
		500	
	42,5	250	
		500	
Bilirubina coniugata	6,0	50	-3,5%
		100	
	21,5	50	
		100	
	38,6	50	
		100	
Bilirubina non coniugata	7,6	50	2,5%
		100	
	29,3	50	
		100	
	42,5	50	
		100	
Trigliceridi	7,6	7,5	-4,3%
		125	
		250	
		250	
		500	

Sostanza	25OH Vitamina D (ng/mL)	Concentrazione di sostanza interferente (mg/dL)	Variazione media (%)
	29,3	7,5	
		125	
		250	
		500	
	42,5	7,5	
		125	
		250	
		500	
Vitamina C	6,0	1	4,6%
		10	
		100	
	21,5	1	
		10	
		100	
	38,6	1	
		10	
		100	
Biotina	8,7	0,2	4,6%
		2	
		4	
	19,8	0,2	
		2	
		4	
	36,1	0,2	
		2	
		4	
Zemplar	17,6	0,0013	-4,3%
		0,0025	
		0,0050	
	33,5	0,0013	
		0,0025	
		0,0050	

Precisione

La precisione del dosaggio è stata calcolata analizzando i campioni su un periodo di almeno 20 giorni su tre lotti differenti. I risultati sono riepilogati nella tabella seguente:

Intra-dosaggio				Inter-dosaggio			
Campione	N	<X> ± DS (ng/mL)	C.V. (%)	Campione	N	<X> ± DS (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

DS: deviazione standard, CV: coefficiente di variazione

Riproducibilità

La riproducibilità del dosaggio è stata valutata testando tre campioni in duplicato per cinque giorni, due volte al giorno, in tre siti con due tecnici per sito. I risultati medi sono riepilogati nella tabella seguente:

Campione	n	ng/mL		Durante il ciclo	Tra cicli	Tra i giorni	Tra tecnici	Tra siti	Totale
1	60	25,5	DS	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	DS	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	DS	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%

Recupero

Il recupero è stato valutato aggiungendo livelli differenti di 25OH vitamina D ai campioni. I risultati sono riepilogati nella tabella seguente:

Test di recupero	
Aggiunta 25OH-Vit D ₃ (ng/mL)	Recupero (%)
0	100
25	95
50	92
Aggiunta 25OH-Vit D ₂ (ng/mL)	Recupero (%)
0	100
25	105
50	95

Linearità

Due campioni con concentrazioni note da distribuire all'interno dell'intervallo misurabile sono stati testati a diluizioni equidistanti per determinare l'intervallo lineare del dosaggio. È stata eseguita un'analisi della regressione lineare. I risultati sono riepilogati nella tabella seguente:

Campione 1

Diluizione campione	Concentrazione teorica (ng/mL)	Concentrazione misurata (ng/mL)	Pendenza	Intercetta Y	R ²	Recupero (%)
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

Campione 2

Diluizione campione	Concentrazione teorica (ng/mL)	Concentrazione misurata (ng/mL)	Pendenza	Intercetta Y	R ²	Recupero (%)
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

L'intervallo lineare del dosaggio è risultato compreso tra 7,7 ng/mL e 122,9 ng/mL.

Ritardo

Il test del ritardo tra l'ultimo standard e i risultati di dispensazione del campione sono mostrati nella tabella seguente.

Ritardo			
	0 min (ng/mL)	10 min (ng/mL)	20 min (ng/mL)
Campione 1	27,9	30,5	30,2
Campione 2	49,5	47,5	49,0

I risultati del dosaggio rimangono accurati anche quando il campione del dosaggio viene dispensato 10 e 20 minuti dopo l'aggiunta dello standard nei pozzetti rivestiti.

ASSISTENZA

Per effettuare un ordine o per ottenere assistenza tecnica, contattare un rappresentante Quidel al numero (800) 874-1517 (negli stati uniti), oppure al numero +1 (858) 552-1100 (al di fuori degli stati uniti), dal lunedì al venerdì, dalle 8:00 alle 17:00, ora della costa orientale. Gli ordini possono essere effettuati anche via fax al numero +1 (740) 592-9820. Per avere assistenza via e-mail, scrivere a custserv@quidel.com oppure a technicalsupport@quidel.com.

Per servizi al di fuori degli stati uniti, contattare il distributore di zona. Maggiori informazioni su Quidel, i nostri prodotti e i nostri distributori sono disponibili sul sito web quidel.com.

BIBLIOGRAFIA

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. Vitamin D: 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(3):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 Prevention – Vitamin D.
<http://www.nof.org/aboutosteoporosis/prevention/vitamind>
12. EP17-A Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline, STANDARD published by Clinical and Laboratory Standards Institute.

REF

8046 – MicroVue 25-OH Vitamin D EIA Kit

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germania



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 Stati Uniti
quidel.com

8046IT01 v2014MAY21

REF

Numero di catalogo



Marchio di conformità CE

EC REP

Rappresentante autorizzato
nella Comunità Europea

LOT

Codice di lotto



Data di scadenza



Produttore



Limitazione di temperatura



Uso previsto



Leggere le istruzioni per l'uso sull'etichetta elettronica



AVVERTENZA: nocivo se ingerito (per via orale)

IVD

Per uso diagnostico *in vitro*



Rischi biologici



Contenuto sufficiente per
X determinazioni

CONT

Contenuto / Contiene

CONTROL

Controllo
