

1. Intended Use

For *In Vitro* Diagnostic Use

The IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} assay is an *in vitro* diagnostic device intended for the quantitative determination of 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)₂D] in human serum on the IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Results are to be used as an aid in the assessment of vitamin D sufficiency.

Rx only.

2. Summary and Explanation

There are two forms of vitamin D: vitamin D₃ and vitamin D₂. Vitamin D₃, cholecalciferol, is the naturally occurring vitamin D that is produced in the skin after the exposure of 7-dehydrocholesterol to solar ultraviolet radiation¹. Vitamin D₂ is manufactured through the ultraviolet irradiation of ergosterol from yeast. Both are used in vitamin D supplements. The vitamin D compound is biologically inactive but enters the circulation and is hydroxylated in the liver to 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], which is used to determine a patient's vitamin D status.

In the kidney, 25(OH)D is further hydroxylated to produce the biologically active metabolite, 1,25(OH)₂D¹. 1,25(OH)₂D is one of the major regulators of calcium and phosphate metabolism, stimulating intestinal calcium absorption and increasing bone resorption. 1,25(OH)₂D also inhibits parathyroid hormone (PTH) production both by direct action on the parathyroid glands and indirectly by raising serum calcium levels. 1,25(OH)₂D production is itself stimulated by parathyroid hormone (PTH), thus providing an effective control loop¹. Fibroblast growth factor 23 [FGF-23], secreted from the bone, causes the sodium-phosphate co-transporter to be internalised by the cells of the kidney and small intestine and also suppresses 1,25(OH)₂D synthesis².

In secondary hyperparathyroidism, a disease outside of the parathyroids causes the parathyroid glands to become enlarged and hyperactive. It is usually caused by kidney failure, a problem where the kidney is unable to cleanse the blood of phosphorus produced by the body and unable to make enough vitamin D, specifically 1,25(OH)₂D - the active form of vitamin D. The build-up of phosphorus leads to low levels of calcium in the blood, which stimulates the parathyroid glands to increase parathyroid hormone (PTH) production leading to enlargement of the glands. As the disease progresses, the parathyroid glands no longer respond normally to calcium and Vitamin D. The rationale for direct activated vitamin D therapy in CKD is to slow the progression of secondary hyperparathyroidism. Clinical practice guidelines such as the 'Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)' and 'Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)' recommend activated vitamin D therapeutic regimens for CKD patients^{3,4}.

3. Method Description

The IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} kit is a complete test system involving immunoextraction of 1,25-dihydroxyvitamin D in human serum and quantitative determination of 1,25(OH)₂D levels on the IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (System).

In the cuvette 1, 218 µL of patient sample is delipidated then incubated with a specific anti-1,25(OH)₂D antibody coated magnetic particles. After incubation, the magnetic particles are washed and the 1,25(OH)₂D in the patient sample is eluted. 180 µL of the extracted 1,25(OH)₂D sample is transferred to cuvette 2 where the immunoassay, based on chemiluminescence technology, takes place.

In the cuvette 2, 180 µL purified samples are incubated with biotinylated sheep anti-1,25(OH)₂D antibody. Following the first incubation step, an acridinium labelled 1,25(OH)₂D conjugate is added followed by a subsequent incubation step. Streptavidin labelled magnetic particles are then added prior to a third incubation step. The magnetic particles are captured using a magnet and a wash step performed to remove any unbound 1,25(OH)₂D. Trigger reagents are added; the resulting light emitted by the acridinium label is inversely proportional to the concentration of 1,25(OH)₂D in the original sample.

4. Warnings and Precautions

The IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} is for *in vitro* diagnostic use only and is not for internal use in humans or animals. This product must be used strictly in accordance with the instructions set out in these Instructions For Use (IFU). Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) will not be held responsible for any loss or damage (except as required by statute), howsoever caused, arising out of non-compliance with the instructions provided.

CAUTION: This kit contains material of animal origin. Handle kit reagents as if capable of transmitting an infectious agent. Appropriate precautions and good laboratory practice must be used in the storage, handling and disposal of the kit reagents. Disposal of kit reagents should be in accordance with local regulations.

Human materials

Human material used in the preparation of this product has been tested by FDA recommended assays for the presence of antibody to Human Immunodeficiency Virus (HIV I and II), Hepatitis B surface antigen, antibody to Hepatitis C, and found to be negative. As no test can offer complete assurance that infectious agents are absent, the reagents should be handled according to Biosafety Level 2.

Reagents containing Sodium Azide

Some reagents in this kit contain sodium azide (NaN₃) <0.1 % (w/w) which may react with lead, copper or brass plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with large volumes of water to prevent azide build up.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Handling Precautions

Apart from the calibrators, which are lyophilised, the reagents provided in the kit are ready to use. Refer to the Calibrator section of the procedure for reconstitution methodology.

Before a new cartridge is loaded onto the System, the magnetic particle container requires mixing by the operator with a brisk rotation motion. This will re-suspend the magnetic particles that have settled during shipment. Care must be taken to avoid foam formation in the reagent cartridge.

Shelf Life and Storage of Reagents

Store the cartridge and calibrators in an **upright** position in the dark at 2 - 8 °C. **Do not freeze** the cartridge or the calibrators.

Reagent shelf life	Immunextraction Cartridge	Immunoassay Cartridge	Calibrators
Before opening at 2 - 8 °C	To the expiry date		
Cartridge, after opening at 2 - 8 °C	N/A	56 Days	N/A
Calibrators, after reconstitution at 2 - 8 °C	N/A	N/A	6 Hours
On board the System *	28 Days	49 Days	3 Hours

* Continuous on board stability

6. Sample Collection and Storage

The assay should be performed using serum (standard sampling tubes or tubes containing serum separating gel) samples.

- Samples should be separated as soon as possible after collection.
- Following separation, samples can be stored for a maximum of 24 hours at room temperature (18 - 25°C) or up to 7 days at 2-8°C. If longer time is required between separation and testing, the samples should be stored at -20°C.
- Samples can be stored at -20°C for up to 2.5 months, following which they should be stored at -80°C.
- Samples may undergo up to 2 freeze thaw cycles and should be completely thawed and mixed well prior to loading onto the instrument.
- Samples are stable on-board the analyser for a maximum of 3 hours.

Note:

- Samples containing particulate matter must be centrifuged before performing the assay. Do not use heat-inactivated samples.
- To minimise possible evaporation effects, samples, calibrators and controls should be measured within 3 hours of being placed on the System.
- Each laboratory should follow the guidelines or requirements of local, state, and/or federal regulations or accrediting organizations to establish its own specimens handling and storage stability. For guidance on appropriate practices, please refer to the CLSI GP44-A4, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests".
- Before performing assays, make sure that samples, calibrators and controls are at room temperature (18 - 25°C).
- Some commercially available sample collection tubes may affect the results of testing in particular cases.
- It is recommended to follow the instructions of the tube manufacturer especially when processing samples in primary tubes.
- Centrifuged samples with a lipid layer on the top must be transferred to a sample cup or secondary tube. Care must be taken to transfer only the clarified samples without the lipemic material.
- **The samples MUST equilibrate to room temperature (18 - 25°C) before loading onto the System in order to optimise the delipidation step.**

7. Materials

Materials Provided

Immunoextraction Cartridge, 2 cartridges of 50 tests

MPA1	Magnetic particles coated with monoclonal antibody to 1,25(OH) ₂ D, 1 vial, 2.8 mL.
DEL	Delipidation reagent, a solution of dextran sulphate and magnesium chloride, 1 vial, 2.6 mL.
DIS	Displacer reagent, a proprietary reagent for dissociating 1,25(OH) ₂ D from binding proteins with sodium azide as preservative (<0.1%), 1 vial, 18.7 mL.
ELU	Elution reagent, a solution of sodium hydroxide, 1 vial, 13.0 mL.
NET	Neutralisation reagent, a solution of citric acid, 1 vial, 3.4 mL.
BUF	Assay buffer, a MOPS buffer containing bovine serum albumin, 1vial, 9 mL per vial.

Immunoassay Cartridge, 1 cartridge of 100 tests

MPS3	Magnetic particles coated with streptavidin in a phosphate buffer containing bovine serum albumin with sodium azide as a preservative (<0.1%), 1 vial, 2.6 mL.
CONJ	Conjugate, 1,25(OH) ₂ D labelled with an acridinium ester derivative, in a phosphate buffer containing bovine serum albumin with sodium azide as preservative (<0.1%), 1 vial, 9.6 mL.
Ab-BIOT	Antibody-Biotin, anti-1,25(OH) ₂ D polyclonal antibody labelled with biotin in a phosphate buffer containing sheep proteins and sodium azide as preservative (<0.1%), 1 vial, 13 mL.
BUFD	Wash buffer, 1% proprietary detergent in PBS with sodium azide as a preservative (<0.1%), 1 vial, 35 mL per vial.

Calibrators

CAL A	Lyophilised MOPS buffer containing bovine serum albumin, 1,25(OH) ₂ D with sodium azide as preservative (<1.0%), 3 each of 2 concentration levels, 1.2 mL per bottle.
CAL B	

Mini CD

Contains IFU for IDS-iSYS reagents, CRY files and Certificate of Analysis.

Materials Required But Not Provided

System

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Optional equipment / materials

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
	Disposable polypropylene 2 mL, 10.8 mm diameter conical skirted base, screw cap micro tubes and screw cap with O-ring (Sarstedt 72.609 and 65.716 or equivalent)
	Precision Pipetting Devices

8. Assay Procedure

Immunoextraction Reagent Cartridge

The reagents provided in the cartridge are ready to use. Before a new cartridge is loaded on board the System, the magnetic particles container must be completely re-suspended. The magnetic particles can be prepared following using one of following options, avoid foam formation:

Manually:

- Mix the magnetic particles vial briskly between the palms of the hands in a back and forth motion until the colour of the suspended particles has changed to brown.
- Gently and carefully invert the magnetic particles vial until all settled magnetic particles in the bottom of the vial have re-suspended.
- Visually check the bottom of the magnetic particles vial to confirm that all settled magnetic particles have completely dispersed.
- Repeat the inversion as necessary until the magnetic particles are completely re-suspended.
- Ensure that there is no foam formation in the cartridge reagents.

End-over end test/blood tube rotator:

- Gently and carefully remove the particle vial from the plastic clip.
- Mount the particles vial on the test/blood holder.
- Rotate the vial at 10-20 revolutions per minute for 15 minutes at room temperature (18-25°C).
- Visually check the bottom of the magnetic particles vial to confirm that all settled magnetic particles have completely dispersed.
- Repeat the inversion as necessary until the magnetic particles are completely re-suspended.
- Ensure that there is no foam formation in the cartridge reagents.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Refer to the IDS-iSYS XPrep user manual for usage instructions.

The barcode is read when the cartridge is loaded on the reagent tray. If the label cannot be read by the System's barcode reader, a manual procedure exists to enter the barcode data (see IDS-iSYS User Manual). Once the cartridge is on the reagent tray, the System automatically performs the mixing of magnetic particles to maintain homogeneity.

Do not perform the cartridge level scan on the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction cartridge as this will result in less than 50 tests being obtained from the cartridge.

The cartridge should be loaded on the reagent tray for at least 60 minutes before starting the assay. Leave the immunoextraction reagent cartridge on-board the System until the cartridge has been fully depleted.

Immunoassay Reagent Cartridge

The reagents provided in the cartridge are ready to use. Before a new cartridge is loaded on board the System, mix the magnetic particles container with a brisk rotation motion between the palms of the hands. Avoid foam formation.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Refer to the IDS-iSYS XPrep user manual for usage instructions

The barcode is read when the cartridge is loaded on the reagent tray. If the label cannot be read by the System's barcode reader, a manual procedure exists to enter the barcode data (see IDS-iSYS User Manual). Once the cartridge is on the reagent tray, the System automatically performs the mixing of magnetic particles to maintain homogeneity.

Do not perform the cartridge level scan on the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay cartridge as this will result in less than 100 tests being obtained from the cartridge.

The cartridge should be loaded on the reagent tray for at least 40 minutes before starting the assay. If the cartridge is removed from the reagent tray, store the cartridge upright at 2 - 8°C in the dark.

Calibrators

The IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} assay has been standardised against in-house reference standards which has been aligned to the validated 1,25-dihydroxyvitamin D LC-MS/MS.

The IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} calibrators are lyophilised. Prepare the calibrators following below procedure:

- Ensure the calibrators equilibrate to room temperature (18 - 25°C).
- Immediately before use, add 1.2 mL of distilled or deionised water to each bottle.
- Replace the stopper. Allow the vials to stand for 10 minutes at room temperature (18-25°C).
- Vortex for 2-3 seconds; invert gently to ensure complete reconstitution.
- Transfer approximately 750 µL for triplicate calibration (180 µL per replicate) of calibrators to polypropylene 2 mL, conical skirted base, screw cap micro tubes and place onto the System within 15 minutes of reconstitution and measure within 3 hours. The calibrators do not go through the purification procedure
- Avoid the formation of foam during each step.
- Proceed according to the instructions in the IDS-iSYS User Manual.

Calibration Frequency

A new calibration is required:

- Upon loading each new lot of cartridges.
- When the control values do not fall within the defined ranges.
- When the calibration interval of 21 days has expired.
- After System service.

Verification of the calibration is automatic and managed by the System.

System Calibration

The two IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} calibrators are required to perform the adjustment of the master curve. The calibrators are supplied with the kit and calibrators from another lot must not be used. All levels of IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) MUST be measured at the same time as the calibrators to validate the master curve adjustment.

All data required for the calibration of the cartridge can be found on the mini CD. Use calibrator levels A and B to adjust the master curve to the reagents on board the System. Check for the presence of an IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction and an Immunoassay cartridge on the reagent tray and the availability of the cartridge master curve in the database. If the data for the lot of calibrators is not available on board the System, load the data using the mini CD provided with the reagent kit.

Start the immunoassay calibration on the System according to the System User Manual. The calibration is carried out using 3 replicates of each level. One replicate may be removed to meet the calibration requirements. All control levels must also be measured in duplicate to calibrate the assay. Verify and approve the calibration according to the calibration status displayed in the calibration window and discard the remaining volume of calibrators and controls from the sample tray after use.

9. Quality Control

Use the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set for quality control. To ensure validity of results at least two controls with varying levels of 1,25(OH)₂D should be measured. Other suitable control material can be used in addition to the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Controls should be tested at (or near) the beginning of every run containing patient samples and also during every calibration in accordance with local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's quality procedure. Refer to the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set IFU for preparation and handling instructions.

Determination of Sample 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D) levels

Process samples according to the IDS-iSYS System User Manual.

10. Calculation of Results

The concentration of 1,25(OH)₂D within each sample is calculated automatically. Display of the concentrations (screen or printed) is produced upon user request.

The IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} assay uses a 4-parameter logistic curve fit (4PL) to calculate the 1,25(OH)₂D concentrations.

To convert results to SI units: pmol/L = pg/mL x 2.4

11. Measurement Range (Reportable Range)

The reportable range of the assay is 7.5 - 150 pg/mL (18 – 360 pmol/L). Any value that reads below 7.5 pg/mL (18 pmol/L) should be reported as “< 7.5 pg/mL” (“< 18 pmol/L”).

12. Dilution

Samples with 1,25(OH)₂D concentrations above the reportable range should be diluted manually with IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) in a ratio of 1 in 2. The results for diluted samples must be multiplied by the 2x dilution factor.

13. Limitations of Use

- As in the case of any diagnostic procedure, results must be interpreted in conjunction with the patient’s clinical presentation and other information available to the physician.
- The performance characteristics of this assay have not been established in a paediatric population.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with *in vitro* immunoassays⁵. Patients routinely exposed to animals or to animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed.
- The following substances do not interfere in the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} assay when the concentrations presented in the following table are below the stated threshold.

Potentially Interfering Agent	Threshold Concentration
Albumin	7.5 g/dL
Bilirubin, conjugated	40 mg/dL
Bilirubin, unconjugated	40 mg/dL
Biotin	0.1 mg/dL
Cholesterol, total	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Haemoglobin	500 mg/dL
Rheumatoid Factor	7000 IU/mL
Triglycerides	3000 mg/dL
Acetaminophen	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Carbamazepine	127 µmol/L
Phenytoin	198 µmol/L
Acetylsalicylic Acid	65 mg/dL
Salicylic Acid	60 mg/dL

14. Expected Values

The following ranges were determined using the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} assay and are provided for information only.

Samples from 121 apparently healthy male and female adults aged 19 – 69 years of age from mix ethnic backgrounds (34% dark-skinned and 66% light-skinned) were assayed in the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Samples were collected during the winter (36%) and summer (64%) from individuals with normal intact PTH, calcium, phosphate, and TSH values from the northern and southern regions of the United States. The 95 % reference interval for apparently healthy adults were calculated by a non-parametric method following guidance from CLSI C28-A3 “Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory”.

Obtained normal adults range: 15.2 to 90.1 pg/mL (36.5 to 216.2 pmol/L)

15. Performance Data

Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

15.1 Sensitivity

The limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ) were determined with guidance from CLSI EP17-A, “Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation”.

Sensitivity	1,25(OH) ₂ D Concentration	
	pg/mL	pmol/L
LoB (Limit of Blank)	2.5	6.0
LoD (Limit of Detection)	4.2	10.1
LoQ (Limit of Quantitation)	7.5	18.0

15.2 Precision

Precision was evaluated in accordance with a modified protocol based on CLSI EP-5A2, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods". A total of 6 samples were assayed in duplicate, twice per day for 7 days using one lot of reagents on one system.

Sample	n	Mean		Repeatability SD		CV%	Total SD		CV%
		pg/mL	pmol/L	pg/mL	pmol/L		pg/mL	pmol/L	
Serum 1	28	15.0	36.0	3.0	7.2	10.8	3.1	7.4	11.7
Serum 2	28	27.7	66.5	1.8	4.3	4.8	2.3	5.5	9.8
Serum 3	28	42.9	103.0	4.6	11.0	9.8	10.4	25.0	10.2
Serum 4	28	87.3	209.5	3.2	7.7	8.4	8.8	21.1	13.0
Control 1	28	24.2	58.1	7.4	17.8	7.6	11.4	27.4	9.5
Control 2	28	80.4	193.0	11.8	28.3	4.0	19.9	47.8	10.9

15.3 Linearity

Linearity was evaluated based on CLSI EP-6A, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Samples were prepared by diluting a high patient sample with a low patient sample prior to assay. The linear regression of the Observed concentrations versus the Expected concentrations (Expected = Slope x Observed ± Intercept) is:

Slope	Intercept		Regression coefficient (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1.08	-6.5	-15.6	0.99

15.4 Method Comparison

The IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} assay was compared against the commercially available quantitative IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D assay, following CLSI EP-9A2, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". A total of 105 samples, selected to represent a wide range of 1,25(OH)₂D concentrations [11.4 - 150 pg/mL (27.4 – 360 pmol/L)], were assayed by each method. Passing-Bablok regression analysis was performed on the comparative data:

n	Slope	Intercept		Correlation coefficient (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0.97	6.0	14.4	0.94

15.5 Specificity

The following exogenous synthetic vitamin D metabolites or vitamin D drug compounds were spiked into serum samples and measured with the IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} assay.

Analyte	Cross-Reactivity (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106.7%
25-OH D ₃	0.04%
25-OH D ₂	0.16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0.00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0.06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0.00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0.52%
Alfacalcidol	0.01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0.00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0.00%
Sensipar	0.00%
Zemplar (paracalcitol)	5.70%

16. Symbols used



Catalogue Number



In Vitro Diagnostic Device



Manufacturer



Applied in accordance with directive 98/79/EC

Rx Only

Caution: US Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a (licensed healthcare practitioner)

17. Bibliography

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
e-mail: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Fax: +1 301 990 4236
e-mail: info.us@idsplc.com

France Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Fax: +33 140 770 455
e-mail: info.fr@idsplc.com

Belgium Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Fax: +32 425 251 96
e-mail: info.be@idsplc.com

Germany Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Fax: +49 693 085 5125
e-mail: info.de@idsplc.com

Scandinavia Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS
Nordic a/s), International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel: +45 448 400 91
e-mail: info.nordic@idsplc.com

Brazil IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel: +55 113 740 6100 • Fax: + 55 113 740 6105
email: info.br@idsplc.com

1. Utilisation prévue

Pour diagnostic *In Vitro*

Le dosage IDS-iSYS1,25 VitD^{xp} est un dispositif diagnostique *in vitro* servant à la détermination quantitative de la 1,25-dihydroxyvitamine D [1,25(OH)₂D] dans le sérum humain sur le système IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Les résultats vont pouvoir aider à juger d'une carence éventuelle en vitamine D.

Rx only.

2. Résumé et explication

Il existe deux formes de vitamine D : la vitamine D₃ et la vitamine D₂. La vitamine D₃, le cholécalciférol, est la vitamine D naturellement synthétisée dans la peau après exposition du 7-déhydrocholestérol aux rayons ultraviolets du soleil¹. La vitamine D₂ est synthétisée par transformation de l'ergostérol de levure suite à une exposition aux rayons ultraviolets. Les deux sont utilisés dans la supplémentation en vitamine D. Le composé appelé vitamine D est inactif sur le plan biologique, mais pénètre dans la circulation et est hydroxylé dans le foie en 25-hydroxyvitamine D [25(OH)D], qui est utilisée pour déterminer l'état d'un patient relativement à la vitamine D.

Dans le rein, la 25(OH)D subit une nouvelle hydroxylation pour produire le métabolite biologiquement actif, la 1,25(OH)₂D¹. La 1,25(OH)₂D est l'un des principaux régulateurs du métabolisme du calcium et du phosphore, stimulant l'absorption intestinale du calcium et augmentant la résorption osseuse. Par ailleurs, la 1,25(OH)₂D inhibe la production de parathormone (PTH) à la fois directement en agissant sur les glandes parathyroïdes et indirectement en élevant le calcium sérique. La production de 1,25(OH)₂D est elle-même stimulée par la parathormone (PTH), ce qui constitue une boucle de contrôle efficace¹. Le facteur de croissance des fibroblastes 23 [FGF-23], qui est sécrété par l'os, provoque l'internalisation du cotransporteur sodium-phosphate par les cellules du rein et de l'intestin grêle, et supprime également la synthèse de la 1,25(OH)₂D².

Dans l'hyperparathyroïdie secondaire, une maladie extérieure aux glandes parathyroïdes, ces dernières sont élargies et hyperactives. Cette maladie est généralement due à une insuffisance rénale, problème qui se traduit par l'incapacité du rein à éliminer le phosphore produit par l'organisme dans le sang et à produire suffisamment de vitamine D, plus précisément de 1,25(OH)₂D — la forme active de la vitamine D. L'accumulation de phosphore entraîne des taux de calcium bas dans le sang, ce qui pousse les glandes parathyroïdes à augmenter la production de parathormone (PTH) et provoque leur élargissement. Au fur et à mesure que la maladie progresse, les glandes parathyroïdes ne répondent plus normalement au calcium et à la vitamine D. La raison d'être d'un traitement direct par vitamine D activée dans l'IRC est de ralentir la progression de l'hyperparathyroïdie secondaire. Les directives de pratique clinique telles que « Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI) » et « Kidney Disease : Improving Global Outcomes (KDIGO) » recommandent des traitements en vitamine D activée chez les patients souffrant d'IRC^{3,4}.

3. Description de la technique

Le kit IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} est un système de dosage complet impliquant l'immunoextraction de la 1,25-dihydroxyvitamine D dans le sérum humain et la détermination quantitative des taux de 1,25(OH)₂D sur le système IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (le Système).

Dans la cuvette n° 1, un volume de 218 µL d'échantillon patient est délipidé puis incubé à l'aide de particules magnétiques enrobées d'anticorps anti-1,25(OH)₂D spécifiques. Après incubation, les particules magnétiques sont lavées et la 1,25(OH)₂D de l'échantillon patient est éluée. 180 µL de l'échantillon de 1,25(OH)₂D sont transférés dans la cuvette n° 2, où l'immunoessai, qui repose sur la technologie de la chimiluminescence, est effectué.

Dans la cuvette n° 2, des échantillons purifiés d'un volume de 180 µL sont mis en incubation avec un anticorps de mouton anti-1,25(OH)₂D biotinylé. Après la première étape d'incubation, un conjugué de 1,25(OH)₂D marqué à l'acridinium est ajouté, suivi d'une nouvelle étape d'incubation. Des particules magnétiques marquées à la streptavidine sont ensuite ajoutées avant de procéder à une troisième étape d'incubation. Les particules magnétiques sont capturées à l'aide d'un aimant, et une étape de lavage est effectuée pour retirer toute la 1,25(OH)₂D qui n'a pas été liée. Les réactifs déclencheurs sont ajoutés ; la lumière résultante émise par le marquage à l'acridinium est inversement proportionnelle à la concentration en 1,25(OH)₂D dans l'échantillon original.

4. Avertissements et précautions

Le kit IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} est réservé au diagnostic *in vitro* et ne doit pas être utilisé sur l'homme ou l'animal. Ce produit doit être utilisé en respectant scrupuleusement les instructions présentées dans le présent mode d'emploi. Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) décline toute responsabilité en cas de perte ou de dommage (sauf contrainte légale), quelle qu'en soit la cause, consécutif au non-respect des instructions fournies.

ATTENTION : Ce kit contient des substances d'origine animale. Manipuler les réactifs du kit comme s'ils étaient susceptibles de transmettre un agent infectieux. Prendre toutes les précautions appropriées et respecter les bonnes pratiques de laboratoire pour tout ce qui concerne la conservation, la manipulation et l'élimination des réactifs du kit. L'élimination des réactifs du kit doit être faite en suivant les réglementations locales.

Substances d'origine humaine

Les substances d'origine humaine utilisées dans la préparation de ce produit ont été testées dans le cadre des tests recommandés par la FDA en vue de détecter la présence d'anticorps au Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH I et II), d'antigènes de surface à l'hépatite B et d'anticorps de l'hépatite C, et tous ces tests se sont avérés négatifs. Dans la mesure où aucun test ne peut garantir complètement l'absence d'agents infectieux, les réactifs doivent être manipulés conformément aux directives de biosécurité de niveau 2.

Réactifs contenant de l'azote de sodium

Certains réactifs présents dans ce kit contiennent de l'azoture de sodium (NaN_3) < 0,1 % (en pourcentage massique), qui est susceptible de réagir avec les canalisations en plomb, en cuivre ou en laiton, pour former des azotures métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination de l'azoture de sodium, rincer avec une grande quantité d'eau pour éviter la formation d'azotures.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Précautions de manipulation

À l'exception des calibrateurs, qui sont lyophilisés, les réactifs fournis dans le kit sont prêts à l'emploi. Se reporter à la section relative aux calibrateurs pour connaître la méthode de reconstitution.

Avant de charger une nouvelle cartouche sur le Système, le récipient à particules magnétiques doit être mélangé par l'opérateur en lui appliquant un mouvement de rotation rapide. Cela va remettre en suspension les particules magnétiques qui se sont déposées pendant le transport. Des précautions doivent être prises pour éviter la formation de mousse dans la cartouche de réactifs.

Durée de vie et conservation des réactifs

Conserver la cartouche et les calibrateurs **en position verticale** et dans l'obscurité à une température comprise entre 2 et 8 °C. **Ne pas congeler** la cartouche ou les calibrateurs.

Durée de vie des réactifs	Cartouche d'immunoextraction	Cartouche d'immunodosage	Calibrateurs
Avant ouverture : entre 2 et 8 °C	Jusqu'à la date de péremption		
Cartouche : après ouverture, entre 2 et 8 °C	s.o.	56 jours	s.o.
Calibrateurs : après reconstitution, entre 2 et 8 °C	s.o.	s.o.	6 heures
Chargé sur le Système*	28 jours	49 jours	3 heures

* Stabilité continue sur le Système

6. Collecte et conservation des échantillons

Le dosage doit être exécuté sur des échantillons de sérum (tubes de prélèvement standard ou contenant un gel séparateur de sérum).

- Les échantillons doivent être séparés dès que possible après le prélèvement.
- Suite à la séparation, les échantillons doivent être conservés pendant une durée maximale de 24 heures à température ambiante (18–25 °C) ou pendant une durée maximale de 7 jours entre 2 et 8 °C. Si des périodes plus longues sont nécessaires entre la séparation et le dosage, les échantillons doivent être conservés à -20 °C.
- Les échantillons peuvent être conservés à -20 °C pendant une durée maximale de 2,5 mois, après quoi ils doivent être conservés à -80 °C.
- Les échantillons peuvent subir jusqu'à 2 cycles de congélation-décongélation, et ils doivent être décongelés complètement et bien mélangés avant d'être chargés sur le Système.
- Les échantillons sont stables à bord de l'analyseur pendant une durée maximale de 3 heures.

Remarque :

- Les échantillons contenant de la matière sous forme de particules doivent être centrifugés avant d'effectuer le dosage. Ne pas utiliser des échantillons inactivés à la chaleur.
- Afin de minimiser les effets d'évaporation possible, les échantillons, les calibrateurs et les contrôles doivent être analysés dans les 3 heures qui suivent le moment où ils ont été placés sur le Système.
- Chaque laboratoire doit se conformer aux directives ou aux exigences de la réglementation locale, nationale et/ou fédérale, ou à celles des organismes d'accréditation, pour définir ses propres procédures de manipulation des échantillons et de stabilité de stockage. Pour plus de détails sur les pratiques appropriées, merci de vous reporter à CLSI GP44-A4, « Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests ».
- Avant d'effectuer des dosages, s'assurer que les échantillons, les calibrateurs et les contrôles sont à température ambiante (entre 18 et 25 °C)
- Certains tubes de prélèvement d'échantillon vendus dans le commerce peuvent affecter les résultats des analyses dans certains cas particuliers.
- Il est recommandé de suivre les instructions du fabricant du tube, en particulier lors du traitement des échantillons dans les tubes primaires.

- Les échantillons centrifugés présentant une couche lipidique sur la partie supérieure doivent être transférés dans une cupule à échantillon ou un tube secondaire. Des précautions doivent être prises pour transférer uniquement des échantillons clarifiés sans le matériel lipémique.
- **L'échantillon DOIT se stabiliser à température ambiante (18 à 25 °C) avant d'être placé dans le Système, afin d'optimiser l'étape de délipidation.**

7. Substances

Substances fournies

Cartouche Immunoextraction, 2 cartouches de 50 tests

MPA1	Particules magnétiques enrobées d'anticorps monoclonal anti-1,25(OH) ₂ D, 1 flacon de 2,8 mL.
DEL	Réactif de délipidation, solution de dextran sulfate et de chlorure de magnésium, 1 flacon de 2,6 mL.
DIS	Réactif de déplacement, réactif exclusif pour dissocier la 1,25(OH) ₂ D des protéines de liaison avec de l'azoture de sodium comme conservateur (< 0,1 %), 1 flacon de 18,7 mL.
ELU	Réactif d'éluion, solution d'hydroxyde de sodium, 1 flacon de 13,0 mL.
NET	Réactif de neutralisation, solution d'acide citrique, 1 flacon de 3,4 mL.
BUF	Tampon de dosage, tampon MOPS contenant de l'albumine de sérum bovin, 1 flacon de 9 mL.

Cartouche Immunoassay, 1 cartouche de 100 tests

MPS3	Particules magnétiques enrobées de streptavidine dans un tampon phosphaté contenant de l'albumine de sérum bovin et de l'azoture de sodium comme conservateur (< 0,1 %), 1 flacon de 2,6 mL.
CONJ	Conjugué de 1,25(OH) ₂ D marquée avec un dérivé d'ester d'acridinium, dans un tampon phosphaté contenant de l'albumine de sérum bovin et de l'azoture de sodium comme conservateur (< 0,1 %), 1 flacon de 9,6 mL.
Ab-BIOT	Anticorps biotinylé, anticorps polyclonal anti-1,25(OH) ₂ D marqué à la biotine dans un tampon phosphaté contenant des protéines ovines et de l'azoture de sodium comme conservateur (< 0,1 %), 1 flacon de 13 mL.
BUFD	Tampon de lavage, détergent exclusif à 1 % en solution saline tamponnée au phosphate avec de l'azoture de sodium comme conservateur (< 0,1 %), 1 flacon, 35 mL par flacon.

Calibrateurs

CAL A	Tampon MOPS lyophilisé contenant de l'albumine de sérum bovin, de la 1,25(OH) ₂ D et de l'azoture de sodium comme conservateur (< 1,0 %), 3 paires des 2 niveaux de concentration, 1,2 mL par flacon.
CAL B	

Mini CD

Contient le mode d'emploi des réactifs IDS-iSYS, les fichiers CRY et le certificat d'analyse.

Substances nécessaires, mais non fournies

Système		Équipement/matériel facultatif	
IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System	IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{xp} Calibration Verifiers
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{xp} Control Set	IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes	IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)	Microtubes jetables à bouchon à vis et à base conique à jupe de 10,8 mm de diamètre en polypropylène, d'une capacité de 2 mL, et bouchon à vis avec joint torique (Sarstedt 72.609 et 65.716 ou équivalent)	
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)	Dispositifs de pipetage de précision	
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set		
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)		
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)		
IS-DW225	Disposable waste bags		
IS-DS100	D-SORB solution		

8. Procédure d'analyse

Cartouche de réactifs Immunoextraction

Les réactifs fournis dans la cartouche sont prêts à l'emploi. Avant le chargement d'une nouvelle cartouche dans le Système, les particules magnétiques doivent être complètement remises en suspension. Les particules magnétiques peuvent être préparées en suivant l'une des options suivantes pour éviter la formation de mousse :

Manuellement :

- Mélanger le flacon de particules magnétiques entre les paumes des mains dans un mouvement de va-et-vient jusqu'à ce que les particules suspendues deviennent brunes.
- Retourner délicatement et soigneusement le flacon de particules jusqu'à ce que toutes les particules magnétiques situées au fond du flacon soient suspendues.
- Inspecter visuellement le fond du flacon de particules magnétiques pour vérifier que toutes les particules magnétiques restantes se sont totalement dispersées.
- Retourner à nouveau si nécessaire, jusqu'à ce que les particules magnétiques soient complètement suspendues.
- S'assurer de l'absence de mousse dans les réactifs de la cartouche.

Agitateur rotateur de tubes à essais/d'échantillons sanguins :

- Sortir délicatement et soigneusement le flacon de particules du clip en plastique.
- Placer le flacon de particules dans le porte-tubes à essais/d'échantillons sanguins.
- Centrifuger le flacon à 10–20 tours par minute pendant 15 minutes à température ambiante (18–25 °C).
- Inspecter visuellement le fond du flacon de particules magnétiques pour vérifier que toutes les particules magnétiques restantes se sont totalement dispersées.
- Retourner à nouveau si nécessaire, jusqu'à ce que les particules magnétiques soient complètement suspendues.
- S'assurer de l'absence de mousse dans les réactifs de la cartouche.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Se reporter au mode d'emploi d'IDS-iSYS XPrep pour connaître les instructions d'utilisation.

Le code-barres est lu lorsque la cartouche est chargée sur le plateau de réactifs. Si le lecteur de code-barres du Système ne parvient pas à lire l'étiquette, il existe une procédure manuelle pour saisir les données du code-barres (voir le mode d'emploi de l'IDS-iSYS). Une fois la cartouche sur le plateau de réactifs, le Système procède automatiquement au mélange des particules magnétiques pour préserver l'homogénéité.

Ne pas effectuer de lecture du niveau de la cartouche sur la cartouche IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Immunoextraction, car dans ce cas le nombre de tests que la cartouche serait en mesure d'exécuter serait inférieur à 50 tests.

La cartouche doit être chargée sur le plateau de réactifs au moins 60 minutes avant le début du dosage. Laisser la cartouche de réactif Immunoextraction à bord du Système jusqu'à ce qu'elle soit complètement vide.

Cartouche de réactifs Immunoassay

Les réactifs fournis dans la cartouche sont prêts à l'emploi. Avant de charger une nouvelle cartouche sur le Système, mélanger le récipient à particules magnétiques en lui appliquant un mouvement de rotation rapide entre les paumes des mains. Éviter la formation de mousse.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Se reporter au mode d'emploi d'IDS-iSYS XPrep pour connaître les instructions d'utilisation.

Le code-barres est lu lorsque la cartouche est chargée sur le plateau de réactifs. Si le lecteur de code-barres du Système ne parvient pas à lire l'étiquette, il existe une procédure manuelle pour saisir les données du code-barres (voir le mode d'emploi de l'IDS-iSYS). Une fois la cartouche sur le plateau de réactifs, le Système procède automatiquement au mélange des particules magnétiques pour préserver l'homogénéité.

Ne pas effectuer de lecture du niveau de la cartouche sur la cartouche IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Immunoassay, car dans ce cas le nombre de tests que la cartouche serait en mesure d'exécuter serait inférieur à 100 tests.

La cartouche doit être chargée sur le plateau de réactifs au moins 40 minutes avant le début du dosage. Si la cartouche est retirée du plateau de réactifs, la conserver en position verticale et dans l'obscurité entre 2 et 8 °C.

Calibrateurs

Le dosage IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} a été standardisé par rapport aux normes de référence internes, harmonisées sur l'analyse LC-MS/MS de la 1,25-dihydroxyvitamine D.

Les calibrateurs de IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} sont lyophilisés. Préparer les calibrateurs en suivant la procédure ci-dessous :

- S'assurer que les calibrateurs se stabilisent à température ambiante (18 à 25 °C).
- Immédiatement avant utilisation, ajouter 1,2 mL d'eau distillée ou désionisée à chaque flacon.
- Remplacer le bouchon. Laisser reposer les flacons pendant 10 minutes à température ambiante (18 à 25 °C).
- Vortexer pendant 2 à 3 secondes ; retourner doucement pour garantir une reconstitution complète.
- Transférer environ 750 µL (pour un étalonnage en trois exemplaires de 180 µL chacun) de calibrateurs dans des microtubes en polypropylène de 2 mL de capacité avec bouchon à vis et base conique à jupe, et placer les tubes dans le Système dans les 15 minutes qui suivent la reconstitution, puis procéder à l'analyse dans les 3 heures qui suivent. Les calibrateurs ne font pas l'objet d'une procédure de purification.
- À chaque étape, éviter la formation de mousse.
- Procéder selon les instructions contenues dans le mode d'emploi de l'IDS-iSYS.

Fréquence de l'étalonnage

Un nouvel étalonnage est nécessaire:

- Lors du chargement d'un nouveau lot de cartouches.
- Lorsque les valeurs de contrôle ne sont pas dans les plages spécifiées.
- À expiration de l'intervalle d'étalonnage de 21 jours.
- Après réparation du Système.

La vérification de l'étalonnage est automatique et gérée par le Système.

Étalonnage du système

Les deux calibrateurs IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} sont nécessaires pour procéder à l'étalonnage de la courbe de référence. Les calibrateurs sont fournis dans le kit ; ne pas utiliser de calibrateurs provenant d'un autre kit. Toutes les concentrations du IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Control Set (IS-2030) DOIVENT être mesurées en même temps que les calibrateurs pour valider l'ajustement de la courbe de référence.

Toutes les données requises pour l'étalonnage de la cartouche sont disponibles sur le mini CD. Utiliser les calibrateurs aux concentrations A et B pour ajuster la courbe de référence aux réactifs présents à bord du Système. Vérifier la présence d'une cartouche IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Immunoextraction et d'une cartouche Immunoassay dans le plateau de réactifs et la présence de la courbe de référence de la cartouche dans la base de données. Si les données du lot de calibrateurs ne sont pas disponibles à bord du Système, charger les données à l'aide du mini-CD fourni avec le kit de réactifs.

Démarrer l'étalonnage de l'immunodosage sur le Système conformément au mode d'emploi du Système. L'étalonnage est effectué en 3 exemplaires de chaque concentration. Un réplicat peut être retiré pour remplir les conditions d'étalonnage. Tous les niveaux de contrôle doivent être mesurés en deux exemplaires pour étalonner le Système. Vérifier et approuver l'étalonnage en fonction du statut d'étalonnage affiché dans les fenêtres d'étalonnage, et éliminer le volume restant de calibrateurs et les contrôles du plateau d'échantillons après utilisation.

9. Contrôle qualité

Utiliser le kit de contrôle IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set pour assurer un contrôle qualité. Pour assurer la validité des résultats, au moins deux contrôles de 1,25(OH)₂D à des concentrations différentes doivent être analysés. D'autres matériels de contrôle adaptés peuvent être utilisés en plus du kit de contrôle IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Les contrôles doivent être testés à chaque démarrage d'une séquence de test comportant des échantillons patient (ou peu de temps avant), ainsi qu'à chaque étalonnage, en respectant les réglementations ou les exigences d'accréditation locales, régionales et/ou nationales, ainsi que les procédures de qualité de votre laboratoire. Se reporter au mode d'emploi du kit de contrôle IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set pour connaître les procédures de préparation et de manipulation.

Détermination de la concentration en 1,25 Dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D) des échantillons

Traiter les échantillons selon le mode d'emploi du Système IDS-iSYS.

10. Calcul des résultats

La concentration en 1,25(OH)₂D de chaque échantillon est calculée automatiquement. L'affichage des concentrations (à l'écran ou sur un document imprimé) se fait sur demande de l'utilisateur.

Le dosage IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} utilise un rapprochement à la courbe logistique à 4 paramètres (4PL) pour calculer les concentrations en 1,25(OH)₂D.

Pour convertir les résultats en unités SI : pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Plage de mesure (plage rapportable)

La plage de mesure rapportable du dosage est 7,5–150 pg/mL (18–360 pmol/L). Toute valeur inférieure à 7,5 pg/mL (18 pmol/L) doit être rapportée comme « < 7,5 pg/mL » (« < 18 pmol/L »).

12. Dilution

Les échantillons présentant des concentrations en 1,25(OH)₂D supérieures à la plage rapportable doivent être dilués manuellement avec le diluant IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) selon un rapport de 1:2. Les résultats des échantillons dilués doivent être multipliés par le facteur de dilution de 2.

13. Limites d'utilisation

- À l'instar de toute procédure diagnostique, les résultats doivent être interprétés en conjonction avec le tableau clinique du patient et les autres informations dont dispose le médecin.
- Les caractéristiques de performance de ce dosage n'ont pas été établies chez une population pédiatrique.
- Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobines des réactifs, ce qui peut interférer avec les immunodosages *in vitro*⁵. Les patients régulièrement exposés à des animaux ou à des produits comportant du sérum animal peuvent être sujets à cette interférence, et des valeurs anormales peuvent alors être observées.
- Les substances suivantes n'interfèrent pas avec le dosage IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} lorsque les concentrations présentées dans le tableau suivant sont inférieures à la limite spécifiée.

Agent d'interférence potentiel	Limite de concentration
Albumine	7,5 g/dL
Bilirubine, conjuguée	40 mg/dL
Bilirubine, non conjuguée	40 mg/dL
Biotine	0,1 mg/dL
Cholestérol, total	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hémoglobine	500 mg/dL
Facteur rhumatoïde	7000 IU/mL
Triglycérides	3000 mg/dL
Paracétamol	9 mg/dL
Ibuprofène	50 mg/dL
Carbamazépine	127 µmol/L
Phénytoïne	198 µmol/L
Acide acétylsalicylique	65 mg/dL
Acide salicylique	60 mg/dL

14. Valeurs attendues

Les plages suivantes ont été déterminées à l'aide du dosage IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} et sont fournies à titre d'information uniquement.

Des échantillons prélevés sur 121 hommes et femmes adultes apparemment en bonne santé, âgés de 19 à 69 ans et d'origines ethniques diverses (34% de personnes à la peau foncée et 66 % à la peau claire) ont été analysés avec le dosage IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Les échantillons ont été prélevés au cours de l'hiver (36%) et de l'été (64%) sur des individus présentant des concentrations normales en PTH intacte, en calcium, en phosphate et en TSH, provenant des régions nord et sud des États-Unis. L'intervalle de référence de 95 % pour les adultes en apparente bonne santé a été calculé selon une méthode non paramétrique conforme aux orientations énoncées dans CLSI C28-A3 « Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory ».

Intervalle normal obtenu pour les adultes : 15,2 à 90,1 pg/mL (36,5 à 216,2 pmol/L)

15. Données de performance

Des données de performance représentatives sont indiquées. Les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à un autre.

15.1 Sensibilité

La limite de blanc (LoB), la limite de détection (LoD) et la limite de quantification (LoQ) ont été déterminées à partir de CLSI EP17-A, « Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation ».

Sensibilité	Concentration en 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (Limite de blanc)	2,5	6,0
LoD (Limite de détection)	4,2	10,1
LoQ (Limite de quantification)	7,5	18,0

15.2 Précision

La précision a été évaluée en fonction d'un protocole modifié basé sur CLSI EP-5A2, « Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods ». Un total de 6 échantillons de sérum a été dosé en deux exemplaires, deux fois par jour pendant 7 jours en utilisant un lot de réactifs sur un système, avec un lot par système.

Échantillon	n	Moyenne		Répétabilité			Total		
		pg/mL	pmol/L	ET pg/mL	ET pmol/L	CV %	ET pg/mL	ET pmol/L	CV %
Sérum 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Sérum 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Sérum 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Sérum 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Contrôle 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Contrôle 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linéarité

La linéarité a été évaluée d'après CLSI EP-6A, « Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures ». Les échantillons ont été préparés en diluant un échantillon de patient élevé avec un échantillon de patient bas avant le dosage. La régression linéaire des concentrations observées par rapport aux concentrations attendues (Attendue = Coefficient directeur x Observée ± Point d'intersection) est :

Coefficient directeur	Point d'intersection		Coefficient de régression (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Comparaison des techniques

Le dosage IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} a été comparé au dosage quantitatif IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D disponible dans le commerce, conformément à CLSI EP-9A2, « Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples ». Un total de 105 échantillons, sélectionnés pour représenter une large plage de concentrations en 1,25(OH)₂D [11,4 à 150 pg/mL (27,4 à 360 pmol/L)], ont été analysés avec chaque méthode. Une régression de Passing et Bablok a été réalisée sur les données comparées :

n	Coefficient directeur	Point d'intersection		Coefficient de corrélation (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Spécificité

Des échantillons de sérum ont été dopés avec les métabolites de la vitamine D synthétique exogène ou les composés médicamenteux de vitamine D suivants, puis ont été analysés avec le dosage IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}.

Analyte	Réactivité croisée (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-épimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Symboles utilisés



Numéro de catalogue



Dispositif de diagnostic *in vitro*



Fabricant



Appliqué conformément à la directive 98/79/EC

Rx Only

Attention : Selon la loi fédérale américaine, ce dispositif ne peut être vendu que par un professionnel de santé autorisé ou à la demande de celui-ci.

17. Références bibliographiques

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tél. : +44 191 519 0660 • Fax : +44 191 519 0760
E-mail : info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

États-Unis Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tél. : +1 877 852 6210 • Fax : +1 301 990 4236
E-mail : info.us@idsplc.com

France Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tél. : +33 140 770 450 • Fax : +33 140 770 455
E-mail : info.fr@idsplc.com

Belgique Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tél. : +32 425 226 36 • Fax : +32 425 251 96
E-mail : info.be@idsplc.com

Allemagne Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tél. : +49 693 085 5025 • Fax : +49 693 085 5125
E-mail : info.de@idsplc.com

Scandinavie Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tél. : +45 448 400 91
E-mail : info.nordic@idsplc.com

Brésil IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tél. : +55 113 740 6100 • Fax : + 55 113 740 6105
E-mail : info.br@idsplc.com

1. Verwendungszweck

Für die diagnostische *In-vitro*-Verwendung

Der IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-Assay ist ein diagnostisches *In-vitro*-Verfahren für die quantitative Bestimmung von 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)₂D] in Humanserum mithilfe der IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Die Ergebnisse werden als Unterstützung bei der Beurteilung der Vitamin-D-Suffizienz verwendet.

Rx only.

2. Zusammenfassung und Erläuterung

Es gibt zwei Formen von Vitamin D: Vitamin D₃ und Vitamin D₂. Vitamin D₃, Cholecalciferol, ist ein natürlich vorkommendes Vitamin D, welches in der Haut produziert wird, wenn 7-Dehydrocholesterol ultravioletter Sonneneinstrahlung ausgesetzt wird¹. Vitamin D₂ wird mittels ultravioletter Bestrahlung von aus Hefe gewonnenem Ergosterol hergestellt. Beide werden in Vitamin-D-Präparaten verwendet. Der Vitamin-D-Komplex ist biologisch inaktiv, gelangt jedoch in den Blutkreislauf und wird in der Leber zu 25-Hydroxy-Vitamin D [25(OH)D] hydroxyliert, welches zur Bestimmung des Vitamin D-Status des Patienten verwendet wird.

In der Niere wird 25(OH)D weiter hydroxyliert, um den biologisch aktiven Metabolit 1,25(OH)₂D zu erzeugen.¹ 1,25(OH)₂D ist einer der bedeutenden Regulatoren des Kalzium- und Phosphatstoffwechsels und stimuliert die intestinale Kalziumabsorption und steigert die Knochenresorption. 1,25(OH)₂D hemmt zudem die Synthese des Parathormons (PTH), sowohl in Form einer direkten Wirkung auf die Nebenschilddrüsen als auch indirekt, indem es den Serumkalziumspiegel erhöht. Die Synthese von 1,25(OH)₂D selbst wird wiederum durch das Parathormon (PTH) stimuliert, sodass ein wirkungsvoller Regelkreis entsteht.¹ Der Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23 [FGF-23], welcher vom Knochen sezerniert wird, sorgt für eine Aufnahme des Natrium-Phosphat-Co-Transporters durch Nieren- und Dünndarmzellen und hemmt ebenfalls die 1,25(OH)₂D-Synthese.²

Beim sekundären Hyperparathyreoidismus führen Krankheitsprozesse von außerhalb der Nebenschilddrüsen dazu, dass sich letztere vergrößern und hyperaktiv werden. Er wird zumeist durch Nierenversagen hervorgerufen, einem Zustand, bei dem die Niere nicht mehr in der Lage ist, das Blut von im Körper entstandenem Phosphor zu reinigen und in ausreichendem Maße Vitamin D zu erzeugen – dies gilt besonders für die aktive Form des Vitamin D 1,25(OH)₂D. Die Phosphatansammlungen führen zu einem erniedrigten Kalziumspiegel im Blut, was wiederum die Nebenschilddrüsen zu einer gesteigerten Synthese des Parathormons (PTH) anregt, wodurch diese sich vergrößern. Bei einem Fortschreiten der Erkrankung können die Nebenschilddrüsen nicht mehr länger normal auf Kalzium und Vitamin D reagieren. Ziel einer direkt aktivierten Vitamin D-Therapie bei der CNK ist die Verlangsamung des Voranschreitens des sekundären Hyperparathyreoidismus. Behandlungsleitlinien, wie beispielsweise die „Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)“ und „Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)“ empfehlen für CNK-Patienten Therapieschemata mit aktiviertem Vitamin D^{3,4}.

3. Methodenbeschreibung

Das IDS-iSYS 1,25VitD^{xp}-Kit ist ein komplettes Testsystem, basierend auf einer Immunextraktion des 1,25-dihydroxyvitamins D aus Humanserum sowie einer quantitativen Bestimmung des 1,25(OH)₂D mithilfe der IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (System).

In Küvette 1 werden 218 µL Probe delipidiert und dann mit magnetischen Partikeln, die mit einem spezifischen anti-1,25(OH)₂D-Antikörper beschichtet sind, inkubiert. Nach der Inkubation werden die magnetischen Partikel gewaschen und das 1,25(OH)₂D wird eluiert. 180 µL der extrahierten 1,25(OH)₂D-Probe werden in Küvette 2 überführt, in der das auf Chemilumineszenz-Technologie basierende Immunoassay-Verfahren stattfindet.

In Küvette 2 werden 180 µL der aufgereinigten Probe mit einem biotinylierten Anti-1,25(OH)₂D Schafantikörper inkubiert. Nach dem ersten Inkubationsschritt wird ein mit Acridinium markiertes 1,25(OH)₂D-Konjugat zugefügt, worauf ein weiterer Inkubationsschritt folgt. Vor dem dritten Inkubationsschritt werden mit Streptavidin markierte magnetische Partikel zugegeben. Die magnetischen Partikel werden dann mithilfe eines Magneten eingefangen. In einem Waschschrift wird anschließend ungebundenes 1,25(OH)₂D entfernt. Anschließend werden Trigger-Reagenzien hinzugefügt. Das durch die Acridinium-Markierung abgegebene Licht ist umgekehrt proportional zu der 1,25(OH)₂D-Konzentration in der ursprünglichen Probe.

4. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Das IDS-iSYS 1,25VitD^{xp}-Kit dient ausschließlich der Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum und ist nicht zur inneren Anwendung bei Menschen oder Tieren vorgesehen. Dieses Produkt darf nur gemäß der Gebrauchsanweisung verwendet werden. Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) ist nicht haftbar für Verluste oder Schäden aufgrund der Nichtbeachtung dieser Anweisungen (außer in Fällen, in denen dies durch Gesetze vorgeschrieben ist), unabhängig davon, wie diese entstanden sind.

ACHTUNG: Dieses Kit enthält Material tierischen Ursprungs. Behandeln Sie Kit-Reagenzien so, als ob diese Infektionserreger übertragen könnten. Bei der Lagerung, Handhabung und Entsorgung von Kit-Reagenzien müssen geeignete Vorsichtsmaßnahmen und gute Laborpraktiken Anwendung finden. Die Entsorgung der Kit-Reagenzien nach den örtlichen Vorschriften durchführen.

Humanmaterialien

Das zur Aufbereitung dieses Produkts verwendete Humanmaterial wurde mit von der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) empfohlenen Assays auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen das Humanimmundefizienzvirus (HIV I und II), Hepatitis-B-Oberflächenantigenen sowie Antikörpern gegen Hepatitis C hin untersucht und für negativ befunden. Da kein Test vollständig garantieren kann, dass keine infektiösen Krankheitserreger vorhanden sind, sollten die Reagenzien gemäß den Vorschriften der Biosicherheitsstufe 2 gehandhabt werden.

Natriumazid enthaltende Reagenzien

Einige Reagenzien in diesem Kit enthalten Natriumazid (NaN_3) < 0,1 % (Gew.-%), welches mit Abflussleitungen aus Blei, Kupfer oder Messing hochexplosive Metallazide bilden kann. Bei der Entsorgung mit viel Wasser nachspülen, um eine Ansammlung von Aziden zu vermeiden.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Vorsichtsmaßnahmen bei der Handhabung

Mit Ausnahme der lyophilisierten Kalibratoren sind die in diesem Kit enthaltenen Reagenzien gebrauchsfertig. Die Rekonstitution der Kalibratoren wird im Abschnitt zu den Kalibratoren beschrieben.

Bevor eine neue Kartusche in das System geladen wird, muss der Inhalt des Magnetpartikelbehälters vom Bediener mit einer kräftigen Drehbewegung gemischt werden. Dadurch werden die magnetischen Partikel, die sich während dem Versand abgesetzt haben, wieder aufgewirbelt. Achten Sie darauf, dass sich in der Reagenzienkartusche kein Schaum bildet.

Haltbarkeit und Lagerung von Reagenzien

Lagern Sie die Kartusche und Kalibratoren in einer **senkrechten** Position bei Dunkelheit und 2–8 °C. Kartusche oder Kalibratoren **nicht einfrieren**.

Reagenzien-Haltbarkeit	Immunoextraction-Kartusche	Immunoassay-Kartusche	Kalibratoren
Vor dem Öffnen bei 2–8 °C	Bis zum Verfallsdatum		
Kartusche, nach dem Öffnen bei 2–8 °C	n. z.	56 Tage	n. z.
Kalibratoren, nach dem Öffnen bei 2–8 °C	n. z.	n. z.	6 Stunden
Im System *	28 Tage	49 Tage	3 Stunden

* Kontinuierliche Stabilität auf dem System

6. Probenentnahme und Lagerung

Der Assay sollte mit Serumproben (normale Entnahmeröhrchen oder Röhrchen mit Serum-Trenngel) durchgeführt werden.

- Die Proben sollten nach der Entnahme möglichst bald separiert werden.
- Nach der Separation können die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) maximal 24 Stunden und bei 2–8 °C bis zu 7 Tagen gelagert werden. Wird ein längerer Zeitraum zwischen der Separation und dem Testen benötigt, müssen die Proben bei –20 °C gelagert werden.
- Die Proben können bei –20 °C für bis zu 2,5 Monate gelagert werden. Danach sollten sie bei –80 °C gelagert werden.
- Die Proben können 2 Gefrier-Auftau-Zyklen durchlaufen und sollten ausreichend lange vor dem Laden auf das Instrument vollständig aufgetaut und gemischt werden.
- Die Proben sind auf dem Analysengerät maximal 3 Stunden stabil.

Hinweis:

- Partikelhaltige Proben müssen vor der Testdurchführung zentrifugiert werden. Keine hitzeinaktivierten Proben verwenden.
- Um mögliche Verdunstungseffekte zu vermeiden, müssen Proben, Kalibratoren und Kontrollen innerhalb von 3 Stunden gemessen werden, nachdem sie auf das System geladen wurden.
- Jedes Labor muss die Richtlinien bzw. Anforderungen der geltenden lokalen, staatlichen und/oder bundesstaatlichen Bestimmungen oder Akkreditierungsstellen beachten, um ein eigenes Verfahren für den Umgang mit Probenmaterialien und Lagerstabilität zu erreichen. Informationen zu angemessenen Praktiken sind in folgender Richtlinie enthalten: CLSI GP44-A4, „Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests“.
- Stellen Sie vor dem Durchführen von Assays sicher, dass sich die Proben, Kalibratoren und Kontrollen auf Raumtemperatur (18–25 °C) befinden.
- Manche handelsübliche Probenentnahmeröhrchen können in bestimmten Fällen die Testergebnisse beeinträchtigen.
- Es wird empfohlen, die Anweisungen des Röhrchenherstellers zu beachten, insbesondere, wenn Proben in Primärröhrchen verarbeitet werden.

- Zentrifugierte Proben mit einer aufgelagerten Lipidschicht müssen in ein Probengefäß oder ein sekundäres Röhrchen transferiert werden. Dabei muss darauf geachtet werden, dass nur die geklärten Proben ohne das lipämische Material transferiert werden.
- **Die Proben MÜSSEN auf Raumtemperatur (18–25 °C) gebracht werden, ehe das System mit ihr bestückt wird. Dies dient der Optimierung des Entfettungsschrittes.**

7. Materialien

Bereitgestellte Materialien

Immunoextraction-Kartusche, 2 Kartuschen mit 50 Tests

MPA1	Mit einem monoklonalen Antikörper gegen 1,25(OH) ₂ D beschichtete Magnetpartikel, 1 Flasche, 2,8 mL.
DEL	Entfettungsreagenz, eine Lösung aus Dextransulfat und Magnesiumchlorid, 1 Flasche, 2,6 mL.
DIS	Verdrängerreagenz, ein proprietäres Reagenz zur Dissoziation von 1,25(OH) ₂ D von den bindenden Proteinen mit Natriumazid als Konservierungsmittel (< 0,1 %), 1 Flasche, 18,7 mL.
ELU	Elutionsreagenz, eine Lösung aus Natriumhydroxid, 1 Flasche, 13,0 mL.
NET	Neutralisierungsreagenz, eine Lösung aus Zitronensäure, 1 Flasche, 3,4 mL.
BUF	Assaypuffer, ein MOPS-Puffer mit Rinder-Serumalbumin, 1 Flasche, 9 mL pro Flasche.

Immunoassay-Kartusche, 1 Kartusche mit 100 Tests

MPS3	Mit Streptavidin beschichtete Magnetpartikel in Phosphat-Puffer mit Rinder-Serumalbumin und Natriumazid als Konservierungsmittel (< 0,1 %), 1 Flasche, 2,6 mL.
CONJ	Konjugat, 1,25(OH) ₂ D, markiert mit einem Acridiniumesterderivat, in einem Phosphat-Puffer mit Rinder-Serumalbumin und Natriumazid als Konservierungsmittel (< 0,1 %), 1 Flasche, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Biotin-Antikörper, polyklonaler, mit Biotin markierter anti-1,25(OH) ₂ D-Antikörper in einem Phosphat-Puffer mit Schafproteinen und Natriumazid als Konservierungsmittel (< 0,1 %), 1 Flasche, 13 mL.
BUFD	Waschpuffer, 1 % proprietäres Detergenz in PBS mit Natriumazid als Konservierungsmittel (< 0,1 %), 1 Flasche, 35 mL pro Flasche.

Kalibratoren

CAL A	Lyophilisierter MOPS-Puffer mit Rinder-Serumalbumin, 1,25(OH) ₂ D mit Natriumazid als Konservierungsmittel (< 1,0 %), jeweils 3 von 2 Konzentrationsstufen, 1,2 mL pro Flasche.
CAL B	

Mini-CD

Enthält die Gebrauchsanweisung für IDS-iSYS-Reagenzien, CRY-Dateien und das Analysenzertifikat.

Erforderliche aber nicht bereitgestellte Materialien

System

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS1,25 VitD ^{xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Optionale Geräte / Materialien

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
	Einweg-Polypropylen 2 mL, konisch geformte Basis mit 10,8 mm Durchmesser, Schraubverschluss-Mikroröhrchen und Schraubverschluss mit O-Ring (Sarstedt 72.609 und 65.716 oder vergleichbar)
	Präzisionspipettierungsgeräte

8. Assay-Verfahren

Immunoextraction-Reagenzienkartusche

Die Kartusche enthält gebrauchsfertige Reagenzien. Bevor eine neue Kartusche auf das System geladen wird, mischen Sie den Behälter mit den magnetischen Partikeln vollständig durch. Die magnetischen Partikel können gemäß einer der folgenden Methoden zubereitet werden. Dabei ist Schaumbildung zu vermeiden:

Manuell:

- Durchmischen Sie die Magnetpartikel mit kräftigen Drehbewegungen zwischen den Handflächen, bis die durchmischten Partikel eine braune Färbung angenommen haben.
- Drehen Sie das Fläschchen mit den magnetischen Partikeln sanft und vorsichtig auf den Kopf, bis alle am Boden abgesetzten magnetischen Partikel vollständig resuspendiert sind.
- Überprüfen Sie den Boden des Fläschchens mit den magnetischen Partikeln visuell, und überzeugen Sie sich davon, dass alle abgesetzten magnetischen Partikel nun vollständig dispergiert sind.
- Wiederholen Sie das Umdrehen so oft wie nötig, bis die magnetischen Partikel vollständig resuspendiert sind.
- Vermeiden Sie unbedingt eine Schaumbildung in Kartuschen-Reagenzien.

End-over-End-Test/Blutröhrchen-Rotator:

- Entnehmen Sie das Partikelfläschchen vorsichtig aus dem Plastik-Clip.
- Geben Sie das Partikelfläschchen in den Test/Blut-Halter.
- Rotieren Sie das Fläschchen bei 10–20 Umdrehungen pro Minute für 15 Minuten bei Raumtemperatur (18–25 °C).
- Überprüfen Sie den Boden des Fläschchens mit den magnetischen Partikeln visuell, und überzeugen Sie sich davon, dass alle abgesetzten magnetischen Partikel nun vollständig dispergiert sind.
- Wiederholen Sie das Umdrehen so oft wie nötig, bis die magnetischen Partikel vollständig resuspendiert sind.
- Vermeiden Sie unbedingt eine Schaumbildung in Kartuschen-Reagenzien.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Nutzungsanweisungen entnehmen Sie dem IDS-iSYS XPrep-Bedienerhandbuch.

Der Barcode wird beim Einsetzen der Kartusche in das Reagenzienfach gelesen. Die Barcodedaten können auch manuell eingegeben werden, falls das Etikett vom Barcodeleser des Systems nicht gelesen werden kann (siehe IDS-iSYS-Bedienerhandbuch). Sobald sich die Kartusche in dem Reagenzienfach befindet, durchmischt das System die magnetischen Partikel automatisch, damit Homogenität sichergestellt wird.

Den Kartuschen-Level Scan nicht auf der IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction-Kartusche durchführen, weil sich dadurch weniger als 50 Tests pro Kartusche ergeben.

Nach Laden der Kartusche in das Reagenzienfach mindestens 60 Minuten warten, bevor ein Test gestartet werden kann. Belassen Sie die Immunextraktion-Reagenzienkartusche auf dem System bis die Kartusche vollständig verbraucht ist.

Immunoassay-Reagenzienkartusche

Die Kartusche enthält gebrauchsfertige Reagenzien. Bevor eine neue Kartusche auf das System geladen wird, mischen Sie den Behälter mit den magnetischen Partikeln mit einer schnellen Rotationsbewegung zwischen Ihren Handballen. Schaumbildung vermeiden.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Nutzungsanweisungen entnehmen Sie dem IDS-iSYS XPrep-Bedienerhandbuch.

Der Barcode wird beim Einsetzen der Kartusche in das Reagenzienfach gelesen. Die Barcodedaten können auch manuell eingegeben werden, falls das Etikett vom Barcodeleser des Systems nicht gelesen werden kann (siehe IDS-iSYS-Bedienerhandbuch). Sobald sich die Kartusche in dem Reagenzienfach befindet, durchmischt das System die magnetischen Partikel automatisch, damit Homogenität sichergestellt wird.

Den Kartuschen-Level Scan nicht auf der IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay-Kartusche durchführen, weil sich dadurch weniger als 100 Tests pro Kartusche ergeben.

Nach Laden der Kartusche in das Reagenzienfach mindestens 40 Minuten warten, bevor ein Test gestartet werden kann. Wird die Kartusche aus dem Reagenzienfach entfernt, lagern Sie die Kartusche senkrecht bei 2–8 °C bei Dunkelheit.

Kalibratoren

Der IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-Assay wurde gegen interne Referenzstandards standardisiert, welche gegen das validierte 1,25 Dihydroxyvitamin D LC-MS/MS abgestimmt wurden.

Die IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-Kalibratoren sind lyophilisiert. Die Kalibratoren anhand der nachfolgenden Prozedur zubereiten:

- Bringen Sie die Kalibratoren auf Raumtemperatur (18–25 °C).
- Unmittelbar vor Gebrauch jeder Flasche 1,2 mL destilliertes oder deionisiertes Wasser zufügen.
- Setzen Sie den Stopfen wieder auf. Lassen Sie die Kalibratoren für 10 Minuten bei Raumtemperatur (18–25 °C) stehen.
- Für 2–3 Sekunden vortexen; vorsichtig auf den Kopf drehen, um eine vollständige Rekonstitution sicherzustellen.
- Überführen Sie für eine dreifache Kalibrierung ca. 750 µL (180 µL pro Replikat) der Kalibratoren in 2 mL Polypropylen Schraubverschluss-Mikroröhrchen mit konisch geformter Basis und laden Sie diese innerhalb von 15 Minuten nach der Rekonstitution auf das System. Führen Sie die Messung innerhalb von 3 Stunden durch. Die Kalibratoren durchlaufen nicht das Aufreinigungsverfahren.
- Vermeiden Sie bei allen Arbeitsschritten Schaumbildung.
- Fahren Sie gemäß den Anweisungen im IDS-iSYS-Bedienerhandbuch fort.

Kalibrierungshäufigkeit

Eine erneute Kalibrierung ist erforderlich:

- wenn eine neue Kartuschencharge geladen wird,
- wenn sich die Kontrollwerte nicht innerhalb der festgelegten Bereiche befinden,
- wenn das Kalibrationsintervall von 21 Tagen überschritten wurde,
- nach einer Systemwartung.

Die Verifizierung der Kalibration geschieht automatisch und wird vom System verwaltet.

Systemkalibrierung

Die beiden IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-Kalibratoren sind erforderlich zum Durchführen der Anpassung der Masterkurve. Die Kalibratoren werden mit dem Kit geliefert und Kalibratoren aus einer anderen Charge dürfen nicht verwendet werden. Alle Konzentrationen des IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) MÜSSEN zur selben Zeit wie die Kalibratoren gemessen werden, um die Anpassung der Masterkurve zu validieren.

Alle für die Kalibration der Kartusche erforderlichen Daten befinden sich auf der Mini-CD. Das Gerät verwendet die Kalibrator-Konzentrationen A und B, um die Masterkurve an die Reagenzien auf dem System anzupassen. Überprüfen Sie, ob im Reagenzienfach eine IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction und eine Immunoassay-Kartusche vorhanden ist und ob sich die Kartuschen-Masterkurve in der Datenbank befindet. Wenn die Daten der Kalibratoren-Charge auf dem System nicht vorhanden sind, laden Sie die Daten mithilfe der Mini-CD, die zusammen mit dem Reagenzien-Kit bereitgestellt wurde.

Beginnen Sie die Immunoassay-Kalibration auf dem System, wie im Bedienerhandbuch beschrieben. Während der Kalibration werden mithilfe von drei Replikaten Proben jedes Kalibrators erstellt. Ein Replikat kann entfernt werden, damit die Kalibrationsanforderungen erfüllt werden. Alle Kontrollen müssen doppelt gemessen werden, um das Assay zu kalibrieren. Verifizieren und bestätigen Sie die Kalibration anhand des Kalibrationsstatus im Kalibrationsfenster und entfernen Sie den Kalibrator nach dem Gebrauch vom Probenrack.

9. Qualitätskontrolle

Verwenden Sie zur Qualitätskontrolle das IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Um die Richtigkeit der Ergebnisse sicherzustellen, müssen mindestens zwei Kontrollen mit unterschiedlichen 1,25(OH)₂D-Konzentrationen gemessen werden. Neben dem IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set können andere geeignete Kontrollmaterialien verwendet werden. Die Kontrollen sollten bei (oder kurz vor dem) Beginn jedes Durchlaufs mit Patientenproben sowie bei jeder Kalibrierung entsprechend den Vorschriften des Bundes, der Länder und/oder der Kommunen sowie gemäß dem Qualitätsverfahren des Labors getestet werden. Anweisungen zur Vorbereitung und Handhabung finden Sie in der Gebrauchsanweisung des IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set.

Bestimmung der 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D)-Konzentrationen der Proben

Verarbeiten Sie die Proben gemäß des IDS-iSYS-Bedienerhandbuchs.

10. Berechnung der Ergebnisse

Die 1,25(OH)₂D-Konzentration jeder Probe wird automatisch berechnet. Die Anzeige der Konzentrationen (auf dem Bildschirm oder als Ausdruck) kann den Erfordernissen entsprechend angepasst werden.

Der IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} -Assay verwendet eine logistische Kurvenanpassung mit 4 Parametern (4PL), um die 1,25(OH)₂D-Konzentrationen zu berechnen.

Umrechnung der Ergebnisse in SI-Einheiten: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Messbereich (Berichtsbereich)

Der Messbereich des Assays beträgt 7,5 – 150 pg/mL (18 – 360 pmol/L). Jeder Messwert unter 7,5 pg/mL (18 pmol/L) muss als „< 7,5 pg/mL“ („< 18 pmol/L“) dokumentiert werden.

12. Verdünnung

Proben mit 1,25(OH)₂D-Konzentrationen über dem Messbereich können manuell mit IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) im Verhältnis 1:2 verdünnt werden. Die Ergebnisse für verdünnte Proben müssen mit dem Verdünnungsfaktor 2 multipliziert werden.

13. Nutzungseinschränkungen

- Wie bei allen diagnostischen Testverfahren müssen auch diese Werte in Verbindung mit dem klinischen Erscheinungsbild des Patienten und weiteren, dem Arzt zur Verfügung stehenden Daten interpretiert werden.
- Die Leistungseigenschaften dieses Assays wurden für pädiatrische Populationen nicht bestimmt.
- Heterophile Antikörper in Humanserum können mit Immunglobulinen im Reagenz reagieren, wodurch sich Störungen in *In-vitro*-Immunoassays ergeben.⁵ Bei Patienten, die regelmäßig mit Tieren oder Tiereserum in Kontakt kommen, können solche Störungen auftreten, wodurch sich anomale Werten ergeben.
- Die folgenden Substanzen interferieren nicht mit dem IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-Assay, wenn die in der nachfolgenden Tabelle enthaltenen Konzentrationen unter dem angegebenen Grenzwert liegen.

Potenziell interferierender Stoff	Grenzwertkonzentration
Albumin	7,5 g/dL
Bilirubin, konjugiert	40 mg/dL
Bilirubin, nicht konjugiert	40 mg/dL
Biotin	0,1 mg/dL
Cholesterol, total	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hämoglobin	500 mg/dL
Rheumafaktor	7000 IU/mL
Triglyceride	3000 mg/dL
Acetaminophen	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Carbamazepin	127 µmol/L
Phenytoin	198 µmol/L
Acetylsalicylsäure	65 mg/dL
Salicylsäure	60 mg/dL

14. Zu erwartende Werte

Die nachfolgenden Bereiche wurden mithilfe des IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} -Assays bestimmt und dienen lediglich zur Information.

Proben von 121 offensichtlich gesunden männlichen und weiblichen Erwachsenen im Alter von 19 – 69 Jahren mit unterschiedlichem ethnischen Hintergrund (34 % dunkelhäutig und 66 % hellhäutig) wurden mit dem IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-Assay getestet. Proben wurden im Winter (36 %) und im Sommer (64 %) von Probanden mit normalem, intaktem PTH, sowie

normalen Kalzium-, Phosphat- und TSH-Werten aus nördlichen und südlichen Regionen der Vereinigten Staaten genommen. Das 95 %ige Referenzintervall für offensichtlich gesunde Erwachsene wurde anhand einer nicht parametrischen Methode gemäß der Richtlinien aus CLSI C28-A3 „Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory“ berechnet.

Erhaltener Normalbereich für Erwachsene: 15,2 bis 90,1 pg/mL (36,5 bis 216,2 pmol/L)

15. Leistungsdaten

Gezeigt werden charakteristische Leistungsdaten. Die in den einzelnen Laboren erhaltenen Ergebnisse können davon abweichen.

15.1 Empfindlichkeit

Die Leerwertgrenze (LoB), Nachweisgrenze (LoD) und Quantifizierungsgrenze (LoQ) wurden anhand der Richtlinien aus CLSI EP17-A, „Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation“ bestimmt.

Empfindlichkeit	1,25(OH) ₂ D Konzentration	
	pg/mL	pmol/L
LoB (Leerwertgrenze)	2,5	6,0
LoD (Nachweisgrenze)	4,2	10,1
LoQ (Quantifizierungsgrenze)	7,5	18,0

15.2 Präzision

Die Präzision wurde mithilfe eines modifizierten Protokolls auf Basis von CLSI EP-5A2, „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“ evaluiert. Insgesamt 6 serum-Proben wurden mit einer Reagenziencharge 7 Tage lang doppelt und zweimal am Tag auf ein System getestet. Es wurde eine Charge pro System getestet.

Probe	N	Mittelwert		Wiederholbarkeit			Gesamt		
		pg/mL	pmol/L	SD	SD	VK %	SD	SD	VK %
Serum 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Serum 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Serum 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Serum 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Kontrolle 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Kontrolle 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearität

Die Linearität wurde anhand von CLSI EP-6A, „Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures“ evaluiert. Die Proben wurden vor dem Assay durch Verdünnen einer Patientenprobe mit hoher Konzentration und einer Patientenprobe mit geringer Konzentration erhalten. Die lineare Regression der erhaltenen Konzentrationen im Vergleich zur erwarteten Konzentration (Erwartet = Steigung x Erhalten ± Schnittpunkt) ist:

Steigung	Schnittpunkt		Regressionskoeffizient (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Methodenvergleich

Der IDS-iSYS 1,25 VitD^{sp}-Assay wurde mit einem handelsüblichen quantitativen IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D-Assay verglichen (gemäß CLSI EP-9A2, „Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples“). Mit jeder Methode wurden insgesamt 105 Proben getestet, die ein breites Spektrum an 1,25(OH)₂D-Konzentrationen [11,4 – 150 pg/mL (27,4 – 360 pmol/L)] abdecken. Mit den Vergleichsdaten wurden Passing-Bablok-Regressionsanalysen durchgeführt:

n	Steigung	Schnittpunkt		Korrelationskoeffizient (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Spezifität

Die folgenden exogenen synthetischen Vitamin-D-Metabolite oder Vitamin-D-Wirkstoffsubstanzen wurden Serumproben zugefügt und mit dem IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}-Assay gemessen.

Analyt	Kreuzreaktivität (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Verwendete Symbole



Katalognummer



In-vitro-Diagnostikgerät



Hersteller



Gemäß Richtlinie 98/79/EC verwendet

Rx Only

Achtung: Der Verkauf oder die Verschreibung dieses Geräts durch einen Arzt unterliegt den Beschränkungen des Bundesgesetzes.

17. Literatur

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
E-Mail: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Fax: +1 301 990 4236
E-Mail: info.us@idsplc.com

Frankreich Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Fax: +33 140 770 455
E-Mail: info.fr@idsplc.com

Belgien Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Fax: +32 425 251 96
E-Mail: info.be@idsplc.com

Deutschland Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Fax: +49 693 085 5125
E-Mail: info.de@idsplc.com

Skandinavien Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel.: +45 448 400 91
E-Mail: info.nordic@idsplc.com

Brasilien IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel.: +55 113 740 6100 • Fax: + 55 113 740 6105
E-Mail: info.br@idsplc.com

1. Uso previsto

Per uso diagnostico *in vitro*

Il dosaggio IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} è un dispositivo diagnostico *in vitro* destinato alla determinazione quantitativa di 1,25-diidrossivitamina D [1,25(OH)₂D] nel siero umano sull'IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. I risultati vengono usati come strumenti ausiliari nella valutazione della carenza di vitamina D.

Rx only.

2. Riassunto e spiegazione

Vi sono due forme di vitamina D: la vitamina D₃ e la vitamina D₂. La vitamina D₃, o colecalciferolo, è la vitamina D presente in natura che viene prodotta nella pelle dopo l'esposizione del 7-deidrocolesterolo alle radiazioni solari ultraviolette¹. La vitamina D₂ è prodotta a partire dal lievito per azione della irradiazione ultravioletta dell'ergosterolo. Sono entrambe utilizzate negli integratori di vitamina D. Il composto vitamina D è biologicamente inattivo ma entra in circolo e subisce nel fegato un'idrossilazione in 25-idrossivitamina D [25(OH)D] che viene utilizzata per determinare lo stato della vitamina D del paziente.

Nei reni, la 25(OH)D viene ulteriormente idrossilata per produrre il metabolita biologicamente attivo 1,25(OH)₂D¹. L'1,25(OH)₂D è uno dei principali regolatori del metabolismo del calcio e del fosfato; stimola l'assorbimento del calcio a livello intestinale e aumenta il riassorbimento osseo. L'1,25(OH)₂D inibisce inoltre la produzione di ormone paratiroideo (PTH) sia per azione diretta sulle ghiandole paratiroidee sia indirettamente aumentando i livelli sierici di calcio. La produzione di 1,25(OH)₂D è a sua volta stimolata dall'ormone paratiroideo (PTH), ottenendo così un ciclo di controllo efficace¹. Il fattore 23 di crescita dei fibroblasti [FGF-23], secreto dalle ossa, provoca l'internalizzazione del co-trasportatore del sodio-fosfato da parte delle cellule dei reni e dell'intestino tenue e sopprime inoltre la sintesi di 1,25(OH)₂D².

Nell'iperparatiroidismo secondario, una malattia al di fuori delle paratiroidi causa un ingrossamento e un'iperattività delle ghiandole paratiroidee. In genere è causata dall'insufficienza renale, un problema in cui i reni non sono in grado di ripulire il sangue dal fosforo prodotto dall'organismo e non riescono a produrre quantità sufficienti di vitamina D, in particolare 1,25(OH)₂D, ovvero la forma attiva della vitamina D. L'accumulo di fosforo causa bassi livelli ematici di calcio, che stimolano le ghiandole paratiroidee ad aumentare la produzione di ormone paratiroideo (PTH) con conseguente ingrossamento delle ghiandole stesse. Con la progressione della malattia, le ghiandole paratiroidee non rispondono più in modo normale al calcio e alla vitamina D. Il rationale per la terapia diretta con vitamina D nella malattia renale cronica è il rallentamento della progressione dell'iperparatiroidismo secondario. Le linee guida di pratica clinica quali "Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)" e "Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)" raccomandano regimi terapeutici a base di vitamina D attivata per i pazienti affetti da malattia renale cronica^{3,4}.

3. Descrizione del metodo

Il kit IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} è un sistema analitico completo che comporta l'immunoestrazione della 1,25-diidrossivitamina D nel siero umano e la determinazione quantitativa dei livelli di 1,25(OH)₂D sul sistema IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System.

Nella cuvetta 1, 218 µL di campione del paziente vengono delipidati e quindi incubati con particelle magnetiche rivestite con lo specifico anticorpo anti-1,25(OH)₂D. Dopo l'incubazione, le particelle magnetiche vengono lavate e l'1,25(OH)₂D nel campione del paziente viene eluito. 180 µL del campione estratto di 1,25(OH)₂D vengono trasferiti nella cuvetta 2, in cui avviene la procedura di immunodosaggio con metodo a chemiluminescenza.

Nella cuvetta 2, 180 µL di campioni purificati vengono incubati con anticorpo anti-1,25(OH)₂D ovino biotinilato. Dopo questa prima fase di incubazione, viene aggiunto un coniugato 1,25(OH)₂D marcato con acridinio seguito da un'ulteriore fase di incubazione. Prima di una terza fase di incubazione vengono quindi aggiunte le particelle magnetiche marcate con streptavidina. Le particelle magnetiche vengono quindi catturate usando un magnete; segue una fase di lavaggio per rimuovere l'1,25(OH)₂D rimanente non legato. Vengono aggiunti reagenti di attivazione; il segnale luminoso ottenuto emesso dalla marcatura di acridinio è inversamente proporzionale alla concentrazione di 1,25(OH)₂D del campione originale.

4. Avvertenze e precauzioni

Il kit IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro* e non è concepito per l'uso interno in esseri umani o animali. Questo prodotto deve essere utilizzato rigorosamente in ottemperanza alle indicazioni riportate in queste Istruzioni per l'Uso. La Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) non risponderà di eventuali perdite o danni (ad eccezione di quanto stabilito per legge), indipendentemente dalla loro natura, dovuti a un utilizzo del kit non conforme alle istruzioni fornite.

ATTENZIONE: il presente kit contiene materiale di origine animale. Manipolare i reagenti del kit come potenziali vettori di agenti infettivi. È necessario seguire le opportune precauzioni e le corrette prassi di laboratorio nella conservazione, nell'utilizzo e nello smaltimento dei reagenti del kit. Lo smaltimento dei reagenti del kit deve essere eseguito nel rispetto delle normative locali vigenti.

Materiale di origine umana

Il materiale umano utilizzato nella preparazione di questo prodotto è stato testato mediante dosaggi raccomandati dalla FDA per quanto riguarda la presenza di anticorpi anti-virus dell'immunodeficienza umana (HIV I e II), di antigeni di superficie del virus dell'epatite B, di anticorpi anti-epatite C e ha dato risultati negativi. Poiché nessun metodo di indagine è in grado di garantire completamente l'assenza di agenti infettivi dai reagenti, questi devono essere maneggiati conformemente al livello 2 di biosicurezza.

Reagenti contenenti sodio azide

Alcuni reagenti contenuti nel kit contengono sodio azide (NaN₃) < 0,1% (p/p) che può reagire con piombo, rame o ottone presenti nelle tubature formando metallo-azidi altamente esplosivi. Durante lo smaltimento, fare scorrere abbondanti volumi d'acqua per evitare l'accumulo di azidi.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Precauzioni per l'uso

Fatta eccezione per i calibratori, che sono liofilizzati, i reagenti contenuti nel kit sono pronti all'uso. Per la metodologia di ricostituzione, vedere la sezione della procedura relativa ai Calibratori.

Prima di caricare nel sistema una cartuccia nuova, l'operatore deve miscelare il contenitore di particelle magnetiche con un energico movimento rotatorio. In questo modo si risospendono le particelle magnetiche depositatesi durante la spedizione. È necessario evitare la formazione di schiuma nella cartuccia del reagente.

Durata e conservazione dei reagenti

Conservare la cartuccia e i calibratori in posizione **verticale** al buio a 2–8 °C. **Non congelare** la cartuccia o i calibratori.

Durata del reagente	Cartuccia di immunoextraction	Cartuccia di immunodosaggio	Calibratori
Prima dell'apertura a 2–8 °C	Fino alla data di scadenza		
Cartuccia, dopo l'apertura a 2–8 °C	N/A	56 giorni	N/A
Calibratori, dopo la ricostituzione a 2–8 °C	N/A	N/A	6 ore
Caricati nel sistema *	28 giorni	49 giorni	3 ore

* Stabilità continua dei controlli caricati nel sistema

6. Prelievo e conservazione del campione

Il dosaggio deve essere eseguito su campioni di siero (provette di campionamento standard o provette contenenti gel per la separazione del siero).

- I campioni devono essere separati il più presto possibile dopo il prelievo.
- Dopo la separazione, i campioni possono essere conservati per un massimo di 24 ore a temperatura ambiente (18–25 °C) o fino a 7 giorni a 2–8 °C. Se l'attesa tra separazione e analisi è maggiore, i campioni devono essere conservati a -20 °C.
- I campioni possono essere conservati a -20 °C fino a 2,5 mesi; dopo tale periodo devono essere conservati a -80 °C.
- I campioni possono essere sottoposti fino a 2 cicli di congelamento/scongelo e prima di essere caricati nello strumento devono essere completamente scongelati e ben miscelati.
- Nell'analizzatore i campioni sono stabili per un massimo di 3 ore.

Note:

- I campioni contenenti particolato devono essere centrifugati prima di effettuare l'analisi. Non usare campioni inattivati termicamente.
- Per ridurre al minimo i possibili effetti di evaporazione, campioni, calibratori e controlli devono essere misurati entro 3 ore dal caricamento nel sistema.
- Per definire la propria gestione dei campioni e la stabilità di immagazzinaggio, ogni laboratorio deve attenersi alle linee guida o ai requisiti delle normative regionali, nazionali e/o federali oppure stabiliti da organismi di accreditamento. Per informazioni sulle prassi più appropriate, fare riferimento a CLSI GP44-A4, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests".
- Prima di effettuare l'analisi assicurarsi che campioni, calibratori e controlli siano a temperatura ambiente (18–25 °C).
- In determinate circostanze, alcune provette per il prelievo dei campioni disponibili in commercio potrebbero influire sui risultati del test.
- Si raccomanda di seguire le istruzioni del produttore delle provette, in particolare quando si analizzano i campioni in provette primarie.
- I campioni centrifugati con uno strato lipidico in superficie devono essere trasferiti in una coppetta portacampione o provetta secondaria. Prestare attenzione a trasferire solo i campioni chiarificati senza il materiale lipemico.
- **Al fine di ottimizzare la fase di delipidizzazione, i campioni DEVONO raggiungere la temperatura ambiente (18–25 °C) prima di essere caricati nel sistema.**

7. Materiali

Materiali forniti

Cartuccia Immunoextraction, 2 cartucce per 50 analisi

MPA1	Particelle magnetiche rivestite con anticorpo monoclonale anti-1,25(OH) ₂ D, 1 flaconcino, 2,8 mL.
DEL	Reagente di delipidizzazione, una soluzione di solfato di destrano e cloruro di magnesio, 1 flaconcino, 2,6 mL.
DIS	Reagente di dislocazione, un reagente brevettato per la dissociazione dell'1,25(OH) ₂ D dalle proteine di legame con sodio azide come conservante (< 0,1%), 1 flaconcino, 18,7 mL.
ELU	Reagente di eluizione, una soluzione di idrossido di sodio, 1 flaconcino, 13,0 mL.
NET	Reagente di neutralizzazione, una soluzione di acido citrico, 1 flaconcino, 3,4 mL.
BUF	Tampone del dosaggio, un tampone MOPS contenente albumina sierica bovina, 1 flaconcino, 9 mL per flaconcino.

Cartuccia Immunoassay, 1 cartuccia per 100 analisi

MPS3	Particelle magnetiche rivestite con streptavidina in un tampone di fosfato contenente albumina sierica bovina con sodio azide come conservante (< 0,1%), 1 flaconcino, 2,6 mL.
CONJ	Coniugato, 1,25(OH) ₂ D marcato con derivato di estere di acridinio, in un tampone di fosfato contenente albumina sierica bovina con sodio azide come conservante (< 0,1%), 1 flaconcino, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Anticorpo-biotina, anticorpo policlonale anti-1,25(OH) ₂ D marcato con biotina in un tampone di fosfato contenente proteine ovine e sodio azide come conservante (< 0,1%), 1 flaconcino, 13 mL.
BUFD	Tampone di lavaggio, detergente brevettato all'1% in PBS con sodio azide come conservante (< 0,1%), 1 flaconcino, 35 mL.

Calibratori

CAL A	Tampone MOPS liofilizzato contenente albumina sierica bovina, 1,25(OH) ₂ D con sodio azide come conservante
CAL B	(< 1,0%), 3 ciascuno a 2 livelli di concentrazione, 1,2 mL per flaconcino.

Mini CD

Contiene le istruzioni per l'uso per i reagenti IDS-iSYS, i file CRY e i certificati di analisi.

Materiali richiesti, ma non forniti

Sistema

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Accessori/materiali facoltativi

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
Base conica skirted monouso in polipropilene da 2 mL, diametro di 10,8 mm, tappo a vite per microprovette e tappo a vite con O-ring (Sarstedt 72.609 e 65.716 o equivalente)	
Dispositivi di pipettaggio di precisione	

8. Procedura di dosaggio

Cartuccia del reagente di Immunoextraction

I reagenti forniti nella cartuccia sono pronti all'uso. Prima di caricare una nuova cartuccia nel sistema, il contenitore delle particelle magnetiche deve essere completamente risospeso. Le particelle magnetiche possono essere preparate con una delle procedure che seguono, evitando la formazione di schiuma:

Manualmente:

- Miscelare energeticamente il flaconcino delle particelle magnetiche tenendolo tra i palmi delle mani e applicando un movimento avanti e indietro fino a quando il colore delle particelle sospese è diventato marrone.
- Capovolgere con delicatezza e con attenzione il flaconcino delle particelle magnetiche fino a quando tutte le particelle magnetiche depositate sul fondo del flaconcino non saranno risospese.
- Controllare visivamente il fondo del flaconcino delle particelle magnetiche per confermare che tutte le particelle magnetiche depositate siano completamente disperse.
- Se necessario, ripetere il capovolgimento fino a quando le particelle magnetiche non saranno completamente risospese.
- Verificare che non si formi schiuma nei reagenti della cartuccia.

Miscelatore per provette analitiche/di sangue end-over-end:

- Togliere con delicatezza e attenzione il flaconcino delle particelle dalla clip di plastica.
- Inserire il flaconcino delle particelle sul portaprovette.
- Far ruotare il flaconcino a 10–20 giri al minuto per 15 minuti a temperatura ambiente (18–25 °C).
- Controllare visivamente il fondo del flaconcino delle particelle magnetiche per confermare che tutte le particelle magnetiche depositate siano completamente disperse.

- Se necessario, ripetere il capovolgimento fino a quando le particelle magnetiche non saranno completamente risospese.
- Verificare che non si formi schiuma nei reagenti della cartuccia.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Per istruzioni sull'uso, fare riferimento al Manuale dell'utente di IDS-iSYS XPrep.

Quando la cartuccia viene caricata sul vassoio reagenti, il sistema legge il codice a barre. Se il lettore di codice a barre del sistema non è in grado di leggere l'etichetta, esiste una procedura manuale per inserire i dati del codice a barre (vedere il Manuale dell'utente di IDS-iSYS). Quando la cartuccia è sul vassoio reagenti, il sistema esegue automaticamente la miscelazione delle particelle magnetiche per mantenere l'omogeneità.

Non effettuare la scansione sulla cartuccia IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction perché questo riduce a meno di 50 il numero di analisi effettuabili con quella cartuccia.

La cartuccia deve essere caricata sul vassoio reagenti per almeno 60 minuti prima dell'inizio del dosaggio. Lasciare la cartuccia del reagente di immunoestrazione caricata nel sistema fino al suo completo utilizzo.

Cartuccia del reagente Immunoassay

I reagenti forniti nella cartuccia sono pronti all'uso. Prima di caricare nel sistema una cartuccia nuova, miscelare il contenitore di particelle magnetiche con un energico movimento rotatorio tra i palmi delle mani. Evitare la formazione di schiuma.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Per istruzioni sull'uso, fare riferimento al Manuale dell'utente di IDS-iSYS XPrep.

Quando la cartuccia viene caricata sul vassoio reagenti, il sistema legge il codice a barre. Se il lettore di codice a barre del sistema non è in grado di leggere l'etichetta, esiste una procedura manuale per inserire i dati del codice a barre (vedere il Manuale dell'utente di IDS-iSYS). Quando la cartuccia è sul vassoio reagenti, il sistema esegue automaticamente la miscelazione delle particelle magnetiche per mantenere l'omogeneità.

Non effettuare la scansione sulla cartuccia IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay perché questo riduce a meno di 100 il numero di analisi effettuabili con quella cartuccia.

La cartuccia deve essere caricata sul vassoio reagenti per almeno 40 minuti prima dell'inizio del dosaggio. Se la cartuccia viene rimossa dal vassoio reagenti, conservarla in posizione verticale a 2–8 °C al buio.

Calibratori

Il dosaggio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} è stato standardizzato con standard di riferimento interni allineati con i dati di 1,25-diidrossivitamina D validati con LC-MS/MS.

I calibratori IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} sono liofilizzati. Preparare i calibratori attenendosi alla procedura riportata di seguito:

- Verificare che i calibratori abbiano raggiunto la temperatura ambiente (18–25 °C).
- Immediatamente prima dell'uso, aggiungere 1,2 mL di acqua distillata o deionizzata a ogni flacone.
- Riposizionare il tappo. Lasciare ricostituire i flaconcini per 10 minuti a temperatura ambiente (18–25 °C).
- Agitare su vortex per 2–3 secondi; capovolgere delicatamente per garantire la ricostituzione completa.
- Trasferire circa 750 µL di calibratori per la calibrazione in triplicato (180 µL per replica) in microprovette in polipropilene da 2 mL, con base conica skirted e tappo a vite; porre i calibratori nel sistema entro 15 minuti dalla ricostituzione ed effettuare la misurazione entro 3 ore. I calibratori non vengono sottoposti alla procedura di purificazione.
- Evitare la formazione di schiuma in ogni passaggio.
- Procedere secondo le istruzioni nel Manuale dell'utente di IDS-iSYS.

Frequenza di calibrazione

È necessaria una nuova calibrazione:

- Al caricamento di ogni nuovo lotto di cartucce.
- Quando i valori di controllo non rientrano negli intervalli definiti.
- Quando è scaduto l'intervallo di calibrazione di 21 giorni.
- Dopo la manutenzione del sistema.

La verifica della calibrazione è automatica ed è gestita dal sistema.

Calibrazione del sistema

Per eseguire la regolazione della curva master sono necessari i due calibratori IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. I calibratori sono forniti con il kit e non si devono utilizzare calibratori di un altro lotto. Tutti i livelli dell'IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) DEVONO essere misurati contemporaneamente ai calibratori per verificare la regolazione della curva master.

Tutti i dati necessari alla calibrazione della cartuccia sono disponibili sul mini CD. Utilizzare i livelli di calibrazione A e B per regolare la curva master ai reagenti caricati nel sistema. Controllare che sul vassoio reagenti siano presenti una cartuccia Immunoextraction e una cartuccia Immunoassay IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} e che nel database sia disponibile una curva master della cartuccia. Se nel sistema non sono disponibili i dati dei lotti di calibratori, caricarli utilizzando il mini CD in dotazione con il kit di reagenti.

Avviare la calibrazione dell'immunodosaggio nel sistema secondo le istruzioni nel Manuale dell'utente del sistema. La calibrazione viene effettuata usando 3 repliche di ogni livello. È possibile eliminare una replica per soddisfare i requisiti di calibrazione. Anche tutti i livelli di controllo devono essere misurati in duplicato per calibrare il dosaggio. Verificare e approvare la calibrazione secondo lo stato di calibrazione visualizzato nelle finestre di calibrazione ed eliminare il volume restante di calibratori e controlli dal vassoio campioni dopo l'uso.

9. Controllo di qualità

Utilizzare l'IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set per il controllo di qualità. Per assicurare la validità dei risultati è necessario misurare almeno due controlli con livelli diversi di 1,25(OH)₂D. In aggiunta all'IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set possono essere utilizzati altri materiali di controllo adeguati. I controlli devono essere verificati all'inizio (o in prossimità all'inizio) di ogni ciclo contenente i campioni del paziente e anche durante ogni calibrazione, in conformità alle normative locali, regionali e/o statali o ai requisiti di accreditamento e alla procedura di qualità del singolo laboratorio. Per le istruzioni di preparazione e utilizzo, vedere le istruzioni per l'uso dell'IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set.

Determinazione dei livelli del campione di 1,25 Diidrossivitamina D (1,25(OH)₂D)

Analizzare i campioni conformemente al Manuale dell'utente del sistema IDS-iSYS.

10. Calcolo dei risultati

La concentrazione di 1,25(OH)₂D in ciascun campione viene calcolata automaticamente. La visualizzazione delle concentrazioni (a video o stampate) avviene su richiesta dell'utente.

Il dosaggio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} utilizza un adattamento della curva logistica a 4 parametri (4PL) per calcolare le concentrazioni di 1,25(OH)₂D.

Per convertire i risultati in unità SI: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Range della misurazione (range refertabile)

Il range refertabile del dosaggio è di 7,5–150 pg/mL (18–360 pmol/L). Qualsiasi valore inferiore a 7,5 pg/mL (18 pmol/L) deve essere refertato come "< 7,5 pg/mL" (< 18 pmol/L).

12. Diluizione

I campioni con concentrazioni di 1,25(OH)₂D superiori al range refertabile devono essere diluiti manualmente con IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) in un rapporto di 1 a 2. I risultati per i campioni diluiti devono essere moltiplicati per il fattore di diluizione 2x.

13. Limitazioni d'uso

- Come nel caso di qualsiasi procedura diagnostica, i risultati devono essere interpretati unitamente ai dati clinici del paziente e ad altre informazioni a disposizione del medico.
- Non sono state stabilite le caratteristiche di azione di questo dosaggio nella popolazione pediatrica.
- Gli anticorpi eterofili nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline del reagente, interferendo con gli immunodosaggi *in vitro*⁵. I pazienti esposti sistematicamente ad animali o a prodotti contenenti siero animale possono essere soggetti a tale interferenza; in tal caso potrebbero presentarsi valori anomali.
- Le seguenti sostanze non interferiscono con il dosaggio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} quando le concentrazioni riportate nella seguente tabella sono inferiori alla soglia indicata.

Agente potenzialmente interferente	Concentrazione di soglia
Albumina	7,5 g/dL
Bilirubina, coniugata	40 mg/dL
Bilirubina, non coniugata	40 mg/dL
Biotina	0,1 mg/dL
Colesterolo, totale	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Emoglobina	500 mg/dL
Fattore reumatoide	7000 IU/mL
Trigliceridi	3000 mg/dL
Paracetamolo	9 mg/dL
Ibuprofene	50 mg/dL
Carbamazepina	127 µmol/L
Fenitoina	198 µmol/L
Acido acetilsalicilico	65 mg/dL
Acido salicilico	60 mg/dL

14. Valori attesi

Gli intervalli che seguono sono stati determinati con il dosaggio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} e vengono forniti a puro titolo informativo.

I campioni da 121 soggetti adulti apparentemente sani di sesso maschile e femminile di età compresa tra 19 e 69 anni di età con origine etnica mista (34% con pelle scura e 66% con pelle chiara) sono stati analizzati nell'IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. I campioni sono stati raccolti durante l'inverno (36%) e l'estate (64%) da soggetti con valori normali intatti di PTH, calcio, fosfato e TSH dalle regioni settentrionali e meridionali degli Stati Uniti d'America. L'intervallo di riferimento al 95% per gli adulti apparentemente sani è stato calcolato con un metodo non parametrico seguendo le linee guida del CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

Normali range ottenuti nell'adulto: da 15,2 a 90,1 pg/mL (da 36,5 a 216,2 pmol/L)

15. Dati di prestazione

Sono mostrati dati di prestazione rappresentativi. I risultati ottenuti nei singoli laboratori possono variare.

15.1 Sensibilità

Il limite del bianco (LoB), il limite di rilevamento (LoD) e il limite della determinazione quantitativa (LoQ) sono stati definiti in base alla procedura CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation".

Sensibilità	Concentrazione di 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (Limite del bianco)	2,5	6,0
LoD (Limite di rilevamento)	4,2	10,1
LoQ (Limite della determinazione quantitativa)	7,5	18,0

15.2 Precisione

La precisione è stata valutata secondo un protocollo modificato basato sulla procedura CLSI EP-5A2, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods". Un totale di 6 campioni di siero è stato analizzato in duplicato, due volte al giorno per 7 giorni usando un lotto di reagenti su un sistema, un lotto per sistema.

Campione	n	Media		Ripetibilità			Totale		
		pg/mL	pmol/L	DS	CV%	DS	CV%	pg/mL	pmol/L
Siero 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Siero 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Siero 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Siero 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Controllo 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Controllo 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearità

La linearità è stata valutata sulla base della procedura CLSI EP-6A, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". I campioni sono stati preparati diluendo un campione di paziente alto con un campione di paziente basso prima del dosaggio. La regressione lineare delle concentrazioni osservate rispetto alle concentrazioni attese (attese = pendenza x osservate + intercetta) è:

Pendenza	Intercetta		Coefficiente di regressione (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Confronto del metodo

Il dosaggio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} è stato confrontato al dosaggio quantitativo disponibile in commercio IDS-iSYS 1,25-diidrossivitamina D, sulla base della procedura CLSI EP-9A2, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Con ciascun metodo è stato analizzato un totale di 105 campioni, selezionati per rappresentare un ampio range di concentrazioni di 1,25(OH)₂D [11,4–150 pg/mL (27,4–360 pmol/L)]. Sui dati comparativi è stata eseguita un'analisi di Passing Bablok:

n	Pendenza	Intercetta		Coefficiente di correlazione (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Specificità

I seguenti metaboliti esogeni sintetici di vitamina D o composti farmaceutici di vitamina D sono stati aggiunti ai campioni di siero e quindi misurati con il dosaggio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}.

Analita	Reattività crociata (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D ₃)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D ₂)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Simboli usati



Numero di catalogo



Dispositivo diagnostico *In Vitro*



Produttore



Applicato conformemente alla direttiva 98/79/EC

Rx Only

Attenzione: Le leggi federali (statunitensi) limitano la vendita di questo dispositivo da parte di o su richiesta di un (professionista sanitario autorizzato)

16. Bibliografia

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
e-mail: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Fax: +1 301 990 4236
e-mail: info.us@idsplc.com

Francia Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Fax: +33 140 770 455
e-mail: info.fr@idsplc.com

Belgio Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Fax: +32 425 251 96
e-mail: info.be@idsplc.com

Germania Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Fax: +49 693 085 5125
e-mail: info.de@idsplc.com

Scandinavia Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS
Nordic a/s), International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel: +45 448 400 91
e-mail: info.nordic@idsplc.com

Brasile IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel: +55 113 740 6100 • Fax: + 55 113 740 6105
e-mail: info.br@idsplc.com

1. Uso previsto

Para diagnóstico *In Vitro*

El análisis IDS-iSYS1,25 VitD^{xp} es un dispositivo de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de 1,25 dihidroxi vitamina D [1,25(OH)₂D] en suero humano usando el IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Los resultados se usarán como ayuda en la evaluación de suficiencia de vitamina D.

Rx only.

2. Resumen y explicación

Hay dos formas de vitamina D: vitamina D₃ y vitamina D₂. La vitamina D₃, calciol, es la vitamina D que de forma natural se produce en la piel tras la exposición del 7-dehidrocolesterol a la radiación solar ultravioleta¹. La vitamina D₂ se fabrica mediante la radiación ultravioleta de ergosterol a partir de la levadura. Ambas se utilizan en complementos de vitamina D. El compuesto de vitamina D es biológicamente inactivo pero se incorpora a la circulación y se transforma en el hígado en 25hidroxi vitamina D [25(OH)D], que se utiliza para determinar el estado de vitamina D de un paciente.

En el riñón, la 25D sufre de nuevo una hidroxilación para producir un metabolito biológicamente activo: el 1,25(OH)₂D¹. El 1,25(OH)₂D es uno de los mayores reguladores del metabolismo del calcio y el fosfato, que estimula la absorción intestinal del calcio y aumenta la reabsorción ósea. La 1,25(OH)₂D también inhibe la producción de la hormona paratirina (PTH) tanto con la acción directa en las glándulas paratiroides como con el aumento indirecto los niveles de calcio en suero. La producción de 1,25(OH)₂D está estimulada por la paratirina (PTH), lo que produce un eficaz bucle de control¹. El factor de crecimiento de fibroblastos 23 [FGF-23], secretados a partir del hueso, provoca que el cotransportador sodio/fosfato sea asimilado por las células del riñón y el intestino delgado y suprima la síntesis de 1,25(OH)₂D².

En el hiperparatiroidismo secundario, una enfermedad externa a las paratiroides provoca que las glándulas paratiroides se agranden y sean hiperactivas. Normalmente está provocada por una insuficiencia renal, un problema en el que el riñón es incapaz de limpiar la sangre del fósforo producido por el cuerpo y es incapaz de crear suficiente vitamina D, en concreto la 1,25(OH)₂D, la forma activa de la vitamina D. La acumulación de fósforo conduce a bajos niveles de calcio en sangre, lo que estimula las glándulas paratiroides para que aumenten la producción de paratirina (PTH) y se agranden las glándulas. Según avanza la enfermedad, las glándulas paratiroides ya no responden de forma normal al calcio y a la vitamina D. La justificación del tratamiento con vitamina D directamente activada en la IRC es ralentizar la progresión del hiperparatiroidismo secundario. Las directrices de la práctica clínica, como "Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)" y "Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)" recomiendan tratamientos con vitamina D activada para pacientes con IRC^{3,4}.

3. Descripción del método

El kit IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} es un sistema de prueba completo que incluye la inmuoextracción de 1,25dihidroxi vitamina D en el suero humano y la determinación cuantitativa de niveles de 1,25(OH)₂D en el sistema IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System.

En la cubeta 1, la muestra del paciente de 218 µL se delipida y posteriormente se incuba con un anticuerpo específico anti-1,25(OH)₂D cubierto de partículas magnéticas. Tras la incubación, las partículas magnéticas se eliminan y se eluye la 1,25(OH)₂D en el paciente. 180 µL de la muestra extraída de 1,25(OH)₂D se transfiere a la cubeta 2, donde se efectúa el inmunoanálisis, basado en tecnología quimioluminescente.

En la cubeta 2, se incuban las muestras de 180 µL inmunopurificadas con anticuerpos anti-1,25(OH)₂D ovinos biotinilados. Tras el primer paso de incubación, un conjugado 1,25(OH)₂D marcado con acridinio se añade, seguido de una posterior incubación. Las partículas magnéticas marcadas con estreptavidina se añaden ahora a una tercera incubación. Las partículas magnéticas se capturan utilizando un procedimiento con imanes y lavado, para eliminar cualquier 1,25(OH)₂D sin consolidar. Al añadir los catalizadores, la luz resultante emitida por el acridinio es inversamente proporcional a la concentración de 1,25(OH)₂D en la muestra original.

4. Advertencias y precauciones

El IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} solo se utiliza para diagnóstico *in vitro* y no para uso interno en humanos ni animales. Este producto debe usarse en estricto acuerdo con las instrucciones establecidas en las Instrucciones de Uso. Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) no se hace responsable de ninguna pérdida o daño (excepto en los casos exigidos por ley), cualquiera que sea su naturaleza, debido al incumplimiento de las instrucciones suministradas.

PRECAUCIÓN: Este kit contiene material de origen animal. Manipule los reactivos del kit como potenciales transmisores de agentes infecciosos. Se deben seguir las precauciones pertinentes y las prácticas de laboratorio recomendadas para el almacenamiento, manipulación y eliminación de los reactivos del kit. La eliminación de los reactivos del kit debe realizarse siguiendo las normativas locales.

Material humano

El material de origen humano empleado en la preparación de este producto ha sido probado por los análisis recomendados de la FDA para detectar la presencia de anticuerpos del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH I y II), el antígeno de superficie de la hepatitis B y el anticuerpo de la hepatitis C, con resultados negativos. Debido a que ninguna prueba ofrece la certeza de la ausencia de agentes infecciosos, los reactivos se deben manipular de acuerdo con el Nivel 2 de Bioseguridad.

Reactivos que contienen Azida de sodio

Algunos reactivos en este kit contienen azida de sodio (NaN₃) < 0,1 % (p/p) que puede reaccionar con las tuberías de plomo, cobre o latón y formar azidas metálicas altamente explosivas. Al desecharlo, se debe enjuagar con grandes cantidades de agua para evitar la acumulación de azida.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Precauciones de manipulación

Además de los calibradores liofilizados, los reactivos que se suministran en el kit están listos para su uso. Consulte la sección del calibrador del procedimiento para obtener la metodología de reconstitución.

Antes de cargar un nuevo cartucho en el sistema, el contenedor de partículas magnéticas necesita mezclarse con el operador mediante un rápido movimiento de rotación. Esto volverá a suspender las partículas magnéticas que han quedado asentadas durante el envío. Tenga cuidado de que no se forme espuma en el cartucho del reactivo.

Vida útil y almacenamiento de los reactivos

Almacene el cartucho y los calibradores en posición **vertical** en la oscuridad entre 2 y 8 °C. **No congele** el cartucho ni los calibradores.

Vida útil del reactivo	Cartucho de inmunoextraction	Cartucho de inmunoanálisis	Calibradores
Antes de abrir: de 2 a 8 °C	Hasta la fecha de caducidad		
Después de abrir: de 2 a 8 °C	N/D	56 Días	N/D
Calibradores, después de la reconstitución: de 2 a 8 °C	N/D	N/D	6 Horas
En el sistema *	28 Días	49 Días	3 Horas

* Estabilidad continua en el sistema

6. Recogida de muestras y almacenamiento

Se debería realizar el análisis con muestras de suero (tubos de muestra estándar o tubos con gel separador de suero).

- Las muestras deberían separarse lo antes posible tras la extracción.
- Tras la separación, las muestras pueden almacenarse durante un máximo de 24 horas a temperatura ambiente (18-25 °C) o hasta siete días entre 2 y 8 °C. Si se necesita más tiempo entre la separación y la prueba, las muestras deben almacenarse a -20 °C.
- Las muestras pueden almacenarse a -20 °C hasta dos meses y medio. En adelante, deben conservarse a -80 °C.
- Las muestras pueden sufrir dos ciclos de congelación/descongelación y deben estar completamente descongeladas y bien mezcladas antes de cargarlas en el instrumento.
- Las muestras permanecen estables en el analizador del sistema durante un máximo de 3 horas.

Nota:

- Las muestras con material particulado deben centrifugarse antes de realizar el análisis. No utilice muestras inactivadas por calor.
- Para minimizar posibles efectos de evaporación, las muestras, calibradores y controles deben medirse a las 3 horas de colocarse en el sistema.
- Cada laboratorio debe seguir las directrices y requisitos de las normas locales, nacionales y/o federales o de organizaciones autorizadas para establecer la estabilidad de almacenamiento y manipulación de sus propias muestras. Para obtener directrices sobre las prácticas adecuadas, consulte el documento CLSI GP44-A4, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests".
- Antes de realizar análisis, asegúrese que las muestras, calibradores y controles están a temperatura ambiente (18-25 °C).
- Algunas tubos de recogida de muestras disponibles en el mercado pueden afectar a los resultados de la prueba en casos particulares.
- Se recomienda seguir las instrucciones del fabricante del tubo, especialmente cuando se procesan las muestras en tubos primarios.
- Las muestras centrifugadas con una capa de lípido en la parte superior deben transferirse a un recipiente para muestras o tubo secundario. Tenga cuidado de transferir solo las muestras clarificadas sin el material lipémico.
- **Las muestras DEBEN equilibrarse a temperatura ambiente (18-25 °C) antes de cargarlas en el sistema para optimizar el paso de deslipidación.**

7. Materiales

Materiales suministrados

Cartucho de Inmunoeextracción, 2 cartuchos de 50 análisis

MPA1	Partículas magnéticas recubiertas de anticuerpo monoclonal para 1,25(OH) ₂ D, 1 vial, 2,8 mL.
DEL	Reactivo de deslipidación, una solución de sulfato de dextrano y cloruro de magnesio, 1 vial, 2,6 mL.
DIS	Reactivo de desplazamiento, un reactivo patentado para disociar la 1,25(OH) ₂ D de las proteínas de unión con azida de sodio como conservante (< 0,1 %), 1 vial, 18,7 mL.
ELU	Reactivo de elución, una solución de hidróxido de sodio, 1 vial, 13,0 mL.
NET	Reactivo de neutralización, una solución de ácido cítrico, 1 vial, 3,4 mL.
BUF	Tampón de análisis, un tampón MOPS con albúmina de suero bovino, 1 vial, 9 mL por vial.

Cartucho de Immunoassay, 1 cartucho de 100 análisis

MPS3	Partículas magnéticas recubiertas con estreptavidina en un tampón de fosfato con albúmina de suero bovino y azida de sodio como conservante (< 0,1 %), 1 vial, 2,6 mL.
CONJ	Conjugado, 1,25(OH) ₂ D marcada con un derivado de éster de acridinio, en un tampón de fosfato con albúmina de suero bovino con azida de sodio como conservante (< 0,1 %), 1 vial, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Biotina-anticuerpo, anticuerpo policlonal de anti-1,25(OH) ₂ D marcado con biotina en un tampón de fosfato con proteínas ovinas con azida de sodio (< 0,1 %), 1 vial, 13 mL.
BUFD	Tampón de lavado, detergente propio al 1 % en PBS con azida de sodio como conservante (< 0,1 %), 1 vial, 35 mL por vial.

Calibradores

CAL A	Tampón MOPS liofilizado con albúmina de suero bovino, 1,25(OH) ₂ D con azida de sodio como conservante
CAL B	(< 1,0 %), 3 de cada 2 niveles de concentración, 1,2 mL por frasco.

Mini CD

Contiene Instrucciones de Uso para los reactivos IDS-iSYS, archivos CRY y certificado de análisis.

Materiales necesarios pero no suministrados

Sistema	Equipo/material opcional
IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution
	IS-2035 IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
	IS-10DA IDS-iSYS Diluent A
	IS-XP01 IDS-iSYS XPrep
	Microtubos desechables de 2 mL de polipropileno, con tapa de rosca, base cónica con faldón, diámetro de 10,8 mm, y tapa de rosca con junta tórica (Sarstedt 72.609 y 65.716 o equivalente)
	Dispositivos de pipeteado de precisión

8. Procedimiento de análisis

Cartucho reactivo de Inmunoeextracción

Los reactivos que se suministran en el cartucho están listos para su uso. Antes de cargar un nuevo cartucho en el sistema, las partículas magnéticas deben estar completamente en resuspensión. Las partículas magnéticas se pueden preparar siguiendo una de las siguientes opciones para evitar la formación de espuma:

De forma manual:

- Agite el vial de partículas magnéticas enérgicamente entre las palmas de las manos con un movimiento hacia delante y hacia atrás hasta que el color de las partículas suspendidas cambie a marrón.
- Invierta suave y cuidadosamente el vial de partículas magnéticas hasta que todas las partículas magnéticas asentadas en el fondo del vial estén en resuspensión.
- Compruebe visualmente el fondo del vial de partículas magnéticas para confirmar que todas las partículas asentadas se han dispersado por completo.
- Repita la inversión si es necesario hasta que las partículas magnéticas estén completamente en resuspensión.
- Asegúrese de que no se forma espuma en los reactivos del cartucho.

Utilizando un mezclador de tubos de sangre/análisis vertical:

- Retire suave y cuidadosamente el vial de partículas de la pinza de plástico.
- Coloque el vial de partículas en el soporte de análisis/sangre.
- Gire el vial a 10-20 revoluciones por minuto durante 15 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).
- Compruebe visualmente el fondo del vial de partículas magnéticas para confirmar que todas las partículas asentadas se han dispersado por completo.
- Repita la inversión si es necesario hasta que las partículas magnéticas estén completamente en resuspensión.
- Asegúrese de que no se forma espuma en los reactivos del cartucho.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Consulte el manual del usuario de IDS-iSYS XPrep para obtener instrucciones de uso.

El código de barras se lee cuando se carga el cartucho en la bandeja de reactivos. Si el lector de códigos de barras del sistema no puede leer la etiqueta, existe un procedimiento manual para introducir los datos del código de barras (consulte el manual de usuario de IDS-iSYS). Una vez que el cartucho está en la bandeja de reactivos, el sistema mezcla automáticamente las partículas magnéticas para mantener la homogeneidad.

No realice la lectura del nivel del cartucho en el cartucho IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction, ya que esto hará que el cartucho dé como resultado menos de 50 análisis.

Se debería cargar el cartucho en la bandeja de reactivos por lo menos 60 minutos antes de comenzar el análisis. Deje el cartucho de reactivos de inmunoeextracción en el sistema hasta que se agote.

Cartucho de reactivos Immunoassay

Los reactivos que se suministran en el cartucho están listos para su uso. Antes de cargar un nuevo cartucho en el sistema, mezcle el recipiente de partículas con un rápido movimiento de rotación entre las palmas de sus manos. Evite la formación de espuma.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Consulte el manual del usuario de IDS-iSYS XPrep para obtener instrucciones de uso.

El código de barras se lee cuando se carga el cartucho en la bandeja de reactivos. Si el lector de códigos de barras del sistema no puede leer la etiqueta, existe un procedimiento manual para introducir los datos del código de barras (consulte el manual de usuario de IDS-iSYS). Una vez que el cartucho está en la bandeja de reactivos, el sistema mezcla automáticamente las partículas magnéticas para mantener la homogeneidad.

No realice la lectura del nivel del cartucho en el cartucho IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay ya que esto hará que el cartucho dé como resultado menos de 100 análisis.

Se debería cargar el cartucho en la bandeja de reactivos por lo menos 40 minutos antes de comenzar el análisis. Si se retira el cartucho de la bandeja de reactivos, almacénelo verticalmente entre 2 y 8 °C en la oscuridad.

Calibradores

El análisis IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} se ha estandarizado frente a estándares de referencia internos y se ha alineado para la 1,25-dihydroxyvitamin D LC-MS/MS validada.

Los calibradores IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} están liofilizados. Prepare los calibradores de acuerdo al siguiente procedimiento.

- Compruebe que los calibradores se equilibran a temperatura ambiente (18-25 °C).
- Inmediatamente antes de usarlos, añada 1,2 mL de agua destilada o desionizada en un frasco de cada nivel.
- Sustituya el llenador. Deje que los viales permanezcan 10 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) para la reconstitución.
- Agite durante 2-3 segundos; inviértalo suavemente para que la reconstitución se complete.
- Transfiera aproximadamente 750 µL para la calibración por triplicado (180 µL por duplicado) de calibradores a microtubos de 2 mL de polipropileno, con tapa de rosca y base cónica con faldón, y colóquelos en el sistema en un intervalo de 15 minutos desde la reconstitución y mídalos antes de 3 horas. Los calibradores no se someten al procedimiento de purificación.
- Evite que se forme espuma en todos los pasos.
- Proceda según las instrucciones detalladas en el manual del usuario de IDS-iSYS.

Frecuencia de calibración

Es necesaria una nueva calibración:

- Después de cargar cada nuevo lote de cartuchos.
- Cuando los valores de control no se inscriben en los rangos definidos.
- Cuando el intervalo de calibración de 21 días haya vencido.
- Tras el mantenimiento del sistema.

La verificación de la calibración es automática y está gestionada por el sistema.

Calibración del sistema

Los dos calibradores IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} son necesarios para realizar el ajuste de la curva maestra. Estos calibradores se suministran con el kit; no se deben usar calibradores de otro kit. Todos los niveles del IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) SE DEBEN medir al mismo tiempo que el calibrador para verificar el ajuste de la curva maestra.

Puede encontrar todos los datos necesarios para la calibración del cartucho en el mini CD. Utilice los niveles de calibrador A y B para ajustar la curva maestra para los reactivos cargados en el sistema. Compruebe la presencia de un cartucho de Immunoextraction y de Immunoassay IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} en la bandeja de reactivos y la disponibilidad de la curva maestra del cartucho en la base de datos. Si los datos del lote de calibradores no están disponibles en el sistema, cargue los datos con el mini CD suministrado con el kit de reactivos.

Inicie la calibración de inmunanálisis en el sistema de acuerdo con el manual de usuario. La calibración se efectúa usando tres réplicas de cada nivel. Solo se puede eliminar un duplicado para satisfacer los requisitos de calibración. También se deben medir todos los niveles de control por duplicado para calibrar el análisis. Compruebe y apruebe la calibración según el estado de calibración mostrado en las ventanas de calibración; deseche el resto de calibradores y los controles de la bandeja de muestras después de usarlos.

9. Control de calidad

Utilice el IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set para el control de calidad. Para asegurar la validez de los resultados, deben medirse al menos dos controles con distintos niveles de 1,25(OH)₂D. Se puede utilizar otro material de control adecuado

además del IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Los controles se deben probar al inicio (o casi) de todo análisis con muestras de pacientes y también durante cada calibración según las normativas locales, estatales y/o federales o los requisitos de acreditación y el procedimiento de calidad de su laboratorio. Consulte las instrucciones de uso IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set para obtener más información sobre los procesos de preparación y manipulación.

Determinación de niveles de la muestra 1,25 Dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D)

Procese las muestras de acuerdo con el manual de usuario del sistema IDS-iSYS.

10. Cálculo de los resultados

La concentración de 1,25(OH)₂D en cada muestra se calcula automáticamente. La visualización de cada concentración (en pantalla o impresa) se produce a petición del usuario.

El análisis IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} utiliza un ajuste de curva logística de 4 parámetros (4PL) para calcular las concentraciones de 1,25(OH)₂D.

Para convertir los resultados a unidades SI: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Rango de medición (Rango reportable)

El rango reportable del análisis es 7,5-150 pg/mL (18-360 pmol/L). Cualquier valor por debajo de 7,5 pg/mL (18 pmol/L) debe declararse como "<7,5 pg/mL" ("< 18 pmol/L").

12. Dilución

Las muestras con concentraciones de 1,25(OH)₂D por encima de los rangos declarados se deben diluir manualmente con IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) con una relación 1:2. Los resultados de muestras diluidas se deben multiplicar por el factor de dilución 2x.

13. Limitaciones de uso

- Como en cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados deben interpretarse junto con el cuadro clínico inicial del paciente y con otra información disponible para el médico.
- No se han establecido las características de rendimiento de este análisis en una población pediátrica.
- Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con los reactivos inmunoglobulina, interfiriendo en el inmunoanálisis *in vitro*⁵. Es posible que los pacientes expuestos habitualmente a animales o productos de suero animal sean propensos a esta interferencia y puedan observarse valores anómalos.
- Las siguientes sustancias no interfieren en el análisis IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} cuando las concentraciones presentadas en la siguiente tabla están por debajo del límite establecido.

Sustancia con interferencia potencial	Concentración límite
Albúmina	7,5 g/dL
Bilirrubina, conjugada	40 mg/dL
Bilirrubina, no conjugada	40 mg/dL
Biotina	0,1 mg/dL
Colesterol. total	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobina	500 mg/dL
Anticuerpos reumatoideos	7000 IU/mL
Triglicéridos	3000 mg/dL
Acetaminofén	9 mg/dL
Ibuprofeno	50 mg/dL
Carbamacepina	127 µmol/L
Fenitoína	198 µmol/L
Ácido acetilsalicílico	65 mg/dL
Ácido salicílico	60 mg/dL

14. Valores esperados

Los siguientes rangos se determinaron por medio del análisis IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} y se proporcionan solo a título informativo.

Las muestras de 121 hombres y mujeres adultos aparentemente sanos con edades comprendidas entre 19-69 años de origen étnico variado (34 % de piel oscura y 66% de piel clara) se analizaron en el IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Se recogieron muestras durante el invierno (36 %) y el verano (64%) de individuos con valores normales intactos de PTH, calcio, fosfato y TSH de las regiones del norte y sur de los Estados Unidos. El 95 % del intervalo de referencia de los adultos aparentemente sanos se calculó con un método no paramétrico siguiendo las directrices de CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

Rango normal de adultos obtenido: 15,2 a 90,1 pg/mL (36,5 a 216,2 pmol/L)

15. Datos de rendimiento

Se muestran datos de rendimiento representativos. Los resultados obtenidos en laboratorios concretos pueden variar.

15.1 Sensibilidad

El límite del blanco (LoB), el límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LoQ) se determinaron siguiendo las directrices de CLSI EP17-A, "Protocolos de Determinación de Límites de Detección y Límites de Cuantificación".

Sensibilidad	Concentración de 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (Límite del blanco)	2,5	6,0
LoD (Límite de detección)	4,2	10,1
LoQ (Límite de cuantificación)	7,5	18,0

15.2 Precisión

La precisión se evaluó de acuerdo con un protocolo modificado basado en CLSI EP-5A2, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods". Se analizó un total de 6 muestras de suero por duplicado, dos veces al día durante siete días usando un lote de reactivos en un sistema, un lote por sistema.

Muestra	n	Media		Repetibilidad		% CV	Total		% CV
		pg/mL	pmol/L	DE	DE		pg/mL	pmol/L	
Suero 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Suero 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Suero 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Suero 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Control 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Control 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linealidad

La linealidad se evaluó de acuerdo con el procedimiento de CLSI EP-6A, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Se prepararon las muestras con la dilución de una gran muestra del paciente con una pequeña muestra del paciente antes de la extracción. La regresión lineal de las concentraciones observadas en comparación con la concentración esperada (esperada = pendiente x observada ± intersección) es:

Pendiente	Intersección		Coeficiente de regresión (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Comparación de métodos

El análisis IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} se comparó con el análisis cuantitativo disponible comercialmente de 1,25dihidroxi vitamina D IDS-iSYS siguiendo CLSI EP-9A2, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Se analizaron un total de 105 muestras con cada método, seleccionadas para representar un amplio rango de concentraciones de 1,25(OH)₂D [11,4-150 pg/mL (27,4-360 pmol/L)]. Se realizó un análisis de regresión de Passing-Bablok en los datos comparativos:

n	Pendiente	Intersección		Coeficiente de correlación (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Especificidad

Los siguientes metabolitos de Vitamina D sintética exógena o compuestos de Vitamina D se añadieron en muestras de suero y se midieron con el análisis IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}.

Analito	Reactividad cruzada (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Símbolos utilizados



Número de catálogo



Dispositivo de diagnóstico *In Vitro*



Fabricante



Aplicado de acuerdo con la directiva 98/79/EC

Rx Only

Precaución: La ley federal estadounidense restringe la venta de este dispositivo a un médico o mediante prescripción de este.

17. Bibliografía

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
Correo electrónico: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

EE. UU. Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Fax: +1 301 990 4236
Correo electrónico: info.us@idsplc.com

Francia Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Fax: +33 140 770 455
Correo electrónico: info.fr@idsplc.com

Bélgica Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Fax: +32 425 251 96
Correo electrónico: info.be@idsplc.com

Alemania Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Fax: +49 693 085 5125
Correo electrónico: info.de@idsplc.com

Escandinavia Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel.: +45 448 400 91
Correo electrónico: info.nordic@idsplc.com

Brasil IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel.: +55 113 740 6100 • Fax: + 55 113 740 6105
Correo electrónico: info.br@idsplc.com

1. Utilização prevista

Para utilização no diagnóstico *in vitro*

O ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} é um dispositivo para diagnóstico *in vitro* destinado à determinação quantitativa de 1,25-dihidroxi-vitamina D [1,25(OH)₂D] no soro humano no IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Os resultados devem ser utilizados como auxílio na avaliação de deficiência de vitamina D.

Rx only.

2. Resumo e explicação

Há duas formas de vitamina D: vitamina D₃ e vitamina D₂. A vitamina D₃, colecalciferol, é a forma de vitamina D que ocorre naturalmente e é produzida na pele após a exposição de 7-deidrocolesterol à radiação ultravioleta solar ¹. A vitamina D₂ é produzida através da irradiação ultravioleta do ergosterol da levedura. Ambas são usadas nos suplementos de vitamina D. O composto da vitamina D é biologicamente inativo, mas entra na circulação e é hidroxilado no fígado em 25-hidroxi-vitamina D [25(OH)D], a forma usada para determinar o nível de vitamina D do paciente.

A 25(OH)D é posteriormente hidroxilada nos rins, produzindo o metabolito biologicamente ativo designado por 1,25(OH)₂D ¹. O 1,25(OH)₂D é um dos principais reguladores do metabolismo do cálcio e fosfato, estimulando a absorção intestinal do cálcio e aumentando a reabsorção óssea. O 1,25(OH)₂D inibe também a produção da hormona paratiroideia (PTH), tanto por ação direta nas glândulas paratiroides como indiretamente ao fazer subir os níveis do cálcio sérico. A produção de 1,25(OH)₂D é, ela mesma, estimulada pela hormona paratiroideia (PTH), proporcionando assim um ciclo de controlo eficaz ¹. O fator de crescimento fibroblástico 23 [FGF-23], segregado nos ossos, provoca a internalização do cotransportador de sódio-fosfato pelas células dos rins e do intestino delgado e suprime igualmente a síntese ² do 1,25(OH)₂D.

No hiperparatiroidismo secundário, estas aumentam de tamanho e tornam-se hiperativas. Geralmente, isto deve-se a uma situação de insuficiência renal, na qual os rins não conseguem limpar do sangue o fósforo produzido pelo corpo nem produzir vitamina D suficiente, especificamente a 1,25(OH)₂D — a forma ativa da vitamina D. A acumulação de fósforo origina níveis baixos de cálcio no sangue, os quais estimulam as glândulas paratiroides, aumentando assim a produção da hormona paratiroideia (PTH) e, conseqüentemente, originando o aumento das glândulas. À medida que a doença avança, as glândulas paratiroides deixam de responder normalmente ao cálcio e à vitamina D. O objetivo da terapia de vitamina D diretamente ativada na doença renal crónica (DRC) é retardar a progressão do hiperparatiroidismo secundário. As diretrizes da prática clínica, como «Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)» e «Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)», recomendam regimes terapêuticos de vitamina D ativada para os pacientes com DRC ^{3,4}.

3. Descrição do método

O kit IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} é um sistema de teste completo que envolve a immunoextração da 1,25-dihidroxi-vitamina D do soro humano e a determinação quantitativa dos níveis da 1,25(OH)₂D no IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (Sistema).

Na cuvete 1, 218 µL de amostra de paciente é delipidada e, em seguida, incubada com partículas magnéticas revestidas com um anticorpo anti-1,25(OH)₂ específico. Após a incubação, as partículas magnéticas são lavadas e a 1,25(OH)₂D na amostra de paciente é eluída. 180 µL da amostra 1,25(OH)₂D extraída é transferida para a cuvete 2, onde ocorre o procedimento do imunoensaio, com base na tecnologia de quimiluminescência.

Na cuvete 2, 180 µL de amostras purificadas são incubadas com o anticorpo anti-1,25(OH)₂D biotinilado de ovino. A seguir ao primeiro passo de incubação, é adicionado um conjugado de 1,25(OH)₂D marcado com acridínio, seguido de um subsequente passo de incubação. São depois adicionadas partículas magnéticas marcadas com estreptavidina, antes de um terceiro passo de incubação. As partículas magnéticas são capturadas através de um íman e é efetuada uma lavagem para remover qualquer 1,25(OH)₂D não ligado. São adicionados reagentes ativadores e a luz emitida pela marca com acridínio resultante é inversamente proporcional à concentração de 1,25(OH)₂D na amostra original.

4. Advertências e precauções

O IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} destina-se apenas à utilização no diagnóstico *in vitro* e não à utilização interna em seres humanos ou animais. Este produto deve ser utilizado estritamente de acordo com as instruções definidas nestas instruções de utilização. A Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) não se responsabiliza por quaisquer perdas ou danos (exceto conforme exigido por lei), independentemente das causas, resultantes do não cumprimento das instruções fornecidas.

ATENÇÃO: Este kit contém material de origem animal. Manuseie os reagentes do kit como potenciais transmissores de agentes infecciosos. Tenha em conta as precauções apropriadas e as boas práticas laboratoriais no manuseamento, na conservação e eliminação dos reagentes do kit. Elimine os reagentes do kit de acordo com os regulamentos locais.

Materiais humanos

O material humano utilizado na preparação deste produto foi testado com os ensaios recomendados pela FDA para detetar a presença de anticorpos do vírus de imunodeficiência humana (VIH I e II), antigénio de superfície da hepatite B e anticorpo da Hepatite C, tendo o resultado sido negativo. Como não existe um teste que garanta efetivamente a ausência de agentes infecciosos, os reagentes devem ser manuseados de acordo com o Nível 2 de Biossegurança.

Reagentes com azida de sódio

Alguns reagentes deste kit contêm azida de sódio (NaN₃) <0,1% (p/p) que pode reagir com canalização de chumbo, cobre ou latão para formar azidas metálicas altamente explosivas. Ao eliminar o produto, passe os materiais por água corrente em abundância para prevenir a acumulação de azida.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Precauções de manuseamento

À exceção dos calibradores, que se encontram liofilizados, os reagentes do kit são fornecidos prontos a usar. Consulte a secção dos calibradores para obter informações acerca do procedimento de reconstituição.

O operador deve agitar o recipiente com partículas magnéticas através de um vigoroso movimento de rotação antes de colocar um novo cartucho no Sistema. Esta ação irá suspender de novo as partículas magnéticas que ficaram pousadas no fundo durante o transporte. Devem ser tomadas precauções para evitar a formação de espuma no cartucho de reagentes.

Prazo de validade e conservação dos reagentes

Conserve o cartucho e os calibradores **na vertical**, ao abrigo da luz, a uma temperatura entre 2 e 8 °C. **Não congele** o cartucho ou os calibradores.

Validade do reagente	Cartucho de immunoextraction	Cartucho de imunoensaio	Calibradores
Antes de abrir, a 2 - 8 °C	Até à data de validade		
Cartucho, depois de abrir, a 2 - 8 °C	N/A	56 Dias	N/A
Calibradores, após a reconstituição, a 2 - 8 °C	N/A	N/A	6 Horas
Dentro do sistema *	28 Dias	49 Dias	3 Horas

* Estabilidade contínua dentro do sistema

6. Colheita e conservação das amostras

O ensaio deve ser executado utilizando amostras de soro (tubos de colheita normais ou tubos com gel de separação do soro).

- As amostras devem ser separadas o mais depressa possível após a colheita.
- Após a separação, as amostras podem ser armazenadas por um período máximo de 24 horas à temperatura ambiente (18 - 25 °C) ou até 7 dias a 2 - 8 °C. Se for necessário um período de tempo mais longo entre a separação e a realização dos testes, as amostras podem ser armazenadas a -20 °C.
- As amostras podem ser armazenadas a -20 °C até 2 meses e meio; a partir desse período, devem ser armazenadas a -80 °C.
- As amostras poderão sofrer até 2 ciclos de congelamento e descongelamento e devem ser totalmente descongeladas e bem misturadas antes da colocação no instrumento.
- As amostras mantêm-se estáveis no analisador durante um período máximo de 3 horas.

Nota:

- As amostras que contêm partículas de matéria devem ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inativadas pelo calor.
- Para minimizar possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos devem ser medidos num prazo de 3 horas após terem sido colocados no sistema.
- Cada laboratório deve seguir as diretrizes ou exigências dos regulamentos locais e nacionais ou de organizações de acreditação para estabelecer a sua própria estabilidade de manuseamento e conservação de espécimes. Para obter instruções relativamente às práticas apropriadas, consulte CLSI GP44-A4, «Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests».
- Antes de realizar ensaios, certifique-se de que amostras, calibradores e controlos se encontram à temperatura ambiente (18–25 °C).
- Alguns tubos de colheita de amostras disponíveis comercialmente podem, em determinados casos, afetar os resultados dos testes.
- Recomendamos o cumprimento das instruções do fabricante do tubo, sobretudo ao processar amostras em tubos primários.
- Amostras centrifugadas com uma camada de lípidos na parte superior devem ser transferidas para um copo de amostra ou um tubo secundário. Devem ser tomadas precauções para que sejam transferidas apenas as amostras clarificadas sem o material lipémico.
- **As amostras DEVEM ser equilibradas à temperatura ambiente (18 - 25 °C) antes de serem colocadas no Sistema de modo a otimizar o passo da delipidação.**

7. Materiais

Materiais fornecidos

Cartucho de Immunoextraction, 2 cartuchos de 50 testes

MPA1	Partículas magnéticas revestidas com anticorpo monoclonal para a 1,25(OH) ₂ D; 1 frasco, 2,8 mL.
DEL	Reagente de delipidação, uma solução de sulfato de dextrano e cloreto de magnésio; 1 frasco, 2,6 mL.
DIS	Reagente de dissociação, um reagente patenteado para dissociar a 1,25(OH) ₂ D das proteínas de ligação com azida de sódio como conservante (<0,1%); 1 frasco, 18,7 mL.
ELU	Reagente de eluição, solução de hidróxido de sódio; 1 frasco, 13,0 mL.
NET	Reagente de neutralização, solução de ácido cítrico; 1 frasco, 3,4 mL.
BUF	Tampão de ensaio, um tampão MOPS com albumina de soro bovino; 1 frasco, 9 mL por frasco.

Cartucho de Immunoassay, 1 cartucho de 100 testes

MPS3	Partículas magnéticas revestidas com estreptavidina num tampão de fosfato com albumina de soro bovino e azida de sódio como conservante (<0,1%); 1 frasco, 2,6 mL.
CONJ	Conjugado, 1,25(OH) ₂ marcada com um derivado de éster de acridina, num tampão de fosfato com albumina de soro bovino com azida de sódio como conservante (<0,1%); 1 frasco, 9,6 mL por frasco.
Ab-BIOT	Anticorpo-Biotina, anticorpo policlonal anti-1,25(OH) ₂ D marcado com biotina num tampão de fosfato com proteínas de ovino e azida de sódio como conservante (<0,1%); 1 frasco, 13 mL.
BUFD	Tampão de lavagem, 1% de detergente patenteado de PBS com azida de sódio como conservante (<0,1%); 1 frasco, 35 mL por frasco.

Calibradores

CAL A	Tampão MOPS liofilizado com albumina de soro bovino, 1,25(OH) ₂ D com azida de sódio como conservante (<1,0%); 3 de cada um dos 2 níveis de concentração, 1,2 mL por frasco.
CAL B	

Mini CD

Contém as Instruções de utilização dos reagentes do IDS-iSYS, ficheiros CRY e o Certificado de análise.

Materiais necessários mas não fornecidos

Sistema

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS1,25 VitD ^{xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Materiais/equipamento opcionais

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep

Microtubos descartáveis de polipropileno de 2 mL e 10,8 mm de diâmetro, com tampa de rosca, base cônica com aba e tampa de rosca com anel vedante (Sarstedt 72.609 e 65.716 ou equivalente)
Dispositivos de pipetagem de precisão

8. Procedimento do ensaio

Cartucho do reagente de Immunoextraction

Os reagentes fornecidos no cartucho estão prontos a utilizar. Antes de colocar um novo cartucho no Sistema, o recipiente com partículas magnéticas deve ser novamente suspenso por completo. As partículas magnéticas podem ser preparadas, através de uma das seguintes opções, para evitar a formação de espuma:

Manualmente:

- Misture o frasco das partículas magnéticas vigorosamente entre as palmas das mãos num movimento para a frente e para trás até que a cor das partículas suspensas mude para castanho.
- Inverta o frasco de partículas magnéticas delicada e cuidadosamente até que todas as partículas pousadas no fundo do frasco tenham voltado a ficar suspensas.
- Verifique visualmente o fundo do frasco de partículas magnéticas para confirmar que todas as partículas magnéticas pousadas se dispersaram por completo.
- Repita a inversão caso seja necessário até que as partículas magnéticas estejam novamente suspensas por completo.
- Assegure-se de que não se forma espuma nos reagentes do cartucho.

Misturador de tambor vertical/misturador de tubos de sangue:

- Retire o frasco de partículas do grampo de plástico com cuidado.
- Encaixe o frasco de partículas no suporte.
- Gire o frasco a 10 - 20 rotações por minuto à temperatura ambiente (18 - 25 °C) durante 15 minutos.
- Verifique visualmente o fundo do frasco de partículas magnéticas para confirmar que todas as partículas magnéticas pousadas se dispersaram por completo.

- Repita a inversão caso seja necessário até que as partículas magnéticas estejam novamente suspensas por completo.
- Assegure-se de que não se forma espuma nos reagentes do cartucho.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Consulte o manual do utilizador do IDS-iSYS XPrep para obter instruções de utilização.

O código de barras é lido quando o cartucho for colocado na bandeja de reagentes. Existe um procedimento manual para introduzir os dados do código de barras se o leitor de códigos de barras do Sistema não conseguir ler a etiqueta (consulte o Manual do utilizador do sistema IDS-iSYS). Quando o cartucho estiver na bandeja de reagentes, o Sistema mistura automaticamente as partículas magnéticas para manter a homogeneidade.

Não verifique o nível do cartucho no próprio cartucho IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction, uma vez que isto resultará numa obtenção de menos de 50 testes a partir deste.

O cartucho deve estar na bandeja de reagentes durante pelo menos 60 minutos antes de começar o ensaio. Deixe o cartucho do reagente de imunoextração no Sistema até esgotar o cartucho por completo.

Cartucho de reagente Immunoassay

Os reagentes fornecidos no cartucho estão prontos a utilizar. Agite o recipiente com partículas magnéticas através de um vigoroso movimento de rotação entre as mãos antes de colocar um novo cartucho no sistema. Evite a formação de espuma.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Consulte o manual do utilizador do IDS-iSYS XPrep para obter instruções de utilização.

O código de barras é lido quando o cartucho for colocado na bandeja de reagentes. Existe um procedimento manual para introduzir os dados do código de barras se o leitor de códigos de barras do Sistema não conseguir ler a etiqueta (consulte o Manual do utilizador do sistema IDS-iSYS). Quando o cartucho estiver na bandeja de reagentes, o Sistema mistura automaticamente as partículas magnéticas para manter a homogeneidade.

Não verifique o nível do cartucho no próprio cartucho IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay, uma vez que isto resultará numa obtenção de menos de 100 testes a partir deste.

O cartucho deve estar na bandeja de reagentes durante pelo menos 40 minutos antes de começar o ensaio. Se remover o cartucho da bandeja de reagentes, conserve o cartucho na vertical, a uma temperatura de 2–8 °C, ao abrigo da luz.

Calibradores

O ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} foi padronizado com base nos padrões de referência internos, os quais foram alinhados pelo LC-MS/MS 1,25-dihidroxi-vitamina D validado.

Os calibradores IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} são fornecidos liofilizados. Para preparar os calibradores, siga o seguinte procedimento:

- Assegure-se de que os calibradores se equilibram à temperatura ambiente (18 - 25 °C).
- Imediatamente antes da utilização, adicione 1,2 mL de água destilada ou desionizada a cada frasco.
- Reponha a rolha. Deixe os frascos à temperatura ambiente durante 10 minutos (18 - 25 °C).
- Coloque-os no agitador por 2 - 3 segundos; inverta suavemente para assegurar a reconstituição completa.
- Transfira aproximadamente 750 µL para uma calibração triplicada (180 µL por réplica) dos calibradores para os microtubos de polipropileno de 2 mL, com tampa de rosca e base cônica com aba, coloque no sistema nos 15 minutos seguintes à reconstituição e faça a medição nas 3 horas seguintes. Os calibradores não passam pelo procedimento de purificação
- Evite a formação de espuma em cada passo.
- Prosiga de acordo com as instruções do Manual do utilizador do sistema IDS-iSYS.

Frequência da calibração

É necessária uma nova calibração:

- Ao carregar cada novo lote de cartuchos.
- Quando os valores de controlo não estiverem dentro dos intervalos definidos.
- Quando o intervalo de calibração de 21 dias tiver expirado.
- Após assistência técnica ao Sistema.

O Sistema verifica e gere a calibração automaticamente.

Calibração do sistema

São necessários os dois calibradores IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} para realizar o ajuste da curva padrão. Os calibradores são fornecidos com o kit e não devem ser utilizados calibradores de outro lote. Todos os níveis do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) DEVEM ser medidos ao mesmo tempo que os calibradores para validar o ajuste da curva padrão.

Todos os dados necessários para a calibração do cartucho podem ser encontrados no mini CD. Utilize os níveis de calibradores A e B para ajustar a curva padrão aos reagentes no sistema. Verifique se existe um cartucho de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction e Immunoassay na bandeja de reagentes e se a curva padrão do cartucho está disponível na base de dados. Utilize o mini CD fornecido com o kit de reagentes para carregar os dados do lote de calibradores se estes não estiverem disponíveis no sistema.

Inicie a calibração do imunoensaio no sistema de acordo com o Manual do utilizador. A calibração é realizada com três réplicas de cada nível. É possível remover uma réplica para cumprir os requisitos de calibração. Todos os níveis de controlo devem igualmente ser medidos em duplicado para calibrar o ensaio. Verifique e aprove a calibração de acordo com o estado da calibração apresentado nas janelas de calibração e elimine o restante volume de calibradores e controlos da bandeja de amostras após a sua utilização.

9. Controlo de qualidade

Utilize o IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set para controlo de qualidade. Para assegurar a validade dos resultados, devem ser medidos pelo menos dois controlos com diferentes níveis de 1,25(OH)₂D. Podem ser utilizados outros materiais de controlo em conjunto com o IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Os controlos devem ser testados no (ou perto do) início de cada execução com amostras de pacientes e também durante cada calibração em conformidade com as regulamentações locais e nacionais ou com os requisitos de acreditação e os procedimentos de qualidade do laboratório. Consulte as Instruções de utilização do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set para obter instruções de preparação e manuseamento.

Determinação dos níveis de 1,25-dihidroxi-vitamina D (1,25(OH)₂D) na amostra

Processe a amostra de acordo com o Manual do utilizador do sistema do IDS-iSYS.

10. Cálculo dos resultados

A concentração de 1,25(OH)₂D em cada amostra é calculada automaticamente. A apresentação de cada concentração (no ecrã ou em papel) é efetuada mediante solicitação do utilizador.

O ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} utiliza um ajuste de curva logística de 4 parâmetros (4PL) para calcular as concentrações de 1,25(OH)₂D.

Para converter os resultados em unidades do SI: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Intervalo de medição (intervalo comunicado)

O intervalo reportável do ensaio é de 7,5 - 150 pg/mL (18 - 360 pmol/L). Qualquer valor inferior a 7,5 pg/mL (18 pmol/L) deve ser comunicado como «< 7,5 pg/mL» («< 18 pmol/L»).

12. Diluição

As amostras com concentrações de 1,25(OH)₂D acima do intervalo reportável devem ser diluídas manualmente com o IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) numa proporção de 1 para 2. Os resultados das amostras diluídas devem ser multiplicados pelo fator de diluição 2x.

13. Limitações de utilização

- Como acontece em qualquer procedimento de diagnóstico, os resultados devem ser interpretados a par da apresentação clínica do paciente e de outras informações disponíveis para o médico.
- As características de desempenho deste ensaio não foram estabelecidas numa população pediátrica.
- Os anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com imunoglobulinas reagentes, que interferem com os imunoenaios *in vitro*⁵. Os pacientes diariamente expostos a animais ou a produtos com soro de animal poderão estar propensos a esta interferência e podem ser observados valores anómalos.
- As seguintes substâncias não interferem no ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} quando as concentrações apresentadas na tabela seguinte estão abaixo do limite indicado.

Potentiellt störande ämne	Gränsvärde för koncentrationer
Albumina	7,5 g/dL
Bilirrubina, conjugada	40 mg/dL
Bilirrubina, não conjugada	40 mg/dL
Biotina	0,1 mg/dL
Colesterol total	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobina	500 mg/dL
Fator reumatoide	7000 IU/mL
Triglicéridos	3000 mg/dL
Paracetamol	9 mg/dL
Ibuprofeno	50 mg/dL
Carbamazepina	127 µmol/L
Karbamazepin	198 µmol/L
Fenitoína	65 mg/dL
Ácido acetilsalicílico	60 mg/dL
Ácido salicílico	7.5 g/dL

14. Valores esperados

Os seguintes intervalos foram obtidos utilizando o ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} e são fornecidos apenas para fins informativos.

No IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} foram analisadas amostras de 121 pessoas adultas, homens e mulheres, com idades entre 19 - 69, aparentemente saudáveis, de origens étnicas distintas (34% de pele escura e 66% de pele clara). As amostras foram recolhidas no inverno (36%) e no verão (64%) de indivíduos com valores normais de PTH intacto, cálcio, fosfato e TSH nas regiões do Norte e do Sul dos EUA. O intervalo de referência de 95% para adultos aparentemente saudáveis foi calculado através de um método não paramétrico, seguindo a diretriz de CLSI C28-A3 «Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory».

Intervalo obtido de adultos normais: 15,2 a 90,1 pg/mL (36,5 a 216,2 pmol/L)

15. Dados de desempenho

Abaixo são apresentados dados representativos do desempenho. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

15.1 Sensibilidade

O limite de branco (LoB), limite de detecção (LoD) e limite de quantificação (LoQ) foram determinados com orientação do CLSI EP17-A, «Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation».

Sensibilidade	Concentração de 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (Limite de branco)	2,5	6,0
LoD (Limite de detecção)	4,2	10,1
LoQ (Limite de quantificação)	7,5	18,0

15.2 Precisão

A precisão foi avaliada de acordo com um protocolo modificado baseado no documento CLSI EP-5A2, «Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods». Um total de 6 amostras foi analisado em duplicado, duas vezes por dia durante 7 dias, utilizando um lote de reagentes em um sistema.

Amostra	n	Média		Repetibilidade			Total		
		pg/mL	pmol/L	DP	CV%	DP	CV%	pg/mL	pmol/L
Soro 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Soro 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Soro 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Soro 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Controlo 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Controlo 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearidade

A linearidade foi avaliada com base em CLSI EP-6A, «Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures». As amostras foram preparadas diluindo uma amostra de um paciente com um nível elevado com uma amostra de um paciente com um nível baixo antes do ensaio. A regressão linear das concentrações observadas por oposição às concentrações esperadas (Esperado = Declive x Observado ± Ordenada) é:

Declive	Ordenada		Coeficiente de regressão (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Comparação de métodos

O ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} foi comparado com o ensaio quantitativo IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D, comercialmente disponível, segundo o CLSI EP-9A2, «Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples». Foi ensaiado, por cada método, um total de 105 amostras, selecionadas para representar um amplo intervalo de concentrações de 1,25(OH)₂D (11,4 - 150 pg/mL [27,4 - 360 pmol/L]). Foi realizada uma análise de regressão Passing-Bablok sobre os dados comparativos:

n	Declive	Ordenada		Coeficiente de correlação (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Especificidade

Os metabolitos da vitamina D, exógenos e sintéticos, seguintes foram introduzidos em amostras de soro e medidos com o ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}.

Analito	Reatividade cruzada (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Símbolos utilizados



Número de catálogo



Dispositivo para diagnóstico *in vitro*



Fabricante



Aplicado de acordo com a diretiva 98/79/CE

Rx Only

Atenção: A lei federal norte-americana limita a venda deste dispositivo a, ou por ordem de, um profissional de saúde devidamente licenciado

17. Bibliografia

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
E-mail: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

EUA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Fax: +1 301 990 4236
E-mail: info.us@idsplc.com

França Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Fax: +33 140 770 455
E-mail: info.fr@idsplc.com

Bélgica Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Fax: +32 425 251 96
E-mail: info.be@idsplc.com

Alemanha Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Fax: +49 693 085 5125
E-mail: info.de@idsplc.com

Escandinávia Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel.: +45 448 400 91
E-mail: info.nordic@idsplc.com

Brasil IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel.: +55 113 740 6100 • Fax: + 55 113 740 6105
E-mail: info.br@idsplc.com

1. Tilsigtet brug

Til *in vitro*-diagnostisk brug

IDS-iSYS1,25 VitD^{Xp}-analysen er udstyr til *in vitro*-diagnostik, som er beregnet til den kvantitative bestemmelse af 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)₂D] i humant serum i IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Resultaterne skal bruges som en hjælp i vurderingen af tilstrækkeligheden af vitamin D.

Rx only.

2. Oversigt og forklaring

Der findes to former for vitamin D: vitamin D₃ og vitamin D₂. Vitamin D₃, cholecalciferol, er det naturligt forekommende vitamin D, som produceres i huden, når 7-dehydrocholesterol eksponeres for ultraviolet stråling fra solen ¹. Vitamin D₂ fremstilles ved hjælp af ultraviolet bestråling af ergosterol fra gær. Begge former anvendes i vitamin D-tilskud. Vitamin D-sammensætningen er biologisk inaktiv, men kommer ind i blodkredsløbet og hydroxyleres i leveren til 25-hydroxy-vitamin D [25(OH)D], som anvendes til at bestemme patienters vitamin D-status.

I nyren hydroxyleres 25(OH)D yderligere, hvorved den biologisk aktive metabolit 1,25(OH)₂D produceres ¹. 1,25(OH)₂D spiller en meget vigtig rolle i reguleringen af calcium- og fosfatstofskiftet, idet det stimulerer absorptionen af calcium fra tarmen og øger knogleresorptionen. 1,25(OH)₂D hæmmer desuden produktionen af parathyreoideahormon (PTH) ved dels at indvirke direkte på parathyreoideakirtlerne, dels indirekte at hæve niveauet af calcium i serum. Selve produktionen af 1,25(OH)₂D stimuleres af parathyreoideahormonet (PTH) og giver på den måde et effektivt reguleringskredsløb ¹. Fibroblast vækstfaktor 23 [FGF-23], som udskilles fra knoglen, bevirker, at natriumfosfat-cotransporterer internaliseres af cellerne i nyren og tyndtarmen og undertrykker desuden syntesen af 1,25(OH)₂D ².

Ved sekundær hyperparathyroidisme bevirker en sygdom uden for parathyreoidea, at parathyreoideakirtlerne bliver forstørrede og hyperaktive. Det forårsages almindeligvis af nyreinsufficiens, et problem, hvor nyren ikke er i stand til at rense blodet for fosfor, som produceres af kroppen, og ikke er i stand til at producere tilstrækkeligt med vitamin D, specielt 1,25(OH)₂D – den aktive form for vitamin D. Ophobningen af fosfor fører til et lavt calciumniveau i blodet, hvilket stimulerer parathyreoideakirtlerne til at øge produktionen af parathyreoideahormon (PTH), hvorved kirtlerne forstørres. Efterhånden som sygdommen skrider frem, reagerer parathyreoideakirtlerne ikke længere normalt på calcium og vitamin D. Rationalet for behandling af CKD med direkte aktiveret vitamin D er at forsinke progressionen af sekundær hyperparathyroidisme. Praktiske kliniske retningslinjer som f.eks. "Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)" og "Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)" anbefaler terapeutiske regimer med aktiveret vitamin D til CKD-patienter ^{3,4}.

3. Metodebeskrivelse

Sættet IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} er et komplet testsystem, som involverer immunoextraction af 1,25-dihydroxyvitamin D i humant serum og kvantitativ bestemmelse af 1,25(OH)₂D-niveauerne i systemet IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (System).

I cuvette 1 fjernes lipider fra 218 µL af patientprøven og den inkuberes efterfølgende med magnetiske partikler belagt med særligt anti-1,25(OH)₂D antistof. Efter inkubation vaskes de magnetiske partikler og 1,25(OH)₂D i patientprøven elueres. 180 µL af den udvundne prøve af 1,25(OH)₂D overføres til cuvette 2, hvor immunoassayen baseret på kemiluminescenteknologi finder sted.

I cuvette 2 inkuberes 180 µL oprensede prøver med biotinyleret anti-1,25(OH)₂D antistof fra får. Efter det første inkubationstrin tilføjes konjugatet 1,25(OH)₂D mærket med acridinium efterfulgt af endnu et inkubationstrin. Magnetiske partikler mærket med streptavidin tilføjes herefter inden det tredje inkubationstrin. De magnetiske partikler indfanges ved at bruge en magnet og et vasketrin udføres for at fjerne eventuelt ubundet 1,25(OH)₂D. Triggerreagenser tilføjes; det resulterende lys, der udsendes af acridinium-mærket er omvendt proportionel med koncentrationen af 1,25(OH)₂D i den originale prøve.

4. Advarsler og forholdsregler

IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} er udelukkende beregnet til *in vitro*-diagnostisk brug og ikke til indvortes brug i hverken mennesker eller dyr. Dette produkt skal bruges i fuldstændig overensstemmelse med vejledningen i brugsanvisningen. Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) kan ikke holdes ansvarlig for noget tab eller nogen skader (medmindre dette er bestemt ved lov), uanset hvordan disse er opstået, hvis de skyldes manglende overholdelse af den udleverede brugsanvisning.

FORSIGTIG: Dette sæt indeholder materiale af animalsk oprindelse. Håndter sættets reagenser, som hvis de var i stand til at overføre et smitsomt stof. Passende forholdsregler og god laboratorieskik skal overholdes, hvad angår opbevaring, håndtering og bortskaffelse af sættets reagenser. Bortskaffelse af sættets reagenser skal foregå i overensstemmelse med lokale bestemmelser.

Humane materialer

Det humane materiale, der er anvendt til udarbejdelsen af dette produkt, er blevet testet af anbefalede FDA (Food and Drug Administration)-analyser og erklæret negativt for tilstedeværelse af antistof til humant immunodefekt-virus (HIV I og II), hepatitis B-overfladeantigen og antistof til hepatitis C. Da der ikke findes nogen test, der fuldstændigt kan sikre, at de smitsomme stoffer ikke er til stede, bør reagenserne håndteres i overensstemmelse med biologisk beskyttelsesniveau 2.

Reagenser, der indeholder natriumazid

Visse reagenser i dette sæt indeholder natriumazid (NaN₃) < 0,1 % (w/w), som kan reagere med bly-, kobber- eller messingrør og danne højeksplosive metalazider. Ved bortskaffelse skal der skylles efter med store mængder vand for at forhindre ophobning af azid.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Forholdsregler ved håndtering

Med undtagelse af kalibratorerne, der er frysetørrede, er sættets reagenser klar til brug. Se procedureafsnittet om kalibratører vedrørende genfortyndingsmetode.

Inden den nye beholder isættes i systemet, skal indholdet af beholderen med magnetisk partikelstof blandes af operatøren med en rask omrøringsbevægelse. Dette vil genopslæmme de magnetiske partikler, som har bundfældet sig under forsendelse. Der skal udvises forsigtighed for at undgå skumdannelse i reagensbeholderen.

Holdbarhed og opbevaring af reagenser

Opbevar beholderen og kalibratorerne i en **lodret** stilling i mørke ved 2-8 °C. Beholderen eller kalibratorerne **må ikke nedfryses**.

Reagensholdbarhed	Immunoextractionbeholder	Immunoassaybeholder	Kalibratører
Før åbning ved 2-8 °C	Indtil udløbsdatoen		
Beholder, efter åbning ved 2-8 °C	Ej relevant	56 dage	Ej relevant
Kalibratører, efter genfortynding ved 2-8 °C	Ej relevant	Ej relevant	6 timer
I systemet *	28 dage	49 dage	3 timer

* Kontinuerlig stabilitet i systemet

6. Indsamling og opbevaring af prøver

Analysen bør udføres ved brug af serumprøver (standard prøvetagningsglas eller glas indeholdende serumudskillende gel).

- Prøverne bør udskilles så hurtigt som muligt efter indsamlingen.
- Efter udskillelse kan prøverne opbevares i maks. 24 timer ved stuetemperatur (18-25 °C) eller op til 7 dage ved 2-8 °C. Hvis der er behov for længere tid mellem udskillelse og testing, skal prøverne opbevares ved -20 °C.
- Prøverne kan opbevares ved -20 °C i op til 2,5 måneder, hvorefter de skal opbevares ved -80 °C.
- Prøverne kan nedfryses og optøs op til to gange og skal optøs fuldstændig og blandes grundigt inden isætning i systemet.
- Prøverne er stabile i analysatoren i maks. 3 timer.

Bemærk:

- Prøver, der indeholder partikelformigt stof, skal centrifugeres, inden analysen udføres. Anvend ikke varmeinaktiverede prøver.
- For at minimere eventuel fordampning bør prøver, kalibratører og kontroller måles inden for 3 timer efter isætning i systemet.
- Hvert enkelt laboratorium bør følge de retningslinjer eller krav, som er angivet i de lokale, statslige og/eller føderale myndigheders bestemmelser, eller som er fastsat af statsanerkendte organisationer, med henblik på at etablere egne procedurer for prøvehåndtering og opbevaringsstabilitet. For vejledning i hensigtsmæssige procedurer henvises til CLSI GP44-A4, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests".
- Inden analyse udføres, skal der sikres, at prøver, kalibratører og kontroller har stuetemperatur (18-25 °C).
- Nogle prøveindsamlingsglas på markedet kan påvirke testresultaterne i visse tilfælde.
- Det anbefales at følge anvisningerne fra glasproducenten, især ved behandling af prøver i primærglas.
- Centrifugerede prøver med et lipidlag på toppen skal overføres til et prøvebæger eller et sekundært glas. Det er vigtigt, at der udvises forsigtighed, så kun de klare prøver uden lipemisk materiale bliver overført.
- **Prøverne SKAL tilpasses til stuetemperatur (18-25 °C) inden isætning i systemet for at optimere lipidfjernelsestrinnet.**

7. Materialer

Medfølgende materialer

Beholder med Immunoextraction, 2 beholdere til 50 tests

MPA1	Magnetiske partikler belagt med monoklonalt antistof til 1,25(OH) ₂ D, 1 hætteglas, 2,8 mL.
DEL	Reagens til lipidfjernelse, en opløsning af dextransulfat og magnesiumchlorid, 1 hætteglas, 2,6 mL.
DIS	Reagens til dissociation, et navnebeskyttet reagens til dissociering af 1,25(OH) ₂ D fra bindingsproteiner med natriumazid som konserverende middel (< 0,1 %), 1 hætteglas, 18,7 mL.
ELU	Reagens til eluering, en opløsning af natriumhydroxid, 1 hætteglas, 13,0 mL.
NET	Reagens til ophævelse, en opløsning af citronsyre, 1 hætteglas, 3,4 mL.
BUF	Analysebuffer, en MOPS-buffer indeholdende bovint serumalbumin, 1 hætteglas, 9 mL pr. hætteglas.

Immunoassay beholder, 1 beholder til 100 tests

MPS3	Magnetiske partikler belagt med streptavidin i fosfatbuffer indeholdende bovint serumalbumin med natriumazid som konserverende middel (< 0,1 %), 1 hætteglas, 2,6 mL.
CONJ	Konjugat, 1,25(OH) ₂ D mærket med et acridiniumester-derivat i fosfatbuffer indeholdende bovint serumalbumin med natriumazid som konserverende middel (< 0,1 %), 1 hætteglas, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Antistof-biotin, anti-1,25(OH) ₂ D polyklonalt antistof mærket med biotin i fosfatbuffer indeholdende protein fra får og natriumazid som konserverende middel (< 0,1 %), 1 hætteglas, 13 mL.
BUFD	Vaskebuffer, 1 % navnebeskyttet detergent i PBS med natriumazid som konserverende middel (< 0,1 %), 1 hætteglas, 35 mL pr. hætteglas.

Kalibratører

CAL A	Frysetørret MOPS-buffer indeholdende bovint serumalbumin, 1,25(OH) ₂ D med natriumazid som konserverende middel (< 1,0 %), 3 hver på 2 koncentrationsniveauer, 1,2 mL pr. flaske.
CAL B	

Mini-cd

Indeholder brugsanvisningen til IDS-iSYS-reagenser, CRY-filer og analysecertifikat.

Påkrævede materialer, som ikke medfølger

System

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Valgfrit udstyr/materialer

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
2 mL mikrorør af polypropylen til engangsbrug, 10,8 mm diameter med konisk bund og ståring og skruelåg med O-ring (Sarstedt 72.609 og 65.716 eller lignende)	
Pipetteringsanordning til præcision	

8. Analyseprocedure

Immunoextraction reagensbeholder

Reagenserne i beholderen er klar til brug. Før en ny beholder sættes i systemet, skal de magnetiske partikler i beholderen fuldstændig genoplømmes. De magnetiske partikler kan efterfølgende forberedes ved at bruge en af de følgende fremgangsmåder – undgå dannelsen af skum:

Manuelt:

- Hold glasset med magnetiske partikler mellem håndfladerne, og foretag blanding ved at føre glasset hurtigt frem og tilbage, indtil de opløste partiklers farve har skiftet til brun.
- Vend varsomt og forsigtigt glasset med magnetiske partikler op og ned, indtil alle bundfældede magnetiske partikler er blevet genopløst.
- Kontrollér bunden af glasset med magnetiske partikler for at bekræfte, at alle bundfældede magnetiske partikler er fuldstændig opløst.
- Gentag op- og nedvendningen af glasset efter behov, indtil de magnetiske partikler er fuldstændig genopløst.
- Sørg for, at der ikke er skumdannelse i beholderens reagenser.

Op- og nedvendning i test/blod-glasrotator:

- Tag forsigtigt partikelglasset ud af plastklemmen.
- Anbring partikelglasset i test/blod-holderen.
- Roter glasset ved 10-20 omdrejninger pr. minut i 15 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C).
- Kontrollér bunden af glasset med magnetiske partikler for at bekræfte, at alle bundfældede magnetiske partikler er fuldstændig opløst.
- Gentag op- og nedvendningen af glasset efter behov, indtil de magnetiske partikler er fuldstændig genopløst.

- Sørg for, at der ikke er skumdannelse i beholderens reagenser.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Se IDS-iSYS XPrep-betjeningsvejledningen for anvisning om brug.

Stregkoden aflæses, når beholderen isættes på reagensbakken. Hvis mærkatet ikke kan læses af systemets stregkodelæser, findes der en manuel procedure for indtastning af stregkodens data (se betjeningsvejledningen til IDS-iSYS). Så snart beholderen er på reagensbakken, udfører systemet automatisk blanding af de magnetiske partikler for at bevare homogeniteten.

Udfør ikke scanningen af beholderniveauet på beholderen IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction da dette vil resultere i, at der bliver hentet færre end 50 tests fra beholderen.

Beholderen bør isættes på reagensbakken mindst 60 minutter før analysen startes. Lad immunoextraction reagensbeholderen være i systemet, indtil beholderen er fuldstændig tømt.

Immunoassay reagensbeholder

Reagenserne i beholderen er klar til brug. Inden en ny beholder sættes i systemet, skal indholdet af beholderen med magnetiske partikler blandes med en rask omrøringsbevægelse mellem håndfladerne. Undgå skumdannelse.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Se IDS-iSYS XPrep-betjeningsvejledningen for anvisning om brug.

Stregkoden aflæses, når beholderen isættes på reagensbakken. Hvis mærkatet ikke kan læses af systemets stregkodelæser, findes der en manuel procedure for indtastning af stregkodens data (se betjeningsvejledningen til IDS-iSYS). Så snart beholderen er på reagensbakken, udfører systemet automatisk blanding af de magnetiske partikler for at bevare homogeniteten.

Udfør ikke scanningen af beholderniveauet på beholderen IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay, da dette vil resultere i, at der bliver hentet færre end 100 tests fra beholderen.

Beholderen bør isættes på reagensbakken mindst 40 minutter før analysen startes. Hvis beholderen fjernes fra reagensbakken, skal beholderen opbevares i mørke i oprejst stilling ved 2-8 °C.

Kalibratører

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-analysen er blevet standardiseret i overensstemmelse med interne referencestandarder, som er blevet tilpasset den godkendte 1,25-dihydroxyvitamin D LC-MS/MS.

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} kalibratøerne er frysetørrede. Forbered kalibratøerne ved at følge nedenstående fremgangsmåde:

- Sørg for, kalibratøerne er tilpasset til stuetemperatur (18-25 °C).
- Straks før brug tilsættes 1,2 mL destilleret eller afioniseret vand til hver flaske.
- Udskift proppen. Lad hætteglassene stå i 10 minutter ved stuetemperatur (18-25 °C).
- Omryst med små cirkelbevægelser i 2-3 sekunder, og vend forsigtigt bunden i vejret for at sikre fuldstændig genfortynding.
- Overfør ca. 750 µL til kalibrering i triplikat (180 µL pr. replikat) af kalibratører til 2 mL mikrorør med skruelåg i polypropylen med konisk bund og ståring, og placér dem i systemet inden for 15 minutter efter genfortyndingen og mål inden for 3 timer. Kalibratøerne gennemgår ikke oprensingsproceduren
- Undgå skumdannelse ved hvert trin.
- Følg anvisningerne i betjeningsvejledningen til IDS-iSYS.

Kalibreringshyppighed

En ny kalibrering er nødvendig:

- Ved isætning af hvert nyt parti af beholdere.
- Når kontrolværdierne ikke ligger inden for de definerede intervaller.
- Når kalibreringsfristen på 21 dage er udløbet.
- Efter servicearbejde på systemet.

Verificeringen af kalibreringen sker automatisk og styres af systemet.

Kalibrering af systemet

De to IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-kalibratører er nødvendige for at foretage justering af masterkurven. Kalibratøerne leveres med sættet, og der må ikke benyttes kalibratører fra andre partier. Alle niveauer af IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) SKAL måles samtidig med kalibratøerne for at bekræfte justeringen af masterkurven.

Alle data, som kræves til kalibreringen af beholderen, kan findes på mini-cd'en. Brug kalibratørniveauer A og B til at tilpasse masterkurven til reagenserne i systemet. Kontrollér, at der er en IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextractionbeholder og en Immunoassaybeholder på reagensbakken, og at beholder-masterkurven er tilgængelig i databasen. Hvis dataene for kalibratøerne ikke er tilgængelige i systemet, skal dataene indlæses ved hjælp af mini-cd'en, der følger med reagenssættet.

Påbegynd immunoassaykalibrering i systemet i overensstemmelse med systemets brugervejledning. Kalibreringen udføres ved brug af tre replikater fra hvert niveau. Det er tilladt at fjerne ét replikat for at overholde kalibreringskravene. Alle kontrolniveauer skal også måles i to eksemplarer for at kalibrere analysen. Kontrollér og godkend kalibreringen i henhold til den kalibreringsstatus, der vises i kalibreringsvinduet, og kassér resten af kalibratøerne og kontrollerne fra prøvebakken efter brug.

9. Kvalitetskontrol

Anvend IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set til kvalitetskontrol. For at sikre gyldigheden af resultaterne, bør der måles mindst to kontroller med forskellige niveauer af 1,25(OH)₂D. Andet egnet kontrolmateriale kan anvendes som supplement til IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Kontroller skal testes ved (eller tæt på) begyndelsen af hver kørsel, der indeholder patientprøver, og under hver kalibrering i overensstemmelse med lokale og/eller statslige bestemmelser eller godkendelseskrav og dit

laboratories kvalitetsprocedure. Se brugsanvisningen til IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set vedrørende procedurer for klargøring og håndtering.

Bestemmelse af niveauer for prøver af 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D)
Bearbejd prøverne i overensstemmelse med IDS-iSYS-systemets brugervejledning.

10. Beregning af resultater

Koncentrationen af 1,25(OH)₂D i hver prøve beregnes automatisk. Visningen af koncentrationerne (på skærm eller udskrift) genereres efter anmodning fra brugeren.

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-analysen anvender et 4-parameters logistisk kurvefit (4PL) til at beregne koncentrationerne af 1,25(OH)₂D.

Konvertering af resultaterne til SI-enheder: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Måleinterval (rapporterbart interval)

Det rapporterbare interval af analysen er 7,5 - 150 pg/mL (18 - 360 pmol/L). Enhver værdi, der ligger under 7,5 pg/mL (18 pmol/L) bør rapporteres som "< 7.5 pg/mL" (< 18 pmol/L").

12. Fortynding

Prøver med koncentrationer af 1,25(OH)₂D, der ligger over det rapporterbare interval skal fortyndes manuelt med IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) i forholdet 1 til 2. Resultaterne for fortyndede prøver skal ganges med 2x opløsningskoefficienten.

13. Begrænsninger for anvendelse

- Som ved alle diagnostiske procedurer skal resultaterne fortolkes i sammenhæng med patientens kliniske præsentation og andre oplysninger, som lægen har til rådighed.
- Denne analyses funktionsdata er ikke blevet fastlagt i en pædiatrisk population.
- Heterofilt antistof i humant serum kan reagere med reagensimmunoglobuliner, hvilket påvirker *in vitro*-immunoassayer[®]. Patienter, der regelmæssigt er udsat for dyr eller produkter med animalsk serum kan være tilbøjelige til at blive påvirket, og der kan derfor observeres anormale værdier.
- Følgende stoffer påvirker ikke IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-analysen, når de koncentrationer, der vises i følgende tabel, ligger under den angivne tærskelværdi.

Potentielt forstyrrende stof	Koncentrationstærskelværdi
Albumin	7,5 g/dL
Bilirubin, konjugeret	40 mg/dL
Bilirubin, ikke-konjugeret	40 mg/dL
Biotin	0,1 mg/dL
Kolesterol, total	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hæmoglobin	500 mg/dL
Rheumafaktor	7000 IU/mL
Triglycerider	3000 mg/dL
Paracetamol	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Karbamazepin	127 µmol/L
Phenytoin	198 µmol/L
Acetylsalicylsyre	65 mg/dL
Salicylsyre	60 mg/dL

14. Forventede værdier

De følgende intervaller blev bestemt ved brug af IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} -analysen og gives udelukkende til information.

Prøver fra 121 tilsyneladende raske voksne mænd og kvinder i aldersgruppen 19-69 år fra forskellige etniske baggrunde (34 % med mørk hud og 66 % med lys hud) blev analyseret i IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Prøverne blev indsamlet i løbet af vinteren (36 %) og sommeren (64%) fra personer med normale intakte værdier af PTH, calcium og TSH fra de nordlige og sydlige regioner i USA. Referenceintervallet på 95 % for tilsyneladende raske voksne blev beregnet med en ikke-parametrisk metode efter vejledning fra CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

De opnåede værdier for normale voksne: 15.2 til 90.1 pg/mL (36.5 til 216.2 pmol/L)

15. Funktionsdata

Der vises repræsentative funktionsdata. Der kan være forskel på de resultater, der er opnået på de enkelte laboratorier.

15.1 Sensitivitet

Blindværdigrænsen (LoB), detektionsgrænsen (LoD) og kvantificeringsgrænsen (LoQ) blev bestemt efter vejledning fra CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation".

Sensitivitet	1,25(OH) ₂ D-koncentration	
	pg/mL	pmol/L
LoB (Blindværdigrænsen)	2,5	6,0
LoD (Detektionsgrænsen)	4,2	10,1
LoQ (Kvantificeringsgrænsen)	7,5	18,0

15.2 Præcision

Præcisionen blev evalueret i overensstemmelse med en modificeret protokol på grundlag af CLSI EP-5A2, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods". Et samlet antal af 6 prøver af normalt serum blev analyseret i to eksemplarer, to gange om dagen i syv dage ved brug af et parti af reagenser på ét system.

Prøve	n	Middel		Gentagelighed			I alt		
		pg/mL	pmol/L	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Serum 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Serum 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Serum 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Serum 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Kontrol 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Kontrol 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearitet

Lineariteten blev evalueret på grundlag af CLSI EP-6A, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Prøverne blev forberedt ved at fortynde en høj patientprøve med en lav patientprøve før analysen. Den lineære regression for de observerede koncentrationer i forhold til de forventede koncentrationer (Forventet = Hældningskoefficient x Observeret ± Skæringspunkt) er som følger:

Hældningskoefficient	Skæringspunkt		Regressionskoefficient (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1.08	-6.5	-15.6	0.99

15.4 Metodesammenligning

IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}-analysen blev sammenlignet med den kommercielt tilgængelige kvantitative IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D-analyse i overensstemmelse med CLSI EP-9A2, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". I alt 105 prøver, der blev udvalgt til at repræsentere et bredt spektrum af 1,25(OH)₂D-koncentrationer [11,4 - 150 pg/mL (27,4 - 360 pmol/L)], blev analyseret ved brug af hver metode. Der blev udført en Passing Bablok-regressionsanalyse på de komparative data:

n	Hældningskoefficient	Skæringspunkt		Korrelationskoefficient (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Specificitet

De følgende eksogene syntetiske vitamin D-metabolitter eller vitamin D-forbindelser blev tilsat serumprøverne og målt med IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}-analysen.

Analyt	Krydsreaktivitet (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Anvendte symboler



Katalognummer



Udstyr til *in vitro*-diagnostik



Producent



Anvendelse i overensstemmelse med direktiv 98/79/EC

Rx Only

Forsigtig: Ifølge lovgivningen i USA må dette udstyr kun sælges af eller efter ordre fra en (autoriseret sundhedsperson)

17. Litteraturliste

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tlf.: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
e-mail: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tlf.: +1 877 852 6210 • Fax: +1 301 990 4236
e-mail: info.us@idsplc.com

Frankrig Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tlf.: +33 140 770 450 • Fax: +33 140 770 455
e-mail: info.fr@idsplc.com

Belgien Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tlf.: +32 425 226 36 • Fax: +32 425 251 96
e-mail: info.be@idsplc.com

Tyskland Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tlf.: +49 693 085 5025 • Fax: +49 693 085 5125
e-mail: info.de@idsplc.com

Skandinavien Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS
Nordic a/s), International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tlf.: +45 448 400 91
e-mail: info.nordic@idsplc.com

Brasilien IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tlf.: +55 113 740 6100 • Fax: + 55 113 740 6105
e-mail: info.br@idsplc.com

1. Avsedd användning

För *in vitro*-diagnostik

IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp}- analysen är en produkt för *in vitro*-diagnostik avsedd för den kvantitativa bestämningen av 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)₂D] i mänskligt serum i IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Resultaten ska användas som hjälpmedel vid bedömningen av vitamin D-tillräcklighet.

Rx only.

2. Sammanfattning och förklaring

Det finns två former av vitamin D: vitamin D₃ och vitamin D₂. Vitamin D₃, kolekalciferol, är den naturligt förekommande form av vitamin D som bildas i huden efter exponering av 7-dehydrokolesterol för ultraviolett strålning¹. Vitamin D₂ tillverkas genom ultraviolett bestrålning av ergosterol från jäst. Båda används i vitamin D-tillskott. Vitamin D-föreningen är biologiskt inaktiv, men kommer in i cirkulationen och hydroxyleras i levern till 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], som används för att bestämma patientens vitamin D-status.

I njuren hydroxyleras 25(OH)D ytterligare för att producera den biologiskt aktiva metaboliten 1,25(OH)₂D¹. 1,25(OH)₂D är en av de stora regulatorerna av kalcium och fosfatmetabolism, som stimulerar intestinal kalciumabsorption och ökar benresorptionen. 1,25(OH)₂D hämmar även produktionen av parathormon (PTH), både genom direkt verkan på bisköldkörtlarna och indirekt genom att höja serumkalciumnivåerna. 1,25(OH)₂D-produktionen i sig stimuleras av parathormon (PTH), vilket ger en effektiv kontrollslösa¹. Fibroblasttillväxtfaktor 23 [FGF-23], som utsöndras från benet, gör att natrium-fosfat-kotransportören internaliseras av cellerna i njuren och tunntarmen och även undertrycker 1,25(OH)₂D-syntes².

Vid sekundär hyperparatyreoidism gör en sjukdom utanför bisköldkörteln att bisköldkörtlarna blir förstörda och hyperaktiva. Det orsakas oftast av njursvikt, ett problem där njuren inte kan rena blodet från fosfor som produceras av kroppen och inte kan skapa tillräckligt med D-vitamin, särskilt 1,25(OH)₂D – den aktiva formen av D-vitamin. Uppbyggnaden av fosfor leder till låga nivåer av kalcium i blodet, vilket stimulerar bisköldkörtlarna att öka produktionen av parathormon (PTH), vilket leder till att körtlarna förstöras. Allt eftersom sjukdomen fortskrider slutar bisköldkörtlarna att svara normalt på kalcium och D-vitamin. Syftet med direkt aktiverad D-vitaminterapi vid kronisk njursjukdom är att bromsa utvecklingen av sekundär hyperparatyreoidism. Kliniska riktlinjer, t.ex. "Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)" och "Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)" rekommenderar aktiverade D-vitaminsbehandlingsregimer för patienter med kronisk njursjukdom^{3,4}.

3. Metodbeskrivning

IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp}-kitet är ett komplett testsystem som involverar immunextrahering av 1,25-dihydroxyvitamin D i mänskligt serum och kvantitativ bestämning av 1,25(OH)₂D-nivåer i IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (System).

I kyvetten delipideras 1, 218 µL patientprov för att sedan inkuberas med magnetiska partiklar belagda med en specifik anti-1,25(OH)₂D-antikropp. Efter inkubation tvättas de magnetiska partiklarna och 1,25(OH)₂D i patientprovet elueras. 180 µL av det extraherade 1,25(OH)₂D-provet överförs till kyvett 2 där immunanalysen, baserad på kemiluminiscensteknik, äger rum.

I kyvett 2 inkuberas 180 µL renat prov med biotinylerad anti-1,25(OH)₂D-antikropp från får. Efter det första inkubationssteget tillsätts ett akridiniummärkt 1,25(OH)₂D-konjugat följt av ett påföljande inkubationssteg. Därefter tillsätts streptavidinmärkta magnetiska partiklar före ett tredje inkubationssteg. De magnetiska partiklarna fångas in med hjälp av en magnet och ett tvättsteg utförs för att avlägsna obundet 1,25(OH)₂D. Triggerreagens tillsätts; det resulterande ljuset som avges av akridiniummärkningsen är omvänt proportionellt till koncentrationen av 1,25(OH)₂D i originalprovet.

4. Varningar och säkerhetsåtgärder

IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} är endast avsett för *in vitro*-diagnostik och inte för internt bruk i människor eller djur. Denna produkt får endast användas i strikt överensstämmelse med anvisningarna i denna bruksanvisning. Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) ska inte hållas ansvarigt för förlust eller skada (förutom vad som krävs enligt lag) genom bristande efterlevnad av de tillhandahållna anvisningarna, oavsett hur den orsakas.

WARNING: Detta kit innehåller material av animaliskt ursprung. Hantera reagensen i kitet som om de skulle kunna överföra ett smittsamt medel. Lämpliga försiktighetsåtgärder och god laboratoriesed måste följas vid lagring, hantering och bortskaffande av reagensen i kitet. Bortskaffande av reagensen i kitet ska ske enligt lokala bestämmelser.

Mänskligt material

Mänskligt material som används vid beredningen av denna produkt har testats för förekomsten av antikropp mot humant immunbristvirus (HIV I och II), hepatit B-tytanten och antikropp mot hepatit C, och befunnits vara negativt enligt analyser som rekommenderats av FDA. Eftersom inget test kan erbjuda fullständig garanti att smittsamma agens saknas, ska reagensen hanteras enligt biosäkerhetsnivå 2.

Reagens som innehåller natriumazid

Vissa reagens i detta kit innehåller natriumazid (NaN₃) < 0,1 % (vikt/vikt), som kan reagera med bly, koppar eller mässing och bilda mycket explosiva metallazider. Vid bortskaffande, spola stora volymer vatten för att förhindra ansamling av azid.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

Precautionary statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.	P260: Do not breathe vapours.
H315: Causes skin irritation.	P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
H319: Causes serious eye irritation.	P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
H370: Causes damage to organs .	P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
	P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
	P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Försiktighetsåtgärder vid hantering

Bortsett från kalibratorerna, som är lyofiliserade, är reagenserna som ingår i satsen klara att användas. Se kalibreringsdelen av proceduren för rekonstitutionsmetodik.

Innan en ny kassett laddas i systemet, måste innehållet i behållaren med magnetiska partiklar blandas av operatören med en snabb roterande rörelse. Detta gör att magnetiska partiklar som har sjunkit till botten under transporten återsuspenderas. Försiktighet måste iaktas för att undvika skumbildning i reagenskassetten.

Hållbarhet och lagring av reagens

Lagra kassetten och kalibratorerna i en **upprätt** position i mörker vid 2 till 8 °C. **Frys inte** kassetten eller kalibratorerna.

Reagenshållbarhet	Immunoextraction-kassett	Immunanalys-kassett	Kalibratörer
Öppnad vid 2 till 8 °C	Fram till utgångsdatum		
Kassett, öppnad vid 2 till 8 °C	Ej tillämpligt	56 dagar	Ej tillämpligt
Kalibratörer, efter rekonstitution vid 2 till 8 °C	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt	6 timmar
Ombord i systemet*	28 dagar	49 dagar	3 timmar

* Kontinuerlig stabilitet ombord

6. Provtagning och -förvaring

Analysen bör utföras med serumprover (standardprovtagningsrör eller rör som innehåller serumseparerande gel).

- Prover bör separeras så snart som möjligt efter provtagning.
- Efter separation kan prover förvaras i högst 24 timmar vid rumstemperatur (18 till 25 °C) eller upp till 7 dagar vid 2 till 8 °C. Om det krävs längre tid mellan separation och testning, ska proven förvaras vid -20 °C.
- Prover kan förvaras vid -20 °C i upp till 2,5 månader, varefter de ska förvaras vid -80 °C.
- Prover kan genomgå upp till 2 omgångar med infrysning-upptining och de ska vara helt tinade och väl blandade innan de laddas i instrumentet.
- Prover är stabila ombord i analysatorn i högst 3 timmar.

Observera:

- Prover som innehåller partiklar måste centrifugeras innan analysen utförs. Använd inte värmeinaktiverade prover.
- För att minimera eventuella avdunstningseffekter, ska prover, kalibratörer och kontroller mätas inom 3 timmar efter det att de placerats i systemet.
- Varje laboratorium bör följa riktlinjer eller krav i lokala, statliga och/eller federala bestämmelser eller ackrediteringsorganisationer för att etablera sin egen provhantering och förvaringsstabilitet. För vägledning om lämpliga metoder, se CLSI GP44-A4, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests".
- Innan en analys utförs måste du kontrollera att prover, kalibratörer och kontroller håller rumstemperatur (18 till 25 °C).
- Vissa kommersiellt tillgängliga provtagningsrör kan påverka resultaten av testning i särskilda fall.
- Det rekommenderas att rörtillverkarens instruktioner följs, särskilt vid behandling av prover i primärrör.
- Centrifugerade prover med ett lipidskikt överst måste överföras till en provkopp eller ett sekundärrör. Försiktighet måste iaktas så att endast de klara proverna överförs, inte det lipemiska materialet.
- **Proven MÅSTE anta rumstemperatur (18 till 25 °C) innan de sätts i systemet för att optimera delipideringssteget.**

7. Material

Levererade material

Immunoextraction-kassett, 2 kassetter för 50 tester

MPA1	Magnetiska partiklar belagda med monoklonal antikropp till 1,25(OH) ₂ D, 1 flaska, 2,8 mL.
DEL	Delipideringsreagens, en lösning av dextransulfat och magnesiumklorid, 1 flaska, 2,6 mL.
DIS	Förskjutningsreagens, ett patentskyddat reagens för dissociation av 1,25(OH) ₂ D från bindande proteiner med natriumazid som konserveringsmedel (< 0,1 %), 1 flaska, 18,7 mL.
ELU	Elueringsreagens, en lösning av natriumhydroxid, 1 flaska, 13,0 mL.
NET	Neutraliseringsreagens, en lösning av citronsyra, 1 flaska, 3,4 mL.
BUF	Analysbuffert, en MOPS-buffert innehållande bovint serumalbumin, 1 flaska, 9 mL per flaska.

Immunoassay-kassett, 1 kassett för 100 tester

MPS3	Magnetiska partiklar belagda med streptavidin i en fosfatbuffert innehållande bovint serumalbumin med natriumazid som konserveringsmedel (< 0,1 %), en flaska, 2,6 mL.
CONJ	Konjugat, 1,25(OH) ₂ D märkt med ett akrinidiniumester-derivat, i en fosfatbuffert innehållande bovint serumalbumin med natriumazid som konserveringsmedel (< 0,1 %), en flaska, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Antikropp-biotin, anti-1,25(OH) ₂ D-polyklonal antikropp märkt med biotin, i en fosfatbuffert innehållande fårproteiner och natriumazid som konserveringsmedel (< 0,1 %), en flaska, 13 mL.
BUFD	Tvättbuffert, 1 % patentskyddat rengöringsmedel i PBS med natriumazid som konserveringsmedel (< 0,1 %), 1 flaska, 35 mL per flaska.

Kalibratörer

CAL A	Lyofiliserad MOPS-buffert innehållande bovint serumalbumin, 1,25(OH) ₂ D med natriumazid som konserveringsmedel (< 1,0 %), 3 vardera av två koncentrationsnivåer, 1,2 mL per flaska.
CAL B	

Mini-CD

Innehåller bruksanvisning för IDS-iSYS-reagens, CRY-filer och analyscertifikat.

Material som krävs men inte levereras

System

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Valfri utrustning/valfria material

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
Engångsmikrorör av polypropen, 2 mL, 10,8 mm diameter, konisk botten, med skruvlock, och skruvlock med O-ring (Sarstedt 72.609 och 65.716 eller motsvarande)	
Enheter för precisionspipettering	

8. Analysprocedur

Immunoextraction-reagenskassett

Reagenserna i kassetten är klara att användas. Innan en ny kassett laddas in i systemet måste de magnetiska partiklarna vara helt återsuspenderade. De magnetiska partiklarna kan beredas enligt något av följande alternativ, undvik skumbildning:

Manuellt:

- Blanda flaskan med de magnetiska partiklarna genom att hålla den mellan handflatorna och skaka den fram och tillbaka tills färgen på de suspenderade partiklarna har ändrats till brunt.
- Vänd flaskan med de magnetiska partiklarna försiktigt tills alla magnetiska partiklar som har sjunkit till botten av flaskan har återsuspenderats.
- Kontrollera botten på flaskan med de magnetiska partiklarna för att bekräfta att alla magnetiska partiklar som har sjunkit till botten har dispergerats helt och hållet.
- Upprepa inversionen vid behov tills de magnetiska partiklarna har återsuspenderats helt och hållet.
- Säkerställ att det inte finns någon skumbildning i kassettreagenserna.

End-over-end-test/blodrörsrotator:

- Avlägsna försiktigt partikelflaskan från plastklämman.
- Montera partikelflaskan på testet/blodhållaren.
- Roter flaskan med 10 till 20 varv per minut i 15 minuter vid rumstemperatur (18 till 25 °C).
- Kontrollera botten på flaskan med de magnetiska partiklarna för att bekräfta att alla magnetiska partiklar som har sjunkit till botten har dispergerats helt och hållet.
- Upprepa inversionen vid behov tills de magnetiska partiklarna har återsuspenderats helt och hållet.
- Säkerställ att det inte finns någon skumbildning i kassettreagenserna.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Se bruksanvisningen för IDS-iSYS XPrep för anvisningar om användning.

Streckkoden läses när kassetten har laddats i reagensfacket. Om etiketten inte kan läsas av systemets streckkodsläsare finns det en manuell procedur för att mata in streckkodsdata (se bruksanvisningen för IDS-iSYS). När kassetten väl är i reagensfacket genomför systemet automatiskt blandningen av magnetiska partiklar för att upprätthålla homogenitet.

Utför inte kassettnivåskanningen på IDS-iSYS 1,25 VitDXp Immunoextraction-kassetten eftersom det leder till att färre än 50 tester kan erhållas från kassetten.

Kassetten ska laddas på reagensfacket minst 60 minuter innan analysen påbörjas. Lämna immunextraktionskassetten i systemet tills kassetten är tom.

Immunoassay-reagenskasset

Reagenserna i kassetten är klara att användas. Innan en ny kasset laddas i systemet blandar du innehållet i behållaren med magnetiska partiklar genom att rotera behållaren snabbt mellan handflatorna. Undvik skumbildning.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Se bruksanvisningen för IDS-iSYS XPrep för anvisningar om användning.

Streckkoden läses när kassetten har laddats i reagensfacket. Om etiketten inte kan läsas av systemets streckkodsläsare finns det en manuell procedur för att mata in streckkodsdata (se bruksanvisningen för IDS-iSYS). När kassetten väl är i reagensfacket genomför systemet automatiskt blandningen av magnetiska partiklar för att upprätthålla homogenitet.

Utför inte kassettnivåskanningen på IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay-kassetten eftersom det leder till att färre än 100 tester kan erhållas från kassetten.

Kassetten ska laddas på reagensfacket minst 40 minuter innan analysen påbörjas. Om kassetten avlägsnas från reagensfacket ska den förvaras i upprätt läge vid 2 till 8 °C i mörker.

Kalibratörer

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-analysen har standardiserats mot interna referensstandarder som har anpassats till den validerade 1,25-dihydroxyvitamin D LC-MS/MS.

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-kalibratörer är lyofiliserade. Bered kalibratörerna enligt följande procedur:

- Säkerställ att kalibratörerna har rumstemperatur (18 till 25 °C).
- Tillsätt omedelbart före användning 1,2 mL destillerat eller avjoniserat vatten till varje flaska.
- Sätt tillbaka korken. Låt flaskorna stå i 10 minuter vid rumstemperatur (18–25 °C).
- Vortexbehandla under 2–3 sekunder; vänd försiktigt upp och ner för att säkerställa fullständig rekonstitution.
- Överför omkring 750 µL för triplikat kalibrering (180 µL per replikat) av kalibratörer till mikrorör av polypropen, 2 mL, med konisk botten och skruvlock och placera i systemet inom 15 minuter efter beredning och mät inom 3 timmar. Kalibratörerna går inte igenom reningsproceduren.
- Undvik skumbildning under varje steg.
- Fortsätt enligt anvisningarna i bruksanvisningen för IDS-iSYS.

Kalibreringsfrekvens

En ny kalibrering krävs:

- Vid laddning av varje nytt parti kassetter.
- När kontrollvärdena inte hamnar inom de definierade intervallen.
- När kalibreringsintervallet på 21 dagar har löpt ut.
- Efter systemservice.

Verifiering av kalibreringen sker automatiskt och hanteras av systemet.

Systemkalibrering

De två IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-kalibratörerna krävs för att utföra justeringen av huvudkurvan. Dessa kalibratörer levereras med kitet och kalibratörer från ett annat kit får inte användas. Alla nivåer av IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) MÅSTE mätas samtidigt som kalibratörerna för att validera justeringen av huvudkurvan.

Alla data som krävs för kalibreringen av kassetten finns på mini-CD:n. Använd kalibratöرنivåerna A och B för att justera huvudkurvan till reagensen ombord i systemet. Kontrollera om det finns en IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction-kasset och en Immunoassay-kasset i reagensfacket och om det finns en tillgänglig kassetthuvudkurva i databasen. Om datan för kalibratörpartiet inte är tillgängliga i systemet, läser du in datan med hjälp av den mini-CD som levereras med reagenskitet.

Starta immunanalytiskalibreringen i systemet enligt systemets bruksanvisning. Kalibreringen utförs med användning av 3 replikat för varje nivå. Ett replikat kan avlägsnas för att uppfylla kalibreringskraven. Alla kontrollnivåer måste också mätas i duplikat för att kalibrera analysen. Verifiera och godkänn kalibreringen enligt den kalibreringsstatus som visas i kalibreringsfönstret och kassera kalibratörerna och kontrollerna i provfacket efter användning.

9. Kvalitetskontroll

Använd IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set för kvalitetskontroll. För att garantera validitet för resultat ska minst två kontroller med olika nivåer av 1,25(OH)₂D mätas. Annat lämpligt kontrollmaterial kan användas utöver IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Kontroller ska testas vid (eller nära) starten av varje körning som innehåller patientprov och även vid varje kalibrering i enlighet med lokala, statliga och/eller federala bestämmelser eller ackrediteringskrav och kvalitetsförfarandet i ditt laboratorium. Se bruksanvisningen för IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set när det gäller berednings- och hanteringsanvisningar.

Bestämning av prov 1,25 dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D)-nivåer

Behandla proven enligt bruksanvisningen för IDS-iSYS-systemet.

10. Beräkning av resultat

Koncentrationen av 1,25(OH)₂D inom varje prov beräknas automatiskt. Koncentrationerna visas (på skärmen eller utskrivna) på användarens begäran.

Vid IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-analysen används en 4-parameters logistisk kurvanpassning (4PL) för att beräkna 1,25(OH)₂D-koncentrationerna.

För att omvandla resultat till SI-enheter: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Mätintervall (Rapporterbart intervall)

Analysens rapporterbara intervall är 7,5 – 150 pg/mL (18 - 360 pmol/L). Alla värden som understiger 7,5 pg/mL (18 pmol/L) ska rapporteras som "< 18 pg/mL" ("< 18 pmol/L").

12. Spädning

Prover med 1,25(OH)₂D-koncentrationer över det rapporterbara intervallet ska spädas manuellt med IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) i förhållandet 1 till 2. Resultaten för utspädda prover måste multipliceras med 2x spädningfaktor.

13. Begränsningar för användning

- Som i alla diagnostiska procedurer måste resultaten tolkas i kombination med patientens kliniska presentation och annan information som finns tillgänglig för läkaren.
- Prestandakarakteristika för denna analys har inte fastställts på barn.
- Heterofila antikroppar i humant serum kan reagera med reagensimmunoglobuliner, vilket stör *in vitro*-immunanalyser⁵. Patienter som rutinmässigt exponeras för djur eller djurserumprodukter kan vara känsliga för denna interferens och avvikande värden kan observeras.
- Följande ämnen stör inte IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-analysen när koncentrationerna som presenteras i tabellen som följer är under det angivna gränsvärdet.

Potentiellt störande ämne	Gränsvärde för koncentrationer
Albumin	7,5 g/dL
Bilirubin, konjugerat	40 mg/dL
Bilirubin, icke konjugerat	40 mg/dL
Biotin	0,1 mg/dL
Kolesterol, totalt	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobin	500 mg/dL
Reumatoid faktor	7000 IU/mL
Triglycerider	3000 mg/dL
Acetaminofen	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Karbamazepin	127 µmol/L
Fenytoin	198 µmol/L
Acetylsalicylsyra	65 mg/dL
Salicylsyra	60 mg/dL

14. Förväntade värden

Nedanstående intervall bestämdes med IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-analysen och de tillhandahålls endast som information.

Prover från 121 till synes friska, vuxna män och kvinnor i åldern 19 - 69 år från blandade etniska bakgrunder (34 % med mörk hy och 66 % med ljus hy) analyserades med IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Prover togs under vinter (36 %) och sommar (44 %) från personer med normala intakta värden för PTH, kalcium, fosfat och TSH från de norra och södra delarna av USA. Det 95-procentiga referensintervallet för till synes friska vuxna beräknades med en icke-parametrisk metod med vägledning från CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

Erhållna normala vuxenintervall: 15,2 till 90,1 pg/mL (36,5 till 216,2 pmol/L)

15. Prestandainformation

Representativ prestandainformation visas. Resultat som erhållits vid olika laboratorier kan variera.

15.1 Känslighet

Blankgränsen (LoB), detektionsgränsen (LoD) och kvantifieringsgränsen (LoQ) bestämdes med hjälp av CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation".

Känslighet	1,25(OH) ₂ D-koncentration	
	pg/mL	pmol/L
LoB (blankgräns)	2,5	6,0
LoD (detektionsgräns)	4,2	10,1
LoQ (kvantifieringsgräns)	7,5	18,0

15.2 Exakthet

Exakthet utvärderades i enlighet med ett modifierat protokoll baserat på CLSI EP-5A2, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods". Totalt 6 prover analyserades i duplikat, två gånger per dag i 7 dagar med 1 reagenspartier på 1 system.

Prov	n	Medel		Repetierbarhet			Totalt		
		pg/mL	pmol/L	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Serum 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Serum 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Serum 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Serum 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Kontroll 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Kontroll 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linjäritet

Linjäritet utvärderades i enlighet med CLSI EP-6A, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Proven bereddades genom utspädning av ett högt patientprov med ett lågt patientprov före analys. Den linjära regressionen för de observerade koncentrationerna jämfört med de förväntade koncentrationerna (förväntad = lutning x observerad ± skärningspunkt) är:

Lutning	Skärningspunkt		Regressionskoefficient (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Metodjämförelse

IDS-iSYS 1,25 VitDXp-analysen jämfördes med den kommersiellt tillgängliga kvantitativa IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D-analysen, enligt CLSI EP-9A2, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Totalt 105 prover, utvalda för att representera ett brett intervall av 1,25(OH)₂D-koncentrationer 11,4 - 150 pg/mL (27,4 - 360 pmol/L), analyserades med respektive metod. Passing-Bablok-regressionsanalys utfördes på komparativa data:

n	Lutning	Skärningspunkt		Korrelationskoefficient (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Specificitet

Nedanstående exogena syntetiska vitamin D-metaboliter eller vitamin D-läkemedelsföreningar tillsattes till serumprover och mättes med IDS-iSYS 1,25 VitDXp-analysen.

Analyt	Korsreaktivitet (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Symboler som används



Katalognummer



Enhet för *in vitro*-diagnostik



Tillverkare



Tilldelad i enlighet med direktiv 98/79/EG

Rx Only

Varning: Enligt federal lag i USA får denna produkt endast säljas av eller på förordning av en (legitimerad hälso- och sjukvårdsutövare)

17. Bibliografi

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tfn: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
e-post: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tfn: +1 877 852 6210• Fax:+1 301 990 4236
e-post: info.us@idsplc.com

Frankrike Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tfn: +33 140 770 450• Fax:+33 140 770 455
e-post: info.fr@idsplc.com

Belgien Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tfn: +32 425 226 36• Fax:+32 425 251 96
e-post: info.be@idsplc.com

Tyskland Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tfn: +49 693 085 5025• Fax:+49 693 085 5125
e-post: info.de@idsplc.com

Skandinavien Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tfn: +45 448 400 91
e-post: info.nordic@idsplc.com

Brasilien IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tfn: +55 113 740 6100• Fax:+ 55 113 740 6105
e-post: info.br@idsplc.com

1. Beoogd gebruik

Voor *In Vitro* diagnostisch gebruik

De IDS-iSYS1,25 VitD^{xp}-assay is een *in vitro* diagnostisch hulpmiddel dat is bedoeld voor de kwantitatieve vaststelling van 1,25-dihydroxyvitamine D [1,25(OH)₂D] in menselijk serum op het IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. De resultaten zullen worden gebruikt als hulp in de beoordeling van de toereikendheid van vitamine D.

Rx only.

2. Samenvatting en uitleg

Er zijn twee soorten vitamine D: vitamine D₃ en vitamine D₂. Vitamine D₃, cholecalciferol, is de natuurlijk voorkomende vitamine D die in de huid wordt geproduceerd door blootstelling van 7-dehydrocholesterol aan de ultraviolette straling van de zon ¹. Vitamine D₂ wordt geproduceerd door de ultraviolette bestraling van ergosterol uit gist. Beide vormen worden gebruikt in vitamine D-supplementen. De vitamine D-verbinding is biologisch inactief maar wordt in de bloedsomloop opgenomen en in de lever gehydroxyleerd tot 25-hydroxyvitamine D [25(OH)D], dat wordt gebruikt om de vitamine D-status van een patiënt te bepalen.

In de nieren wordt 25(OH)D verder gehydroxyleerd om de biologisch actieve metaboliet 1,25(OH)₂D ¹ te produceren. 1,25(OH)₂D is een van de belangrijkste regulatoren voor de stofwisseling van calcium en fosfaat. Het stimuleert de intestinale calciumabsorptie en verhoogt botresorptie. 1,25(OH)₂D remt ook de productie van bijschildklierhormoon (parathyreoïd hormoon, PTH), zowel via de directe werking op de bijschildklieren, als indirect door het verhogen van het serumgehalte van calcium. De 1,25(OH)₂D-productie zelf wordt gestimuleerd door parathyroïd hormoon (PTH), waardoor er een effectieve regellus bestaat ¹. Fibroblastgroeifactor 23 [FGF-23], uitgescheiden door het bot, zorgt ervoor dat de natriumfosfaat-cotransporter door de cellen van de nieren en dunne darm worden geïnternaliseerd; ook wordt de synthese van 1,25(OH)₂D onderdrukt ².

Bij secundaire hyperparathyroïdie, een ziekte buiten de bijschildklieren om, maakt dat de bijschildklieren zich vergroten en hyperactief worden. Dit wordt meestal veroorzaakt door nierfalen, waarbij de nieren niet in staat zijn om het door het lichaam geproduceerde fosfor uit het bloed te verwijderen en niet voldoende vitamine D kunnen produceren, met name 1,25(OH)₂D, de actieve vorm van vitamine D. De ophoping van fosfor leidt tot een verlaagd calciumgehalte in het bloed, wat de bijschildklieren stimuleert om de bijschildklierhormoon (PTH)-productie te verhogen en tot vergroting van de klieren leidt. Naarmate de ziekte vordert, reageren de bijschildklieren niet normaal meer op calcium en vitamine D. De reden voor therapie met geactiveerd vitamine D bij chronische nierziekte (Chronic Kidney Disease, CKD) is om de progressie van secundaire hyperparathyroïdie te vertragen. Klinische richtlijnen zoals "Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)" en "Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)" bevelen een therapeutisch regime met geactiveerde vitamine D aan voor patiënten met CKD ^{3,4}.

3. Beschrijving van de methode

De IDS-iSYS 1,25VitD^{xp}-kit is een compleet testsysteem waarbij immuno-extractie van 1,25-dihydroxyvitamine D in menselijk serum wordt gevolgd door een kwantitatieve bepaling van 1,25(OH)₂D met het IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System.

In cuvette 1 wordt 218 µL van het patiëntenmonster verwijderd en vervolgens geïncubeerd met magnetische deeltjes gecoat met een specifiek anti-1,25(OH)₂D-antilichaam. Na incubatie worden de magnetische deeltjes gewassen en wordt het 1,25(OH)₂D in het patiëntenmonster geëluëerd. 180 µL van het verkregen 1,25(OH)₂D-monster wordt overgebracht naar cuvette 2, waar de immunoassay op basis van chemiluminiscentie plaatsvindt.

In cuvette 2 worden de gezuiverde monsters van 180 µL geïncubeerd met anti-1,25(OH)₂D-antilichaam van gebiotinyld schaaap. Na de eerste incubatiestap wordt een 1,25(OH)₂D-conjugaat, gemerkt met een acridinium, toegevoegd, gevolgd door een volgende incubatiestap. Magnetische deeltjes, gemerkt met streptavidine, worden daarna toegevoegd vóór een derde incubatiestap. De magnetische deeltjes worden met behulp van een magneet gevangen, waarna ze worden gewassen om enig ongebonden 1,25(OH)₂D te verwijderen. Er worden triggerreagentia toegevoegd. Het resulterende licht dat door het acridinium gemerkte conjugaat wordt uitgezonden, is omgekeerd evenredig met de hoeveelheid 1,25(OH)₂D in het oorspronkelijke monster.

4. Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

De IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} is uitsluitend bedoeld voor *in vitro* diagnostisch gebruik en is niet bedoeld voor inwendig gebruik bij mensen of dieren. Dit product mag uitsluitend worden gebruikt volgens de instructies uiteengezet in deze gebruiksaanwijzing. Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) is niet verantwoordelijk voor enige schade of verlies ongeacht de oorzaak, als gevolg van niet-naleving van de geleverde instructies, dan behalve waar de wet dit vereist.

WAARSCHUWING: deze kit bevat materiaal van dierlijke oorsprong. Behandel de reagentia in deze kit als stoffen die een infectieuze agens kunnen overbrengen. Passende voorzorgen en goede laboratoriumpraktijken moeten worden toegepast voor de opslag, verwerking en verwijdering van de reagentia in de kit. Wegwerpen van reagentia in de kit moet in overeenstemming zijn met de plaatselijke regelgeving.

Menselijk materiaal

Menselijk materiaal dat gebruikt is bij de voorbereiding van dit product, is getest volgens door de FDA aanbevolen assays op de aanwezigheid van antistoffen voor het humaan immunodeficiëntievirus (HIV I en II), hepatitis B oppervlakte-antigeen, antistoffen voor hepatitis C, en dit is negatief gebleken. Aangezien geen enkele test de volledige zekerheid kan bieden dat er geen infectieuze agentia aanwezig zijn, moeten de reagentia worden behandeld volgens Biosafety Level 2.

Reagentia die natriumazide bevatten

Sommige reagentia in deze kit bevatten natriumazide (NaN_3) <0,1% (w/w) dat met leidingen van lood, koper of messing kan reageren en uiterst explosieve metaalaziden kan vormen. Spoel bij verwijderen met grote hoeveelheden water om de ophoping van aziden te voorkomen.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Voorzorgsmaatregelen

Behalve de kalibrators, die zijn gevriesdroogd, zijn de reagentia in de kit klaar voor gebruik. Raadpleeg het onderdeel over de kalibrators in de proceduresectie voor de reconstitutiemethode.

Voordat er een nieuwe patroon in het systeem wordt geladen, moet de gebruiker de container met de magnetische deeltjes mengen door middel van een snelle draaibeweging. Zo worden de magnetische deeltjes die tijdens de verzending zijn neergeslagen, opnieuw in suspensie gebracht. Zorg ervoor dat de vorming van schuim in de patroon met reagens wordt voorkomen.

Houdbaarheid en opslag van reagentia

Bewaar de patroon en kalibrators in het donker in **rechtopstaande** positie bij 2-8 °C. **Voorkom bevriezen** van de patroon en de kalibrators.

Houdbaarheid reagens	Immunoextraction-patroon	Immunoassay-patroon	Kalibrators
Vóór opening bij 2-8 °C	Tot de vervaldatum		
Patroon, na opening bij 2-8 °C	n.v.t.	56 dagen	n.v.t.
Kalibrators, na reconstitutie bij 2-8 °C	n.v.t.	n.v.t.	6 uur
In het systeem geladen *	28 dagen	49 dagen	3 uur

* Continue stabiliteit wanneer geladen

6. Verzameling en opslag van monsters

De assay moet worden uitgevoerd met serummonsters (standaard monsterbuisjes of buisjes met serumscheidende gel).

- De monsters moeten zo snel mogelijk na afname worden gescheiden.
- Na de scheiding kunnen de monsters maximaal 24 uur bij kamertemperatuur (18-25 °C) of maximaal 7 dagen bij 2-8 °C worden bewaard. Als een langere tijd nodig is tussen de scheiding en het testen, moeten de monsters bij -20 °C worden bewaard.
- Monsters kunnen gedurende 2,5 maand bij -20 °C worden bewaard; daarna moeten ze bij -80 °C worden bewaard.
- Monsters kunnen maximaal 2 vries-dooi cycli ondergaan en moeten volledig ontdooid en goed gemengd zijn voordat ze in het apparaat worden geladen.
- Monsters zijn maximaal 3 uur stabiel in de analyser.

Opmerking:

- Monsters die bepaalde deeltjes bevatten, moeten worden gecentrifugeerd voordat de assay wordt uitgevoerd. Gebruik geen door warmte geïnactiveerde monsters.
- Om eventuele verdamping tot een minimum te beperken, moeten monsters, kalibrators en controles binnen 3 uur na plaatsing op het systeem worden gemeten.
- Leder laboratorium moet de richtlijnen of vereisten van lokale, staats- of federale regelgeving of accreditatieorganisaties naleven om een eigen behandeling van monsters en opslagstabiliteit vast te leggen. Voor begeleiding bij de juiste laboratoriumpraktijken raadpleegt u de CLSI GP44-A4, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests".
- Zorg er voorafgaand aan het uitvoeren van assays voor dat monsters, kalibrators en controles op kamertemperatuur zijn (18-25 °C).
- Sommige afnamebuisjes die in de handel verkrijgbaar zijn, kunnen in bepaalde gevallen invloed hebben op de resultaten van de assay.
- Het is aanbevolen om de instructies van de fabrikant van de buisjes te volgen, met name bij het verwerken van monsters in de primaire buisjes.
- Gecentrifugeerde monsters met een laagje lipide aan de bovenkant, moeten naar een monsterbeker of tweede buisje worden overgebracht. U dient er zorg voor te dragen dat alleen de zuivere monsters zonder het lipemisch materiaal worden overgebracht.

- De monsters **MOETEN** equilibreren op kamertemperatuur (18-25 °C) alvorens deze in het systeem te laden om de delipidatiestap te optimaliseren.

7. Materialen

Meegeleverde materialen

Immunoextraction-patroon, 2 patronen van 50 tests

MPA1	Magnetische deeltjes gecoat met monoklonaal antilichaam tegen 1,25(OH) ₂ D, 1 buisje, 2,8 mL.
DEL	Delipidatiereagens, een oplossing van dextraansulfaat en magnesiumchloride, 1 buisje, 2,6 mL.
DIS	Verplaatsende reagens, een propriëtaire reagens voor het scheiden van 1,25(OH) ₂ D van bindende proteïnen met natriumazide als conserveermiddel (<0,1%), 1 buisje, 18,7 mL.
ELU	Elutiërende reagens, een oplossing van natriumhydroxide, 1 buisje, 13,0 mL.
NET	Neutralisatiereagens, een oplossing van citroenzuur, 1 buisje, 3,4 mL.
BUF	Assay buffer, een MOPS-buffer die runderserumalbumine bevat, 1 buisje, 9 mL per buisje.

Immunoassay-patroon, 1 patroon van 100 tests

MPS3	Magnetische deeltjes, gecoat met streptavidine in een fosfaatbuffer met runderserumalbumine en natriumazide als conserveermiddel (<0,1%), 1 buisje, 2,6 mL.
CONJ	Conjugaat, 1,25(OH) ₂ D, gemerkt met een acridiniumester in een fosfaatbuffer met runderserumalbumine en natriumazide als conserveermiddel (<0,1%), 1 buisje, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Antilichaambiotine, anti-1,25(OH) ₂ D polykloonaal antilichaam gelabeld met biotine in een fosfaatbuffer met schapeneiwit en natriumazide als conserveermiddel (<0,1%), 1 buisje, 13 mL.
BUFD	Wasbuffer, 1% propriëtaire detergens in PBS met natriumazide als conserveermiddel (<0,1%), 1 buisje, 35 mL per buisje.

Kalibrators

CAL A	Gevriesdroogde MOPS buffer met runderserumalbumine, 1,25(OH) ₂ D met natriumazide als conserveermiddel
CAL B	(<1,0%), 3 elk van 2 concentratieniveaus, 1,2 mL per fles.

Mini-cd

Bevat de gebruiksaanwijzing voor IDS-iSYS-reagentia, CRY-bestanden en bewijs van analyse.

Benodigde, niet meegeleverde materialen

Systeem

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Optionele apparatuur/materialen

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
Wegwerpbare microbuisjes van polypropyleen met schroefdoop van 2 mL, met konische bodem met diameter van 10,8 mm en schroefdoop met O-ring (Sarstedt 72.609 en 65.716 of vergelijkbaar)	
Micropipetteerhulpmiddelen	

8. Assayprocedure

Immunoextraction-patroon met reagentia

De geleverde reagentia in de patroon zijn klaar voor gebruik. Voordat er een nieuwe patroon in het systeem wordt geladen moet de container met de magnetische deeltjes opnieuw volledig in suspensie worden gebracht. De magnetische deeltjes kunnen door middel van een van de volgende opties worden bereid; voorkom de vorming van schuim.

Handmatig:

- Mix het buisje met de magnetische deeltjes kort tussen de handpalmen van voor naar achter, totdat de kleur van de gesuspendeerde deeltjes bruin is geworden.
- Keer het buisje met de magnetische deeltjes rustig en voorzichtig om totdat alle neergeslagen magnetische deeltjes in het buisje weer in suspensie zijn gebracht.
- Controleer de bodem van het buisje met de magnetische deeltjes om te zien of alle neergeslagen magnetische deeltjes volledig zijn verspreid.
- Blijf net zolang omkeren totdat alle magnetische deeltjes volledig opnieuw gesuspendeerd zijn.
- Zorg ervoor dat zich geen schuim vormt in de reagentia in de patroon.

End-over-end test-/bloedbuisjesrotator:

- Verwijder het buisje met deeltjes voorzichtig uit de plastic clip.
- Plaats het buisje met deeltjes in de test/bloedhouder

- Roteer het buisje met 10-20 omwentelingen per minuut gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur (18-25 °C).
- Controleer de bodem van het buisje met de magnetische deeltjes om te zien of alle neergeslagen magnetische deeltjes volledig zijn verspreid.
- Blijf net zolang omkeren totdat alle magnetische deeltjes volledig opnieuw gesuspendeerd zijn.
- Zorg ervoor dat zich geen schuim vormt in de reagentia in de patroon.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Raadpleeg de IDS-iSYS XPrep-gebruikershandleiding voor gebruiksinstructies.

De barcode wordt gelezen wanneer de patroon in de reagenslade is geplaatst. Als het label niet door de barcodelezer van het systeem kan worden gelezen, is er een handmatige procedure om de barcodegegevens in te voeren (zie gebruikershandleiding van de IDS-iSYS). Wanneer de patroon eenmaal op de reagenslade is geplaatst, mengt het systeem automatisch de magnetische deeltjes om homogeniteit te handhaven.

Voer het onderzoek naar het niveau van de patroon niet uit op de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextractie-patroon, aangezien er dan minder dan 50 tests uit de patroon kunnen worden verkregen.

De patroon moet minstens 60 minuten in de reagenslade geladen zijn, voordat de assay begonnen mag worden. Laat de patroon met de immunoextractiereagens aan boord van het systeem totdat de patroon volledig is leeggemaakt.

Immunoassay-patroon met reagentia

De geleverde reagentia in de patroon zijn klaar voor gebruik. Voordat er een nieuwe patroon in het systeem wordt geladen, mixt u de container met de magnetische deeltjes tussen de handpalmen door middel van een snelle draaibeweging. Voorkom de vorming van schuim.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Raadpleeg de IDS-iSYS XPrep-gebruikershandleiding voor gebruiksinstructies.

De barcode wordt gelezen wanneer de patroon in de reagenslade is geplaatst. Als het label niet door de barcodelezer van het systeem kan worden gelezen, is er een handmatige procedure om de barcodegegevens in te voeren (zie gebruikershandleiding van de IDS-iSYS). Wanneer de patroon eenmaal op de reagenslade is geplaatst, mengt het systeem automatisch de magnetische deeltjes om homogeniteit te handhaven.

Voer het onderzoek naar het niveau van de patroon niet uit op de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay-patroon, aangezien er dan minder dan 100 tests uit de patroon kunnen worden verkregen.

De patroon moet minstens 40 minuten in de reagenslade geladen zijn, voordat de assay begonnen mag worden. Als de patroon uit de reagenslade wordt verwijderd, bewaar deze dan in het donker en in staande positie bij 2-8 °C.

Kalibrators

De IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-assay is gestandaardiseerd naar eigen referentiestandaarden, die overeenkomen met de gevalideerde 1,25-dihydroxyvitamine D LC-MS/MS.

De IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-kalibrators zijn gevriesdroogd. Bereid de kalibrators volgens de onderstaande procedure voor:

- Zorg ervoor dat de kalibrators equilibreren op kamertemperatuur (18-25 °C).
- Voeg vlak voor gebruik 1,2 mL gedestilleerd of gedeïoniseerd water toe aan elke fles.
- Herplaats de stop. Laat de buisjes gedurende 10 minuten in kamertemperatuur staan (18-25 °C).
- Vortex 2-3 seconden, keer voorzichtig om voor volledige reconstitutie.
- Draag ongeveer 750 µL over voor drievoudige kalibratie (180 µL per herhaling) van kalibrators naar polypropylenen microbuisjes met schroefdop en conische bodem van 2 mL, plaats ze op het systeem binnen 15 minuten na reconstitutie en meet binnen 3 uur. De kalibrators doorlopen niet de zuiveringsprocedure
- Voorkom tijdens alle stappen de vorming van schuim.
- Volg verder de instructies in de gebruikershandleiding van de IDS-iSYS.

Kalibratiefrequentie

Een nieuwe kalibratie is vereist:

- Na het laden van elke nieuwe partij patronen.
- Wanneer de controlewaarden niet binnen de gedefinieerde waarden vallen.
- Wanneer het kalibratie-interval van 21 dagen verstreken is.
- Na een service van het systeem.

Verificatie van de kalibratie is automatisch en wordt verzorgd door het systeem.

Systeemkalibratie

De twee IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-kalibrators zijn nodig om de hoofdcurve aan te passen. De kalibrators worden met de kit meegeleverd en kalibrators van andere kits moeten niet worden gebruikt. Alle niveaus van de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) MOETEN op hetzelfde moment als de kalibrators worden gemeten om de afstelling van de hoofdcurve te valideren.

Alle gegevens die nodig zijn voor de kalibratie van de patroon, zijn op de mini-cd te vinden. Gebruik kalibratorniveaus A en B om de hoofdcurve aan te passen aan de reagentia aan boord van het systeem. Controleer op de aanwezigheid van een IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextractie- en een Immunoassay-patroon in de reagenslade, en de beschikbaarheid van de hoofdcurve van de patroon in de database. Als de gegevens van de kalibratorpartij niet beschikbaar zijn aan boord van het systeem, laad deze gegevens dan in met behulp van de mini-cd die bij de kit met reagentia geleverd wordt.

Begin de immunoassay-kalibratie op het systeem volgens de gebruikershandleiding van het systeem. De kalibratie wordt uitgevoerd door gebruik te maken van 3 replica's van elk niveau. Eén replica kan worden verwijderd om aan de kalibratievereisten te voldoen. Alle controle-niveaus moeten ook in tweevoud worden gemeten om de assay te kalibreren. Gebruik de kalibratiestatus, weergegeven in het kalibratievenster, om de kalibratie te controleren en goed te keuren en verwijder de resterende hoeveelheden van kalibrators en controles na gebruik uit de monsterlade.

9. Kwaliteitscontrole

Gebruik de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set voor kwaliteitscontrole. Om de geldigheid van de resultaten te garanderen, moeten ten minste twee controles met verschillende concentraties van 1,25(OH)₂D worden getest. Ander geschikt controlemateriaal kan worden gebruikt als aanvulling op de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Controles moeten worden uitgevoerd aan het begin (of omstreeks het begin) van elke test die patiëntenmonsters bevat en ook tijdens iedere kalibratie conform lokale, landelijke of federale voorschriften of accreditatievereisten en de kwaliteitsprocedures van uw laboratorium. Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set voor de instructies met betrekking tot de voorbereiding en behandeling.

Bepaling van 1,25 Dihydroxyvitamine D (1,25(OH)₂D)-niveaus van monsters

Verwerk de monsters volgens de gebruikershandleiding van het IDS-iSYS-systeem.

10. Berekening van de resultaten

De concentratie van 1,25(OH)₂D binnen elk monster wordt automatisch berekend. De weergave van de concentraties (op het beeldscherm of afgedrukt) wordt bepaald op verzoek van de gebruiker.

De IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-assay maakt gebruik van een 4 parameter logistische gepaste curve (4PL) om de 1,25(OH)₂D-concentraties te berekenen.

Om resultaten naar SI-eenheden om te zetten: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Meetbereik (rapporteurbaar bereik)

Het rapporteerbare bereik van de assay is 7,5-150 pg/mL (18-360 pmol/L). Een waarde onder de 7,5 pg/mL (18pmol/L) moet worden gerapporteerd als "<7,5 pg/mL" ("<18 pmol/L").

12. Verdunning

Monsters met 1,25(OH)₂D-concentraties boven het rapporteerbare bereik moeten handmatig worden verdund met IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) in de verhouding 1:2. De resultaten van de verdunde monsters moeten worden vermenigvuldigd met verdunningsfactor 2x.

13. Beperkingen ten aanzien van gebruik

- Zoals voor elke diagnostische procedure geldt, moeten de resultaten worden gezien in samenhang met de klinische presentatie van de patiënt en alle andere informatie waarover de arts beschikt.
- De prestatiekenmerken van deze test zijn niet vastgesteld in een pediatrische populatie.
- Heterofiel antilichaam in menselijk serum kan reageren met immunoglobulinen in reagentia en interfereren met *in vitro* immunoassays⁵. Patiënten die regelmatig in contact komen met dieren of producten met dierlijk serum, kunnen gevoelig zijn voor deze interferentie en bij deze patiënten kunnen afwijkende waarden worden waargenomen.
- De volgende stoffen interfereren niet met de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-assay, zolang de concentraties beneden de genoemde drempelwaarden vallen zoals weergegeven in de volgende tabel.

Potentieel storende agens	Drempelconcentratie
Albumine	7,5 g/dL
Bilirubine, geconjugeerd	40 mg/dL
Bilirubine, ongeconjugeerd	40 mg/dL
Biotine	0,1 mg/dL
Cholesterol, totaal	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobine	500 mg/dL
Reumafactor	7000 IU/mL
Triglyceriden	3000 mg/dL
Paracetamol	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Carbamazepine	127 µmol/L
Fenytoïne	198 µmol/L
Acetylsalicylzuur	65 mg/dL
Salicylzuur	60 mg/dL

14. Verwachte waarden

De volgende bereiken zijn vastgesteld met behulp van de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-assay en zijn uitsluitend bedoeld ter informatie.

Monsters van 121 ogenschijnlijk gezonde, volwassen mannen en vrouwen in de leeftijd van 19 — 69 jaar van gemengde ethische achtergrond (34% met donkere huidskleur en 66% met blanke huidskleur) werden getest in de IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. De monsters werden in de winter (36%) en zomer (64%) verzameld van personen met normale PTH-, calcium-, fosfaat- en TSH-waarden uit de noordelijke en zuidelijke regio's van de Verenigde Staten. Het 95% referentie-interval voor ogenschijnlijk gezonde volwassenen werd berekend met een niet-parametrische methode volgens de CLSI-richtlijn C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

De verkregen bereiken bij normale volwassenen: 15,2 tot 90,1 pg/mL (36,5 tot 216,2 pmol/L)

15. Prestatiegegevens

Representatieve prestatiegegevens worden getoond. Resultaten kunnen per individueel laboratorium verschillen.

15.1 Gevoeligheid

De limiet van blanco (LoB), detectielimiet (LoD) en kwantificeringslimiet (LoQ) werden bepaald met gebruikmaking van CLSI-richtlijn EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation".

Gevoeligheid	1,25(OH) ₂ D-concentratie	
	pg/mL	pmol/L
LoB (limiet van blanco)	2,5	6,0
LoD (detectielimiet)	4,2	10,1
LoQ (kwantificeringslimiet)	7,5	18,0

15.2 Nauwkeurigheid

De nauwkeurigheid werd geëvalueerd volgens een aangepast protocol gebaseerd op CLSI-richtlijn EP-5A2, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods". In totaal werden er 6 monsters met menselijk serum in tweevoud getest, twee keer per dag gedurende 7 dagen met gebruikmaking van een partijen reagentia met een systeem, een partij per systeem.

Monster	n	Gemiddelde		Herhaalbaarheid			Totaal		
		pg/mL	pmol/L	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Serum 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Serum 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Serum 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Serum 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Controle 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Controle 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Lineariteit

De lineariteit werd geëvalueerd volgens CLSI-richtlijn EP-6A, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". De monsters werden bereid door vóór de assay een hoog patiëntenmonster te verdunnen met een laag patiëntenmonster. Elke verdunning is getest door gebruikmaking van drie partijen reagentia in tweevoud. De lineaire regressie van de Waargenomen concentraties versus de Verwachte concentraties (verwacht = helling x waargenomen ± intercept) is:

Helling	Intercept		Regressiecoëfficiënt (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Methodevergelijking

De IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}-assay werd vergeleken met in de handel verkrijgbare kwantitatieve IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D-assay, volgens CLSI-richtlijn EP-9A2, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Een totaal van 105 monsters, representatief voor een breed bereik van 1,25(OH)₂D-concentraties [11,4-150 pg/mL (27,4-360 pmol/L)] werd getest met elke methode. Een Passing Bablok-regressie-analyse werd uitgevoerd op de vergelijkende gegevens:

n	Helling	Intercept		Correlatiecoëfficiënt (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Specificiteit

De volgende exogene synthetische vitamine D-metabolieten of vitamine D-verbindingen werden aan serummonsters toegevoegd en gemeten met de IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}-assay.

Analiët	Kruisreactiviteit (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Gebruikte symbolen



Catalogusnummer



In Vitro diagnostisch hulpmiddel



Fabrikant



Toegepast in overeenstemming met richtlijn 98/79/EC

Rx Only

Waarschuwing: Volgens de Amerikaanse federale wetgeving mag dit artikel alleen door of in opdracht van een (bevoegde zorgverlener) worden verkocht.

17. Bibliografie

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
E-mail: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

VS Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Fax: +1 301 990 4236
E-mail: info.us@idsplc.com

Frankrijk Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Fax: +33 140 770 455
E-mail: info.fr@idsplc.com

België Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Fax: +32 425 251 96
E-mail: info.be@idsplc.com

Duitsland Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Fax: +49 693 085 5125
E-mail: info.de@idsplc.com

Scandinavië Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel.: +45 448 400 91
E-mail: info.nordic@idsplc.com

Brazilië IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel.: +55 113 740 6100 • Fax: + 55 113 740 6105
E-mail: info.br@idsplc.com

1. Προβλεπόμενη χρήση

Για χρήση στη διάγνωση *in vitro*

Η μέθοδος IDS-iSYS1,25 VitD^{xp} είναι μια συσκευή για διάγνωση *in vitro* που προορίζεται για τον ποσοτικό προσδιορισμό της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D [1,25(OH)₂D] σε ανθρώπινο ορό με το IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Τα αποτελέσματα χρησιμοποιούνται ως βοήθημα στην εκτίμηση της επάρκειας της βιταμίνης D.

Rx only.

2. Περιήληψη και επεξήγηση

Υπάρχουν δύο μορφές βιταμίνης D: η βιταμίνη D₃ και η βιταμίνη D₂. Η βιταμίνη D₃, ή χοληκαλσιφερόλη, είναι η φυσική μορφή της βιταμίνης D που παράγεται στο δέρμα μετά την έκθεση της 7-δεϋδροχοληστερόλης στην υπεριώδη ακτινοβολία του ήλιου¹. Η βιταμίνη D₂ παρασκευάζεται μέσω της ακτινοβολίας με υπεριώδη ακτινοβολία της εργοστερόλης που προέρχεται από ζυμομύκητες. Και οι δύο αυτές μορφές χρησιμοποιούνται σε συμπληρώματα βιταμίνης D. Η βιταμίνη D είναι μια βιολογικά αδρανής ένωση, αλλά εισέρχεται στην κυκλοφορία και υδροξυλιώνεται στο ήπαρ σε 25-υδροξυβιταμίνη D [25(OH)D], η οποία χρησιμοποιείται για να προσδιοριστούν τα επίπεδα της βιταμίνης D ενός ασθενούς.

Η 25D υδροξυλιώνεται περαιτέρω στους νεφρούς για να σχηματιστεί ο βιολογικά ενεργός μεταβολίτης 1,25(OH)₂D¹. Η 1,25(OH)₂D είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες ρύθμισης του μεταβολισμού του ασβεστίου και των φωσφορικών ιόντων, καθώς διεγείρει την εντερική απορρόφηση του ασβεστίου και αυξάνει την οστική απορρόφηση. Η 1,25(OH)₂D αναστέλλει επίσης την παραγωγή της παραθυρεοειδούς ορμόνης (PTH), τόσο άμεσα, μέσω της άμεσης επίδρασής της στους παραθυρεοειδείς αδένες, όσο και έμμεσα, με την αύξηση των επιπέδων ασβεστίου στον ορό. Η ίδια η παραγωγή της 1,25(OH)₂D διεγείρεται από την παραθυρεοειδή ορμόνη (PTH), με αποτέλεσμα να σχηματίζεται ένας αποτελεσματικός βρόχος ρύθμισης¹. Ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών 23 [FGF-23], που εκκρίνεται από τον οστίτη ιστό, οδηγεί σε εσωτερίκευση του συμμεταφορέα νατρίου/φωσφορικού από τα κύτταρα των νεφρών και του λεπτού εντέρου, και καταστέλλει επίσης τη σύνθεση της 1,25(OH)₂D².

Στον δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, κάποια πάθηση εκτός των παραθυρεοειδών αδένων προκαλεί διόγκωση και υπερδραστηριότητα των αδένων. Η αιτία είναι συνήθως η νεφρική ανεπάρκεια, μια πάθηση κατά την οποία ο νεφρός αδυνατεί να εκκαθαρίσει το αίμα από τον φωσφόρο που παράγεται από τον οργανισμό και αδυνατεί να παράγει αρκετή βιταμίνη D, και συγκεκριμένα 1,25(OH)₂D, τη δραστική μορφή της βιταμίνης D. Αυτή η συσσώρευση φωσφόρου οδηγεί σε χαμηλά επίπεδα ασβεστίου στο αίμα, τα οποία διεγείρουν τους παραθυρεοειδείς αδένες, με αποτέλεσμα να αυξηθεί η παραγωγή παραθυρεοειδούς ορμόνης (PTH) και να διογκωθούν οι αδένες. Καθώς εξελίσσεται η νόσος, οι παραθυρεοειδείς αδένες παύουν να αντιδρούν φυσιολογικά στο ασβέστιο και τη βιταμίνη D. Το σκεπτικό στο οποίο βασίζεται η άμεση θεραπεία με ενεργοποιημένη βιταμίνη D στη χρόνια νεφροπάθεια (ΧΝ) είναι η επιβράδυνση της εξέλιξης του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού. Κατευθυντήριες οδηγίες κλινικής πρακτικής, όπως «Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)» και «Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)», συνιστούν θεραπευτικά σχήματα ενεργοποιημένης βιταμίνης D για τους ασθενείς με ΧΝ^{3,4}.

3. Περιγραφή μεθόδου

Το kit IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} είναι ένα ολοκληρωμένο σύστημα ανάλυσης που εκτελεί ανοσοεκχύλιση της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D σε ανθρώπινο ορό και ποσοτικό προσδιορισμό των επιπέδων της 1,25(OH)₂D με το IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (σύστημα).

Στην κυβέτα 1, 218 μL από το δείγμα ασθενούς υποβάλλονται σε απολιπιδίωση και, στη συνέχεια, επωάζονται με μαγνητικά σωματίδια επικαλυμμένα με ένα ειδικό αντίσωμα έναντι της 1,25(OH)₂D. Μετά την επώαση, τα μαγνητικά σωματίδια πλένονται και η 1,25(OH)₂D στο δείγμα ασθενούς εκλούεται. Από το εκχυλισμένο δείγμα της 1,25(OH)₂D μεταφέρονται 180 μL στην κυβέτα 2, όπου πραγματοποιείται ο ανοσοπροσδιορισμός με βάση την τεχνολογία χημειοφωταύγειας.

Στην κυβέτα 2, 180 μL από τα κεκαθαμένα δείγματα επωάζονται με βιοτινυλιωμένο αντίσωμα προβάτου έναντι της 1,25(OH)₂D. Μετά το πρώτο στάδιο της επώασης, προστίθεται σύζευγμα 1,25(OH)₂D σημασμένης με ακριδίνη και ακολουθεί ένα επόμενο στάδιο επώασης. Στη συνέχεια, προστίθενται μαγνητικά σωματίδια σημασμένα με στρεπταβιδίνη, πριν πραγματοποιηθεί ένα τρίτο στάδιο επώασης. Τα μαγνητικά σωματίδια συλλαμβάνονται με τη χρήση ενός μαγνήτη και εκτελείται ένα στάδιο πλύσης για να αφαιρεθεί τυχόν μη δεσμευμένη 1,25(OH)₂D. Προστίθενται αντιδραστήρια έναρξης. Η ακτινοβολία που παράγεται και εκπέμπεται από τη σήμανση ακριδίνης είναι αντιστρόφως ανάλογη προς τη συγκέντρωση της 1,25(OH)₂D στο αρχικό δείγμα.

4. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Το IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} προορίζεται αποκλειστικά για χρήση στη διάγνωση *in vitro* και όχι για εσωτερική χρήση στον άνθρωπο ή σε ζώα. Το προϊόν αυτό πρέπει να χρησιμοποιείται αποκλειστικά και μόνο σύμφωνα με τις οδηγίες που παρέχονται στο παρόν φύλλο οδηγιών χρήσης. Η Immundiagnostic Systems Limited (IDS) δεν φέρει ευθύνη για καμία απώλεια ή ζημία (πέραν των όσων επιβάλλονται από τη νομοθεσία), όπως και εάν προκλήθηκε, η οποία προκύπτει από μη συμμόρφωση με τις παρεχόμενες οδηγίες.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Το kit αυτό περιέχει υλικό ζωικής προέλευσης. Να χειρίζεστε τα αντιδραστήρια του kit ως υλικά ικανά να μεταδώσουν λοιμογόνους παράγοντες. Πρέπει να εφαρμόζονται κατάλληλες προφυλάξεις και ορθές εργαστηριακές πρακτικές κατά τη φύλαξη, τον χειρισμό και την απόρριψη των αντιδραστηρίων του kit. Η απόρριψη των αντιδραστηρίων του kit θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς.

Υλικά ανθρώπινης προέλευσης

Το υλικό ανθρώπινης προέλευσης που χρησιμοποιείται για την προετοιμασία αυτού του προϊόντος δοκιμάστηκε με τις μεθόδους που συνιστώνται από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (FDA), ως προς την παρουσία

αντισωμάτων έναντι του ιού ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV I και II), επιφανειακού αντιγόνου της ηπατίτιδας B και αντισωμάτων έναντι του ιού της ηπατίτιδας C, και βρέθηκε αρνητικό. Δεδομένου ότι καμία εξέταση δεν εξασφαλίζει με απόλυτη βεβαιότητα την απουσία λοιμογόνων παραγόντων, ο χειρισμός των αντιδραστηρίων θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με το επίπεδο βιολογικής ασφάλειας 2.

Αντιδραστήρια που περιέχουν αζίδιο του νατρίου

Ορισμένα αντιδραστήρια αυτού του κιτ περιέχουν αζίδιο του νατρίου (NaN_3) <0,1% (κ.β.) το οποίο μπορεί να αντιδράσει με σωληνώσεις από μολύβδο, χαλκό ή ορείχαλκο και να σχηματίσει ισχυρά εκρηκτικά αζίδια μετάλλων. Κατά την απόρριψη, εκπλύνετε με μεγάλη ποσότητα νερού για να αποφευχθεί η συσσώρευση αζιδίων.

Classification under CLP:

Acute Tox 4

STOT SE 1

Eye Irrit. 2

Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.

H315: Causes skin irritation.

H319: Causes serious eye irritation.

H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.

P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.

P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.

P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Προφυλάξεις κατά τον χειρισμό

Με εξαίρεση τους βαθμονομητές, που είναι λυοφιλοπονημένοι, τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το κιτ είναι έτοιμα για χρήση. Για τη μέθοδο ανασύστασης, ανατρέξτε στην ενότητα της διαδικασίας που αφορά στους βαθμονομητές.

Προτού φορτωθεί μια νέα φύσιγγα στο σύστημα, ο περιέκτης μαγνητικών σωματιδίων χρειάζεται να αναμειχθεί από τον χειριστή με μια γρήγορη περιστροφική κίνηση. Με τον τρόπο αυτόν θα επανεναιωρηθούν τα μαγνητικά σωματίδια που έχουν κατακαθίσει κατά την αποστολή. Πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να αποφεύγεται ο σχηματισμός αφρού στη φύσιγγα αντιδραστηρίων.

Διάρκεια ζωής και φύλαξη των αντιδραστηρίων

Φυλάσσετε τη φύσιγγα και τους βαθμονομητές σε **όρθια** θέση, σε σκοτεινό μέρος και σε θερμοκρασία 2–8 °C.

Μην καταψύχετε τη φύσιγγα ή τους βαθμονομητές.

Διάρκεια ζωής αντιδραστηρίων	Φύσιγγα Immunoextraction	Φύσιγγα Immunoassay	Βαθμονομητές
Πριν το άνοιγμα, στους 2–8 °C	Μέχρι την ημερομηνία λήξης		
Φύσιγγα, μετά το άνοιγμα, στους 2–8 °C	Δ/Δ	56. ημερών	Δ/Δ
Βαθμονομητές, μετά την ανασύσταση, στους 2–8 °C	Δ/Δ	Δ/Δ	6. ωρών
Επί του συστήματος *	28. ημερών	49. ημερών	3. ωρών

* Συνεχής σταθερότητα κατά την παραμονή επί του συστήματος

6. Συλλογή και φύλαξη δείγματος

Η ανάλυση θα πρέπει να εκτελείται με χρήση δειγμάτων ορού (κοινά σωληνάρια δειγματοληψίας ή σωληνάρια με γέλη διαχωρισμού του ορού).

- Τα δείγματα θα πρέπει να διαχωρίζονται όσο το δυνατόν συντομότερα μετά τη συλλογή.
- Μετά τον διαχωρισμό, τα δείγματα μπορούν να φυλαχθούν για έως 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) ή έως 7 ημέρες στους 2–8 °C. Εάν χρειάζεται να μεσολαβήσει μεγαλύτερο διάστημα ανάμεσα στον διαχωρισμό και την ανάλυση, τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία –20 °C.
- Τα δείγματα μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία –20 °C για έως 2,5 μήνες. Έπειτα θα πρέπει να φυλάσσονται στους –80 °C.
- Τα δείγματα μπορούν να υποβληθούν σε έως 2 κύκλους κατάψυξης/απόψυξης και θα πρέπει να αποψυχθούν πλήρως και να αναμειχθούν καλά, προτού φορτωθούν στο όργανο.
- Τα δείγματα είναι σταθερά επί του αναλυτή για έως 3 ώρες.

Σημείωση:

- Τα δείγματα που περιέχουν σωματιδιακή ύλη πρέπει να φυγοκεντρώνται πριν την εκτέλεση της ανάλυσης. Μην χρησιμοποιείτε δείγματα που έχουν αδρανοποιηθεί με θερμότητα.
- Για την ελαχιστοποίηση πιθανών φαινομένων εξάτμισης, τα δείγματα, οι βαθμονομητές και οι μάρτυρες θα πρέπει να μετρώνται εντός 3 ωρών από την τοποθέτησή τους στο σύστημα.
- Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ακολουθεί τις κατευθυντήριες οδηγίες ή τις απαιτήσεις των τοπικών, εθνικών ή/και διεθνών κανονισμών ή των οργανισμών πιστοποίησης, προκειμένου να εξακριβώσει τη σταθερότητα χειρισμού και φύλαξης των δειγμάτων του. Για οδηγίες σχετικά με τις ορθές πρακτικές, ανατρέξτε στο έγγραφο CLSI GP44-A4, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests.
- Πριν από την εκτέλεση αναλύσεων, να βεβαιώνετε ότι τα δείγματα, οι βαθμονομητές και οι μάρτυρες βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C).

- Ορισμένα σωληνάρια δειγματοληψίας του εμπορίου ενδέχεται να επηρεάσουν τα αποτελέσματα της εξέτασης σε συγκεκριμένες περιπτώσεις.
- Συνιστάται η τήρηση των οδηγιών του κατασκευαστή των σωληναρίων, ιδίως κατά την επεξεργασία δειγμάτων στα κύρια σωληνάρια.
- Τα δείγματα που έχουν φυγοκεντρηθεί και φέρουν ένα στρώμα λιπιδίων στην επιφάνειά τους πρέπει να μεταφέρονται σε υποδοχέα δείγματος ή δευτερεύον σωληνάριο. Φροντίστε να μεταφέρετε μόνο τα διαυγασμένα δείγματα χωρίς το λιπαιμικό υλικό.
- Τα δείγματα ΠΡΕΠΕΙ να εξισορροπηθούν σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) προτού φορτωθούν στο σύστημα, προκειμένου να βελτιστοποιηθεί το στάδιο της απολιπιδίωσης.

7. Υλικά

Παρεχόμενα υλικά

Φύσιγγα Immunoextraction, 2 φύσιγγες των 50 αναλύσεων

MPA1	Μαγνητικά σωματίδια επικαλυμμένα με μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της 1,25(OH) ₂ D, 1 φιαλίδιο, 2,8 mL.
DEL	Αντιδραστήριο απολιπιδίωσης: διάλυμα θειικής δεξτράνης και χλωριούχου μαγνησίου, 1 φιαλίδιο, 2,6 mL.
DIS	Αντιδραστήριο εκτόπισης: κατοχυρωμένο αντιδραστήριο για τη διάσταση της 1,25(OH) ₂ D από τις πρωτεΐνες δέσμευσης με αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό (<0,1%), 1 φιαλίδιο, 18,7 mL.
ELU	Αντιδραστήριο έκλουσης: διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου, 1 φιαλίδιο, 13,0 mL.
NET	Αντιδραστήριο εξουδετέρωσης: διάλυμα κιτρικού οξέος, 1 φιαλίδιο, 3,4 mL.
BUF	Ρυθμιστικό διάλυμα ανάλυσης: ρυθμιστικό διάλυμα MOPS που περιέχει λευκωματίνη βόειου ορού, 1 φιαλίδιο, 9 mL ανά φιαλίδιο.

Φύσιγγα Immunoassay, 1 φύσιγγα των 100 αναλύσεων

MPS3	Μαγνητικά σωματίδια επικαλυμμένα με στρεπταβιδίνη σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει λευκωματίνη βόειου ορού με αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό (<0,1%), 1 φιαλίδιο, 2,6 mL.
CONJ	Σύζευγμα: 1,25(OH) ₂ D σημασμένη με εστερικό παράγωγο ακριδίνης, σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει λευκωματίνη βόειου ορού με αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό (<0,1%), 1 φιαλίδιο, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Αντίσωμα-βιοτίνη: πολυκλωνικό αντίσωμα αντι-1,25(OH) ₂ D σημασμένο με βιοτίνη, σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει πρωτεΐνες προβάτου και αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό (<0,1%), 1 φιαλίδιο, 13 mL.
BUFD	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης: 1% κατοχυρωμένο απορρυπαντικό σε PBS με αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό (<0,1%), 1 φιαλίδιο, 35 mL ανά φιαλίδιο.

Βαθμονομητές

CAL A	Λυοφιλοποιημένο ρυθμιστικό διάλυμα MOPS που περιέχει λευκωματίνη βόειου ορού, 1,25(OH) ₂ D με αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό (<1,0%), 3 φιαλίδια για καθένα από 2 επίπεδα συγκέντρωσης, 1,2 mL ανά φιάλη.
CAL B	

Mini CD

Περιέχει τις οδηγίες χρήσης για τα αντιδραστήρια IDS-iSYS, τα αρχεία CRY και το πιστοποιητικό ανάλυσης.

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

Σύστημα

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Προαιρετικός εξοπλισμός/υλικά

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
Μικροσωληνάρια πολυπροπυλενίου μίας χρήσης των 2 mL, διαμέτρου 10,8 mm, με περιζωμένο πυθμένα και βιδωτό πώμα και με βιδωτό πώμα και στεγανωτικό δακτύλιο (Sarstedt 72.609 και 65.716 ή αντίστοιχα)	
Συσκευές μεταφοράς με πιπέτα ακριβείας	

8. Διαδικασία ανάλυσης

Φύσιγγα αντιδραστηρίων Immunoextraction

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται με τη φύσιγγα είναι έτοιμα για χρήση. Προτού φορτωθεί μια νέα φύσιγγα επί του συστήματος, τα μαγνητικά σωματίδια στον περιέκτη πρέπει να επανεναιωρηθούν πλήρως. Μπορείτε να προετοιμάσετε τα μαγνητικά σωματίδια με μία από τις παρακάτω επιλογές, αποφεύγοντας τον σχηματισμό αφρού:

Χειροκίνητα:

- Αναμείξτε το φιαλίδιο των μαγνητικών σωματιδίων με παλινδρομικές κινήσεις ανάμεσα στις παλάμες των χεριών σας, μέχρις ότου το χρώμα των εναιωρημένων σωματιδίων γίνει καφέ.
- Αναστρέψτε απαλά και προσεκτικά το φιαλίδιο των μαγνητικών σωματιδίων, μέχρις ότου επανεναιωρηθούν όλα τα μαγνητικά σωματίδια που έχουν κατακαθίσει στον πυθμένα του φιαλιδίου.

- Εξετάστε οπτικά τον πυθμένα του φιαλιδίου μαγνητικών σωματιδίων για να βεβαιωθείτε ότι όλα τα μαγνητικά σωματίδια που είχαν κατακαθίσει έχουν τώρα διασπαρεί πλήρως.
- Αναστρέψτε το φιαλίδιο όσες φορές χρειάζεται, μέχρι να επανεναιωρηθούν πλήρως τα μαγνητικά σωματίδια.
- Βεβαιωθείτε ότι δεν έχει σχηματιστεί αφρός στα αντιδραστήρια της φύσιγγας.

Με αναδευτήρα αναστροφής δοκιμαστικών σωληναρίων/σωληναρίων αίματος:

- Αφαιρέστε απαλά και προσεκτικά το φιαλίδιο των σωματιδίων από το πλαστικό κλιπ.
- Τοποθετήστε το φιαλίδιο σωματιδίων στο στήριγμα δοκιμαστικών σωληναρίων/σωληναρίων αίματος.
- Περιστρέψτε το φιαλίδιο με ταχύτητα 10-20 περιστροφών ανά λεπτό για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C).
- Εξετάστε οπτικά τον πυθμένα του φιαλιδίου μαγνητικών σωματιδίων για να βεβαιωθείτε ότι όλα τα μαγνητικά σωματίδια που είχαν κατακαθίσει έχουν τώρα διασπαρεί πλήρως.
- Αναστρέψτε το φιαλίδιο όσες φορές χρειάζεται, μέχρι να επανεναιωρηθούν πλήρως τα μαγνητικά σωματίδια.
- Βεβαιωθείτε ότι δεν έχει σχηματιστεί αφρός στα αντιδραστήρια της φύσιγγας.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη IDS-iSYS XPrep για οδηγίες χρήσης.

Ο γραμμωτός κωδικός διαβάζεται όταν η φύσιγγα φορτώνεται στον δίσκο αντιδραστηρίων. Εάν δεν είναι δυνατή η ανάγνωση της ετικέτας από τη συσκευή ανάγνωσης γραμμωτών κωδικών του συστήματος, μπορείτε να ακολουθήσετε μια χειροκίνητη διαδικασία για να εισαγάγετε τα στοιχεία του γραμμωτού κωδικού (βλ. εγχειρίδιο χρήσης του IDS-iSYS). Αφού η φύσιγγα τοποθετηθεί στον δίσκο αντιδραστηρίων, το σύστημα εκτελεί αυτομάτως την ανάμειξη των μαγνητικών σωματιδίων για να διατηρηθεί η ομοιογενής κατανομή τους.

Μην πραγματοποιείτε ανίχνευση στάθμης της φύσιγγας στη φύσιγγα IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoextraction, καθώς αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα η φύσιγγα να δώσει λιγότερες από 50 αναλύσεις.

Η φύσιγγα θα πρέπει να φορτωθεί στον δίσκο αντιδραστηρίων τουλάχιστον 60 λεπτά πριν την έναρξη της ανάλυσης. Αφήστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων ανοσοεξχύλισης επί του συστήματος μέχρι την πλήρη εξάντληση της φύσιγγας.

Φύσιγγα αντιδραστηρίων Immunoassay

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται με τη φύσιγγα είναι έτοιμα για χρήση. Προτού φορτωθεί μια νέα φύσιγγα επί του συστήματος, αναμείξτε τον περιέκτη μαγνητικών σωματιδίων με μια γρήγορη περιστροφική κίνηση ανάμεσα στις παλάμες των χεριών σας. Αποφύγετε τον σχηματισμό αφρού.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήστη IDS-iSYS XPrep για οδηγίες χρήσης.

Ο γραμμωτός κωδικός διαβάζεται όταν η φύσιγγα φορτώνεται στον δίσκο αντιδραστηρίων. Εάν δεν είναι δυνατή η ανάγνωση της ετικέτας από τη συσκευή ανάγνωσης γραμμωτών κωδικών του συστήματος, μπορείτε να ακολουθήσετε μια χειροκίνητη διαδικασία για να εισαγάγετε τα στοιχεία του γραμμωτού κωδικού (βλ. εγχειρίδιο χρήσης του IDS-iSYS). Αφού η φύσιγγα τοποθετηθεί στον δίσκο αντιδραστηρίων, το σύστημα εκτελεί αυτομάτως την ανάμειξη των μαγνητικών σωματιδίων για να διατηρηθεί η ομοιογενής κατανομή τους.

Μην πραγματοποιείτε ανίχνευση στάθμης της φύσιγγας στη φύσιγγα IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoassay, καθώς αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα η φύσιγγα να δώσει λιγότερες από 100 αναλύσεις.

Η φύσιγγα θα πρέπει να φορτωθεί στον δίσκο αντιδραστηρίων τουλάχιστον 40 λεπτά πριν την έναρξη της ανάλυσης. Εάν αφαιρέσετε τη φύσιγγα από τον δίσκο αντιδραστηρίων, φυλάξτε την σε όρθια θέση, σε σκοτεινό μέρος και σε θερμοκρασία 2–8 °C.

Βαθμονομητές

Η μέθοδος IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} έχει τυποποιηθεί έναντι εσωτερικών προτύπων αναφοράς σε ευθυγράμμιση με την επικυρωμένη μέθοδο LC-MS/MS για την 1,25-διυδροξυβιταμίνη D.

Οι βαθμονομητές IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} είναι λυοφιλοποιημένοι. Προετοιμάστε τους βαθμονομητές ακολουθώντας την παρακάτω διαδικασία:

- Βεβαιωθείτε ότι οι βαθμονομητές έχουν εξισορροπηθεί σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C).
- Ακριβώς πριν από τη χρήση, προσθέστε 1,2 mL απεσταγμένου ή απιονισμένου νερού σε κάθε φιαλίδιο.
- Τοποθετήστε ξανά το πώμα. Αφήστε τα φιαλίδια σε ηρεμία για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C).
- Περιδινήστε για 2–3 δευτερόλεπτα. Αναστρέψτε προσεκτικά για να εξασφαλίσετε πλήρη ανασύσταση.
- Για βαθμονόμηση εις τριπλούν, μεταφέρετε περίπου 750 μL βαθμονομητών (180 μL ανά επανάληψη) σε μικροσωληνήρια πολυπροπυλενίου 2 mL με κωνική βάση με πλαίσιο και βιδωτό πώμα, τοποθετήστε τα στο σύστημα εντός 15 λεπτών από την ανασύσταση και μετρήστε εντός 3 ωρών. Οι βαθμονομητές δεν υποβάλλονται στη διαδικασία απομόνωσης.
- Αποφύγετε τον σχηματισμό αφρού σε κάθε βήμα.
- Ακολουθήστε τις οδηγίες που περιέχονται στο εγχειρίδιο χρήσης του IDS-iSYS.

Συχνότητα βαθμονόμησης

Νέα βαθμονόμηση χρειάζεται:

- Μετά τη φόρτωση κάθε νέας παρτίδας φυσιγγων.
- Όταν οι τιμές των μαρτύρων δεν εμπίπτουν στο καθορισμένο εύρος.
- Όταν παρέλθει το διάστημα βαθμονόμησης των 21 ημερών.
- Μετά από εργασίες σέρβις στο σύστημα.

Η επαλήθευση της βαθμονόμησης γίνεται αυτόματα, υπό τον έλεγχο του συστήματος.

Βαθμονόμηση συστήματος

Για να πραγματοποιηθεί η προσαρμογή της πρότυπης καμπύλης χρειάζονται οι δύο βαθμονομητές IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}. Οι βαθμονομητές παρέχονται μαζί με το κιτ και δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται βαθμονομητές από άλλη παρτίδα. Όλα τα επίπεδα του IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set (IS-2030) ΠΡΕΠΕΙ να μετρώνται ταυτόχρονα με τους βαθμονομητές, προκειμένου να επικυρωθεί η προσαρμογή της πρότυπης καμπύλης.

Όλα τα δεδομένα που απαιτούνται για τη βαθμονόμηση της φύσιγγας μπορούν να βρεθούν στο mini CD. Χρησιμοποιήστε τα επίπεδα βαθμονομητών A και B για να προσαρμόσετε την πρότυπη καμπύλη στα αντιδραστήρια που βρίσκονται επί του συστήματος. Βεβαιωθείτε ότι στον δίσκο αντιδραστηρίων υπάρχουν μια φύσιγγα IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoextraction και μια φύσιγγα Immunoassay και ότι η πρότυπη καμπύλη της φύσιγγας είναι διαθέσιμη στη βάση δεδομένων. Εάν τα δεδομένα για την παρτίδα των βαθμονομητών δεν είναι διαθέσιμα επί του συστήματος, φορτώστε τα χρησιμοποιώντας το mini CD που παρέχεται με το κιτ αντιδραστηρίων.

Ξεκινήστε τη βαθμονόμηση του ανοσοπροσδιορισμού στο σύστημα, σύμφωνα με το εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος. Η βαθμονόμηση διεξάγεται με τη χρήση 3 επαναλήψεις από κάθε επίπεδο. Μπορεί να αφαιρεθεί μια επανάληψη για την τήρηση των απαιτήσεων βαθμονόμησης. Όλα τα επίπεδα μαρτύρων πρέπει επίσης να μετρηθούν εις διπλούν για τη βαθμονόμηση της ανάλυσης. Επαληθεύστε και εγκρίνετε τη βαθμονόμηση σύμφωνα με την κατάσταση βαθμονόμησης που εμφανίζεται στο παράθυρο βαθμονόμησης και απορρίψτε την ποσότητα βαθμονομητών και μαρτύρων που απομένει στον δίσκο δειγμάτων μετά τη χρήση.

9. Έλεγχος ποιότητας

Χρησιμοποιήστε το σετ μαρτύρων IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set για τον έλεγχο ποιότητας. Για να διασφαλιστεί η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων, θα πρέπει να μετρηθούν τουλάχιστον δύο μάρτυρες με διαφορετικά επίπεδα 1,25(OH)₂D. Εκτός του IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλα κατάλληλα υλικά ελέγχου. Οι μάρτυρες θα πρέπει να εξετάζονται κατά την έναρξη (ή κοντά στην έναρξη) κάθε ανάλυσης που περιέχει δείγματα ασθενούς, καθώς επίσης και στη διάρκεια κάθε βαθμονόμησης, σύμφωνα τους τοπικούς, εθνικούς ή/και διεθνείς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις πιστοποίησης και τη διαδικασία διασφάλισης ποιότητας του εργαστηρίου σας. Για οδηγίες προετοιμασίας και χειρισμού, ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set.

Προσδιορισμός των επιπέδων της 1,25 διυδροξυβιταμίνης D (1,25(OH)₂D) σε ένα δείγμα

Επεξεργαστείτε τα δείγματα σύμφωνα με το εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος IDS-iSYS.

10. Υπολογισμός αποτελεσμάτων

Η συγκέντρωση της 1,25(OH)₂D σε κάθε δείγμα υπολογίζεται αυτόματα. Οι συγκεντρώσεις προβάλλονται (στην οθόνη ή στην εκτύπωση) εφόσον ζητηθεί από τον χρήστη.

Η μέθοδος IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} χρησιμοποιεί λογιστική προσαρμογή καμπύλης 4 παραμέτρων (4PL) για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων της 1,25(OH)₂D.

Για να μετατρέψετε τα αποτελέσματα σε μονάδες SI: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Μετρήσιμο εύρος (αναφερόμενο εύρος)

Το αναφερόμενο εύρος της μεθόδου είναι 7,5–150 pg/mL (18–360 pmol/L). Κάθε τιμή κάτω από τα 7,5 pg/mL (18 pmol/L) θα πρέπει να αναφέρεται ως «<7,5 pg/mL» («<18 pmol/L»).

12. Αραίωση

Δείγματα με συγκεντρώσεις της 1,25(OH)₂D πάνω από το αναφερόμενο εύρος θα πρέπει να αραιώνονται μη αυτόματα με το αραιωτικό IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) σε αναλογία 1 προς 2. Για τα αραιωμένα δείγματα, τα αποτελέσματα πρέπει να πολλαπλασιάζονται επί τον παράγοντα αραίωσης x2.

13. Περιορισμοί χρήσης

- Όπως και για κάθε διαγνωστική διαδικασία, τα αποτελέσματα θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα του ασθενούς και τις άλλες πληροφορίες που διαθέτει ο ιατρός.
- Τα χαρακτηριστικά απόδοσης της μεθόδου αυτής σε παιδιατρικούς πληθυσμούς δεν έχουν εξακριβωθεί.
- Τα ετερόφιλα αντισώματα στον ανθρώπινο ορό μπορούν να αντιδράσουν με ανοσοσφαιρίνες των αντιδραστηρίων, προκαλώντας παρεμβολή σε ανοσοπροσδιορισμούς *in vitro*⁵. Οι ασθενείς που εκτίθενται τακτικά σε ζώα ή σε προϊόντα ζωικού ορού μπορεί να είναι επιρρεπείς σε αυτή την παρεμβολή, και ενδέχεται να παρατηρηθούν μη φυσιολογικές τιμές.

- Οι παρακάτω ουσίες δεν επηρεάζουν τη μέθοδο IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} όταν οι συγκεντρώσεις που αναφέρονται στον πίνακα που ακολουθεί είναι χαμηλότερες από το δηλωμένο όριο.

Δυνητικά αλληλεπιδρών παράγοντας	Οριακή συγκέντρωση
Λευκωματίνη	7,5 g/dL
Χολερυθρίνη, συζευγμένη	40 mg/dL
Χολερυθρίνη, ασύζευκτη	40 mg/dL
Βιοτίνη	0,1 mg/dL
Χοληστερόλη, ολική	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Αιμοσφαιρίνη	500 mg/dL
Ρευματοειδής παράγοντας	7000 IU/mL
Τριγλυκερίδια	3000 mg/dL
Ακεταμινοφαίνη	9 mg/dL
Ιβουπροφαίνη	50 mg/dL
Καρβαμαζεπίνη	127 μmol/L
Φαινυτοΐνη	198 μmol/L
Ακετυλοσαλικυλικό οξύ	65 mg/dL
Σαλικυλικό οξύ	60 mg/dL

14. Αναμενόμενες τιμές

Τα παρακάτω εύρη προσδιορίστηκαν με χρήση της μεθόδου IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} και παρέχονται αποκλειστικά για σκοπούς πληροφόρησης.

Δείγματα από 121 φαινομενικά υγιή ενήλικα άτομα, άνδρες και γυναίκες, ηλικίας 19–69 ετών, μεικτής εθνοτικής προέλευσης (34% με σκουρόχρωμη επιδερμίδα και 66% με ανοιχτόχρωμη επιδερμίδα) αναλύθηκαν με τη μέθοδο IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Η συλλογή των δειγμάτων έγινε στη διάρκεια του χειμώνα (36%) και του καλοκαιριού (64%) από άτομα με φυσιολογικά επίπεδα ακέραιας PTH, ασβεστίου, φωσφορικών και TSH, από τις βόρειες και τις νότιες περιοχές των Ηνωμένων Πολιτειών. Το διάστημα εμπιστοσύνης 95% για φαινομενικά υγιείς ενήλικους υπολογίστηκε με μια μη παραμετρική μέθοδο, σύμφωνα με το έγγραφο CLSI C28-A3 Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory.

Ληφθέν φυσιολογικό εύρος ενηλίκων: 15,2 έως 90,1 pg/mL (36,5 έως 216,2 pmol/L)

15. Δεδομένα απόδοσης

Παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικά δεδομένα απόδοσης. Τα αποτελέσματα που λαμβάνονται σε κάθε μεμονωμένο εργαστήριο ενδέχεται να διαφέρουν.

15.1 Ευαισθησία

Το όριο τυφλού (LoB), το όριο ανίχνευσης (LoD) και το όριο ποσοτικού προσδιορισμού (LoQ) καθορίστηκαν με βάση τις οδηγίες στο έγγραφο CLSI EP17-A, Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation.

Ευαισθησία	Συγκέντρωση της 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (όριο τυφλού)	2,5	6,0
LoD (όριο ανίχνευσης)	4,2	10,1
LoQ (όριο ποσοτικού προσδιορισμού)	7,5	18,0

15.2 Ακρίβεια

Η ακρίβεια αξιολογήθηκε σύμφωνα με ένα τροποποιημένο πρωτόκολλο βασισμένο στο έγγραφο CLSI EP-5A2, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods. Συνολικά 6 δείγματα αναλύθηκαν εις διπλούν, δύο φορές την ημέρα επί 7 ημέρες με χρήση μία παρτίδα αντιδραστηρίων σε ένα σύστημα, μία παρτίδα ανά σύστημα

Δείγμα	n	Μέση τιμή		Επαναληψιμότητα			Σύνολο		
		pg/mL	pmol/L	SD		CV%	SD		CV%
				pg/mL	pmol/L		pg/mL	pmol/L	
Ορός 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Ορός 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Ορός 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Ορός 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Έλεγχος 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Έλεγχος 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα αξιολογήθηκε με βάση το έγγραφο CLSI EP-6A, Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures. Τα δείγματα παρασκευάστηκαν με αραιώση ενός δειγματος α υψηλής συγκέντρωσης με ένα δείγμα ασθενούς χαμηλής συγκέντρωσης πριν από την ανάλυση. Η εξίσωση γραμμικής παλινδρόμησης για την παρατηρούμενη έναντι της αναμενόμενης συγκέντρωσης (αναμενόμενη = κλίση x παρατηρούμενη ± τέμνουσα) είναι:

Κλίση	Τέμνουσα		Συντελεστής παλινδρόμησης (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Σύγκριση μεθόδων

Η μέθοδος IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} συγκρίθηκε με τη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D IDS-iSYS που διατίθεται στο εμπόριο, σύμφωνα με το έγγραφο CLSI EP-9A2, Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Συνολικά 105 δείγματα, επιλεγμένα έτσι ώστε να αντιπροσωπεύουν ένα ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων 1,25(OH)₂D [11,4–150 pg/mL (27,4–360 pmol/L)], αναλύθηκαν με καθεμία από τις μεθόδους. Τα συγκριτικά δεδομένα αναλύθηκαν με χρήση παλινδρόμησης Passing-Bablok:

n	Κλίση	Τέμνουσα		Συντελεστής συσχέτισης (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Ειδικότητα

Οι παρακάτω εξωγενούς προέλευσης μεταβολίτες συνθετικής βιταμίνης D ή οι φαρμακευτικές ενώσεις βιταμίνης D προστέθηκαν σε δείγματα ορού και μετρήθηκαν με τη μέθοδο IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}.

Αναλύομενη ουσία	Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-επίμερο 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Χρησιμοποιούμενα σύμβολα



Αριθμός καταλόγου



Συσκευή για διάγνωση *in vitro*



Κατασκευαστής



Εφαρμόζεται σύμφωνα με την οδηγία 98/79/EC

Rx Only

Προσοχή: Η ομοσπονδιακή νομοθεσία των ΗΠΑ επιτρέπει την πώληση αυτού του προϊόντος αποκλειστικά από επαγγελματίες υγείας ή κατόπιν εντολής επαγγελματία υγείας.

17. Βιβλιογραφία

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

 Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Τηλ.: +44 191 519 0660 • Φαξ: +44 191 519 0760
Email: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

ΗΠΑ Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Τηλ.: +1 877 852 6210 • Φαξ: +1 301 990 4236
Email: info.us@idsplc.com

Γαλλία Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Τηλ.: +33 140 770 450 • Φαξ: +33 140 770 455
Email: info.fr@idsplc.com

Βέλγιο Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Τηλ.: +32 425 226 36 • Φαξ: +32 425 251 96
Email: info.be@idsplc.com

Γερμανία Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH), Mainzer
Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Τηλ.: +49 693 085 5025 • Φαξ: +49 693 085 5125
Email: info.de@idsplc.com

Σκανδιναβία Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS), Nordic a/s
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Τηλ.: +45 448 400 91
Email: info.nordic@idsplc.com

Βραζιλία IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Τηλ.: +55 113 740 6100 • Φαξ: + 55 113 740 6105
Email: info.br@idsplc.com

1. Bruksområde

Til *in vitro*-diagnostisk bruk

IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp}-assay er en *in vitro* diagnostisk enhet beregnet for kvantitativ bestemmelse av 1,25-dihydroksyvitamin D [1,25(OH)₂D] i humant serum på IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Resultatene skal brukes som et hjelpemiddel i vurderingen av vitamin D-suffisiens.

Rx only.

2. Sammendrag og forklaring

Det finnes to former for vitamin D: vitamin D₃ og vitamin D₂. Vitamin D₃, kolekalsiferol, er naturlig forekommende vitamin D som produseres i huden etter eksponering av 7-dehydrokolesterol for solens ultrafiolette stråling¹. Vitamin D₂ fremstilles gjennom ultrafiolett bestråling av ergosterol fra gjær. Begge brukes i vitamin D-tilskudd. Vitamin D-forbindelsen er biologisk inaktiv, men kommer inn i kretsløpet og hydroksyleres i leveren til 25-hydroksyvitamin D [25(OH)D], som blir brukt til å bestemme en pasients vitamin D-status.

I nyren hydroksyleres 25(OH)D ytterligere for å produsere den biologisk aktive metabolitten 1,25(OH)₂D¹. 1,25(OH)₂D er en av de store regulatorene av kalsium- og fosfatmetabolisme og stimulerer intestinal kalsiumabsorpsjon og øker benresorpsjonen. 1,25(OH)₂D hemmer også produksjon av paratyreoideahormon (PTH), både ved å virke direkte på biskjoldkjertlene og indirekte ved å øke serumkalsiumnivået. Produksjonen av 1,25(OH)₂D blir i seg selv stimulert av paratyreoideahormon (PTH) og skaper dermed en effektiv kontrollsløyfe¹. Fibroblastvekstfaktor 23 [FGF-23], som utskilles fra ben, bevirker at sodiumfosfat-kotransporteren internaliseres av celler i nyrene og tynntarm, og demper samtidig 1,25(OH)₂D-syntesen².

Sekundær hyperparatyroidisme, en sykdom utenfor biskjoldkjertlene, fører til at biskjoldkjertlene forstørres og blir hyperaktive. Dette forårsakes vanligvis av nyresvikt, et problem hvor nyren ikke er i stand til å rense blodet for fosfor som produseres av kroppen og ikke i stand til å produsere nok vitamin D, spesielt 1,25(OH)₂D – den aktive formen for vitamin D. Oppbyggingen av fosfor fører til lave nivåer av kalsium i blodet, noe som stimulerer biskjoldkjertlene til å øke produksjonen av paratyreoideahormon (PTH), noe som fører til forstørrelse av kjertlene. Etter hvert som sykdommen utvikler seg, responderer ikke lenger biskjoldkjertlene normalt på kalsium og vitamin D. Begrunnelsen for direkte aktivert D-vitaminbehandling ved kronisk nyreinsuffisiens er å bremse utviklingen av sekundær hyperparatyroidisme. Kliniske retningslinjer som «Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)» og «Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)» anbefaler behandlingsregimer med aktivert vitamin D for pasienter med kronisk nyreinsuffisiens^{3,4}.

3. Metodebeskrivelse

IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp}-settet er et komplett testsystem som involverer immunoekstraksjon av 1,25-dihydroksyvitamin D i humant serum og kvantitativ bestemmelse av 1,25(OH)₂D-nivåer på IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (systemet).

I kyvette 1 delipideres 218 µL pasientprøve, deretter inkuberes den med spesifikke anti-1,25(OH)₂D-antistoffbelagte magnetiske partikler. Etter inkubering vaskes de magnetiske partikler og 1,25(OH)₂D i pasientprøven elueres. 180 µL av den ekstraherte 1,25(OH)₂D-prøven overføres til kyvette 2, hvor immunoassayet finner sted, basert på kjemiluminescensteknologi.

I kyvette 2 inkuberes 180 µL rensede prøver med biotinyleret saue-anti-1,25(OH)₂D-antistoff. Etter det første inkuberingstrinnet tilsettes et akridiniummerket 1,25(OH)₂D-konjugat, etterfulgt av et inkubasjonstrinn. Strepavidinmerkede magnetiske partikler blir deretter tilsatt før et tredje inkuberingstrinn. De magnetiske partiklene blir fanget ved hjelp av en magnet, og det utføres et vasketrinn for å fjerne eventuelt ubundet 1,25(OH)₂D. Triggerreagenser tilsettes, det resulterende lyset som utsendes av akridiniummerket er omvendt proporsjonalt med konsentrasjonen av 1,25(OH)₂D i den opprinnelige prøven.

4. Advarsler og forholdsregler

IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} er kun beregnet for *in vitro* diagnostisk bruk og er ikke til innvortes bruk hos mennesker eller dyr. Dette produktet må brukes i strengt samsvar med instruksjonene som er angitt i denne bruksanvisningen. Immunodiagnostik Systems Limited (IDS) skal ikke holdes ansvarlig for eventuelle tap eller skader (unntatt det som kreves i medhold av lov), uansett årsak, som følge av manglende overholdelse av instruksjonene.

FORSIKTIG: Dette settet inneholder et materiale av animalsk opprinnelse. Håndter settreagensene som om de kan overføre smittestoff. Passende forholdsregler og god laboratoriepraksis må følges ved oppbevaring, håndtering og avhending av settreagensene. Avhending av settreagensene skal skje i samsvar med lokale forskrifter.

Humant materiale

Humant materiale anvendt i klargjøring av dette produktet er testet av FDA- anbefalte assayer for påvisning av antistoff mot human immunsviktvirus (HIV I og II), hepatitt B-overflateantigen, antistoff mot hepatitt C, og funnet å være negative. Ettersom ingen test kan garantere fullstendig fravær av smittestoffer, skal reagenser behandles i henhold til biosikkerhetsnivå 2.

Reagenser som inneholder natriumazid

Noen reagenser i dette settet inneholder natriumazid (NaN₃) < 0,1 % (vekt-%), som kan reagere med bly-, kobber- eller messingrør og danne svært eksplosive metallazider. Ved avhending må det skylles med rikelig med vann for å forhindre azidakkumulering.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Forholdsregler for håndtering

Bortsett fra kalibratorene, som er frysetørret, er reagenser som følger med settet, klare til bruk. Se Kalibrator-avsnittet av prosedyren for rekonstitueringsmetodikk.

Før en ny kassett lastes i systemet må beholderen med magnetiske partikler blandes av operatøren med en rask rotasjonsbevegelse. Dermed resuspenderes de magnetiske partiklene som er bunnfelt under transport. Forsiktighet må utvises for å unngå skumdannelse i reagenskassetten.

Holdbarhet og oppbevaring for reagenser

Oppbevar kassetten og kalibratorene i en **oppreist** stilling i mørke ved 2 til 8 °C. **Ikke frys** kassetten eller kalibratorene.

Reagensenes holdbarhet	Immunoextractionkassett	Immunoassaykassett	Kalibratører
Før åpning ved 2–8 °C	Til utløpsdato		
Kassett, etter åpning ved 2–8 °C	Ikke aktuelt	56 dager	Ikke aktuelt
Kalibratører, etter rekonstituering ved 2–8 °C	Ikke aktuelt	Ikke aktuelt	6 timer
I systemet *	28 dager	49 dager	3 timer

* Kontinuerlig stabilitet i systemet.

6. Prøveinnsamling og -oppbevaring

Assayet skal utføres ved hjelp av serumprøver (standard prøvetakingsrør eller rør som inneholder serumsepareringsgel).

- Prøvene skal separeres så snart som mulig etter innsamling.
- Etter separasjon kan prøvene oppbevares i maksimalt 24 timer ved romtemperatur (18–25 °C) eller i opptil 7 dager 2–8 °C. Hvis det kreves lengre tid mellom separasjon og testing, bør prøvene oppbevares ved -20 °C.
- Prøvene kan oppbevares ved -20 °C i opptil 2,5 måneder, etter det skal de oppbevares ved -80 °C.
- Prøver kan gjennomgå opptil 2 fryse-/opptiningssykluser, og bør være helt tint og godt blandet før de lastes i instrumentet.
- Prøvene er stabile i analysatoren i maksimalt 3 timer.

Merk:

- Prøver som inneholder partikler, må sentrifugeres før analysen utføres. Ikke bruk varmeinaktiverte prøver.
- For å minimere mulige fordampningseffekter skal prøver, kalibratører og kontroller måles innen 3 timer etter at de er plassert i systemet.
- Hvert laboratorium skal følge retningslinjene eller kravene til lokale, statlige og/eller nasjonale forskrifter eller akkrediteringsorganer for å bestemme sin egen prøvehåndterings- og lagringsstabilitet. For veiledning om aktuell praksis henvises det til CLSI GP44-A4, «Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests».
- Før det utføres assay, må prøver, kalibratører og kontroller holde romtemperatur (18–25 °C).
- Noen kommersielt tilgjengelige prøvetakingsrør kan i særlige tilfeller påvirke resultatene av testingen.
- Det anbefales å følge instruksene fra rørprodusenten, spesielt ved behandling av prøvene i primære rør.
- Sentrifugerte prøver med et lipidlag på toppen må overføres til en prøvekopp eller et sekundærrør. Vær nøye med å overføre bare klarede prøver uten lipemisk materiale.
- **Prøvene MÅ ekvilibres til romtemperatur (18–25 °C) før lasting på systemet for at det skal bli mulig å optimalisere delipideringstrinnet.**

7. Materialer

Medfølgende materiale

Immunoextraction-kassett, 2 kassetter à 50 tester

MPA1	Magnetiske partikler belagt med monoklonalt antistoff til 1,25(OH) ₂ D, 1 hetteglass, 2,8 mL.
DEL	Delipideringsreagens, en løsning av dekstransulfat og magnesiumklorid, 1 hetteglass, 2,6 mL.
DIS	Fortrengerreagens, en proprietær reagens for dissosiering av 1,25(OH) ₂ D fra bindingsproteiner med natriumazid som konserveringsmiddel (< 0,1 %), 1 hetteglass, 18,7 mL.
ELU	Elueringsreagens, en oppløsning av natriumhydroksid, 1 hetteglass, 13,0 mL.
NET	Nøytraliseringsreagens, en oppløsning av sitronsyre, 1 hetteglass, 3,4 mL.
BUF	Assaybuffer, en MOPS-buffer inneholdende bovint serumalbumin, 1 hetteglass, 9 mL per hetteglass.

Immunoassay-kassett, 1 kassett à 100 tester

MPS3	Magnetiske partikler belagt med streptavidin i en fosfatbuffer inneholdende bovint serumalbumin med natriumazid som konserveringsmiddel (< 0,1 %), 1 hetteglass, 2,6 mL.
CONJ	Konjugat, 1,25(OH) ₂ D-merket med et akridiniumesterderivat i en fosfatbuffer inneholdende bovint serumalbumin med natriumazid som konserveringsmiddel (< 0,1 %), 1 hetteglass, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Antistoff-biotin, anti-1,25(OH) ₂ D polyklonalt antistoff merket med biotin i en fosfatbuffer inneholdende saueproteiner og natriumazid som konserveringsmiddel, (< 0,1 %), 1 hetteglass, 13 mL.
BUFD	Vaskebuffer, 1 % proprietært vaskemiddel i PBS med natriumazid som konserveringsmiddel (< 0,1 %), 1 hetteglass, 35 mL per hetteglass.

Kalibratører

CAL A	Frysetørret MOPS-buffer inneholdende bovint serumalbumin, 1,25(OH) ₂ D med natriumazid som konserveringsmiddel
CAL B	(< 1,0 %), 3 av hver av 2 konsentrasjonsnivåer, 1,2 mL per flaske.

Mini-CD

Inneholder bruksanvisning for IDS-iSYS-reagenser, CRY-filer og analysesertifikat.

Påkrevd materiale som ikke medfølger

System

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Valgfritt utstyr / materialer

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
Mikrorør til engangsbruk av polypropylen, 2 mL, 10,8 mm diameter konisk sokkel med skjørt og skrukork med O-ring (Sarstedt 72.609 og 65.716 eller tilsvarende)	
Presisjonspipetteringsutstyr	

8. Assayprosedyre

Immunoextraction-reagenskassett

Reagensene som leveres i kassetten er bruksklare. Før en ny kassett lastes i systemet, må de magnetiske partiklene være fullstendig resuspendert. De magnetiske partiklene kan klargjøres ved hjelp av én av følgende alternativer, med unngåelse av skumdannelse:

Manuelt:

- Bland de magnetiske partiklene i hetteglasset kraftig mellom håndflatene i en frem-og-tilbake-bevegelse inntil fargen på de suspenderte partiklene er endret til brun.
- Snu forsiktig hetteglasset med de magnetiske partiklene opp-ned inntil alle bunnfelte magnetiske partikler nederst i hetteglasset er resuspendert.
- Kontroller visuelt bunnen av hetteglasset med de magnetiske partiklene for å kontrollere at alle bunnfelte magnetiske partikler er fullstendig dispergert.
- Gjenta snuingen etter behov inntil de magnetiske partiklene er fullstendig resuspendert.
- Sørg for at det ikke er skumdannelse i hetteglassreagensene.

Test-/blodrørrotator med opp- og ned-rotasjon:

- Fjern forsiktig og grundig partikkelhetteglasset fra plastklipsen.
- Monter partikkelhetteglasset på test-/blodholderen.
- Roter hetteglasset ved 10-20 omdreininger per minutt i 15 minutter ved romtemperatur (18–25°C).
- Kontroller visuelt bunnen av hetteglasset med de magnetiske partiklene for å kontrollere at alle bunnfelte magnetiske partikler er fullstendig dispergert.
- Gjenta snuingen etter behov inntil de magnetiske partiklene er fullstendig resuspendert.

- Sørg for at det ikke er skumdannelse i hetteglassreagensene.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Anvisninger om bruken er å finne i brukerhåndboken for IDS-iSYS XPrep.

Strekkoden avleses når kassetten er lastet på reagensbrettet. Hvis etiketten ikke kan leses av systemets strekkodeleser, finnes det en manuell prosedyre for å legge inn strekkodedataene (se brukerhåndboken for IDS-iSYS). Når kassetten er på reagensbrettet, utfører systemet automatisk blanding av magnetiske partikler for å opprettholde homogenitet.

Ikke utfør skanning på kassettnivå på IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Immunoextraction-kassetten, ettersom vil dette resultere i at mindre enn 50 tester kan oppnås fra kassetten.

Kassetten må være lastet på reagensbrettet i minst 60 minutter før du starter assayet. La immunoekstraksjonsreagenskassetten være i systemet inntil kassetten er helt tømt.

Immunoassay-reagenskassett

Reagensene som leveres i kassetten er bruksklare. Før en ny kassett lastes på systemet, blandes den magnetiske partikkelbeholderen med en rask rotasjonsbevegelse mellom håndflatene. Unngå skumdannelse.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

Anvisninger om bruken er å finne i brukerhåndboken for IDS-iSYS XPrep.

Strekkoden avleses når kassetten er lastet på reagensbrettet. Hvis etiketten ikke kan leses av systemets strekkodeleser, finnes det en manuell prosedyre for å legge inn strekkodedataene (se brukerhåndboken for IDS-iSYS). Når kassetten er på reagensbrettet, utfører systemet automatisk blanding av magnetiske partikler for å opprettholde homogenitet.

Ikke utfør skanning på kassettnivå på IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Immunoassay-kassetten, ettersom vil dette resultere i at mindre enn 100 tester kan oppnås fra kassetten.

Kassetten må være lastet på reagensbrettet i minst 40 minutter før du starter assayet. Hvis kassetten fjernes fra reagensbrettet, oppbevares kassetten oppreist ved 2–8 °C i mørke.

Kalibratører

IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp}-assay er standardisert mot interne referansestandarder som er justert til det validerte 1,25-dihydroksyvitaminet D LC-MS/MS.

IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp}-kalibratorene er frysetørret. Klargjør kalibratorene iht. prosedyren nedenfor:

- Sørg for at kontrollene ekvilibrerer til romtemperatur (18–25 °C).
- Tilsett 1,2 mL destillert eller avionisert vann i hver flaske like før bruk.
- Bytt stopperen. La hetteglassene stå i 10 minutter ved romtemperatur (18–25 °C).
- Bland i vortekser i 2–3 sekunder; snu forsiktig for å sikre fullstendig rekonstituering.
- Overfør ca. 750 µL kalibrator for triplikat kalibrering (180 µL per replikat) av kalibratorene til 2 mL mikrorør med konisk sokkel med skjørt og skrukork og plasser den på systemet innen 15 minutter etter rekonstituering og mål innen 3 timer. Kalibratorene gjennomgår ikke renseprosedyren
- Unngå skumdannelse på alle trinn.
- Fortsett i henhold til instruksjonene i brukerhåndboken for IDS-iSYS.

Kalibreringsfrekvens

En ny kalibrering er nødvendig:

- Ved lasting av hvert nytt parti med kassetter.
- Når kontrollverdiene ikke faller innenfor de definerte områdene.
- Når kalibreringsintervallet på 21 dager er utløpt.
- Etter systemservice.

Verifisering av kalibreringen skjer automatisk og styres av systemet.

Systemkalibrering

De to IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp}-kalibratorene er påkrevd for å utføre justeringen av hovedkurven. Kalibratorene leveres med settet; kalibratører fra et annet parti skal ikke brukes. Alle nivåer av IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Control Set (IS-2030) MÅ måles samtidig med kalibratorene for å validere hovedkurvejusteringen.

Alle data som er nødvendig for kalibrering av kassetten finnes på mini-CD-en. Bruk kalibratornivåene A og B for å justere hovedkurven til reagensene på systemet. Kontroller om det finnes en IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Immunoextraction- og en Immunoassay-kassett på reagensbrettet og om det er en tilgjengelig kassetthovedkurve i databasen. Hvis dataene for kalibratorpartiet ikke er tilgjengelig i systemet, lastes dataene ved hjelp av mini-CD-en som følger med reagenssettet.

Start immunoassay-kalibrering på systemet i henhold til brukerhåndboken for systemet. Kalibreringen utføres ved anvendelse av 3 replikater av hvert nivå. Ett replikat kan fjernes for å tilfredsstille kalibreringskravene. Alle kontrollnivåer må også måles i duplikat for å kalibrere assayet. Verifiser og godkjenn kalibreringen i henhold til kalibreringsstatusen som vises i kalibreringsvinduet og kasser det gjenværende volumet av kalibratører og kontroller fra prøvebrettet etter bruk.

9. Kvalitetskontroll

Bruk IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Control Set til kvalitetskontroll. For å sikre resultatenes validitet skal det måles minst to kontroller med varierende grad av 1,25(OH)₂D. Annet egnet kontrollmateriale kan brukes i tillegg til IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Control Set. Kontrolløsningene bør testes i (eller nær) begynnelsen av hver analyse som inneholder pasientprøver samt ved hver kalibrering i henhold til lokale og statlige forskrifter eller akkrediteringskrav og ditt laboratoriums kvalitetsrutiner. Se bruksanvisningen for IDS-iSYS 1,25 VitD^{Xp} Control Set for instruksjoner om klargjøring og håndtering.

Bestemmelse av prøvenivåer av 1,25 dihydroksyvitamin D (1,25(OH)₂D)

Behandle prøvene i henhold til brukerhåndboken for IDS-iSYS-systemet.

10. Beregning av resultater

Konsentrasjonen av 1,25(OH)₂D for hver prøve beregnes automatisk. Visningen av konsentrasjoner (på skjerm eller utskrift) genereres på forespørsel fra bruker.

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} -assayet bruker en 4-parameters logistikkurve (4PL) til å beregne 1,25(OH)₂D-konsentrasjonene.

Slik konverteres resultatene til SI-enheter: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Måleområde (rapporterbart område)

Assayets rapporterbare område er 7,5–150 pg/mL (18–360 pmol/L). Alle verdier som faller under 7,5 pg/mL (18 pmol/L) skal registreres som «< 7,5 pg/mL» («< 18 pmol/L»).

12. Fortynning

Prøver med 1,25(OH)₂D-konsentrasjoner over det rapporterbare området må fortynnes manuelt med IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) i et forhold på 1 til 2. Resultatene for fortynnede prøver må multipliseres med fortynningsfaktor 2.

13. Bruksbegrensninger

- Som ved en diagnostisk prosedyre må resultatene tolkes i forbindelse med pasientens kliniske presentasjon og annen informasjon som er tilgjengelig for legen.
- Ytelseskarakteristikkene for dette assayet er ikke blitt etablert i en pediatrik populasjon.
- Heterofile antistoffer i humant serum kan reagere med reagensimmunoglobuliner og forstyrre *in vitro*-immunassayer⁵. Pasienter som jevnlig eksponeres for dyr eller produkter med animalsk serum, kan være utsatt for denne forstyrrelsen, og unormale verdier kan forekomme.
- Følgende stoffer vil ikke interferere med IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} -assayet når konsentrasjonene som er presentert i tabellen under er lavere enn den fastsatte terskelen.

Potensielt interfererende middel	Terskelkonsentrasjon
Albumin	7,5 g/dL
Bilirubin, konjugert	40 mg/dL
Bilirubin, ukonjugert	40 mg/dL
Biotin	0,1 mg/dL
Kolesterol, totalt	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobin	500 mg/dL
Revmatoidfaktor	7000 IU/mL
Triglyserider	3000 mg/dL
Acetaminofen	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Karbamazepin	127 µmol/L
Fenytoin	198 µmol/L
Acetylsalicylsyre	65 mg/dL
Salicylsyre	60 mg/dL

14. Forventede verdier

Følgende områder ble bestemt ved hjelp av IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} -assay og er kun til informasjon.

Prøver fra 121 tilsynelatende friske mannlige og kvinnelige voksne i alderen 19–69 år med blandet etnisk bakgrunn (34 % mørkhudet og 66 % lyshudet) ble analysert i IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Prøvene ble innsamlet i løpet av vinteren (36 %) og sommeren (64 %) fra personer med normalt intakte PTH-, kalsium-, fosfat-, og TSH-verdier fra de nordlige og sørlige delene av USA. 95 %-referanseintervallet for tilsynelatende friske voksne ble beregnet med en ikke-parametrisk metode iht. veiledning fra CLSI C28-A3 «Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory».

Oppnådd område for normale voksne: 15,2 to 90,1 pg/mL (36,5 til 216,2 pmol/L)

15. Ytelsesdata

Representative ytelsesdata vises. Resultater som fremkommer ved de enkelte laboratorier kan variere.

15.1 Sensitivitet

Blankgrense (LoB), deteksjonsgrense (LoD) og kvantifiseringsgrense (LoQ) bestemmes med veiledning fra CLSI EP17-A, «Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation».

Sensitivitet	Konsentrasjon av 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (blankgrense)	2,5	6,0
LoD (deteksjonsgrense)	4,2	10,1
LoQ (kvantifiseringsgrense)	7,5	18,0

15.2 Presisjon

Presisjon ble evaluert i henhold til en modifisert protokoll basert på CLSI EP-5A2, «Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods». Totalt 6 serumprøver ble analysert i duplikat, to ganger per dag i 7 dager ved bruk av ett reagensparti på ett systeme, ett parti per system.

Prøve	n	Middelverdi		Repeterbarhet		VK%	Totalt		VK%
		pg/mL	pmol/L	SD	SD		pg/mL	pmol/L	
Serum 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Serum 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Serum 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Serum 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Kontroll 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Kontroll 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearitet

Linearitet ble evaluert basert på CLSI EP-6A, «Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures». Prøver ble klargjort ved å fortynne en høy pasientprøve med en lav pasientprøve før assayet. Den lineære regresjonen av de observerte konsentrasjonene versus de forventede konsentrasjonene (forventet = helning x observert ± skjæringspunkt) er:

Helning	Skjæringspunkt		Regresjonskoeffisient (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Metodesammenligning

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} -assay ble sammenlignet mot det kommersielt tilgjengelige kvantitative IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D-assayet, iht. CLSI EP-9A2, «Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples». Totalt 105 prøver, valgt til å representere et bredt spekter av 1,25(OH)₂D-konsentrasjoner [11,4–150 pg/mL (27,4–360 pmol/L)], ble analysert med hver metode. Passing-Bablok-regresjonsanalyse ble utført på de komparative dataene:

n	Helning	Skjæringspunkt		Korrelasjonskoeffisient (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Spesifisitet

Følgende eksogene, syntetiske vitamin D-metabolitter eller vitamin D-medikamentforbindelser ble tilsatt i serumprøver og målt med IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}-assay.

Analytt	Kryssreaktivitet (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D ₃)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D ₂)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Symboler som er brukt

REF

Katalognummer

IVD*In vitro*-diagnostisk enhet

Produsent



Anvendes i samsvar med direktiv 98/79/EC

Rx Only

Forsiktig: Skal kun selges eller forskrives av lisensiert helsepersonell iht amerikansk lovgivning.

17. Bibliografi

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tlf.: +44 191 519 0660 • Faks: +44 191 519 0760
e-post: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tlf.: +1 877 852 6210 • Faks: +1 301 990 4236
e-post: info.us@idsplc.com

Frankrike Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tlf.: +33 140 770 450 • Faks: +33 140 770 455
e-post: info.fr@idsplc.com

Belgia Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tlf.: +32 425 226 36 • Faks: +32 425 251 96
e-post: info.be@idsplc.com

Tyskland Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tlf.: +49 693 085 5025 • Faks: +49 693 085 5125
e-post: info.de@idsplc.com

Skandinavia Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tlf.: +45 448 400 91
e-post: info.nordic@idsplc.com

Brasil IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tlf.: +55 113 740 6100 • Faks: + 55 113 740 6105
e-post: info.br@idsplc.com

1. Účel použití

K diagnostickému použití *in vitro*

Test IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} je *in vitro* diagnostické zařízení, které slouží ke kvantitativnímu stanovení 1,25-dihydroxyvitaminu D [1,25(OH)₂D] v lidském séru v systému IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Výsledky se používají ke snazšímu hodnocení dostatečnosti vitaminu D.

Rx only.

2. Shrnutí a vysvětlení

Vitamin D se vyskytuje ve dvou formách: jako vitamin D₃ a vitamin D₂. Vitamin D₃, cholekalciferol, je přirozeně se vyskytující vitamin D, který je produkován v pokožce po vystavení 7-dehydrocholesterolu slunečnímu UV záření¹. Vitamin D₂ je vyráběn ozáření ergosterolu z kvasinek ultrafialovým zářením. Obě formy se používají v doplňcích obsahujících vitamin D. Složka vitaminu D je biologicky neaktivní, ale dostává se do oběhu a je hydroxylována v játrech na 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], který se používá k určení hladiny vitaminu D v těle pacienta.

V ledvinách je 25(OH)D dále hydroxylován a vytváří biologicky aktivní metabolit 1,25(OH)₂D¹. 1,25(OH)₂D je jedním z hlavních regulátorů metabolismu vápníku a fosfátů a stimuluje vstřebávání vápníku ve střevech a zvyšuje jeho opětovné vstřebávání v kostech. 1,25(OH)₂D dále inhibuje produkci parathyroidního hormonu (PTH), a to přímo v příštítné žláze a nepřímo zvýšením hladiny vápníku v séru. Samotná produkce 1,25(OH)₂D je stimulována parathyroidním hormonem (PTH) a zajišťuje tak efektivní řídicí smyčku¹. Fibroblastový růstový faktor 23 [FGF-23] vylučovaný z kostí způsobuje internalizaci sodík-fosfátového kotransportéru ledvinovými buňkami a buňkami tenkého střeva a potlačuje také syntézu 1,25(OH)₂D².

V případě sekundárního hyperparathyreoidismu dochází ke zvětšení příštítných žláz a k jejich hyperaktivitě. Příčinou je často selhání ledvin – stav, kdy ledviny nedokážou čistit krev od fosforu produkovaného tělem a nedokážou vyrobit dostatek vitaminu D, konkrétně 1,25(OH)₂D, aktivní formy vitaminu D. Hromadění fosforu vede ke snížení hladiny vápníku v krvi, což stimuluje zvýšenou produkci parathyroidního hormonu (PTH) v příštítných žlázách, která pak vede k jejich zvětšení. S postupujícím onemocněním příštítné žlázy již na vápník a vitamin D normálně nereagují. Cílem léčby přímo aktivovaným vitaminem D je zpomalit progresi sekundárního hyperparathyreoidismu. Pokyny pro klinickou praxi, například Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI) a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) doporučují pro pacienty s chronickým onemocněním ledvin léčebný režim s aktivovaným vitaminem D^{3,4}.

3. Popis metody

Souprava IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} představuje kompletní systém testu zahrnující imunoextrakci 1,25-dihydroxyvitaminu D v lidském séru a kvantitativní stanovení hladiny 1,25(OH)₂D v systému IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (dále jen systém).

V kyvetě 1 se provede delipidace 218 µL vzorku pacienta a následná inkubace magnetickými částicemi potaženými specifickou protilátkou vůči 1,25(OH)₂D. Magnetické částice se po inkubaci propláchnou a provede se eluce 1,25(OH)₂D ze vzorku pacienta. 180 µL extrahovaného vzorku 1,25(OH)₂D se převede do kyvety 2, kde na základě chemiluminiscenční technologie proběhne imunotest.

V kyvetě 2 se provede inkubace 180 µL purifikovaných vzorků s biotinylovanou protilátkou vůči 1,25(OH)₂D. Po první inkubaci se v následném inkubačním kroku přidá konjugát 1,25(OH)₂D značený akridiniem. Před třetím inkubačním krokem se pak přidají magnetické částice značené streptavidinem. Magnetické částice se zachytí pomocí magnetu a v zájmu odstranění veškerého nevázaného 1,25(OH)₂D se provede promytí. Nyní se přidají spouštěcí reagenty; výsledný světelný signál emitovaný akridiniovou značkou je nepřímo úměrný koncentraci 1,25(OH)₂D v původním vzorku.

4. Varování a bezpečnostní opatření

IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} slouží pouze k diagnostickému použití *in vitro* a není určen k vnitřnímu použití u lidí či zvířat. Tento výrobek musí být používán přesně podle pokynů uvedených v tomto návodu k použití. Společnost Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) nebude odpovědná za žádné ztráty či škody (kromě odpovědnosti vyžadované zákonem) jakéhokoli druhu, k nimž došlo v důsledku nedodržení poskytnutých pokynů.

UPOZORNĚNÍ: Tato souprava obsahuje materiál živočišného původu. Zacházejte s reagenty jako s potenciálně infekčními. Při skladování, manipulaci a likvidaci reagentů ze soupravy musí být dodržována příslušná bezpečnostní opatření a zásady správné laboratorní praxe. Likvidace reagentů ze soupravy musí být prováděna v souladu s místními předpisy.

Materiál lidského původu

Materiál lidského původu použitý při přípravě tohoto výrobku byl testován za použití testů doporučených FDA na přítomnost protilátek proti viru lidské imunodeficiency (HIV I a II), povrchového antigenu hepatitidy B a protilátek proti hepatitidě C a bylo zjištěno, že je negativní. Protože žádný test nemůže poskytnout úplné záruky nepřítomnosti infekčního agens, musí být s reagenty zacházeno podle zásad 2. úrovně biologické bezpečnosti.

Reagenty obsahující azid sodný

Některé reagenty v této soupravě obsahují azid sodný (NaN₃) < 0,1 % (w/w), který může reagovat s olověným, měděným nebo mosazným potrubím za vzniku vysoce výbušných azidů kovů. Při likvidaci spláchněte velkým množstvím vody, abyste zabránili nahromadění kovových azidů.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Upozornění pro manipulaci

Kromě kalibrátorů, které jsou lyofilizované, jsou reagentie obsažené v této soupravě připraveny k použití. Proceduru metodologie rekonstituce naleznete v části věnované kalibrátorům.

Před vložením nové cartridge do systému je nutné, aby operátor rychlými krouživými pohyby magnetické částice v lahvičce resuspendoval. Tím dojde k resuspendování magnetických částic, které se během přepravy usadily. Je nutné dbát na to, aby se v cartridge s reagentiemi nezačala tvořit pěna.

Trvanlivost a skladování reagentií

Cartridge a kalibrátory uchovávejte ve **vzpřímené** pozici, na temném místě při teplotním rozmezí 2 – 8 °C. Cartridge ani kalibrátory **nezmrazujte**.

Trvanlivost reagentí	Cartridge Immunoextraction	Cartridge Immunoassay	Kalibrátory
Před otevřením při teplotě 2 až 8 °C	Do data expirace		
Cartridge, po otevření při teplotě 2 až 8 °C	N/A	56 dnů	N/A
Kalibrátory, po rekonstituci při 2 až 8 °C	N/A	N/A	6 hodin
V systému *	28 dnů	49 dnů	3 hodin

* Stabilita při nepřetržitém uložení v přístroji

6. Odběr a uchování vzorků

Test by měl být proveden za použití vzorků séra (standardní vzorkovací ampulky nebo ampulky obsahující gel pro separaci séra).

- Separace vzorků by měla být provedena co nejdříve po odběru.
- Po separaci lze vzorky uchovávat maximálně 24 hodin při pokojové teplotě (18 – 25 °C) nebo až 7 dnů při teplotě 2-8 °C. Je-li mezi separací a testováním vyžadován větší časový rozestup, měly by být vzorky uchovávány při teplotě -20 °C.
- Vzorky mohou být uchovávány při teplotě -20 °C až 2,5 měsíce a poté by se měly uchovávat při -80 °C.
- U vzorků lze provést až 2 cykly zmrazení a rozmrazení a před vložením do přístroje by se měly kompletně rozmrazit a dobře rozmíchat.
- V analyzátoru vykazují vzorky stabilitu maximálně po dobu 3 hodin.

Poznámka:

- Vzorky obsahující pevné částice je nutné před testováním odstředit. Nepoužívejte tepelně inaktivované vzorky.
- V zájmu minimalizace možných efektů odpaření by se vzorky, kalibrátory i kontroly měly změřit do 3 hodin od umístění do systému.
- Každá laboratoř musí při manipulaci se vzorky a zajištění jejich skladování a stability dodržovat pravidla a požadavky místních, státních anebo federálních předpisů či akreditujících organizací. Informace o správné praxi naleznete v dokumentu CLSI GP44-A4, „Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests“.
- Před provedením testů zajistěte aby vzorky, kalibrátory i kontroly měly pokojovou teplotu (18 – 25 °C).
- Některé komerčně dostupné ampulky pro odběr vzorků mohou v konkrétních případech ovlivnit výsledky testování.
- Doporučujeme dodržovat pokyny výrobce ampulky, zvláště pak při zpracování vzorků v primárních ampulkách.
- Odstředěné vzorky s lipidovou vrstvou na vrchu je nutné převést do nádoby pro vzorek nebo do sekundární zkumavky. Při převádění je nutné dbát na to, aby vzorky byly přečištěné bez lipemického materiálu.
- **Před vložením do systému se teplota vzorku MUSÍ temperovat na pokojovou teplotu (18 až 25 °C) pro optimalizaci kroku delipidace.**

7. Materiály

Dodávané materiály

Cartridge Immunoextraction, 2 cartridge po 50 testech

MPA1	Magnetické částice potažené monoklonální protilátkou vůči 1,25(OH) ₂ D, 1 lahvička, 2,8 mL.
DEL	Delipidační reagentie, roztok dextran sulfátu a chloridu hořečnatého, 1 lahvička cartridge, 2,6 mL.
DIS	Náhradní reagentie a proprietární reagentie pro disociaci 1,25(OH) ₂ D z vazebných proteinů s azidem sodným jako konzervantem (< 0,1 %), 1 lahvička, 18,7 mL.
ELU	Eluční reagentie, roztok hydroxidu sodného, 1 lahvička, 13,0 mL.
NET	Neutralizační reagentie, roztok kyseliny citrónové, 1 lahvička, 3,4 mL.
BUF	Testovací pufr, pufr MOPS obsahující albumin, 1 lahvička, 9 mL na lahvičku.

Cartridge Immunoassay, 1 cartridge po 100 testech

MPS3	Magnetické částice potažené streptavidinem ve fosfátovém pufru obsahujícím hovězí sérový albumin a azid sodný jako konzervant (< 0,1 %), 1 lahvička, 2,6 mL.
CONJ	Konjugát, 1,25(OH) ₂ D značený derivátem akridinového esteru, ve fosfátovém pufru obsahujícím hovězí sérový albumin a azid sodný jako konzervant (< 0,1 %), 1 lahvička, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Biotinylovaná polyklonální protilátka vůči 1,25(OH) ₂ ve fosfátovém pufru obsahujícím ovčí proteiny s azidem sodným jako konzervantem (< 0,1 %), 1 lahvička, 13 mL.
BUFD	Proplachovací pufr, 1% proprietární v PBS s azidem sodným jako konzervantem (< 0,1 %), 1 lahvička, 35 mL na lahvičku.

Kalibrátory

CAL A	Lyofilizovaný pufr MOPS obsahující hovězí sérový albumin, 1,25(OH) ₂ D s azidem sodným jako konzervantem (< 1,0 %), 3 pro každou ze 2 hladin koncentrace, 1,2 mL na lahvičku.
CAL B	

Mini CD

Obsahuje návod k použití pro reagentie IDS-iSYS, soubory CRY a certifikát analýzy.

Potřebné materiály, které nejsou dodávány

Systém	Volitelné vybavení / materiály
IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution
	IS-2035 IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
	IS-10DA IDS-iSYS Diluent A
	IS-XP01 IDS-iSYS XPrep
	2 mL polypropylenu na jedno použití, 10,8 mm průměr, kónická zkumavka se závitem, mikrozskumavky se šroubovacím uzávěrem a šroubovací víčko s kroužkem ve tvaru písmene O (Sarstedt 72.609 a 65.716 nebo obdobné)
	Přesná pipetovací zařízení

8. Postup testu

Cartridge s reagentiemi Immunoextraction

Reagentie obsažené v cartridge jsou připraveny k použití. Před vložením nové cartridge do systému je nutné magnetické částice v lahvičce důkladně resuspendovat. Magnetické částice lze připravit jedním z následujících postupů, zamezte tvorbě pěny:

Ručně:

- Uchopte lahvičku s magnetickými částicemi do dlaní a rychlými pohyby rukou dopředu a dozadu jí protřepejte, dokud se barva suspendovaných částic nezmění na hnědou.
- Pomalu a opatrně otočte lahvičku s magnetickými částicemi vzhůru nohama, dokud se všechny magnetické částice usazené na dně lahvičky znovu nesuspendují.
- Vizually zkontrolujte dno lahvičky s magnetickými částicemi a ověřte, zda se všechny usazené magnetické částice zcela rozptýlily.
- V případě potřeby zopakujte převrácení lahvičky, dokud nebudou magnetické částice opakovaně zcela vyloučeny.
- Ověřte, zda se v reagentních cartridge tvoří pěna.

Koncový test / rotátor pro ampulky s krví:

- Opatrně vyjměte lahvičku s částicemi z plastového úchyty.
- Připevněte lahvičku s částicemi do držáku testu / krve.
- Otáčejte lahvičkou rychlostí 10 až 20 otáček za minutu po dobu 15 minut při pokojové teplotě (18–25 °C).
- Vizually zkontrolujte dno lahvičky s magnetickými částicemi a ověřte, zda se všechny usazené magnetické částice zcela rozptýlily.
- V případě potřeby zopakujte převrácení lahvičky, dokud nebudou magnetické částice opakovaně zcela vyloučeny.
- Ověřte, zda se v reagentních cartridge tvoří pěna.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce k zařízení IDS-iSYS XPrep.

Čárový kód se načte, když se cartridge vloží do držáku reagensů. Pokud čtečka čárových kódů systému nedokáže kód načíst, lze data čárového kódu zadat ručně (postup naleznete v uživatelské příručce systému IDS-iSYS). Jakmile je cartridge vložena do držáku reagensů, systém automaticky provede promíchání magnetických částic k zachování homogenity.

V případě cartridge IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoextraction neprovádějte kontrolu hladiny, protože by to vedlo k tomu, že z dané cartridge bude možné získat méně než 50 testů.

Před začátkem testu by měla být cartridge v držáku reagensů umístěna minimálně 60 minut. Imunoextrakční cartridge s reagensy ponechte v systému, dokud se zcela nevyprázdní.

Cartridge s reagensy Immunoassay

Reagensie obsažené v cartridge jsou připraveny k použití. Před vložením nové cartridge do systému je nutné magnetické částice v lahvičce resuspendovat rychlými kruhovými pohyby mezi dlaněmi. Zamezte tvorbě pěny.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Pokyny k použití naleznete v uživatelské příručce k zařízení IDS-iSYS XPrep.

Čárový kód se načte, když se cartridge vloží do držáku reagensů. Pokud čtečka čárových kódů systému nedokáže kód načíst, lze data čárového kódu zadat ručně (postup naleznete v uživatelské příručce systému IDS-iSYS). Jakmile je cartridge vložena do držáku reagensů, systém automaticky provede promíchání magnetických částic k zachování homogenity.

V případě cartridge IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoassay neprovádějte kontrolu hladiny, protože by to vedlo k tomu, že z dané cartridge bude možné získat méně než 100 testů.

Před začátkem testu by měla být cartridge v držáku reagensů umístěna minimálně 40 minut. Pokud cartridge odeberete z držáku reagensů, uchovejte ji ve vzpřímené poloze na temném místě při teplotě 2 až 8 °C.

Kalibrátory

Test IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} byl standardizován na základě interních referenčních standardů, které jsou v souladu s validovanými LC-MS/MS výstupy pro 1,25-dihydroxyvitamin D.

Kalibrátory IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} jsou lyofilizované. Během přípravy kalibrátorů se řiďte níže uvedeným postupem:

- Kalibrátory musejí být vytemperovány na pokojovou teplotu (18 – 25 °C).
- Těsně před použitím přidejte do každé lahvičky 1,2 mL destilované nebo deionizované vody.
- Vraťte na lahvičku uzávěr. Lahvičky nechte 10 minut stát při pokojové teplotě (18 – 25 °C).
- Po dobu 2–3 sekund je míchejte na vortexu a opatrně převracejte, aby se zajistila úplná rekonstituce.
- Přeneste přibližně 750 µL pro trojitou kalibraci (180 µL na replikát) kalibrátorů do 2 mL polypropylenu, kónické zkumavky se závitem, mikrozukmavek se šroubovacím uzávěrem a do 15 minut od rekonstituce je umístěte do systému a do 3 hodin proveďte měření. Kalibrátory neprocházejí procesem purifikace.
- Při všech krocích zamezte vzniku pěny.
- Postupujte podle pokynů v uživatelské příručce k systému IDS-iSYS.

Frekvence kalibrace

Nová kalibrace je vyžadována:

- Po vložení každé nové šarže cartridge.
- Pokud se hodnoty kontrol nepohybují v definovaných rozmezích.
- Po vypršení intervalu kalibrace v délce 21.
- Po provedení servisu systému.

Ověření kalibrace je automatické a je řízeno systémem.

Kalibrace systému

K provedení úprav hlavní křivky jsou vyžadovány dva kalibrátory IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}. Kalibrátory jsou součástí sady a nesmí se používat kalibrátory z jiné sady. Všechny hladiny IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set (IS-2030) MUSEJÍ být za účelem ověření úpravy hlavní křivky měřeny současně s kalibrátory.

Veškerá data vyžadovaná pro kontrolu cartridge lze najít na mini disku CD. Pomocí hladin kalibrátorů A a B upravte hlavní křivku podle reagensů v systému. Ověřte, zda je v držáku reagensů k dispozici cartridge IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoextraction a Immunoassay a zda databáze obsahuje hlavní křivku cartridge. Nejsou-li data šarže kalibrátorů v systému k dispozici, načtěte je z mini disku CD dodávaného ke kontrolám.

Spusťte v systému kalibraci imunitního testu podle uživatelské příručky k systému. Kalibrace se provádí pomocí 3 replikátů od každé hladiny. Ke splnění požadavků kalibrace lze odebrat jeden replikát. V zájmu zajištění správné kalibrace testu je nutné všechny hladiny kontrol změřit v rámci dvojitých opakovaných testů. Ověřte a potvrďte kalibraci podle stavu kalibrace zobrazeného v kalibračním okně a po použití zbytkový objem v kalibrátorech a kontrolách v držáku vzorků zlikvidujte.

9. Kontrola kvality

Ke kontrole kvality použijte soupravu kontrol IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set. Aby byla zajištěna platnost výsledků, měli byste změřit alespoň dvě kontroly s různými hladinami 1,25(OH)₂D. Mimo IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set lze použít jiný vhodný kontrolní materiál. Kontroly by měly být testovány na začátku (nebo v době blízké) jednotlivých cyklů obsahujících vzorky pacientů a také během kalibrace, a to v souladu s místními, státními a/nebo federálními předpisy nebo požadavky na akreditaci a postupů kontroly kvality ve vaší laboratoři. Postupy přípravy a manipulace naleznete v návodu k použití pro IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set.

Stanovení hladin (1,25(OH)₂D) ve vzorku 1,25-dihydroxyvitaminu D

Při zpracování vzorků postupujte podle uživatelské příručky systému IDS-iSYS.

10. Výpočet výsledků

Koncentrace 1,25(OH)₂D v jednotlivých vzorcích se počítá automaticky. Zobrazení koncentrací (na obrazovce nebo v tištěné podobě) se vytváří na základě žádosti uživatele.

Test IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} používá k výpočtu koncentrací 1,25(OH)₂D logistickou křivku se 4 parametry (4PL).

Převod výsledků na jednotky SI: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Rozsah měření (vykazatelný rozsah)

Vykazatelný rozsah testu je 7,5 – 150 pg/mL (18 – 360 pmol/L). Všechny hodnoty nižší než 7,5 pg/mL (18 pmol/L) by měly být vykázány jako „< 7,5 pg/mL“ („< 18 pmol/L“).

12. Zředění

Vzorky s koncentracemi 1,25(OH)₂D překračujícími vykazatelný rozsah by měly být zředěny ručně pomocí IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) v poměru 1 ku 2. Výsledky pro zředěné vzorky se musejí vynásobit dvojnásobkem faktoru zředění.

13. Omezení použití

- V případě diagnostické procedury mohou být výsledky interpretovány společně s klinickým obrazem pacienta a dalšími informacemi, které má lékař k dispozici.
- Výkonnostní znaky tohoto testu nebyly ověřeny u pediatrických pacientů.
- Heterofilní protilátky v lidském séru mohou reagovat s reagensy pro stanovení imunoglobulinů a v imunotestech *in vitro* tak může docházet k interferencím⁵. Pacienti, kteří jsou rutinně vystaveni zvířatům nebo produktům ze zvířecího séra, mohou být k těmto interferencím náchylní a mohou být pozorovány anomální hodnoty.
- Pokud se koncentrace uvedené v tabulce níže nacházejí pod uvedenou prahovou hodnotou, následující látka nenarušují výsledek testu IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}.

Potenciálně narušující látka	Prahová koncentrace
Albumin	7,5 g/dL
Bilirubin, konjugovaný	40 mg/dL
Bilirubin, nekonjugovaný	40 mg/dL
Biotin	0,1 mg/dL
Cholesterol, celkový	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Haemoglobin	500 mg/dL
Revmatoidní faktor	7000 IU/mL
Triglyceridy	3000 mg/dL
Acetaminofen	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Karbamazepin	127 µmol/L
Fenytoin	198 µmol/L
Kyselina acetylsalicylová	65 mg/dL
Kyselina salicylová	60 mg/dL

14. Očekávané hodnoty

Následující rozmezí byla stanovena pomocí testu IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} a jsou poskytována jen pro informační účely.

V IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} byly testovány vzorky pocházející od 121 zjevně zdravých mužů a žen ve věku 19–69 let smíšeného etnického původu (34 % tmavé pleti a 66 % světlé pleti). Odběr vzorků proběhl v zimě (36 %) a v létě (64 %) od jedinců s intaktními hodnotami PTH, vápníku, fosfátů a TSH ze severních a jižních regionů Spojených států. 95 % referenční interval pro zjevně zdravé dospělé jedince byl vypočítán pomocí neparametrické metody podle dokumentu CLSI C28-A3 „Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory“

Získané normální rozmezí dospělých jedinců: 15,2 až 90,1 pg/mL (36,5 až 216,2 pmol/L)

15. Výkonnostní data

Zde jsou uvedena reprezentativní výkonnostní data. Výsledky získané v jednotlivých laboratořích se mohou lišit.

15.1 Citlivost

Na základě pokynů v dokumentu CLSI EP17-A, „Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation“ byl stanoven limit blanku (LoB), limit detekce (LoD) a limit kvantifikace (LoQ).

Citlivost	Koncentrace 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (limit blanku)	2,5	6,0
LoD (limit detekce)	4,2	10,1
LoQ (limit kvantifikace)	7,5	18,0

15.2 Přesnost

Přesnost byla posouzena v souladu s upraveným protokolem na základě dokumentu CLSI EP-5A2, „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“. Byl proveden test celkem 6 vzorků séra v rámci dvojího opakování testů, dvakrát denně po dobu 7 dnů pomocí jedné šarže reagensů na jeden systém.

Vzorek	n	Průměrná hodnota		Opakovatelnost			Celkem		
		pg/mL	pmol/L	pg/mL	pmol/L	CV %	pg/mL	pmol/L	CV %
Sérum 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Sérum 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Sérum 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Sérum 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Kontrola 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Kontrola 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearita

Linearita byla posouzena na základě dokumentu CLSI EP-6A, „Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures“. Vzorky byly připraveny zředěním vzorku s vysokou hodnotou pacienta se vzorkem s nízkou hodnotou pacienta před testem. Lineární regrese pozorovaných koncentrací oproti očekávaným koncentracím (očekávaná = směrnice x pozorovaná ± průsečík) je:

Směrnice	Průsečík		Regresní koeficient (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Porovnání metod

Test IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} byl porovnán s testem IDS-iSYS 1,25-dihydroxy vitamin D podle dokumentu CLSI EP-9A2, „Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples“. Každou metodou byl testován celkový počet 105 vzorků, které byly vybrány tak, aby reprezentovaly široké rozmezí koncentrací 1,25(OH)₂D [11,4–150 pg/mL (27,4–360 pmol/L)]. Na komparativních datech byla provedena regresní analýza podle Passinga a Babloka:

n	Směrnice	Průsečík		Korelační koeficient (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Specifita

Do vzorků séra byly přidány následující exogenní syntetické metabolity vitaminu D nebo léčivé sloučeniny s vitaminem D a následně proběhlo měření pomocí testu IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}.

Analyt	Zkřížená reaktivita (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Použité symboly



Katalogové číslo



In vitro diagnostické zařízení



Výrobce



Použito v souladu s nařízením 98/79/EC

Rx Only

Upozornění: Federální zákony USA zakazují prodej tohoto zařízení přímo (licencovaným lékařem) nebo na jeho příkaz

17. Literatura

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,

10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK

Tel.: +44 191 519 0660

• Fax: +44 191 519 0760

e-mail: info.uk@idsplc.com

• www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,

948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.

Tel.: +1 877 852 6210

• Fax: +1 301 990 4236

e-mail: info.us@idsplc.com

Francie Immunodiagnostic Systems SAS,

153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France

Tel.: +33 140 770 450

• Fax: +33 140 770 455

e-mail: info.fr@idsplc.com

Belgie Immunodiagnostic Systems S.A.,

Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium

Tel.: +32 425 226 36

• Fax: +32 425 251 96

e-mail: info.be@idsplc.com

Německo Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),

Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.

Tel.: +49 693 085 5025

• Fax: +49 693 085 5125

e-mail: info.de@idsplc.com

Skandinávie Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS

Nordic a/s), International House, Center Boulevard 5,

2300 København S, Denmark

Tel: +45 448 400 91

e-mail: info.nordic@idsplc.com

Brazílie IDS Brasil Diagnósticos Ltda.

Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work

Pinheiros

São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001

Tel: +55 113 740 6100

• Fax: + 55 113 740 6105

e-mail: info.br@idsplc.com

1. Przeznaczenie

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

Oznaczenie IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} to wyrób do diagnostyki *in vitro* przeznaczony do ilościowego oznaczenia 1,25-dihydroksywitminy D [1,25(OH)₂D] w surowicy ludzkiej na urządzeniu IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Wyniki mają być stosowane jako pomoc w ocenie niedoboru witminy D.

Rx only.

2. Podsumowanie i informacje ogólne

Występują dwie formy witminy D: witmina D₃ oraz witmina D₂. Witmina D₃, czyli cholekalcyferol, to naturalnie występująca postać witminy D wytwarzana w skórze po ekspozycji 7-dehydrocholesterolu na promieniowanie ultrafioletowe pochodzące ze światła słonecznego¹. Witmina D₂ jest produkowana przez naświetlanie promieniowaniem ultrafioletowym ergosterolu pochodzącego z drożdży. Obie postaci są stosowane jako suplementy witminy D. Witmina D nie jest związkiem biologicznie czynnym, jednak przedostaje się do krwiobiegu i ulega hydroksylacji w wątrobie do 25-hydroksywitminy D [25(OH)D], która jest wykorzystywana do określania występowania niedoborów witminy D u pacjentów.

W nerkach 25(OH)D ulega dalszej hydroksylacji z wytworzeniem biologicznie czynnego metabolitu — 1,25(OH)₂D¹. 1,25(OH)₂D jest jednym z głównych czynników regulujących metabolizm wapnia i fosforu, oddziałującym przez stymulację wchłaniania wapnia w jelitach i zwiększanie resorpcji kości. 1,25(OH)₂D hamuje również produkcję parathormonu (PTH) zarówno przez bezpośrednie oddziaływanie na gruczoły przytarczyc, jak i pośrednio, podnosząc stężenie wapnia w surowicy. Wytwarzanie 1,25(OH)₂D jest stymulowane przez parathormon (PTH), co skutkuje powstaniem efektywnej pętli kontrolnej¹. Wydzielany przez kości czynnik wzrostu fibroblastów 23 [FGF-23] powoduje internalizację kotransporteru sodowo-fosforanowego w komórkach nerek oraz jelita cienkiego i również hamuje syntezę 1,25(OH)₂D².

O wtórnej nadczynności przytarczyc mówimy w sytuacji powiększenia i nadmiernej aktywności wszystkich gruczołów przytarczyc spowodowanej przez chorobę zlokalizowaną poza przytarczycami. Zazwyczaj jest wywołwana przez niewydolność nerek, podczas której nerki nie są w stanie usuwać wytwarzanego przez organizm fosforu i produkować wystarczającej ilości witminy D, w szczególności jej aktywnej formy, czyli 1,25(OH)₂D. Nagromadzenie fosforu prowadzi do obniżenia stężenia wapnia we krwi, co stymuluje przytarczycę do zwiększonego wytwarzania parathormonu (PTH), prowadzącego do powiększenia gruczołów. W miarę postępu choroby gruczoły przytarczyc przestają reagować w prawidłowy sposób na stężenia wapnia i witminy D. Przesłanką do rozpoczęcia u pacjentów z niewydolnością nerek leczenia z wykorzystaniem bezpośredniego podawania aktywowanej postaci witminy D jest spowolnienie rozwoju wtórnej nadczynności przytarczyc. Wytoczne praktyki klinicznej, takie jak „Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)” oraz „Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)”, zalecają zastosowanie leczenia z użyciem aktywowanej formy witminy D w przypadku pacjentów chorujących na niewydolność nerek^{3,4}.

3. Opis metody

Zestaw IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} to kompletny system testowy umożliwiający immunologiczne ekstrahowanie 1,25-dihydroksywitminy D z ludzkiej surowicy, a następnie ilościowe określenie stężenia 1,25(OH)₂D w systemie IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (System).

W kuwecie 1, 218 µL próbki pacjenta jest poddawane delipidacji, a następnie inkubacji z cząstkami magnetycznymi pokrytymi swoistym przeciwciałem przeciwko 1,25(OH)₂D. Po inkubacji cząstki magnetyczne są wymywane, a następnie 1,25(OH)₂D jest wymywana do eluatu. 180 µL ekstrahowanej próbki 1,25(OH)₂D jest przenoszona do kuwety 2, gdzie zachodzi oznaczenie immunologiczne oparte na technice chemiluminescencji.

W kuwecie 2, 180 µL oczyszczonych próbek jest inkubowane z biotynylowanym przeciwciałem owczym przeciwko 1,25(OH)₂D. Po pierwszym etapie inkubacji dodawany jest koniugat 1,25(OH)₂D znakowany akrydyną, a następnie wykonywany jest kolejny etap inkubacji. Następnie przed trzecim etapem inkubacji dodawane są cząstki magnetyczne znakowane streptawidyną. Cząstki magnetyczne są wychwytywane przy użyciu magnesu i etapu wymywania prowadzonego w celu usunięcia niezwiązanej 1,25(OH)₂D. Dodawane są odczynniki wyzwalające; uzyskane światło emitowane przez znacznik akrydyny jest odwrotnie proporcjonalne do stężenia 1,25(OH)₂D w pierwotnej próbce.

4. Ostrzeżenia i środki ostrożności

Zestaw IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} jest przeznaczony do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro* i nie nadaje się do użytku wewnętrznego u ludzi i zwierząt. Podczas pracy z produktem należy ściśle przestrzegać niniejszej instrukcji stosowania. Firma Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) nie ponosi odpowiedzialności za żadne straty lub szkody (chyba że jest to wymagane prawem), które powstały z powodu nieprzestrzegania dostarczonych instrukcji.

PRZESTROGA: Niniejszy zestaw zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Postępować z zestawem jak z materiałem potencjalnie zakaźnym. Podczas przechowywania, stosowania i utylizacji odczynników zestawu należy przestrzegać właściwych środków ostrożności oraz zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Odczynniki z zestawu utylizować zgodnie z lokalnymi przepisami.

Materiały pochodzenia ludzkiego

Materiał pochodzenia ludzkiego, użyty do przygotowania niniejszego produktu, badano z wynikiem ujemnym przy użyciu oznaczeń zalecanych przez amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) na obecność przeciwciał przeciwko ludzkiemu wirusowi niedoboru odporności (HIV-1 i 2), antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B i przeciwciał przeciwko WZW typu C. Ponieważ żaden test nie daje całkowitej pewności, że czynniki zakaźne są nieobecne, należy podczas pracy z tymi odczynnikami przestrzegać zasad bezpieczeństwa biologicznego poziomu 2 (Biosafety Level 2).

Odczynniki zawierające azcydek sodu

Niektóre odczynniki w niniejszym zestawie zawierają (NaN_3) < 0,1% (stęż. wagowe), który może reagować z instalacją wodociągową wykonaną z ołowiu, miedzi lub mosiądzu, tworząc wysoce wybuchowe azcydki metali. Usuwane odczynniki należy spłukiwać dużą ilością wody, aby uniknąć gromadzenia się azcydków.

Classification under CLP:

Acute Tox 4

STOT SE 1

Eye Irrit. 2

Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.

H315: Causes skin irritation.

H319: Causes serious eye irritation.

H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.

P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.

P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.

P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Ostrzeżenia dotyczące pracy z produktem

Z wyjątkiem kalibratorów, które są liofilizowane, odczynniki znajdujące się w zestawie są gotowe do użycia. Metodyka rozpuszczania została opisana w części procedury dotyczącej kalibratorów.

Przed załadowaniem nowej kasety do Systemu, pojemnik cząstek magnetycznych wymaga wymieszania przez operatora wykonującego energiczny ruch obrotowy. Spowoduje to ponowne zawieszenie cząstek magnetycznych, które osiadły podczas wysyłki. Należy zachować ostrożność, aby uniknąć tworzenia piany w kasecie odczynnika.

Warunki i okres przechowywania odczynników

Kasety i kalibratory należy przechowywać w ciemności w pozycji **pionowej** w temperaturze 2–8°C. **Nie zamrażać** kasety ani kalibratorów.

Okres przechowywania odczynników	Kaseta Immunoassay	Kaseta Immunoassay	Kalibratory
Przed otwarciem w temperaturze 2–8°C	Do upływu terminu ważności		
Kaseta, po otwarciu w temperaturze 2–8°C	Nie dotyczy	56 dni	Nie dotyczy
Kalibratory, po rozpuszczeniu w temperaturze 2–8°C	Nie dotyczy	Nie dotyczy	6 godz.
Wewnątrz Systemu *	28 dni	49 dni	3 godz.

* Ciągła stabilność w urządzeniu

6. Pobieranie i przechowywanie próbek

Oznaczenie powinno być prowadzone z wykorzystaniem próbek surowicy (standardowe próbki lub próbki z żelem do separacji surowicy).

- Próbkę należy odwirować możliwie jak najszybciej po pobraniu.
- Po separacji próbki mogą być przechowywane przez maksymalnie 24 godziny w temperaturze pokojowej (18–25°C) lub do 7 dni w temperaturze 2–8°C. Jeżeli wymagany jest dłuższy czas między separacją i badaniem, próbki należy przechowywać w temperaturze –20°C.
- Próbkę mogą być przechowywane w temperaturze –20°C przez maksymalnie 2,5 miesiąca, po czym należy je przechowywać w temperaturze –80°C.
- Próbkę można poddawać maksymalnie 2 cyklom zamrażania/rozmarzania i powinny być one całkowicie rozmrożone i dobrze wymieszane przed załadowaniem do urządzenia.
- Próbkę są stabilne wewnątrz analizatora przez maksymalnie 3 godziny.

Uwaga:

- Próbkę zawierającą cząstki stałe przed wykonaniem oznaczenia muszą zostać odwirowane. Nie używać próbek inaktywowanych termicznie.
- W celu ograniczenia możliwych skutków parowania, próbki, kalibratory i kontrole muszą być oznaczone w ciągu X godz. od umieszczenia w Systemie.
- Każde laboratorium powinno opracować własne zalecenia dotyczące stabilności przechowywanych próbek i postępowania z nimi, zgodne z wytycznymi akredytowanych organizacji oraz lokalnymi, krajowymi i unijnymi przepisami. Wskazówki dotyczące odpowiedniej praktyki można znaleźć w dokumencie CLSI GP44-A4, „Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests”.
- Przed wykonaniem oznaczeń należy upewnić się, że próbki, kalibratory i kontrole mają temperaturę pokojową (18–25°C).
- Niektóre dostępne na rynku próbki do pobierania próbek mogą w pewnych przypadkach wpływać na wyniki badania.
- Należy przestrzegać instrukcji producenta próbek, zwłaszcza przy przetwarzaniu próbek w próbkach pierwotnych.
- Odwirowane próbki z warstwą lipidową w górnej części muszą być przenoszone do pojemników na próbki lub próbek wtórnych. Należy zachować ostrożność i przenosić wyłącznie klarowane próbki bez materiału lipemicznego.

- Przed umieszczeniem w systemie próbki MUSZĄ zostać doprowadzone do temperatury pokojowej (18–25°C) w celu optymalizacji etapu delipidacji.

7. Materiały

Dostarczane materiały

Kaseta Immunoextraction, 2 kasety umożliwiające wykonanie 50 testów

MPA1	Cząstki magnetyczne pokryte przeciwciałem monoklonalnym przeciwko 1,25(OH) ₂ D, 1 fiolka, 2,8 mL.
DEL	Odczynnik do delipidacji, roztwór siarczanu dekstranu oraz chlorku magnezu, 1 fiolka, 2,6 mL.
DIS	Odczynnik wypierający, zastrzeżony odczynnik umożliwiający oddysocjowanie 1,25(OH) ₂ D od związanych z nią białek, zawierający azydek sodu jako substancję konserwującą (< 0,1%), 1 fiolka, 18,7 mL.
ELU	Odczynnik do elucji, roztwór wodorotlenku sodu, 1 fiolka, 13,0 mL.
NET	Odczynnik do zobojętniania, roztwór kwasu cytrynowego, 1 fiolka, 3,4 mL.
BUF	Bufor oznaczenia, bufor MOPS zawierający albuminę surowicy bydlęcej, 1 fiolka, 9 mL na fiolkę.

Kaseta Immunoassay, 1 kaseta umożliwiająca wykonanie 100 testów

MPS3	Cząstki magnetyczne pokryte streptawidyną w buforze fosforanowym zawierającym albuminę surowicy bydlęcej i azydek sodu jako substancję konserwującą (< 0,1%), 1 fiolka, 2,6 mL.
CONJ	Koniugat, 1,25(OH) ₂ D znakowana estrową pochodną akrydyny w buforze fosforanowym zawierającym albuminę surowicy bydlęcej i azydek sodu jako substancję konserwującą (< 0,1%), 1 fiolka, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Przeciwciało-biotyna, przeciwciało poliklonalne przeciwko 1,25(OH) ₂ D znakowane biotyną w buforze fosforanowym zawierającym białka owcze i azydek sodu jako substancje konserwujące (< 0,1%), 1 fiolka, 13 mL.
BUFD	Bufor płuczący, 1% zastrzeżonego detergentu w PBS z azydkiem sodu jako substancją konserwującą (< 0,1%), 1 fiolka, 35 mL na fiolkę.

Kalibratory

CAL A	Liofilizowany bufor MOPS zawierający albuminę surowicy bydlęcej, 1,25(OH) ₂ D oraz azydek sodu jako substancję konserwującą (< 1,0%), po 3 z 2 poziomów stężeń, 1,2 mL na butelkę.
CAL B	

Płyta mini CD

Zawiera instrukcję stosowania dla odczynników IDS-iSYS, pliki CRY oraz certyfikat analizy.

Materiały wymagane, lecz niedostarczane

System		Wyposażenie/materiały opcjonalne	
IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System	IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
IS-2030	IDS-iSYS1,25 VitD ^{Xp} Control Set	IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes	IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)	Jednorazowe mikropróbówki polipropylenowe o pojemności 2 mL, średnicy 10,8 mm, ze stożkową podstawą, zakręcanym korkiem i zakręcanym korkiem typu O-ring (Sarstedt 72.609 i 65.716 lub równoważne).	
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)	Urządzenia do precyzyjnego pipetowania	
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set		
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)		
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)		
IS-DW225	Disposable waste bags		
IS-DS100	D-SORB solution		

8. Procedura oznaczenia

Kaseta odczynnika Immunoextraction

Odczynniki dostarczone w kasecie są gotowe do użytku. Przed umieszczeniem w Systemie nowej kasetki należy ostrożnie ponownie zawiesić w roztworze cząstki magnetyczne znajdujące się w pojemniku. Cząstki magnetyczne można przygotować przestrzegając jednej z następujących opcji, unikając tworzenia piany:

Ręcznie:

- Mieszać energicznie fiolkę z cząstkami magnetycznymi pomiędzy dłońmi ruchami do przodu i do tyłu do momentu zmiany koloru zawieszonych cząstek na brązowy.
- Ostrożnie odwrócić fiolkę z cząstkami magnetycznymi do góry dnem do momentu ponownego wprowadzenia do zawiesiny cząstek magnetycznych osadzonych na dnie.
- Sprawdzić wzrokowo dno fiołki z cząstkami magnetycznymi w celu upewnienia się, że nie ma na nim osadzonych cząstek.
- Powtarzać odwracanie fiołki do momentu ponownego wprowadzenia do zawiesiny wszystkich cząstek magnetycznych.
- Należy dopilnować, aby w odczynnikach w kasecie nie doszło do wytworzenia piany.

Rotator do próbek z krwią:

- Ostrożnie zdjąć fiolkę z cząstkami z plastikowego klipsa.
- Zamontować fiolkę z cząstkami w uchwycie na próbkę.

- Obracać fiolkę w tempie 10–20 obrotów na minutę przez 15 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C).
- Sprawdzić wzrokowo dno fiołki z cząstkami magnetycznymi w celu upewnienia się, że nie ma na nim osadzonych cząstek.
- Powtarzać odwracanie fiołki do momentu ponownego wprowadzenia do zawiesziny wszystkich cząstek magnetycznych.
- Należy dopilnować, aby w odczynnikach w kasecie nie doszło do wytworzenia piany.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Instrukcje użytkownika można znaleźć w podręczniku użytkownika urządzenia IDS-iSYS XPrep.

Po umieszczeniu kasety na tacy odczynników odczytywany jest kod kreskowy. Jeśli nie jest możliwe odczytanie etykiety za pomocą czytnika kodów kreskowych systemu, dane z kodu kreskowego można wprowadzić ręcznie (patrz podręcznik użytkownika systemu IDS-iSYS). Po umieszczeniu kasety na tacy odczynników system automatycznie wykonuje mieszanie cząstek magnetycznych w celu zapewnienia homogenności.

Nie przeprowadzać skanu poziomu kasety na kasecie IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction, ponieważ spowoduje to uzyskanie z kasety mniej niż 50 testów.

Umieścić kasetę na tacy odczynników i odczekać co najmniej 60 minut przed rozpoczęciem oznaczenia. Kasetę z odczynnikami do immunoekstrakcji należy pozostawić w Systemie do momentu jej całkowitego wyczerpania.

Kaseta odczynnika Immunoassay

Odczynniki dostarczone w kasecie są gotowe do użytku. Przed załadowaniem do Systemu nowej kasety, wymieszać pojemnik z cząstkami magnetycznymi energicznym ruchem obrotowym między dłońmi. Unikać tworzenia piany.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

Instrukcje użytkownika można znaleźć w podręczniku użytkownika urządzenia IDS-iSYS XPrep.

Po umieszczeniu kasety na tacy odczynników odczytywany jest kod kreskowy. Jeśli nie jest możliwe odczytanie etykiety za pomocą czytnika kodów kreskowych systemu, dane z kodu kreskowego można wprowadzić ręcznie (patrz podręcznik użytkownika systemu IDS-iSYS). Po umieszczeniu kasety na tacy odczynników system automatycznie wykonuje mieszanie cząstek magnetycznych w celu zapewnienia homogenności.

Nie przeprowadzać skanu poziomu kasety na kasecie IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay, ponieważ spowoduje to uzyskanie z kasety mniej niż 100 testów.

Umieścić kasetę na tacy odczynników i odczekać co najmniej 40 minut przed rozpoczęciem oznaczenia. Po wyjęciu kasety z tacy odczynników należy ją przechowywać w ciemnym pomieszczeniu w pozycji pionowej, w temperaturze 2–8°C.

Kalibratory

Oznaczenia IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} było wzorcowane wobec wzorców wewnętrznych, które dopasowano do walidowanego oznaczenia 1,25-dihydroksywitaminy D metodą LC-MS/MS.

Kalibratory IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} są liofilizowane. Przygotować kalibratory według poniższej procedury:

- Upewnić się, że kalibratory zostały zrównoważone do temperatury pokojowej (18–25°C).
- Bezpośrednio przed użyciem do każdej butelki dodać 1,2 mL wody destylowanej lub dejonizowanej.
- Ponownie zamknąć korkiem. Odstawić fiołki na 10 minut w temperaturze pokojowej (18–25°C).
- Mieszać na mieszadle wibracyjnym przez 2–3 sekundy i delikatnie wymieszać przez odwracanie, aby zagwarantować całkowite rozpuszczenie odczynnika.
- W celu kalibracji w trzech powtórzeniach przenieść około 750 µL kalibratorów (180 µL na powtórzenie) do mikroprobówek polipropylenowych o pojemności 2 mL ze stożkową podstawą oraz zakręcaną zatyczką, umieścić w systemie w ciągu 15 minut od rozpuszczenia i oznaczyć w ciągu 3 godzin. Kalibratory nie są poddawane procedurze oczyszczania.
- Unikać tworzenia piany na każdym etapie.
- Należy postępować zgodnie z instrukcjami zawartymi w podręczniku użytkownika systemu IDS-iSYS.

Częstotliwość kalibracji

Przeprowadzenie nowej kalibracji jest wymagane w następujących sytuacjach:

- Po załadowaniu każdej nowej serii kaset.
- Jeśli wartości próbek kontrolnych nie mieszczą się w zdefiniowanych zakresach.
- Po upływie 21 dni od poprzedniej kalibracji.
- Po naprawie serwisowej systemu.

Weryfikacja kalibracji jest procesem automatycznym, prowadzonym przez System.

Kalibracja systemu

Do wykonania dostosowania krzywej wzorcowej wymagane jest użycie dwóch kalibratorów IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Kalibratory dostarczane są wraz z zestawem i nie należy stosować kalibratorów z innych serii. W celu walidacji dostosowania krzywej wzorcowej wszystkie poziomy IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) MUSZĄ być oznaczane jednocześnie z kalibratorami.

Wszystkie dane wymagane do kalibracji kasety można znaleźć na płycie mini CD. Użyć kalibratorów poziomu A oraz B do dostosowania krzywej wzorcowej do odczynników znajdujących się w Systemie. Sprawdzić obecność kaset do oznaczenia IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction oraz Immunoassay na tacy odczynników i dostępność krzywej wzorcowej kasety w bazie danych. Jeśli dane dotyczące serii kalibratorów nie są dostępne w Systemie, należy je wczytać, korzystając z płyty mini CD dostarczonej z zestawem odczynników.

Rozpocząć kalibrację oznaczenia immunologicznego w Systemie zgodnie z podręcznikiem użytkownika Systemu. Kalibracja jest przeprowadzana przy użyciu 3 powtórzeń na każdy poziom. Możliwe jest usunięcie jednego powtórzenia w celu spełnienia wymagań kalibracyjnych. W celu kalibracji oznaczenia należy również oznaczyć w powtórzeniu wszystkie poziomy kontroli. Sprawdzić i zatwierdzić kalibrację zgodnie ze stanem kalibracji wyświetlanym w oknach kalibracji i odrzucić pozostałą objętość kalibratorów i kontroli z tacy próbek po użyciu.

9. Kontrola jakości

Do kontroli jakości użyć zestawu kontroli IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. W celu zapewnienia ważności wyników należy oznaczyć przynajmniej dwie kontrole zawierające różne stężenia 1,25(OH)₂D. Oprócz zestawu kontroli IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set można użyć innego odpowiedniego materiału kontrolnego. Kontrole należy oznaczać podczas (lub w pobliżu) rozpoczęcia każdej serii zawierającej próbki pacjenta, a także podczas każdej kalibracji zgodnie z przepisami lokalnymi, krajowymi i unijnymi przepisami oraz wymogami akredytacyjnymi i procedurami jakościowymi danego laboratorium. Informacje dotyczące przygotowania oraz postępowania zawiera instrukcja użycia zestawu IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set.

Oznaczanie stężenia próbki 1,25 dihydroksywitaminy D (1,25(OH)₂D)

Przetwarzać próbki zgodnie z podręcznikiem użytkownika Systemu IDS-iSYS.

10. Obliczanie wyników

Stężenie 1,25(OH)₂D w każdej próbce jest obliczane automatycznie. Wyświetlanie stężeń (na ekranie lub w postaci wydruku) na żądanie użytkownika.

Oznaczenie IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} wykorzystuje dopasowanie 4-parametrowej krzywej logistycznej (4PL) do obliczenia stężeń 1,25(OH)₂D.

Konwersja wyników na wartości w jednostkach układu SI: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Zakres pomiarowy (zakres pomiarowy)

Zakres pomiarowy oznaczenia to 7,5-150 pg/mL (18–360 pmol/L). Każdą wartość poniżej 7,5 pg/mL (18 pmol/L) należy zgłaszać jako „< 7,5 pg/mL” („< 18 pmol/L”).

12. Rozcieńczenie

Próbki zawierające stężenia 1,25(OH)₂D powyżej zakresu pomiarowego powinny być ręcznie rozcieńczone przy użyciu rozcieńczalnika IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) w stosunku 1 do 2. Wyniki dla próbek rozcieńczonych należy pomnożyć o współczynnik rozcieńczenia 2x.

13. Ograniczenia stosowania

- Podobnie jak w przypadku każdej procedury diagnostycznej, wyniki należy interpretować w połączeniu z obrazem klinicznym pacjenta oraz innymi informacjami dostępnymi dla lekarza.
- Nie określono parametrów użytkowych tego oznaczenia w populacji pediatrycznej.
- Przeciwciała heterofilne w surowicy ludzkiej mogą reagować z immunoglobulinami odczynników powodując zakłócenia oznaczeń immunologicznych *in vitro*⁵. Pacjenci rutynowo narażeni na kontakt ze zwierzętami lub produktami z surowic zwierzęcych mogą być podatni na te zakłócenia i w ich przypadku można obserwować wartości nieprawidłowe.
- Następujące substancje nie powodują zakłóceń w teście IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}, gdy stężenia przedstawione w poniższej tabeli są poniżej podanych wartości progowych.

Potencjalny czynnik zakłócający	Stężenie progowe
Albumina	7,5 g/dL
Bilirubina, sprzężona	40 mg/dL
Bilirubina, niesprzężona	40 mg/dL
Biotyna	0,1 mg/dL
Triglicerydy	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobina	500 mg/dL
Czynnik reumatoidalny	7000 IU/mL
Triglicerydy	3000 mg/dL
Acetaminofen	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Karbamazepina	127 µmol/L
Fenytoina	198 µmol/L
Kwas acetylosalicylowy	65 mg/dL
Kwas salicylowy	60 mg/dL

14. Oczekiwane wartości

Poniższe zakresy określono przy użyciu oznaczenia IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} i mają one charakter wyłącznie informacyjny.

Próbki od 121 zdrowych dorosłych mężczyzn i kobiet w wieku 19–69 o mieszanym pochodzeniu etnicznym 34% ciemnoskórych i 66% jasnoskórych) badano przy użyciu oznaczenia IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Próbki pobierano zimą (36%) i latem (64%) od osób o prawidłowych wartościach nietkniętego PTH, wapnia, fosforanu i TSH z południowych i północnych obszarów Stanów Zjednoczonych. 95% przedział referencyjny dla zdrowych dorosłych obliczono metodą nieparametryczną przestrzegając wytycznych z dokumentu CLSI C28-A3 „Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory”.

Uzyskany zakres zdrowych osób dorosłych 15,2 do 90,1 pg/mL (36,5 do 216,2 pmol/L)

15. Dane dotyczące działania

Przedstawiane dane dotyczące działania oznaczenia są wartościami reprezentatywnymi. Wyniki uzyskiwane w poszczególnych laboratoriach mogą się różnić.

15.1 Czułość

Zgodnie z normą CLSI EP17-A, „Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation” określono granicę próby ślepej (LoB), granicę detekcji (LoD) i granicę oznaczalności (LoQ).

Czułość	Stężenie 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (granica próby ślepej)	2,5	6,0
LoD (granica detekcji)	4,2	10,1
LoQ (granica oznaczalności)	7,5	18,0

15.2 Precyzja

Precyzję oceniono według zmodyfikowanego protokołu, opartego na wytycznej CLSI EP-5A2, „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods”. Łącznie 6 próbek surowicy oznaczano w dwóch powtórzeniach, dwa razy dziennie przez 7 dni przy użyciu seria odczytników jedna seria na system.

Próbka	n	Średnia		Powtarzalność			Łącznie		
		pg/mL	pmol/L	SD	CV%	SD	CV%	pg/mL	pmol/L
Surowica 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Surowica 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Surowica 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Surowica 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Kontrole 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Kontrole 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Liniowość

Liniowość oceniono zgodnie z wytyczną CLSI EP-6A, „Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures”. Próbki zostały przygotowane przed oznaczeniem przez rozcieńczenie próbek pacjentów o wysokim stężeniu próbkami o niskim stężeniu. Równanie regresji liniowej obserwowanych stężeń w porównaniu ze stężeniami oczekiwanymi (Oczekiwane = Nachylenie x Obserwowane ± Przecięcie) jest następujące:

Nachylenie	Przecięcie	Współczynnik regresji (R ²)
1,08	-6,5	0,99

15.4 Porównanie metod

Oznaczenie IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} porównano z dostępnym na rynku oznaczeniem ilościowym IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D, zgodnie z wytyczną CLSI EP-9A2, „Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples”. Z wykorzystaniem każdej metody oznaczono łączną liczbę 105 próbek wybranych w celu odzwierciedlenia szerokiego zakresu stężeń 1,25(OH)₂D [11,4–150 pg/mL (27,4–360 pmol/L)]. Dane porównawcze zostały poddane analizie regresji Passing-Bablok:

n	Nachylenie	Przecięcie		Współczynnik korelacji (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Swoistość

Następujące egzogenne metabolity syntetycznej witaminy D lub związki lekowe witaminy D dodano do próbek surowicy i badano przy użyciu oznaczenia IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}.

Analit	Reaktywność krzyżowa (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D ₃)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D ₂)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Użyte symbole



Numer katalogowy



Wyrób do diagnostyki *in vitro*



Producent



Stosowano zgodnie z dyrektywą 98/79/EC

Rx Only

Przeostoga: Prawo federalne USA zezwala na sprzedaż tego wyrobu lekarzowi lub na zlecenie lekarza posiadającego prawo wykonywania zawodu.

17. Piśmiennictwo

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Faks: +44 191 519 0760
e-mail: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Faks: +1 301 990 4236
e-mail: info.us@idsplc.com

Francja Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Faks: +33 140 770 455
e-mail: info.fr@idsplc.com

Belgia Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Faks: +32 425 251 96
e-mail: info.be@idsplc.com

Niemcy Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Faks: +49 693 085 5125
e-mail: info.de@idsplc.com

Skandynawia Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s),
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel.: +45 448 400 91
e-mail: info.nordic@idsplc.com

Brazylia IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edificio Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel.: +55 113 740 6100 • Faks: + 55 113 740 6105
e-mail: info.br@idsplc.com

1. Namjena

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

Test IDS-iSYS1,25 VitD^{xp} je *in vitro* dijagnostički uređaj koji služi za kvantitativno određivanje 1,25-dihidroksivitamina D [1,25(OH)₂D] u humanom serumu u sustavu IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Rezultati će se koristiti kao pomoć u procjeni nedostatka vitamina D.

Rx only.

2. Sažetak i objašnjenje

Postoje dva oblika vitamina D: vitamin D₃ i vitamin D₂. Vitamin D₃, kolekalciferol, je vitamin D koji se prirodno javlja te se stvara u koži nakon izlaganja 7-dehidrokolesterola sunčevom ultraljubičastom zračenju¹. Vitamin D₂ proizvodi se ultraljubičastim ozračivanjem ergosterola iz kvasca. Oba se vitamina upotrebljavaju u nadomjescima za vitamin D. Vitamin D biološki je neaktivan spoj ali ulazi u krvotok i hidroksilira u jetrima na 25-hidroksivitamin D [25(OH)D], koji se koristi kako bi se utvrdilo stanje vitamina D u pacijenta.

25(OH)D se u bubrezima dalje hidroksilira te nastaje biološki aktivan metabolit, 1,25(OH)₂D¹. 1,25(OH)₂D jedan je od glavnih regulatora metabolizma kalcija i fosfata, stimulira crijevnu apsorpciju kalcija te povećava resorpciju u kostima. 1,25(OH)₂D također inhibira proizvodnju paratireoidnog hormona (PTH), kako izravno, djelovanjem na paratireoidne žlijezde, tako i posredno, podizanjem razine kalcija u serumu. Sama proizvodnja vitamina 1,25(OH)₂D stimulira se paratireoidnim hormonom (PTH), čime se osigurava učinkovita kontrolna petlja¹. Faktor rasta fibroblasta 23 [FGF-23], koji se izlučuje iz kosti, uzrokuje da se suprijenosnik natrija i fosfata internalizira u stanicama bubrega i tankom crijevu te smanjuje sintezu 1,25(OH)₂D².

U sekundarnom hiperparatireoidizmu, bolesti izvan paratireoidnih žlijezda uzrokuje uvećanje i hiperaktivnost paratireoidnih žlijezda. To se najčešće događa zbog zatajenja bubrega, stanja gdje bubreg nije u mogućnosti očistiti krv od fosfora koji proizvodi tijelo i ne može proizvesti dovoljno vitamina D, a posebno 1,25(OH)₂D – aktivnog oblika vitamina D. Nakupljanje fosfora dovodi do niske razine kalcija u krvi, što stimulira paratireoidne žlijezde da povećaju proizvodnju paratireoidnih hormona (PTH) što u konačnici dovodi do uvećanja žlijezda. Kako bolest napreduje, paratireoidne žlijezde više ne reagiraju normalno na kalcij i vitamin D. Razlog za izravnu aktiviranu terapiju vitaminom D u CKD-u je usporavanje napredovanja sekundarnog hiperparatireoidizma. U smjernicama kliničke prakse poput „Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)“ i „Kidney Disease: Improving Global Outcomes, (KDIGO)“ preporučuje se terapija aktiviranim vitaminom D za bolesnike s CKD-om^{3,4}.

3. Opis metode

Komplet IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} kompletan je sustav ispitivanja koji obuhvaća imunoekstrakciju 1,25-dihidroksivitamina D u humanom serumu i kvantitativno određivanje razina vitamina 1,25(OH)₂D u sustavu IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (Sustav).

218 µL uzorka pacijenta delipidira se u kiveti 1, a potom inkubira s magnetskim česticama obloženim specifičnim anti-1,25(OH)₂D protutijelima. Nakon inkubacije magnetske se čestice ispiru, a eluira se 1,25(OH)₂D u uzorku pacijenta. 180 µL ekstrahiranog uzorka 1,25(OH)₂D prebacuje se u kivetu 2 gdje se odvija postupak imunotestiranja na temelju kemiluminiscencijske tehnologije.

180 µL pročišćenog uzorka inkubira se u kiveti 2 s biotiliranom ovčjim anti-1,25(OH)₂D protutijelom. Nakon prvog inkubacijskog koraka dodaje se konjugat 1,25(OH)₂D obilježen akridinijem, a potom slijedi drugi inkubacijski korak. Zatim se prije trećeg inkubacijskog koraka dodaju magnetske čestice obilježene streptavidinom. Magnetske čestice hvataju se pomoću magneta te se provodi korak pranja radi uklanjanja nevezanog 1,25(OH)₂D. Dodaju se reagensi okidača; rezultirajuća svjetlost koju emitira akridinijaska oznaka obrnuto je proporcionalna koncentraciji 1,25(OH)₂D u izvornom uzorku.

4. Upozorenja i mjere opreza

IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} služi za *in vitro* dijagnostičku uporabu i nije namijenjen za unutarnju primjenu u ljudi ili životinja. Ovaj proizvod mora se koristiti isključivo u skladu s uputama navedenim u ovim uputama za uporabu. Tvrtka Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) neće biti odgovorna ni za kakav gubitak ili oštećenje (osim u slučajevima propisanim zakonom) iz bilo kojeg razloga koji proizlazi iz nepoštivanja priloženih uputa.

OPREZ: Ovaj komplet sadrži materijale životinjskog podrijetla. Postupajte s reagensima iz kompleta kao potencijalnim prenositeljima zaraze. Prilikom skladištenja, rukovanja i zbrinjavanja reagensa iz kompleta potrebno je primijeniti odgovarajuće mjere opreza i dobru laboratorijsku praksu. Zbrinjavanje reagensa iz kompleta potrebno je provesti u skladu s lokalnim propisima.

Humani materijali

Humani materijal korišten u pripremi ovog proizvoda ispitan je u skladu s preporukama Američke udruge za hranu i lijekove na prisustvo antitijela na virus humane imunodeficijencije (HIV I i II), površinski antigen hepatitisa B i antitijela na hepatitis C te su svi rezultati bili negativni. Budući da nijedan test ne može osigurati potpunu sigurnost da nema infektivnih agensa, s reagensima je potrebno postupati sukladno biološkoj sigurnosti razine 2.

Reagensi koji sadrže natrijev azid

Neki reagensi u ovom kompletu sadrže natrijev azid (NaN₃) < 0,1 % (w/w) koji može reagirati s olovnim, bakrenim ili mjedenim cijevima, pri čemu mogu nastati visoko eksplozivni metalni azidi. Stoga, prilikom izlijevanja u slivnik isperite s velikom količinom vode, kako biste spriječili nakupljanje azida.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Mjere opreza pri rukovanju

Osim kalibratora, koji su liofilizirani, reagensi sadržani u kompletu spremni su za uporabu. Metodologiju rekonstitucije potražite u odjeljku o kalibratoru u postupku.

Prije nego što se novi uložak umetne u Sustav, operater mora promiješati spremnik s magnetskim česticama brzim kružnim pokretom. Time će se ponovno suspendirati magnetske čestice koje su se tijekom isporuke spustile. Potrebno je pripaziti da ne dođe do stvaranja pjene u ulošku reagensa.

Rok trajanja i čuvanje reagensa

Pohranite uložak i kalibratore u **uspravnom** položaju na tamnom mjestu na temperaturi 2 – 8 °C. Uložak i kalibratori **ne smiju se zamrzavati**.

Rok trajanja reagensa	Uložak za imunoextraction	Uložak za imunotestiranje	Kalibratori
Prije otvaranja na 2 – 8 °C	Do isteka roka valjanosti		
Uložak, nakon otvaranja na 2 – 8 °C	N/D	56 dana	N/D
Kalibratori, nakon otvaranja na 2 – 8 °C	N/D	N/D	6 sati
U okviru Sustava*	28 dana	49 dana	3 sati

* Kontinuirana stabilnost u okviru sustava

6. Prikupljanje i čuvanje uzoraka

Test treba izvoditi pomoću uzoraka seruma (standardne epruvete za uzorkovanje ili epruvete koje sadrže gel za razdvajanje seruma).

- Uzorke treba odvojiti što je prije moguće nakon uzimanja.
- Nakon odvajanja uzorci se mogu čuvati maksimalno 24 sata na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) ili do 7 dana na 2 – 8 °C. Ako je potrebno dulje vrijeme između odvajanja i ispitivanja, uzorci se trebaju čuvati na –20 °C.
- Uzorci se mogu čuvati na –20 °C do 2,5 mjeseca, nakon čega se trebaju čuvati na –80 °C.
- Uzorci mogu proći do 2 ciklusa zamrzavanja i odmrzavanja te se moraju potpuno odmrznuti i dobro promiješati prije umetanja u instrument.
- Uzorci su stabilni u sklopu analizatora maksimalno 3 sata.

Napomena:

- Uzorci koji sadrže čestičnu tvar moraju su centrifugirati prije provođenja testa. Ne upotrebljavajte uzorke inaktivirane toplinom.
- Uzorke, kalibratore i kontrole potrebno je izmjeriti u roku od 3 sati od postavljanja u Sustav radi smanjivanja mogućih učinaka isparavanja.
- Svaki laboratorij mora slijediti upute ili preporuke lokalnih, državnih i/ili saveznih pravilnika ili akreditiranih organizacija za uspostavljanje vlastite stabilnosti pri rukovanju uzorcima i njihovom skladištenju. Za upute o odgovarajućim praksama proučite CLSI GP44-A4, „Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests“.
- Prije obavljanja testova, provjerite jesu li uzorci, kalibratori i kontrole na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C).
- Pojedine epruvete za uzimanje uzoraka koje su dostupne na tržištu u pojedinim slučajevima mogu utjecati na rezultate ispitivanja.
- Preporučuje se da slijedite upute proizvođača epruveta, pogotovo pri obradi uzoraka u primarnim epruvetama.
- Centrifugirani uzorci s lipidnim slojem na vrhu moraju se prenijeti u čašicu za uzorke ili sekundarnu epruvetu. Treba voditi računa o tome da se prenose samo izbistreni uzorci bez lipemičnog materijala.
- **Uzorci se MORAJU uravnotežiti na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C) prije umetanja u Sustav kako bi se optimizirao korak delipidacije.**

7. Materijali

Isporučeni materijali

Uložak Immunoextraction, 2 uložka od 50 testova

MPA1	Magnetske čestice obložene monoklonskim antitijelom za 1,25(OH) ₂ D, 1 bočica od 2,8 mL.
DEL	Reagens za delipidaciju, otopina dekstran-sulfata i magnezijevog klorida, 1 bočica, 2,6 mL.
DIS	Reagens zamjenjivača, vlastiti reagens za rastavljanje 1,25(OH) ₂ D od veznih proteina s natrijevim azidom kao konzervansom (< 0,1 %), 1 bočica, 18,7 mL.
ELU	Reagens za ispiranje, otopina natrijeva hidroksida, 1 bočica, 13,0 mL.
NET	Reagens za neutralizaciju, otopina limunske kiseline, 1 bočica, 3,4 mL.
BUF	Pufer za test, pufer MOPS koji sadrži goveđi serumski albumin, 1 bočica, 9 mL po bočici.

Uložak Immunoassay, 1 uložak od 100 testova

MPS3	Magnetske čestice obložene streptavidinom u fosfatnom puferu sadrže goveđi serumski albumin s natrijevim azidom kao konzervans (< 0,1 %), 1 bočica, 2,6 mL.
CONJ	Konjugat, 1,25(OH) ₂ D obilježen derivatom akridinij estera u fosfatnom puferu, sadrži goveđi serumski albumin i natrijev azid kao konzervans (< 0,1 %), 1 bočica, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Antitijelo-Biotin, anti-1,25(OH) ₂ D poliklonsko antitijelo obilježeno biotinom u fosfatnom puferu sadrži ovčje proteine i natrijev azid kao konzervans (< 0,1 %), 1 bočica 13 mL.
BUFD	Pufer za pranje, 1%-tni vlastiti deterdžent u azidu PBS-a s natrijevim azidom kao konzervansom (< 0,1 %), 1 bočica, 35 mL po bočici.

Kalibratori

CAL A	Liofilizirani MOPS pufer sadrži goveđi serumski albumin, 1,25(OH) ₂ D i natrijev azid kao konzervans (< 1,0 %), 3 uzorka za svaku od 2 razine koncentracije, 1,2 mL po bočici.
CAL B	

Mini CD

Sadrži upute za uporabu reagensa IDS-iSYS, datoteke CRY i Certifikat o analizi.

Potrebni materijali koji nisu isporučeni

Sustav	Dodatna oprema / materijali
IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution
	IS-2035 IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
	IS-10DA IDS-iSYS Diluent A
	IS-XP01 IDS-iSYS XPrep
	Mikro epruvete s navojnim čepom od jednokratnog polipropilena, 2 mL, konične zaobljene baze od 10,8 mm i navojni čep s O-prstenom (Sarstedt 72.609 i 65.716 ili ekvivalent)
	Uređaji za precizno pipetiranje

8. Postupak analize

Uložak reagensa Immunoextraction

Reagensi dostavljeni u uložku spremni su za uporabu. Prije nego što novi spremnik uloži u okvir Sustava, spremnik magnetskih čestica mora se potpuno ponovno suspendirati. Magnetske čestice mogu se pripremiti koristeći jednu od sljedećih opcija, izbjegavajući stvaranje pjene:

Ručno:

- Bočice s magnetskim česticama žustro pomiješajte između dlanova u pokretima naprijed-natrag dok se boja suspendiranih čestica ne promijeni u smeđu.
- Nježno i pažljivo preokrenite bočicu s magnetskim česticama dok se sve magnetske čestice nakupljene na dnu bočice ponovno ne suspendiraju.
- Vizualno provjerite dno bočice magnetskih čestica kako biste potvrdili da su sve magnetske čestice potpuno raspršene.
- Ponovite preokretanje bočice koliko god puta je potrebno, dok se magnetske čestice u potpunosti ponovno ne suspendiraju.
- Vodite računa da se u ulošcima reagensa ne stvara pjena.

Okretni stalak za epruvete za ispitivanje/krv:

- Nježno i pažljivo izvadite bočicu s česticama iz plastičnog omota.
- Postavite bočicu s česticama na nosač testa/krvi.
- Okrećite bočicu na 10 – 20 okretaja u minuti tijekom 15 minuta na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C).
- Vizualno provjerite dno bočice magnetskih čestica kako biste potvrdili da su sve magnetske čestice potpuno raspršene.
- Ponovite preokretanje bočice koliko god puta je potrebno, dok se magnetske čestice u potpunosti ponovno ne suspendiraju.
- Vodite računa da se u ulošcima reagensa ne stvara pjena.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku za IDS-iSYS XPrep.

Barkod se očitava kada se uložak umetne na ladicu za reagense. Ako čitač barkoda u Sustavu ne može pročitati oznaku, postoji način za ručni unos podataka s barkoda (pogledajte Priručnik za korisnike sustava IDS-iSYS). Nakon što stavite uložak na ladicu za reagense, Sustav automatski obavlja miješanje magnetskih čestica te održava homogenost.

Ne ispitujte razinu uložka na ulošku IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoextraction jer će se na taj način dobiti manje od 50 testova iz uložka.

Uložak treba biti postavljen na ladicu za reagense najmanje 60 minuta prije početka testa. Ostavite imunoekstrakcijske reagense uložaka u okviru Sustava dok se uložak potpuno ne isprazni.

Uložak reagensa Immunoassay

Reagensi dostavljeni u ulošku spremni su za uporabu. Prije umetanja novog uložka u okvir Sustava, izmiješajte spremnik magnetskih čestica žustrim kružnim pokretima držeći ga između dlanova. Pripazite da ne dođe do stvaranja pjene.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Upute za uporabu potražite u korisničkom priručniku za IDS-iSYS XPrep.

Barkod se očitava kada se uložak umetne na ladicu za reagense. Ako čitač barkoda u Sustavu ne može pročitati oznaku, postoji način za ručni unos podataka s barkoda (pogledajte Priručnik za korisnike sustava IDS-iSYS). Nakon što stavite uložak na ladicu za reagense, Sustav automatski obavlja miješanje magnetskih čestica te održava homogenost.

Ne ispitujte razinu uložka na ulošku IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoassay jer će se na taj način dobiti manje od 100 testova iz uložka.

Uložak treba biti postavljen na ladicu za reagense najmanje 40 minuta prije početka testa. Ako uložak je uklonjen iz ladice reagensa, pohranite spremnik uspravno na 2 – 8 °C na tamnom mjestu.

Kalibratori

Test IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} standardiziran je u odnosu na referentne standarde koji se koriste u ustanovi i koji su usklađeni s potvrđenom metodom tekućinske kromatografije – masene spektrometrije (LC-MS/MS) 1,25-dihidroksivitamina D.

Kalibratori IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} su liofilizirani. Pripremite kalibratore slijedeći postupak u nastavku:

- Osigurajte da su kalibratori uravnoteženi sa sobnom temperaturom (18 – 25 °C).
- Odmah prije uporabe dodajte 1,2 mL destilirane ili deionizirane vode u svaku bocu.
- Vratite čep. Pričekajte da bočice odstoje 10 minuta na sobnoj temperaturi (18 – 25 °C).
- Izmiješajte vortex miješalicom 2 – 3 sekundi; nježno ih preokrenite da bi se osigurala potpuna rekonstitucija.
- Prenesite 750 µL za kalibraciju u tri primjerka (180 µL po replikatu) kalibratora u 2 mL mikro epruvete od polipropilena s navojnim čepom i postavite u Sustav u roku od 15 minuta od rekonstitucije te izmjerite u roku od 3 sata. Kalibratori ne prolaze postupak čišćenja
- Tijekom svakog koraka pripazite da ne dođe do stvaranja pjene.
- Postupite prema uputama u korisničkom priručniku sustava IDS-iSYS.

Učestalost kalibracije

Nova kalibracija je potrebna:

- Nakon svakog umetanja nove serije uložaka.
- Kada su kontrolne vrijednosti izvan definiranih raspona.
- Kada istekne razdoblje od 21 dana.
- Nakon servisiranja Sustava.

Provjera kalibracije je automatska i njome upravlja Sustav.

Kalibracija Sustava

Za prilagodbu glavne krivulje potrebna su dva kalibratora IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP}. Kalibratori se isporučuju zajedno s kompletom te se ne smiju upotrebljavati kalibratori iz drugog kompleta. Sve razine IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set (IS-2030) MORAJU se mjeriti u isto vrijeme kao i kalibratori za provjeru prilagodbe glavne krivulje.

Svi podaci potrebni za kalibraciju uložaka nalaze se na mini CD-u. Za podešavanje glavne krivulje prema reagensu u okviru Sustava koristite razine kalibratora A i B. Provjerite prisutnost uložaka IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Immunoextraction i Immunoassay na ladici za reagense i dostupnosti glavne krivulje uložka u bazi podataka. Ako podaci za serije kalibratora nisu dostupni u okviru sustava, učitajte podatke s mini CD-a isporučenog s priborom reagensa.

Započnite kalibraciju imunotestiranja u Sustavu prema korisničkom priručniku Sustava. Kalibracija se izvodi pomoću 3 replikata svake razine. Jedan replikat može se ukloniti kako bi se zadovoljile potrebe kalibracije. Sve razine kontrole moraju se mjeriti u dva primjerka za kalibraciju Sustava. Nakon uporabe provjerite i odobrite kalibraciju u skladu sa stanjem kalibracije koje se prikazuje se kalibracijskom prozorom te odložite preostalu količinu kalibratora i kontrola iz ladice s uzorkom.

9. Kontrola kvalitete

Koristite IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set za kvalitetu kontrole. Potrebno je izmjeriti najmanje dvije kontrole različitih razina 1,25(OH)₂D kako bi se osigurala valjanost rezultata. Uz IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set može se upotrijebiti i ostali odgovarajući kontrolni materijal. Kontrole treba testirati na početku (ili približno) svake serije koja sadrži uzorke pacijenta te također tijekom svake kalibracije u skladu s lokalnim, državnim i/ili saveznim propisima ili uvjetima akreditiranja i postupcima osiguranja kvalitete u vašem laboratoriju. Za postupke pripreme i rukovanja pogledajte upute za uporabu IDS-iSYS 1,25 VitD^{XP} Control Set.

Utvrđivanje razina uzorka 1,25 dihidroksivitamina D (1,25(OH)₂D)

Uzorke obradite prema uputama u korisničkom priručniku Sustava IDS-iSYS.

10. Izračun rezultata

Koncentracija 1,25(OH)₂D unutar svakog uzorka izračunava se automatski. Prikaz koncentracija (na zaslonu ili tiskano) proizvodi se na zahtjev korisnika.

Test IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} koristi opisivanje podataka 4-parametarskom logističkom (4PL) krivuljom za izračun koncentracija 1,25(OH)₂D.

Za pretvaranje rezultata u SI jedinica: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Raspon mjerenja (izvještajni raspon)

Izvještajni raspon testa je 7,5 – 150 pg/mL (18 – 360 pmol/L). Bilo koja vrijednost ispod 7,5 pg/mL (18 pmol/L) izvještava se kao „< 7,5 pg/mL“ („< 18 pmol/L“).

12. Razrjeđivanje

Uzorci s koncentracijama 1,25(OH)₂D koje su iznad izvještajnog raspona trebaju se razrijediti ručno pomoću IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) u omjeru 1 naprama 2. Rezultati razrijeđenih uzoraka moraju se pomnožiti 2x faktorom razrjeđivanja.

13. Ograničenja korištenja

- Kao i u slučaju bilo kojeg dijagnostičkog postupka, rezultati se moraju tumačiti u kombinaciji s bolesnikovom kliničkom slikom i ostalim informacijama koje su dostupne liječniku.
- Karakteristike učinkovitosti ovog testa nisu utvrđene za pedijatrijsku populaciju.
- Heterofilna antitijela u humanom serumu mogu reagirati s imunoglobulinom reagensa, ometajući *in vitro* imunotestiranje⁵. Bolesnici koji su redovito u doticaju sa životinjama ili proizvodima životinjskog seruma mogu biti skloni ovoj smetnji te se mogu uočiti nepravilne vrijednosti.
- Sljedeće tvari ne ometaju test IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} kada su koncentracije prikazane u tablici u nastavku ispod navedenog praga.

Sredstva koja potencijalno ometaju rezultate	Prag koncentracije
Albumin	7.5 g/dL
Bilirubin, konjugirani	40 mg/dL
Bilirubin, nekonjugirani	40 mg/dL
Biotin	0.1 mg/dL
Kolesterol, ukupno	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobin	500 mg/dL
Reumatoidni faktor	7000 IU/mL
Trigliceridi	3000 mg/dL
Acetaminofen	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Karbamazepin	127 µmol/L
Fenitoin	198 µmol/L
Acetilsalicilna kiselina	65 mg/dL
Salicilna kiselina	60 mg/dL

14. Očekivane vrijednosti

Sljedeći rasponi utvrđeni su pomoću testa IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} i služe samo kao informacija.

Uzorci 121 naizgled zdravih odraslih muškaraca i žena u dobi 19 – 69 godina iz miješanih etničkih skupina (34 % tamnoputih i 66 % svijetloputih) testirani su pomoću IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Uzorci su prikupljeni tijekom zime (36 %) i ljeta (64 %) od pojedinaca s normalnim i netaknutim vrijednostima PTH-a, kalcija, fosfora i TSH-a iz sjevernih i južnih predjela Sjedinjenih Američkih Država. 95 %-tni referentni raspon za naizgled zdrave odrasle osobe izračunat je neparametarskom metodom prema smjernicama iz CLSI C28-A3 „Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory“.

Dobiveni raspon za normalne odrasle osobe: 15,2 do 90,1 pg/mL (36,5 do 216,2 pmol/L)

15. Podaci o izvedbi

Prikazani su reprezentativni podaci o izvedbi. Rezultati dobiveni u pojedinim laboratorijima mogu se razlikovati.

15.1 Osjetljivost

Ograničenje slijepe probe (LoB), granica otkrivanja (LoD) i granica kvantifikacije (LoQ) utvrđene su u skladu sa smjernicom iz CLSI EP17-A, „Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation“.

Osjetljivost	Koncentracija 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (Ograničenje slijepe probe)	2,5	6,0
LoD (Granica otkrivanja)	4,2	10,1
LoQ (Granica kvantifikacije)	7,5	18,0

15.2 Preciznost

Preciznost je procijenjena prema modificiranom protokolu koji se temelji CLSI EP-5A2, „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods“. Sveukupno je testirano 6 uzoraka u dva primjerka, dvaput dnevno u tijeku od 7 dana pomoću jedna serija reagensa u jedan sustav, jedna serija po sustavu.

Uzorak	n	Srednje		Ponovljivost			Ukupno		
		pg/mL	pmol/L	SD pg/mL	SD pmol/L	CV %	SD pg/mL	SD pmol/L	CV %
Serum 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Serum 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Serum 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Serum 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Kontrole 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Kontrole 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearnost

Linearnost je procijenjena prema CLSI EP-6A, „Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures“. Uzorci su pripremljeni razrjeđivanjem uzoraka bolesnika visokim vrijednostima s uzorcima niskih vrijednosti prije testa. Linearna regresija Uočenih koncentracija naspram Očekivanih koncentracija (Očekivano = nagib x Uočeno ± sjecište) je sljedeća:

Nagib	Sjecište		Koeficijent regresije (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Usporedba metoda

Test IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} uspoređen je s kvantitativnim testom 1,25-dihidroksivitamina D IDS-iSYS dostupnim na tržištu, slijedeći CLSI EP-9A2, „Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples“. Sveukupno 105 uzoraka, odabranih da predstavljaju širok raspon koncentracija 1,25(OH)₂D [11,4 – 150 pg/mL (27,4 – 360 pmol/L)], testirano je svakom metodom. Passing-Bablok regresija izvršena je na usporednim podacima:

n	Nagib	Sjecište		Koeficijent korelacije (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Specifičnost

Sljedeći egzogeni sintetički metaboliti vitamina D ili spojevi lijeka vitamina D ubačeni su u uzorke seruma i izmjereni pomoću testa IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}.

Analit	Unakrsna reaktivnost (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Korišteni simboli



Kataloški broj



In Vitro dijagnostički uređaj



Proizvođač



Primjenjuje se u skladu s direktivom 98/79/EC

Rx Only

Oprez: Prema američkom saveznom zakonu ovaj uređaj može prodavati samo (ovlašteni zdravstveni stručnjak) ili se uređaj može prodavati prema njegovu nalogu

17. Bibliografija

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Faks: +44 191 519 0760
e-pošta: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

SAD Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Faks: +1 301 990 4236
e-pošta: info.us@idsplc.com

Francuska Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Faks: +33 140 770 455
e-pošta: info.fr@idsplc.com

Belgija Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Faks: +32 425 251 96
e-pošta: info.be@idsplc.com

Njemačka Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH), Mainzer
Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Faks: +49 693 085 5125
e-pošta: info.de@idsplc.com

Skandinavija Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s).
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel.: +45 448 400 91
e-pošta: info.nordic@idsplc.com

Brazil IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel.: +55 113 740 6100 • Faks: + 55 113 740 6105
e-pošta: info.br@idsplc.com

1. Paredzētā lietošana

Paredzēts lietošanai *in vitro* diagnostikā

IDS-iSYS1,25 VitD^{Xp} tests ir *in vitro* diagnostikas ierīce, kura paredzēta kvantitatīvai 1,25-di-hidroksi vitamīna D [1,25(OH)₂D] noteikšanai cilvēka serumā, izmantojot IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Rezultāti ir jāizmanto kā palīgīdzejklis D vitamīna deficīta noteikšanā.

Rx only.

2. Kopsavilkums un skaidrojums

Ir divas vitamīna D formas: vitamīns D₃ un vitamīns D₂. Vitamīns D₃, holekalciferols, ir dabā sastopams vitamīns D, kas veidojas ādā pēc tam, kad 7-dehidroholesterolu tiek pakļauts saules ultravioletā starojuma iedarbībai¹. Vitamīns D₂ tiek gatavots no rauga, pakļaujot ergosterolu ultravioleto staru iedarbībai. Abas formas tiek lietotas kā vitamīna D bagātinātāji. Vitamīna D savienojums ir bioloģiski neaktīvs, bet, nonākot asinīs, tas hidroksilējas aknās 25-hidroksi-vitamīna D [25(OH)D] formā, kas tiek lietota, lai noteiktu pacienta vitamīna D statusu.

Nierēs 25(OH)D turpina hidroksilēties, veidojot bioloģiski aktīvu metabolītu 1,25(OH)₂D¹. 1,25(OH)₂D ir viens no galvenajiem kalcija un fosfāta metabolisma regulētājiem, kas stimulē kalcija absorbciju zarnās un palielina kaulu rezorbciju. 1,25(OH)₂D inhibē arī paratiroīdā hormona (PTH) veidošanos, gan tieši iedarbojoties uz epitēlijķermenīšu dziedzeriem, gan netieši paaugstinot kalcija līmeni serumā. 1,25(OH)₂D veidošanos stimulē paratiroīdais hormons (PTH), tādējādi nodrošinot efektīvu kontroles cilpu¹. Fibroblastu augšanas faktors 23 [FGF-23], sekretējoties no kaula, izraisa nātrija fosfāta saistošā transportiera uzsūkšanos nieru un tievās zarnas šūnās, kā arī nomāc 1,25(OH)₂D sintēzi².

Sekundārajā hiperparatireozē slimība ārpus epitēlijķermenīšiem izraisa epitēlijķermenīšu dziedzeru palielināšanos un hiperaktivitāti. To parasti izraisa nieru mazspēja — stāvoklis, kurā nieres nespēj attīrīt asinis no fosfora, ko rada organisms, un nespēj ražot pietiekami daudz vitamīna D, precīzāk 1,25(OH)₂D — aktīvo vitamīna D formu. Uzkrātais fosfors pazemina kalcija līmeni asinīs, kas stimulē epitēlijķermenīšu dziedzerus sekmēt paratiroīdā hormona (PTH) veidošanos, kā rezultātā notiek dziedzeru palielināšanās. Slimībai progresējot, epitēlijķermenīšu dziedzeri vairs nespēj normāli reaģēt uz kalciju un vitamīnu D. Pamatojums tiešai aktivizēta vitamīna D terapijai CKD ir sekundārās hiperparatireozes progresēšanas palēnināšana. Klīniskās prakses vadlīnijas, piemēram, „Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)” un „Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)”, iesaka aktivizēta vitamīna D terapijas kursu CKD pacientiem^{3,4}.

3. Metodes apraksts

IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} komplekts ir pilnīga testa sistēma, kas ietver 1,25-di-hidroksi vitamīna D imunoekstrāciju cilvēka serumā un kvantitatīvu 1,25(OH)₂D līmeņu noteikšanu, izmantojot IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (Sistēma).

1. kivetē tiek veikta lipīdu atdalīšana 218 μL pacienta paraugam, pēc tam tas tiek inkubēts ar īpašu anti-1,25(OH)₂D antivielu, kas pārklāta ar magnētiskām daļiņām. Pēc inkubēšanas magnētiskās daļiņas tiek mazgātas un 1,25(OH)₂D tiek eluēts no pacienta parauga. 180 μL no iegūtā 1,25(OH)₂D parauga tiek ievietoti 2. kivetē, kur notiek uz hemiluminiscences tehnoloģiju balstīts imūntests.

2. kivetē 180 μL attīrīto paraugu tiek inkubēti ar biotilētu aitas anti-1,25(OH)₂D antivielu. Pēc pirmā inkubēšanas posma nākamajā inkubēšanas posmā tiek pievienots ar akridīnu marķēts 1,25(OH)₂D konjugāts. Pēc tam, pirms trešā inkubēšanas posma, tiek pievienotas ar streptavidīnu marķētas magnētiskās daļiņas. Magnētiskās daļiņas tiek savāktas ar magnētu, un tiek veikta mazgāšana, lai atdalītu jebkādu nesaisītu 1,25(OH)₂D. Tiek pievienoti ierosinoši reaģenti; iegūtais starojums, kas saistāms ar akridīna marķējumu, ir apgriezti proporcionāls 1,25(OH)₂D koncentrācijai sākotnējā paraugā.

4. Brīdinājumi un piesardzības norādes

IDS-iSYS 1,25VitD^{Xp} ir paredzēts lietošanai tikai *in vitro* diagnostikā, un tas nav paredzēts iekšējai lietošanai cilvēkiem vai dzīvniekiem. Šis produkts jālieto precīzi atbilstoši norādījumiem, kas aprakstīti šajos lietošanas norādījumos. Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) neuzņemas atbildību ne par kādiem zaudējumiem vai bojājumiem (izņemot likumdošanā noteikto), kas radušies jebkādā veidā, neievērojot klāt pievienotos norādījumus.

UZMANĪBU! Šis komplekts satur dzīvnieku izcelsmes materiālu. Ar komplekta reaģentiem rīkojieties tā, lai izvairītos no infekcijas izraisītājiem. Glabājot komplekta reaģentus, rīkojieties ar tiem un likvidējot tos, ir jāievēro atbilstoši piesardzības pasākumi un laba laboratorijas prakse. Komplekta reaģentu likvidēšana jāveic saskaņā ar vietējo likumdošanu.

Cilvēka materiāli

Šī produkta sagatavošanā izmantotais cilvēka materiāls tika testēts, izmantojot Pārtikas un zāļu pārvaldes (FDA — Food and Drug Administration) ieteiktos testus, lai noteiktu cilvēka imūndeficīta vīrusa (HIV I un II) antivielas, hepatīta B vīrusmas antigēna, hepatīta C antivielu klātbūtni, un rezultāts bija negatīvs. Tā kā neviens tests pilnībā nevar nodrošināt, ka nav nekādu infekcijas izraisītāju, ar reaģentiem jārīkojas saskaņā ar 2. biodrošības līmeni.

Nātrija azīdu saturoši reaģenti

Daži reaģenti šajā komplektā satur nātrija azīdu (NaN₃) < 0,1% (w/w), kurš var reaģēt ar svina, kapara vai misiņa santehniku, veidojot ļoti eksplozīvus metāla azīdus. Lai novērstu azīdu uzkrāšanos, pirms likvidēšanas skalojiet ar lielu daudzumu ūdens.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Lietošanas piesardzības norādes

Izņemot liofilizētos kalibrētājus, komplektā esošie reaģenti ir gatavi lietošanai. Informāciju par šķīdināšanas metodoloģiju skatiet sadaļā par kalibrētāju.

Pirms jaunas kasetnes ielādēšanas sistēmā operatoram ar strauju, rotējošu kustību magnētisko daļiņu konteinerā jāsaļauc magnētiskās daļiņas. Šādi tiek atkārtoti suspendētas magnētiskās daļiņas, kuras nosēdušās pārvietošanas laikā. Jāuzmanās no putu veidošanās reaģenta kasetnē.

Reaģentu derīguma termiņš un glabāšana

Kasetni un kalibrētājus glabājiet **vertikālā** stāvoklī tumšā vietā 2–8 °C temperatūrā. **Nesasaldējiet** kasetni un kalibrētājus.

Reaģentu derīguma termiņš	Immunoextraction kasetne	Imūntesta kasetne	Kalibrētāji
Pirms atvēršanas 2–8 °C temperatūrā	Līdz derīguma termiņa beigām		
Kasetne pēc atvēršanas 2–8 °C temperatūrā	Neattiecas	56 dienas	Neattiecas
Kalibrētājs pēc izšķīdināšanas 2–8 °C temperatūrā	Neattiecas	Neattiecas	6 stundas
Sistēmā *	28 dienas	49 dienas	3 stundas

* Nepārtraukta sistēmas stabilitāte

6. Paraugu ņemšana un glabāšana

Tests jāveic, izmantojot seruma (standarta paraugu ņemšanas mēģenes vai mēģenes, kas satur seruma atdalīšanas gēlu) paraugus.

- Paraugi pēc iegūšanas pēc iespējas ātrāk ir jāatdala.
- Pēc atdalīšanas paraugus var glabāt ne ilgāk par 24 stundām istabas temperatūrā (18–25 °C) vai līdz 7 dienām 2–8 °C temperatūrā. Ja ir nepieciešams ilgāks laiks starp atdalīšanu un testēšanu, paraugi jāuzglabā -20 °C temperatūrā.
- Paraugus -20 °C temperatūrā var glabāt līdz 2,5 mēnešiem ilgi, pēc tam tie jāglabā -80 °C temperatūrā.
- Paraugus drīkst pakļaut ne vairāk kā 2 sasaldēšanas un atkausēšanas cikliem, un pirms ielādēšanas instrumentā tiem jābūt pilnībā atkusušiem un labi samaisītiem.
- Paraugi analizatorā paliek stabili ne ilgāk par 3 stundām.

Piezīme.

- Paraugiem, kuri satur sīkas daļiņas, pirms testu veikšanas ir jāveic centrifugēšana. Nelietojiet termiski inaktivētus paraugus.
- Lai samazinātu iztvaikošanas efektu, paraugi, kalibrētāji un kontrolmateriāli jāiemēra 3 stundu laikā kopš ievietošanas sistēmā.
- Katrai laboratorijai jāievēro vadlīnijas un prasības, ko nosaka vietējā, valsts un/vai federālā likumdošana vai akreditācijas organizācijas, lai izveidotu savu paraugu lietošanas un glabāšanas stabilitāti. Ieteikumus par atbilstošu praksi, lūdz, skatiet CLSI GP44-A4, „Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests”.
- Pirms testu veikšanas nodrošiniet, lai paraugi, kalibrētāji un kontrolmateriāli būtu istabas temperatūrā (18–25 °C).
- Dažas komerciāli pieejamas paraugu ņemšanas mēģenes konkrētos gadījumos var ietekmēt testēšanas rezultātus.
- Ieteicams ievērot mēģeņu ražotāju norādījumus, it īpaši gadījumos, kad paraugi tiek apstrādāti primārajās mēģenēs.
- Centrifugētie paraugi ar lipīda slāni augšpusē ir jāpārvieto uz paraugu kausiņu vai otru mēģeni. Jāuzmanās, lai pārvietotu tikai attīrītus paraugus bez lipēmiska materiāla.
- **Pirms ievietošanas sistēmā paraugiem JĀBŪT stabilizētiem atbilstoši istabas temperatūrai (18–25 °C), lai optimizētu lipīdu atdalīšanas posmu.**

7. Materiāli

Nodrošinātie materiāli

Immunoextraction kasetne, 2 kasetnes 50 testiem

MPA1	Magnētiskās daļiņas pārklātas ar monoklonālo antivielu uz 1,25(OH) ₂ D, 1 flakons, 2,8 mL.
DEL	Reaģents lipīdu atdalīšanai, dekstrāna sulfāta un magnēzija hlorīda šķīdums, 1 flakons, 2,6 mL.
DIS	Izdalīšanas reaģents, patentēts reaģents 1,25(OH) ₂ D izdalīšanai no saistošajiem proteīniem ar nātrija azīdu kā konservantu (< 0,1%), 1 flakons, 18,7 mL.
ELU	Eluēšanas reaģents, nātrija hidroksīda šķīdums, 1 flakons, 13,0 mL.
NET	Neitralizēšanas reaģents, citronskābes šķīdums, 1 flakons, 3,4 mL.
BUF	Testa buferis, MOPS buferis, kas satur liellopu seruma albumīnu, 1 flakons, 9 mL flakonā.

Immunoassay kasetne, 1 kasetne 100 testiem

MPS3	Magnētiskās daļiņas, kas pārklātas ar streptavidīnu, fosfāta buferī, kas satur liellopu seruma albumīnu ar nātrija azīdu kā konservantu (< 0,1%), 1 flakons, 2,6 mL.
CONJ	Konjugāts, 1,25(OH) ₂ D, kas marķēts ar akridīna estera atvasinājumu, fosfāta buferī, kas satur liellopu seruma albumīnu ar nātrija azīdu kā konservantu (< 0,1%), 1 flakons, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Antivielas-Biotīns, anti-1,25(OH) ₂ D poliklonāla anti-1,25(OH) ₂ D, kas marķēta ar biotīnu, fosfāta buferī, kas satur aitas proteīnus ar nātrija azīdu kā konservantu (< 0,1%), 1 flakons, 13 mL.
BUFD	Mazgāšanas buferis, 1% patentēts mazgāšanas līdzeklis PBS ar nātrija azīdu kā konservantu (< 0,1%), 1 flakons, 35 mL.

Kalibrētāji

CAL A	Liofilizēts MOPS buferis, kas satur liellopu seruma albumīnu, 1,25(OH) ₂ D un nātrija azīds kā konservants (< 1,0%), 3 gab., katrs ar 2 koncentrācijas līmeņiem, 1,2 mL katrā pudelītē.
CAL B	

Minikompaktdisks

Satur lietošanas norādījumus IDS-iSYS reaģentiem, CRY failus un analīzes sertifikātu.

Nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie materiāli

Sistēma

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Papildu aprīkojums/materiāli

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep

Vienreiz lietojamas polipropilēna 2 mL mikromēģenes 10,8 mm diametrā ar konusveida pamatni un skrūvējamu vāciņu ar blīvgredzenu (Sarstedt 72.609 un 65.716 vai ekvivalents)
Precīzas pipetēšanas ierīces

8. Testa procedūra

Immunoextraction reaģentu kasetne

Kasetnē esošie reaģenti ir gatavi lietošanai. Pirms jaunas kasetnes ievietošanas sistēmā magnētiskās daļiņas ir atkārtoti jāsuspendē. Lai nepieļautu putu veidošanos, magnētiskās daļiņas var sagatavot, izmantojot vienu no tālāk minētajām iespējām.

Manuāli:

- Sajauciet magnētiskās daļiņas, šo daļiņu flakonu starp plaukstām ar strauju kustību virzot uz priekšu un atpakaļ, līdz suspendēto daļiņu krāsa kļūst brūna.
- Rūpīgi un uzmanīgi apgrieziet magnētisko daļiņu flakonu otrādi, līdz visas flakona apakšdaļā nostādinātās magnētiskās daļiņas ir atkārtoti suspendētas.
- Vizuāli pārbaudiet magnētisko daļiņu flakona apakšdaļu, lai pārliecinātos, ka visas nostādinātās magnētiskās daļiņas ir pilnībā izkļiedētas.
- Ja nepieciešams, vēlreiz apgrieziet flakonu otrādi, līdz magnētiskās daļiņas ir pilnībā atkārtoti suspendētas.
- Pārliecinieties, ka kasetnes reaģentos neveidojas putas.

Testa gala pārbaude/asins mēģenes rotators:

- Rūpīgi un uzmanīgi izņemiet daļiņu flakonu no plastmasas aptveres.
- Ievietojiet daļiņu flakonu testēšanas/asins turētājā.
- Rotējiet flakonu ar ātrumu 10–20 apgriezieni minūtē 15 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C).
- Vizuāli pārbaudiet magnētisko daļiņu flakona apakšdaļu, lai pārliecinātos, ka visas nostādinātās magnētiskās daļiņas ir pilnībā izkļiedētas.
- Ja nepieciešams, vēlreiz apgrieziet flakonu otrādi, līdz magnētiskās daļiņas ir pilnībā atkārtoti suspendētas.
- Pārliecinieties, ka kasetnes reaģentos neveidojas putas.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Lietošanas norādījumus skatiet IDS-iSYS XPrep lietotāja rokasgrāmatā.

Svītrkods tiek nolasīts, kad kasetne tiek ievietota reaģentu paplātē. Ja sistēmas svītrkodu lasītājs nevar nolasīt marķējumu, svītrkodu datu ievadīšanai pastāv manuāla procedūra (skatīt IDS-iSYS lietotāja rokasgrāmatu). Kad kasetne ir ievietota reaģentu paplātē, sistēma automātiski veic magnētisko daļiņu sajaukšanu, lai saglabātu viendabīgumu.

Neveiciet kasetnes līmeņa skenēšanu IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction kasetnei, jo tas samazina no kasetnes iegūstamo testu skaitu līdz 50 testiem.

Kasetne jāievieto reaģentu paplātē vismaz 60 minūtes pirms testa sākšanas. Atstājiet imunoekstrakcijas reaģenta kasetni sistēmā, līdz kasetne ir pilnībā iztukšota.

Immunoassay reaģentu kasetne

Kasetnē esošie reaģenti ir gatavi lietošanai. Pirms jauna kasetne tiek ievietota sistēmā, sajauciet magnētiskās daļiņas, turot magnētisko daļiņu konteineru starp plaukstām un veicot strauju, rotējošu kustību. Nepieļaujiet putu veidošanos.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Lietošanas norādījumus skatiet IDS-iSYS XPrep lietotāja rokasgrāmatā.

Svītrkods tiek nolasīts, kad kasetne tiek ievietota reaģentu paplātē. Ja sistēmas svītrkodu lasītājs nevar nolasīt marķējumu, svītrkodu datu ievadīšanai pastāv manuāla procedūra (skatīt IDS-iSYS lietotāja rokasgrāmatu). Kad kasetne ir ievietota reaģentu paplātē, sistēma automātiski veic magnētisko daļiņu sajaukšanu, lai saglabātu viendabīgumu.

Neveiciet kasetnes līmeņa skenēšanu IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay kasetnei, jo tas samazina no kasetnes iegūstamo testu skaitu līdz 100 testiem.

Kasetne jāievieto reaģentu paplātē vismaz 40 minūtes pirms testa sākšanas. Ja kasetne tiek izņemta no reaģentu paplātes, novietojiet kasetni vertikāli 2–8 °C temperatūrā tumšā vietā.

Kalibrētāji

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} tests ir standartizēts attiecībā pret vietējiem references standartiem, kas ir saskaņoti ar apstiprināto 1,25-dihidroksivitamīnu D LC-MS/MS.

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} kalibrētāji ir liofilizēti. Sagatavojiet kalibrētājus atbilstoši tālāk izklāstītajai procedūrai.

- Pārliecinieties, ka kalibrētāji nostabilizējas līdz istabas temperatūrai (18–25 °C).
- Tieši pirms lietošanas katrai pudelei pievienojiet 1,2 mL destilēta vai dejonizēta ūdens.
- Uzlieciet aizbāzni. Turiet flakonus 10 minūtes istabas temperatūrā (18–25 °C).
- Maisiet 2–3 sekundes; uzmanīgi apgrieziet otrādi, lai nodrošinātu pilnīgu izšķīšanu.
- Kalibrētājā trīskāršai kalibrēšanai ievietojiet aptuveni 750 µL (180 µL katrai kalibrēšanas reizei) polipropilēna 2 mL mikromēģenēs ar konusveida pamatni un skrūvējamu vāciņu un ievietojiet sistēmā 15 minūšu laikā pēc izšķīdināšanas un mēriet 3 stundu laikā. Kalibrētājiem netiek lietota attīrīšanas procedūra
- Katrā posmā nepieļaujiet putu veidošanos.
- Rīkojieties saskaņā ar norādījumiem IDS-iSYS lietotāja rokasgrāmatā.

Kalibrēšanas biežums

Jauna kalibrēšana nepieciešama:

- Pēc katras jaunas kasetņu sērijas ievietošanas.
- Ja kontrolmateriālu vērtības neatbilst definētajiem intervāliem.
- Ja beidzies 21 dienu kalibrēšanas intervāls.
- Pēc sistēmas apkopes.

Kalibrēšanas pārbaude ir automātiska, un to veic sistēma.

Sistēmas kalibrēšana

Lai koriģētu galveno līkni, ir nepieciešami divi IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} kalibrētāji. Kalibrētāji ir iekļauti komplektā, un kalibrētājus no cita komplekta izmantot nedrīkst. Lai pārbaudītu galvenās līknes korekciju, visi IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) līmeņi ir JĀMĒRA vienlaikus ar kalibrētājiem.

Visi dati, kas nepieciešami kasetnes kalibrēšanai, ir pieejami minikomplektā. Lai sistēmā reaģentiem pielāgotu galveno līkni, lietojiet kalibrētāju līmeņus A un B. Pārbaudiet IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction un Immunoassay kasetnes klātbūtni reaģentu paplātē un kasetnes galvenās līknes pieejamību datu bāzē. Ja dati attiecīgajai kalibrētāja sērijai sistēmā nav pieejami, ielādējiet datus, izmantojot minikomplektu, kas piegādāts kopā ar reaģentu komplektu.

Sāciet imūntesta kalibrēšanu sistēmā saskaņā ar sistēmas lietotāja rokasgrāmatu. Kalibrēšana tiek veikta, izmantojot katra līmeņa 3 atkārtotas kalibrēšanas. Vienu atkārtojuma reizi var izlaist, lai nodrošinātu atbilstību kalibrēšanas prasībām. Lai kalibrētu testu, visi kontrolmateriālu līmeņi arī jāmēra divas reizes. Pārbaudiet un apstipriniet kalibrēšanu atbilstoši kalibrēšanas statusam, kas parādīts kalibrēšanas logā, un pēc lietošanas likvidējiet kalibrētājus un kontrolmateriālus, kas palikuši paraugu paplātē.

9. Kvalitātes kontrole

Kvalitātes kontrolei lietojiet IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Lai nodrošinātu rezultātu ticamību, jāmēra vismaz divi kontrolmateriāli ar dažādiem 1,25(OH)₂D līmeņiem. Papildus IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set var lietot citu atbilstošu kontrolmateriālu. Kontrolmateriāli jātestē katru reizi, sākot (vai tuvu sākumam) pacientu paraugu apstrādi un katras kalibrēšanas laikā saskaņā ar vietējiem, valsts un/vai federālajiem noteikumiem vai akreditācijas prasībām un laboratorijas kvalitātes procedūru. Sagatavošanas un lietošanas norādījumus skatiet IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set lietošanas norādījumos.

1,25 dihidroksivitamīna D (1,25(OH)₂D) līmeņu noteikšana paraugā
Apstrādājiet paraugus saskaņā ar IDS-iSYS sistēmas lietotāja rokasgrāmatu.

10. Rezultātu aprēķināšana

1,25(OH)₂D koncentrācija katrā paraugā tiek aprēķināta automātiski. Koncentrācijas vērtības tiek parādītas (ekrānā vai izdrukā) pēc lietotāja pieprasījuma.

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} testā tiek izmantota 4 parametru loģistikas līknes sakritība (4PL) 1,25(OH)₂D koncentrācijas aprēķināšanai.

Lai pārvērstu rezultātus uz SI sistēmas mērvienībām: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Mērījuma intervāls (uzrādāmais intervāls)

Testa uzrādāmais intervāls ir 7,5–150 pg/mL (18–360 pmol/L). Jebkura vērtība, kas reģistrēta zem 7,5 pg/mL (18 pmol/L), jāuzrāda kā "< 7,5 pg/mL" ("< 18 pmol/L").

12. Atšķaidīšana

Paraugi ar 1,25(OH)₂D koncentrāciju virs uzrādāmā intervāla manuāli jāatšķaida ar IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) proporcijā 1 pret 2. Atšķaidīto paraugu rezultāti ir jāreizina ar atšķaidījuma koeficientu 2x.

13. Lietošanas ierobežojumi

- Kā jebkurā diagnostikas procedūras gadījumā, rezultāti ir jāanalizē saistībā ar pacienta klīniskiem izmeklējumiem un citu ārstam pieejamo informāciju.
- Šī testa veikspējas raksturojums nav noteikts pediatrikajai populācijai.
- Heterofilas antivielas cilvēka serumā var reaģēt ar reaģenta imūnglobulīnu, traucējot *in vitro* imūntestus⁵. Pacientiem, kuri regulāri saskaras ar dzīvniekiem vai dzīvnieku seruma produktiem, var būt tendence uz šādiem traucējumiem, kad novērojamas netipiskas vērtības.
- Tālāk minētās vielas neietekmē IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} testu, ja tālāk tabulā norādītā koncentrācija ir zem definētās robežvērtības.

Potenciāli traucējošs reaģents	Robežvērtības koncentrācija
Albumīns	7.5 g/dL
Bilirubīns, konjugēts	40 mg/dL
Bilirubīns, nekonjugēts	40 mg/dL
Biotīns	0.1 mg/dL
Holesterīns, kopējais	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobīns	500 mg/dL
Reimatoīdais faktors	7000 IU/mL
Triglicerīdi	3000 mg/dL
Acetaminofēns	9 mg/dL
Ibuprofēns	50 mg/dL
Karbamazepīns	127 μmol/L
Fenitoīns	198 μmol/L
Acetilsalicilskābe	65 mg/dL
Salicilskābe	60 mg/dL

14. Paredzētās vērtības

Šādi diapazoni tika noteikti, lietojot IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} testu, un ir sniegti tikai informatīvos nolūkos.

Paraugi no 121 šķietami veselām vīriešiem un sievietēm pieaugušā 19–69 gadu vecumā, jauktas tautības (34% ar tumšu ādas krāsu un 66% ar gaišu ādas krāsu) tika testēti ar IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. Paraugi tika iegūti ziemas (36%) un vasaras (64%) laikā no personām ar normālām, veselām PTH, kalcija, fosfāta un TSH vērtībām Amerikas Savienoto valstu ziemeļu un dienvidu reģionos. Šķietami veselām pieaugušajiem tika aprēķināts 95% references intervāls ar neparametrisku metodi pēc CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory" norādēm.

Iegūts pieaugušajam normāls intervāls: no 15,2 līdz 90,1 pg/mL (no 36,5 līdz 216,2 pmol/L)

15. Izpildījuma dati

Parādīti reprezentatīvi izpildījuma dati. Atsevišķās laboratorijās iegūtie rezultāti var atšķirties.

15.1 Jūtība

Tukšā parauga robeža (LoB), noteikšanas robeža (LoD) un kvantitatīvās noteikšanas robeža (LoQ) tika noteiktas saskaņā ar vadlīnijām CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation".

Jūtība	1,25(OH) ₂ D koncentrācija	
	pg/mL	pmol/L
LoB (tukšā parauga robeža)	2,5	6,0
LoD (noteikšanas robeža)	4,2	10,1
LoQ (kvantitatīvās noteikšanas robeža)	7,5	18,0

15.2 Precizitāte

Precizitāte tika novērtēta saskaņā ar modificētu protokolu, pamatojoties uz CLSI EP-5A2, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods". Kopumā 6 seruma paraugi tika testēti divos eksemplāros, divas reizes dienā 7 dienas, izmantojot viens reaģent sērijas viena sistēmā, viena sērija katrā sistēmā.

Paraugs	n	Vidējais		Atkārtojamība			Kopā		
		pg/mL	pmol/L	SD	SD	CV%	SD	CV%	
1. serums	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
2. serums	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
3. serums	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
4. serums	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
1. kontrole	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
2. kontrole	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearitāte

Linearitāte tika novērtēta, pamatojoties uz CLSI EP-6A, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures." Paraugi tika sagatavoti, pirms testēšanas atšķaidot augsta līmeņa pacienta paraugu ar zema līmeņa pacienta paraugu. Lineārā regresija novērotām koncentrācijām pret paredzētām koncentrācijām (Paredzētā = Slīpuma koeficients x Novērotā ± Brīvais loceklis) ir:

Slīpuma koeficients	Brīvais loceklis		Regresijas koeficients (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Salīdzināšanas metode

IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} tests tika salīdzināts pret komerciāli pieejamo kvantitatīvo IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy vitamīna D testu saskaņā ar CLSI EP-9A2, „Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples”. Kopumā tika atlasīti 105 paraugi kā reprezentatīvi plašam 1,25(OH)₂D koncentrāciju intervālam [11,4–150 pg/mL (27,4–360 pmol/L)], un tie tika testēti ar katru metodi. Tika veikta Passinga-Babloka regresijas analīze, izmantojot salīdzināmus datus:

n	Slīpuma koeficients	Brīvais loceklis		Korelācijas koeficients (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Specifika

Šādi eksogēnie sintētiskā D vitamīna metabolīti vai D vitamīna medikamentu savienojumi tika ievadīti seruma paraugos un mērīti ar IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} testu.

Analīts	Savstarpējā spēja reaģēt (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Izmantotie simboli



Kataloga numurs



In Vitro diagnostikas ierīce



Ražotājs



Piemēro saskaņā ar direktīvu 98/79/EC

Rx Only

Uzmanību! ASV Federālais likums nosaka, ka šīs ierīces pārdošanu vai pasūtīšanu veic tikai (licencēts praktizējošs veselības aprūpes darbinieks)

17. Izmantotā literatūra

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tālr.: +44 191 519 0660 • Fakss: +44 191 519 0760
e-pasts: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

ASV Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tālr.: +1 877 852 6210 • Fakss: +1 301 990 4236
e-pasts: info.us@idsplc.com

Francija Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tālr.: +33 140 770 450 • Fakss: +33 140 770 455
e-pasts: info.fr@idsplc.com

Beļģija Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tālr.: +32 425 226 36 • Fakss: +32 425 251 96
e-pasts: info.be@idsplc.com

Vācija Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH)
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tālr.: +49 693 085 5025 • Fakss: +49 693 085 5125
e-pasts: info.de@idsplc.com

Skandināvija Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tālr.: +45 448 400 91
e-pasts: info.nordic@idsplc.com

Brazīlija IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tālr.: +55 113 740 6100 • Fakss: + 55 113 740 6105
e-pasts: info.br@idsplc.com

1. Rendeltetészerű használat

In vitro diagnosztikai felhasználásra

Az IDS-iSYS1,25 VitD^{xp} próba *in vitro* diagnosztikai eszköz az 1,25-dihidroxi-D-vitamin [1,25(OH)₂D] humán szérumban történő mennyiségi meghatározására szolgál az IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System automata rendszeren. Az eredmények a D-vitamin-hiány vizsgálatának elősegítésére használandók.

Rx only.

2. Összefoglaló és ismertetés

A D-vitaminnak két formája létezik: a D₃-vitamin és a D₂-vitamin. A D₃-vitamin, a kolekalciferol, a természetben is előforduló D-vitamin, amely a bőrben képződik azt követően, hogy a 7-dehidrokoleszterint ultraibolya sugárzás éri¹. A D₂-vitamint az ergosterol ultraibolya fényel történő besugárzásával állítják elő élesztőből. Mindkettőt használják D-vitamin-pótló készítményekben. A D-vitamin-vegyület biológiailag inaktív, de belép a keringésbe, és a májban 25-hidroxi-D-vitaminná [25(OH)D] hidroxilálódik, amelyet a beteg D-vitamin-státusának meghatározására használnak.

A vesében a 25(OH)D tovább hidroxilálódik, és létrejön a biológiailag aktív metabolit, az 1,25(OH)₂D¹. Az 1,25(OH)₂D a kalcium- és foszfátmetabolizmus egyik fő szabályozója, serkenti a bélben a kalcium felszívódását, és növeli a csontban a reszorpciót. Az 1,25(OH)₂D gátolja a parathormon (PTH) termelését a mellékpajzsmirigyekre kifejtett közvetlen hatással és a szérumban kalciumszintjének növelésével közvetetten is. Magát az 1,25(OH)₂D-termelést a parathormon (PTH) serkenti, ezáltal hatáson szabályozó visszacsatolást biztosítva¹. A csontból kiválasztódó 23-as fibroblaszt növekedési faktor [FGF-23] révén a vese és a vékonybél sejteit internalizálja a nátrium-foszfát kotranszportert, és elnyomja az 1,25(OH)₂D szintézist is².

Másodlagos hyperparathyreosisban – a mellékpajzsmirigyeken kívüli betegség esetén – a mellékpajzsmirigyek megnagyobbodnak és túlműködnek. Ezt a betegséget általában veseelégtelenség okozza, az a betegség, amikor a vese nem képes megtisztítani a vért a szervezet által termelt foszfortól, és nem tud elegendő D-vitamint – különösen a D-vitamin aktív formáját, 1,25(OH)₂D-t – termelni. A foszfor felgyülemzése a vér alacsony kalciumszintjéhez vezet, ami a mellékpajzsmirigy a parathormon (PTH)-termelés növelésére ösztönzi, és ez a mirigyek megnagyobbodásához vezet. Ahogy a betegség előrehalad, a mellékpajzsmirigyek nem reagálnak normálisan a kalciumra és a D-vitaminnal. A közvetlen aktivált D-vitamin-terápia indoka krónikus vesebetegség idején a másodlagos hyperparathyreosis progressziójának lassítása. A klinikai gyakorlatra vonatkozó irányelvek, például a „Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)” és „Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)” aktivált D-vitamin terápiás sémát javasolnak a krónikus vesebetegség részére^{3,4}.

3. A módszer leírása

Az IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} készlet teljes tesztrendszer, amelybe az 1,25-dihidroxi-D-vitamin humán szérumban történő immunextrakciója és az 1,25(OH)₂D-szint mennyiségi meghatározása tartozik bele az IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System rendszeren.

Az 1. küvettában 218 µL betegmintát lipidmentesítenek, majd inkubálják speciális, anti-1,25(OH)₂D antitesttel bevont mágneses részecskével. Inkubálás után a mágneses részecskéket lemosják, és a betegmintában lévő 1,25(OH)₂D eluálódik. A kivont 1,25(OH)₂D mintából 180 µL-t átvisznek a 2. küvettába, ahol a kemilumineszcenciás technológián alapuló immunpróba lezajlik.

A 2. küvettában 180 µL tisztított mintákat inkubálják biotinilált birka anti-1,25(OH)₂D antitesttel. Az első inkubációs lépés után akridíniummal címkézett 1,25(OH)₂D konjugátumot adnak hozzá, amit egy következő inkubációs lépés követ. Egy harmadik inkubációs lépés előtt sztreptavidinnel címkézett mágneses részecskéket adnak hozzá. A mágneses részecskéket mágnessel befogják, majd mosási lépést végeznek a nem kötött 1,25(OH)₂D eltávolítása érdekében. Trigger reagenseket adnak hozzá. Az eredményül kapott fény, amelyet az akridínium címke kibocsát, fordítottan arányos az eredeti minta 1,25(OH)₂D-koncentrációjával.

4. Figyelmeztetések és óvintézkedések

Az IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} készlet kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szolgál, és nem használható belsőleg embereknél vagy állatoknál. Ezt a terméket szigorúan a jelen Használati utasításban előírt utasítások szerint kell használni. Az Immunodiagnostic Systems Limited (IDS) nem vállal felelősséget semmilyen veszteségért vagy kárért (kivéve a törvényi kötelezettségeket), amely a megadott utasítások be nem tartásából ered bármilyen módon.

VIGYÁZAT: Ez a készlet állati eredetű anyagot tartalmaz. Kezelje a készlet reagenseit úgy, hogy potenciálisan kórokozók terjesztésére lehetnek alkalmasak. A készletreagensek tárolásánál, kezelésénél és ártalmatlanításánál a megfelelő óvintézkedéseket és helyes laboratóriumi gyakorlatokat kell alkalmazni. A készletreagensek ártalmatlanítását a helyi szabályozások szerint kell végezni.

Humán anyagok

Az e termék készítésénél használt humán anyagot az FDA által javasolt próbákkal vizsgáltuk a humán immundeficiencia vírus (HIV I és II), a hepatitis B felszíni antigén és a hepatitis C elleni antitestek jelenlétére, és negatívnak találtuk. Mivel egyetlen vizsgálat sem adhat teljes biztosítékot arra, hogy nincs jelen kórokozó, a reagenseket 2-es biológiai biztonsági szint szerint kell kezelni.

Nátrium-azidot tartalmazó reagensek

A készletben található egyes reagensek < 0,1% (w/w) nátrium-azidot (NaN₃) tartalmaznak, amely az ólom-, vörös- vagy sárgaréz vezetékkel reakcióba léphet, és nagymértékben robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Kiöntéskor öblítse le nagy mennyiségű vízzel, hogy megakadályozza az azid felgyülemelését.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Kezelési óvintézkedések

A liofilizált kalibrátorok kivételével a készletben biztosított reagensek használatra készek. A feloldás módjára vonatkozóan lásd az eljárás kalibrátor részét.

Mielőtt új kazettát töltené a rendszerbe, a kezelőnek erős keverő mozdulattal össze kell kevernie a mágneses részecskék tartályát. Ez újraoldja a szállítás során leülepedett mágneses részecskéket. Ügyelni kell arra, hogy ne képződjön hab a reagenskazettában.

A reagensek lejárati ideje és tárolása

A kazettákat és a kalibrátorokat tartsa sötétben, 2–8 °C-on, **függőleges** helyzetben. **Ne fagyassza le** a kazettát vagy a kalibrátorokat.

A reagens lejárati ideje	Az immunextrakciós kazettája	Az immunpróba kazettája	Kalibrátorok
Kinyitás előtt 2–8 °C-on	A lejárati dátumig		
Kazetta, kinyitás után 2–8 °C-on	n.a.	Napok 56	n.a.
Kalibrátorok, feloldás után 2–8 °C-on	n.a.	n.a.	Órák 6
A rendszerbe helyezve*	Napok 28	Napok 49	Órák 3

* Folyamatos stabilitás a készülékbe helyezve.

6. A minták levétele és tárolása

A próbát szérum (standard mintavételi csövek vagy szérumelválasztó gélt tartalmazó csövek) felhasználásával kell végezni.

- A mintákat a mintavétel után a lehető legrövidebb időn belül el kell választani.
- Az elválasztást követően a minták legfeljebb 24 óráig tárolhatók szobahőmérsékleten (18–25°C) vagy legfeljebb 7 napig 2–8 °C-on. Ha hosszabb idő telik el az elválasztás és a tesztelés között, a mintákat –20°C-on kell tárolni.
- A minták legfeljebb 2,5 hónapig tárolhatók –20°C-on, ezt követően –80°C-on tárolandók.
- A minták legfeljebb 2 fagyasztás-kiolvasztás cikluson mehetnek át, és a berendezésbe töltés előtt teljesen ki kell olvasztani, majd jól meg kell keverni azokat.
- Az analizátorba töltött minták legfeljebb 3 óráig stabilak.

Megjegyzés:

- A részecskéket tartalmazó mintákat a próba elvégzése előtt centrifugálni kell. Ne használjon hővel inaktivált mintákat.
- Az esetleges párolgási hatások minimálisra csökkentése érdekében a mintákat, a kalibrátorokat és a kontrollokat a rendszerbe helyezés után 3 órán belül meg kell vizsgálni.
- Minden laboratóriumnak követnie kell a helyi, állami és/vagy szövetségi szabályozások vagy az akkreditáló szervezetek irányelveit, illetve követelményeit saját mintakezelési és -tárolási szabályainak kialakításánál. A megfelelő gyakorlatra vonatkozó útmutatást lásd: CLSI GP44-A4, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests.
- A próbák elvégzése előtt ellenőrizze, hogy a minták, a kalibrátorok és a kontrollok szobahőmérsékletűek-e (18–25 °C).
- A kereskedelmi forgalomban kapható egyes mintavételi csövek bizonyos esetekben befolyásolhatják a vizsgálati eredményeket.
- Javasoljuk, hogy kövesse a cső gyártójának utasításait, különösen olyankor, amikor elsődleges csövekben lévő mintákat dolgoz fel.
- Azokat a centrifugált mintákat, amelyeknek a tetején lipidréteg található, mintatartó pohárba vagy másodlagos csőbe át kell helyezni. Ügyeljen arra, hogy csak a tisztított mintát vigye át a lipémiás anyag nélkül.
- **A lipidmentesítési lépés optimalizálása érdekében a mintáknak a rendszerbe való betöltés előtt szobahőmérsékletre (18–25 °C) KELL melegedniük.**

7. Anyagok

Biztosított anyagok

Immunoextraction immunextrakciós kazetta, 2 kazetta 50 teszthez

MPA1	1,25(OH) ₂ D-vel szembeni monoklonális antitesttel bevont mágneses részecskék, 1 üveg, 2,8 mL.
DEL	Lipidmentesítő reagens, dextranszulfát és magnézium-klorid oldata, 1 üveg, 2,6 mL.
DIS	Leválasztó reagens, egy szabadalmaztatott reagens az 1,25(OH) ₂ D kötőfehérjéről való leválasztásához tartósítószerként nátrium-aziddal (< 0,1%), 1 üveg, 18,7 mL.
ELU	Elúciós reagens, nátrium-hidroxid oldat, 1 üveg, 13,0 mL.
NET	Elúciós reagens, citromsavoldat, 1 üveg, 3,4 mL.
BUF	Próbapuffer, marha szérumban albumint tartalmazó MOPS puffer, 1 üveg, 9 mL üvegenként.

Immunoassay immunpróba kazetta, 1 kazetta 100 teszthez

MPS3	Sztreptavidinnel bevont mágneses részecskék marha szérumban albumint és tartósítószerként nátrium-azidot (< 0,1%) tartalmazó foszfát-pufferban, 1 üveg, 2,6 mL üvegenként.
CONJ	Konjugátum, 1,25(OH) ₂ D akríniium-észter-származékkal címkézve, marha szérumban albumint és tartósítószerként nátrium-azidot (< 0,1%) tartalmazó foszfát-pufferban, 1 üveg, 9,6 mL üvegenként.
Ab-BIOT	Antitest-Biotin, biotinnal címkézett anti-1,25(OH) ₂ D poliklonális antitest birkafehérjéket és tartósítószerként nátrium-azidot (< 0,1%) tartalmazó foszfát-pufferban, 1 üveg, 13 mL üvegenként.
BUFD	Mosópuffer, 1%-os szabadalmaztatott detergens PBS-ben, tartósítószerként nátrium-aziddal (< 0,1%), 1 üveg, 35 mL üvegenként.

Kalibrátorok

CAL A	Marha szérumban albumint, 1,25(OH) ₂ D -t és tartósítószerként nátrium-azidot (< 1,0%) tartalmazó liofilizált MOPS puffer, mindkét koncentrációból 3, 1,2 mL üvegenként.
CAL B	

Mini CD

Tartalmazza az IDS-iSYS reagens használati utasítását, CRY fájlokat és az elemzés tanúsítványát.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Rendszer

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{XP} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Opcionális felszerelés/anyagok

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{XP} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
2 mL-es, 10,8 mm átmérőjű, eldobható, polipropilén, kúpos talpas, menetes kupakos mikrocsovek és tömítőgyűrűvel ellátott menetes kupak (Sarstedt 72.609 és 65.716 vagy ezekkel egyenértékű)	
Precíziós pipettáló eszközök	

8. A tesztelési eljárás

Immunoextraction immunextrakciós reagenskazetta

A kazettában biztosított reagens használatra készek. Mielőtt új kazettát töltene a rendszerbe, a mágneses részecskék tartályát teljesen újra kell oldani. A mágneses részecskék a következő lehetőségek egyikének segítségével készíthetők elő, a habképződés megelőzésével:

Manuálisan:

- Előre-hátra mozdulatokkal erőteljesen keverje meg a tenyerei között a mágneses részecskék üvegét addig, amíg a szuszpendált részecskék színe barnára nem változik.
- Finoman és óvatosan forgassa a mágneses részecskék üvegét addig, amíg az üveg alján lévő összes mágneses részecske újra fel nem oldódott.
- Szemrevételezéssel ellenőrizze a mágneses részecskék üvegét, és ellenőrizze, hogy minden leülepedett mágneses részecske teljesen eloszlott-e.
- Ismétlje meg a forgatást, ha szükséges, amíg a mágneses részecskék teljesen újra nem oldódtak.
- Ügyeljen arra, hogy ne képződjön hab a kazettareagensben.

„End-over-end” teszt-/vérvételéső-keverő:

- Óvatosan vegye ki a részecskék üvegét a műanyag kapocsból.
- Helyezze fel a részecskék üvegét a tesztcső/vérvételi cső tartójára.
- Szobahőmérsékleten (18–25 °C) forgassa az üveget 15 percig, percenként 10–20 forgással.
- Szemrevételezéssel ellenőrizze a mágneses részecskék üvegét, és ellenőrizze, hogy minden leülepedett mágneses részecske teljesen eloszlott-e.
- Ismétlje meg a forgatást, ha szükséges, amíg a mágneses részecskék teljesen újra nem oldódtak.
- Ügyeljen arra, hogy ne képződjön hab a kazettareagensben.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- A használatra vonatkozó utasításokat lásd az IDS-iSYS XPrep felhasználói kézikönyvében.

A rendszer leolvassa a vonalkódot, amikor a kazettát betölti a reagenstálcára. Ha a rendszer vonalkódozása nem tudja leolvasni a címkét, manuális eljárás is van a vonalkód adatainak bevitelére (lásd az IDS-iSYS felhasználói kézikönyvét). Amikor a kazetta a reagenstálcán van, a rendszer automatikusan elvégzi a mágneses részecskék keverését a homogenitás fenntartása érdekében.

Ne végezze el a kazetta szintű leolvasást az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction immunextrakciós kazettán, mert ez azzal jár, hogy kevesebb mint 50 tesztet tud elvégezni a kazettával.

A kazettát legalább 60 perccel a próba megkezdése előtt be kell tölteni a reagenstálcára. Hagyja az immunextrakciós reagenskazettát a rendszerben, amíg a kazetta teljesen ki nem ürül.

Immunoassay immunpróba reagenskazetta

A kazettában biztosított reagens használatra készek. Mielőtt új kazettát töltené be a rendszerbe, erőteljes forgató mozgással keverje meg a mágneses részecske tartályát a tenyerei között. Kerülje a habképződést.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- A használatra vonatkozó utasításokat lásd az IDS-iSYS XPrep felhasználói kézikönyvében.

A rendszer leolvassa a vonalkódot, amikor a kazettát betölti a reagenstálcára. Ha a rendszer vonalkódozása nem tudja leolvasni a címkét, manuális eljárás is van a vonalkód adatainak bevitelére (lásd az IDS-iSYS felhasználói kézikönyvét). Amikor a kazetta a reagenstálcán van, a rendszer automatikusan elvégzi a mágneses részecskék keverését a homogenitás fenntartása érdekében.

Ne végezze el a kazetta szintű leolvasást az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoassay immunpróba kazettán, mert ez azzal jár, hogy kevesebb mint 100 tesztet tud elvégezni a kazettával.

A kazettát legalább 40 perccel a próba megkezdése előtt be kell tölteni a reagenstálcára. Ha a kazettát kiveszi a reagenstálcáról, tartsa sötétben, 2–8 °C-on, függőlegesen felfelé állítva.

Kalibrátorok

Az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} próbát intézményen belüli referencia standardok segítségével standardizálták, amelyeket összehangba hoztak a validált 1,25-dihidroxid-vitamin LC-MS/MS eredményeivel.

Az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} kalibrátorok liofilizáltak. A kalibrátorok előkészítését a következő eljárás szerint végezze:

- Gondoskodjon arról, hogy a kalibrátorok szobahőmérsékletre melegedjenek (18–25 °C).
- Közvetlenül felhasználás előtt adjon 1,2 mL desztillált vagy ioncserélt vizet minden üvegezh.
- Tegye vissza a dugót. Hagyja az üvegeket 10 percig szobahőmérsékleten (18–25 °C) állni.
- Örvénykeverővel keverje 2–3 másodpercig; a teljes feloldódás érdekében óvatosan forgassa meg.
- Vigyen át körülbelül 750 µL kalibrátort háromszoros kalibráláshoz (180 µL ismétlésenként) 2 mL-es, kúpos talpas, menetes kupakkal ellátott polipropilén mikrocsőbe. A feloldás után 15 percen belül helyezze a csöveket a rendszerbe, és végezze el a mérést 3 órán belül. A kalibrátorok nem mennek át a tisztítási eljárás.
- Minden lépésnél kerülje a habképződést.
- Folytassa az IDS-iSYS felhasználói kézikönyv utasításai szerint.

A kalibrálás gyakorisága

Új kalibrálás szükséges a következő esetekben:

- Minden új tétel kazetta betöltésekor.
- Amikor a kontrollértékek a meghatározott tartományon kívül esnek.
- Amikor a(z) 21 napos kalibrálási intervallum letelt.
- A rendszer szervizelése után.

A kalibrálás jóváhagyása automatikus, és a rendszer végzi.

A rendszer kalibrálása

A két IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} kalibrátor szükséges a mestergörbe beállításának elvégzéséhez. Ezeket a kalibrátorokat a készletben biztosítjuk, más tételtől származó kalibrátorok nem használhatók. A mestergörbe beállításának ellenőrzéséhez az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) kontrollkészlet minden koncentrációját a kalibrátorokkal egy időben KELL mérni.

A kazetta kalibrálásához szükséges valamennyi adat megtalálható a mini CD-n. Az A és B kalibrátorokkal igazítsa a mestergörbét a rendszerbe helyezett reagenskehez. Ellenőrizze, hogy van-e IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Immunoextraction és Immunoassay kazetta a reagenstálcán, és hogy elérhető-e a kazetta mestergörbéje az adatbázisban. Ha a kalibrátortétel adatai nem állnak rendelkezésre a rendszeren, tölts be az adatokat a készletben mellékelt mini CD-vel.

A rendszer felhasználói kézikönyve szerint indítsa el az immunpróba kalibrálását a rendszeren. A rendszer elvégzi a kalibrálást, minden koncentrációban 3 példányban. Egy példány eltávolítható a kalibrációs követelmények teljesítése érdekében. A próba kalibrálásához valamennyi kontrollszintet két példányban is meg kell mérni. Ellenőrizze és hagyja jóvá a kalibrálást a kalibrálási ablakban megjelenő kalibrálási állapot szerint; használat után dobja ki a maradék kalibrátorokat és a kontrollokat a mintatartó tálcáról.

9. Minőség-ellenőrzés

Minőség-ellenőrzéshez használja az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set kontrollkészletet. Az eredmények érvényességének biztosítása érdekében legalább két, eltérő 1,25(OH)₂D-koncentrációjú kontrollt kell megmérni. Egyéb megfelelő kontrollanyagok is használhatók az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set kontrollkészlet mellett. A kontrollokat minden, betegmintát tartalmazó futtatás elején (vagy ahhoz közel) tesztelni kell, illetve minden kalibrálás alatt, összehangban a helyi, állami és/vagy szövetségi szabályozással, illetve akkreditációs követelményekkel, valamint a laboratórium minőség-ellenőrzési eljárásával. Az előkészítési és kezelési eljárásra vonatkozóan lásd az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set kontrollkészlet használati utasítását.

A minta 1,25 dihidroxi-D-vitamin (1,25(OH)₂D) szintjének meghatározása

Végezze el a minták feldolgozását az IDS-iSYS rendszer felhasználói kézikönyve szerint.

10. Az eredmények kiszámítása

A rendszer automatikusan kiszámítja az egyes minták 1,25(OH)₂D-koncentrációját. A koncentrációk kijelzése (képernyőn vagy nyomtatva) a felhasználó kérésére történik.

Az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} próba 4 paraméteres logisztikai görbe illesztést (4PL) használ az 1,25(OH)₂D-koncentrációk kiszámításához.

Az eredmények átszámítása SI mértékegységekre: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Mérési tartomány (leletezendő tartomány)

A próba leletezendő tartománya 7,5–150 pg/mL (18 –360 pmol/L). Minden, 7,5 pg/mL (18 pmol/L) alatti értéket „< 7,5 pg/mL” („< 18 pmol/L”) értéként kell leletezni.

12. Hígítás

A leletezendő tartomány fölötti 1,25(OH)₂D-koncentrációjú mintákat manuálisan, 1:2 arányban kell hígítani az IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) hígítóval. A hígított minták eredményét meg kell szorozni a 2x-es hígítási tényezővel.

13. A felhasználás korlátai

- Mint bármely diagnosztikai eljárás esetén, az eredményeket a beteg által mutatott klinikai képpel és az orvos számára elérhető más információkkal együtt kell értékelni.
- A próba teljesítményének jellemzőit nem vizsgálták gyermekpopulációban.
- A humán szérumban található heterofil antitestek reakcióba léphetnek a reagens immunglobulinokkal, kölcsönhatásba lépve az *in vitro* immunpróbákkal⁵. Erre a kölcsönhatásra hajlamosak lehetnek azok a betegek, akik rendszeresen érintkeznek állatokkal vagy állati szérumtermékekkel, és előfordulhatnak rendellenes értékek.
- A következő anyagok nem interferálnak az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} próbával, ha a következő táblázatban bemutatott koncentrációk a megállapított küszöbérték alatt vannak.

Potenciálisan interferáló anyag	Koncentráció küszöbértéke
Albumin	7,5 g/dL
Bilirubin, konjugált	40 mg/dL
Bilirubin, nem konjugált	40 mg/dL
Biotin	0,1 mg/dL
Koleszterin, összes	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobin	500 mg/dL
Reumatoid faktor	7000 IU/mL
Trigliceridek	3000 mg/dL
Acetaminofen	9 mg/dL
Ibuprofen	50 mg/dL
Karbamazepin	127 µmol/L
Fenitoin	198 µmol/L
Acetilszalicilsav	65 mg/dL
Szalicilsav	60 mg/dL

14. Várt eredmények

A következő tartományokat határoztuk meg az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} próba segítségével, és csupán tájékoztatásul szolgálnak.

121 látszólag egészséges, felnőtt, 19–69 éves, vegyes etnikai háttérű (34% sötét bőrű és 66% világos bőrű) férftól és nőtől származó mintát vizsgáltunk az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} rendszerben. A mintákat télen (36%) és nyáron (64%) gyűjtöttük az Egyesült Államok északi és déli területeiről származó, normális, ép parathormon (PTH)-, kalcium-, foszfát és TSH-értéket mutató személyektől. A látszólag egészséges felnőttek 95%-os konfidenciaintervallumát nem paraméteres módszerrel számítottuk ki a CLSI C28-A3 „Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory” irányelve alapján.

A kapott normál felnőtt tartomány: 15,2–90,1 pg/mL (36,5–216,2 pmol/L)

15. A teljesítményre vonatkozó adatok

Reprezentatív teljesítményadatokat mutatunk be. Az egyes laboratóriumokban kapott eredmények eltérőek lehetnek.

15.1 Érzékenység

A vakmintahatárt (LoB), a kimutatási határt (LoD) és a meghatározási határt (LoQ) a CLSI EP17-A, „Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation” irányelve szerint határoztuk meg.

Érzékenység	1,25(OH) ₂ D-koncentráció	
	pg/mL	pmol/L
LoB (vakmintahatár)	2,5	6,0
LoD (kimutatási határ)	4,2	10,1
LoQ (meghatározási határ)	7,5	18,0

15.2 Precizitás

A precizitást a CLSI EP-5A2, „Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods” című szabványán alapuló módosított protokoll szerint értékeltük. Összesen 6 szérummintát elemeztünk két példányban, naponta háromszor 7 napig, egy reagensszarznak egy rendszer való felhasználásával, rendszerenként egy-egy tétellel.

Minta	n	Átlag		Megismételhetőség			Összes		
		pg/mL	pmol/L	pg/mL	pmol/L	CV%	pg/mL	pmol/L	CV%
1. szérum	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
2. szérum	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
3. szérum	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
4. szérum	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
1. ellenőrzés	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
2. ellenőrzés	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearitás

A linearitást a CLSI EP-6A, „Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures” szabvány eljárása alapján értékeltük. A mintákat a próba előtt úgy készítettük el, hogy a magas koncentrációjú betegmintát hígítottuk alacsony koncentrációjú betegmintával. A megfigyelt koncentrációk lineáris regressziója a várt koncentrációhoz képest (várt = meredekség x megfigyelt ± ordináta-tengelymetszet) a következő:

Meredekség	Ordináta-tengelymetszet		Regressziós együttható (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 A módszerek összehasonlítása

Az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} próbát a kereskedelmi forgalomban kapható, mennyiségi IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D próbával hasonlítottuk össze a CLSI EP-9A2, „Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples” irányelve követésével. Összesen 105 mintát teszteltünk mindegyik módszerrel. A mintákat úgy választottuk ki, hogy az 1,25(OH)₂D-koncentráció széles tartományát képviseljük (11,4–150 pg/mL [27,4–360 pmol/L]). Az összehasonlító adatokon Passing-Bablok-elemzést végeztünk:

n	Meredekség	Ordináta-tengelymetszet		Korrelációs együttható (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Specifitás

A következő exogén szintetikus D-vitamin-metabolitokat vagy D-vitamin gyógyszervegyületeket adták hozzá szérummintákhoz, és mérték meg az IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} próbával.

Analit	Keresztreaktivitás (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Szimbólumok

REF

Katalógusszám

IVD

In vitro diagnosztikai eszköz



Gyártó



A 98/79/EC irányelv szerint alkalmazható

Rx Only

Vigyázat: Az Egyesült Államok szövetségi törvényei szerint ez az eszköz csak (engedéllyel rendelkező egészségügyi szakember) által vagy megrendelésére értékesíthető

17. Bibliográfia

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscatto, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,

10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK

Tel.: +44 191 519 0660

• Fax: +44 191 519 0760

e-mail: info.uk@idsplc.com

• www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

USA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.

Tel.: +1 877 852 6210

• Fax: +1 301 990 4236

e-mail: info.us@idsplc.com

Franciaország Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France

Tel.: +33 140 770 450

• Fax: +33 140 770 455

e-mail: info.fr@idsplc.com

Belgium Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium

Tel.: +32 425 226 36

• Fax: +32 425 251 96

e-mail: info.be@idsplc.com

Németország Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH)
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.

Tel.: +49 693 085 5025

• Fax: +49 693 085 5125

e-mail: info.de@idsplc.com

Skandinávia Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,

2300 København S, Denmark

Tel: +45 448 400 91

e-mail: info.nordic@idsplc.com

Brazília IDS Brasil Diagnósticos Ltda.

Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001

Tel: +55 113 740 6100

• Fax: + 55 113 740 6105

e-mail: info.br@idsplc.com

1. Utilização prevista

Para utilização em diagnóstico *In Vitro*

O ensaio IDS-iSYS1,25 VitD^{xp} consiste em um dispositivo de diagnóstico *in vitro* destinado para a determinação quantitativa de 1,25-di-hidroxivitamina D [1,25(OH)₂D] em soro humano no IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System. Os resultados devem ser usados para auxiliar a avaliação da suficiência de vitamina D.

Rx only.

2. Resumo e explicação

Há duas formas de vitamina D: a vitamina D₃ e a vitamina D₂. A vitamina D₃, colecalciferol, é a vitamina D que ocorre naturalmente, produzida na pele após a exposição de 7-de-hidrocolesterol à radiação solar ultravioleta ¹. A vitamina D₂ é fabricada por meio da radiação ultravioleta a partir de ergosterol proveniente de levedura. Ambas são utilizadas em suplementos de vitamina D. O composto de vitamina D é biologicamente inativo, mas entra na circulação e é hidroxilado no fígado para formar 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], que é utilizada para determinar o nível de vitamina D de um paciente.

No rim, a 25(OH)D ainda é hidroxilada para produzir o metabolito biologicamente ativo 1,25(OH)₂D ¹. A 1,25(OH)₂D é um dos principais reguladores do metabolismo do cálcio e do fosfato, que estimulam a absorção intestinal de cálcio e aumentam a reabsorção óssea. A 1,25(OH)₂D também inibe a produção do hormônio da paratireoide (PTH), tanto por ação direta sobre as glândulas paratireoides como indiretamente pelo aumento dos níveis séricos de cálcio. A produção de 1,25(OH)₂D é, em si, estimulada pelo hormônio da paratireoide (PTH), proporcionando assim um circuito de controle eficaz ¹. O fator de crescimento de fibroblastos 23 [FGF-23], segregado a partir do osso, faz com que o cotransportador de sódio-fosfato seja internalizado pelas células renais e do intestino delgado, e também suprime a síntese da 1,25(OH)₂D ².

No hiperparatireoidismo secundário, uma doença fora das paratireoides faz com que as glândulas paratireoides se tornem dilatadas e hiperativas. Isso é geralmente causado por insuficiência renal, um problema em que o rim é incapaz de eliminar do sangue o fósforo produzido pelo corpo e de produzir vitamina D suficiente, especificamente 1,25(OH)₂D, a forma ativa da vitamina D. O acúmulo de fósforo leva a baixos níveis de cálcio no sangue, o que estimula as glândulas paratireoides a aumentar a produção de hormônio da paratireoide (PTH), levando a uma dilatação das glândulas. Conforme a doença avança, as glândulas paratireoides já não reagem normalmente ao cálcio e à vitamina D. A justificativa para a terapia com vitamina D ativada direta em caso de DRC é retardar a progressão do hiperparatireoidismo secundário. Diretrizes de prática clínica, como "Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI)" e "Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)", recomendam regimes terapêuticos com vitamina D ativada para pacientes com DRC ^{3,4}.

3. Descrição do método

O kit do IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} é um sistema de ensaio completo que envolve imunoextração de 1,25-di-hidroxivitamina D no soro humano e determinação quantitativa de níveis de 1,25(OH)₂D no IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System (Sistema).

Na cubeta 1, 218 µL de amostra do paciente é delipidada e depois incubada com partículas magnéticas revestidas de um anticorpo anti-1,25(OH)₂D específico. Após a incubação, as partículas magnéticas são lavadas e a 1,25(OH)₂D na amostra do paciente é eluída. 180 µL da amostra de 1,25(OH)₂D extraída são transferidos para a cubeta 2, onde ocorre o imunoensaio com base na tecnologia de quimioluminescência.

Na cubeta 2, 180 µL de amostras purificadas são incubadas com um anticorpo anti-1,25(OH)₂D de ovelha biotilado. Após a primeira etapa de incubação, um acridínio rotulado como conjugado de 1,25(OH)₂D é adicionado, e isso é seguido de uma etapa de incubação posterior. São então adicionadas partículas magnéticas rotuladas como estreptavidina antes de uma terceira etapa de incubação. As partículas magnéticas são capturadas usando um ímã, e uma etapa de lavagem é realizada para remover toda eventual 1,25(OH)₂D não aderida. São adicionados reagentes de acionamento e a luz resultante emitida pelo rótulo de acridínio é inversamente proporcional à concentração de 1,25(OH)₂D na amostra original.

4. Alertas e precauções

O IDS-iSYS 1,25VitD^{xp} destina-se somente ao diagnóstico *in vitro*, e não deve ser usado internamente em humanos ou animais. Este produto deve ser utilizado estritamente de acordo com as instruções contidas nestas Instruções de uso (IFU). A Immundiagnostic Systems Limited (IDS) não será responsável por qualquer perda ou dano (exceto conforme exigido por lei), independentemente das causas, decorrentes de não conformidade com as instruções fornecidas.

ATENÇÃO: este kit contém material de origem animal. Manipule os reagentes do kit como se eles pudessem transmitir um agente infeccioso. Deve-se usar precauções apropriadas e boas práticas laboratoriais no armazenamento, manuseio e descarte dos reagentes do kit. O descarte dos reagentes do kit deve estar em conformidade com as regulamentações locais.

Materiais humanos

O material humano utilizado na preparação deste produto foi testado com os ensaios recomendados pela FDA para detecção da eventual presença de anticorpos do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV I e II), o antígeno de superfície da Hepatite B, anticorpos de hepatite C, e o resultado foi negativo. Como nenhum teste pode garantir totalmente a ausência de agentes infecciosos, os reagentes devem ser manipulados em conformidade com a Biossegurança de nível 2.

Reagentes contendo azida sódica

Alguns reagentes deste kit contêm azida sódica (NaN₃) <0,1% (p/p) que pode reagir com tubulações de chumbo, cobre ou latão formando azidas metálicas altamente explosivas. Ao descartar, dilua com grandes volumes de água para evitar a acumulação de azida.

Classification under CLP:

Acute Tox 4
STOT SE 1
Eye Irrit. 2
Skin Irrit 2

Hazard statements:

H302+312: Harmful if swallowed or in contact with skin.
H315: Causes skin irritation.
H319: Causes serious eye irritation.
H370: Causes damage to organs .

Precautionary statements:

P260: Do not breathe vapours.
P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P301+312: IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/doctor/ if you feel unwell.
P302+350: IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water.
P302+352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water/.
P305+351+338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing

5. Precauções durante o manuseio

Exceto pelos calibradores, que são liofilizados, os reagentes fornecidos no kit estão prontos para uso. Consulte a seção Calibrador do procedimento para obter informações sobre a metodologia de reconstituição.

Antes que um novo cartucho seja carregado no Sistema, o reservatório de partículas magnéticas precisa ser misturado pelo operador com um movimento enérgico de rotação. Isso fará com que as partículas magnéticas que ficaram depositadas durante o envio fiquem suspensas novamente. É preciso ter cuidado para evitar a formação de espuma no cartucho do reagente.

Validade e armazenamento dos reagentes

Armazene o cartucho e os calibradores em posição **vertical** em um local escuro à temperatura de 2°C a 8°C. **Não congele** o cartucho nem os calibradores.

Validade dos reagentes	Cartucho de Immunoextraction	Cartucho de Immunoassay	Calibradores
Antes de abrir, entre 2°C e 8°C	Até a data de validade		
Cartucho, depois de abrir, entre 2°C e 8°C	N/A	Nº 56 dias	N/A
Calibradores, depois da reconstituição, entre 2°C e 8°C	N/A	N/A	Nº 6 horas
No Sistema *	Nº 28 dias	Nº 49 dias	Nº 3 horas

* Estabilidade contínua no Sistema

6. Coleta e armazenamento de amostras

O ensaio deve ser realizado usando amostras de soro (tubos de amostra padrão ou tubos com gel separador de soro).

- As amostras devem ser separadas o mais rapidamente possível após a coleta.
- Após a separação, as amostras podem ser armazenadas por no máximo 24 horas a temperatura ambiente (18°C a 25°C) ou até 7 dias entre 2°C e 8°C. Se for preciso mais tempo entre a separação e o teste, as amostras devem ser armazenadas a -20°C.
- As amostras podem ser armazenadas a -20°C por um período de até 2,5 meses, após o qual elas devem ser armazenadas a -80°C.
- As amostras podem resistir a no máximo 2 ciclos de congelamento/descongelamento e devem ser completamente descongeladas e bem misturadas antes de serem carregadas no instrumento.
- As amostras ficam estáveis no analisador por no máximo 3 horas.

Nota:

- As amostras que contêm partículas devem ser centrifugadas antes de se realizar o ensaio. Não use amostras inativadas por calor.
- Para minimizar possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controles devem ser medidos dentro de um prazo de 3 horas após terem sido colocados no Sistema.
- Cada laboratório deve seguir as diretrizes ou requisitos locais, estaduais e/ou federais, ou das organizações de credenciamento para estabelecer os procedimentos de manuseio e a estabilidade de armazenamento de suas próprias amostras. Para orientação sobre as práticas apropriadas, consulte CLSI GP44-A4, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests".
- Antes de realizar ensaios, certifique-se de que as amostras, os calibradores e os controles estejam a temperatura ambiente (18°C a 25°C).
- Alguns tubos de coleta de amostras disponíveis comercialmente podem afetar os resultados dos testes em determinados casos.
- É aconselhável seguir as instruções do fabricante dos tubos, especialmente ao processar as amostras em tubos primários.
- As amostras centrifugadas que tenham uma camada de lipídio na superfície devem ser transferidas para um copo de amostragem ou um tubo secundário. Deve-se tomar o cuidado de transferir somente as amostras clarificadas, sem o material lipêmico.
- **As amostras DEVEM estar equilibradas com a temperatura ambiente (18°C a 25°C) antes de serem carregadas no Sistema para otimizar a etapa de delipidação.**

7. Materiais

Materiais fornecidos

Cartucho de Immunoextraction, 2 cartuchos de 50 testes

MPA1	Partículas magnéticas revestidas com anticorpo monoclonal de 1,25(OH) ₂ D, 1 frasco, 2,8 mL.
DEL	Reagente de delipidação, uma solução de sulfato de dextrano e cloreto de magnésio, 1 frasco, 2,6 mL.
DIS	Reagente de deslocamento, um reagente patenteado para desassociar a 1,25(OH) ₂ D das proteínas de ligação com azida sódica como conservante (<0,1%), 1 frasco, 18,7 mL.
ELU	Reagente de eluição, uma solução de hidróxido de sódio, 1 frasco, 13,0 mL.
NET	Reagente de neutralização, uma solução de ácido cítrico, 1 frasco, 3,4 mL.
BUF	Solução tampão de ensaio, uma solução tampão de MOPS contendo albumina de soro bovino, 1 frasco, 9 mL por frasco.

Cartucho de Immunoassay, 1 cartucho de 100 testes

MPS3	Partículas magnéticas revestidas com estreptavidina em uma solução tampão de fosfato contendo albumina de soro bovino com azida sódica como conservante (<0,1%), 1 frasco, 2,6 mL.
CONJ	Conjugado, 1,25(OH) ₂ D marcado com um derivado de éster de acridínio, em uma solução tampão de fosfato contendo albumina de soro bovino com azida sódica como conservante (<0,1%), 1 frasco, 9,6 mL.
Ab-BIOT	Anticorpo-biotina, anticorpo policlonal anti-1,25(OH) ₂ D marcado com biotina em uma solução tampão de fosfato contendo proteínas de ovinos e azida sódica como conservante (<0,1%), 1 frasco, 13 mL.
BUFD	Solução tampão de lavagem, detergente patenteado a 1% em PBS com azida sódica como conservante (<0,1%), 1 frasco, 35 mL por frasco.

Calibradores

CAL A	Solução tampão de MOPS liofilizado contendo albumina de soro bovino, 1,25(OH) ₂ D com azida sódica como conservante (<1,0%), 3 de cada com 2 níveis de concentração, de 1,2 mL por frasco.
CAL B	

Mini CD

Contém as Instruções de uso para reagentes IDS-iSYS, arquivos CRY e certificado de análise.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Sistema

IS-310400	IDS-iSYS Multi-Discipline Automated System
IS-2030	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Control Set
IS-CC100	IDS-iSYS Cuvettes
IS-CS100	IDS-iSYS System Liquid (Syst I)
IS-CW100	IDS-iSYS Wash Solution (Wash S)
IS-CT100	IDS-iSYS Trigger Set
IS-6010	IDS-iSYS Cartridge Check System (CCS)
IS-CSC105	Sample Cups (500 µL)
IS-DW225	Disposable waste bags
IS-DS100	D-SORB solution

Materiais/equipamentos opcionais

IS-2035	IDS-iSYS 1,25 VitD ^{Xp} Calibration Verifiers
IS-10DA	IDS-iSYS Diluent A
IS-XP01	IDS-iSYS XPrep
Microtubos descartáveis de polipropileno de 2 mL com base cônica contornada de 10,8 mm de diâmetro a serem usados com tampa rosqueada, e tampa rosqueada com gaxeta circular (Sarstedt 72.609 e 65.716 ou equivalente)	
Dispositivos de pipetagem de precisão	

8. Procedimento de ensaio

Cartucho de reagentes de Immunoextraction

Os reagentes fornecidos no cartucho estão pronto para uso. Antes de que um novo cartucho seja carregado no sistema, as partículas magnéticas devem estar completamente suspensas de novo. As partículas magnéticas podem ser preparadas após o uso de uma das seguintes opções, evitando a formação de espuma:

Manualmente:

- Misture o frasco de partículas magnéticas energicamente entre as palmas das mãos, com um movimento para trás e para a frente, até que a cor das partículas em suspensão mude para marrom.
- Inverta o frasco de partículas magnéticas delicada e cuidadosamente até que todas as partículas magnéticas assentadas no fundo do frasco estejam novamente suspensas.
- Verifique visualmente o fundo do frasco de partículas magnéticas para confirmar que todas as partículas magnéticas assentadas tenham se dispersado completamente.
- Repita a inversão conforme necessário até que as partículas magnéticas estejam completamente suspensas novamente.
- Certifique-se de que não haja formação de espuma nos reagentes do cartucho.

Dispositivo de rotação de tubos de teste/sangue de extremidade sobre extremidade:

- Remova delicada e cuidadosamente o frasco de partículas do grampo de plástico.
- Monte o frasco de partículas no suporte de teste/sangue.
- Gire o frasco a 10–20 rotações por minuto durante 15 minutos a temperatura ambiente (18°C a 25°C).
- Verifique visualmente o fundo do frasco de partículas magnéticas para confirmar que todas as partículas magnéticas assentadas tenham se dispersado completamente.

- Repita a inversão conforme necessário até que as partículas magnéticas estejam completamente suspensas novamente.
- Certifique-se de que não haja formação de espuma nos reagentes do cartucho.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Consulte o manual do usuário do IDS-iSYS XPrep para obter informações sobre as instruções de uso.

O código de barras é lido quando o cartucho é carregado na bandeja de reagentes. Se não for possível fazer a leitura do rótulo com o leitor de código de barras do Sistema, existe um procedimento manual para inserir os dados do código de barras (consulte o Manual do usuário do IDS-iSYS). Depois que o cartucho estiver na bandeja de reagentes, o Sistema realiza automaticamente a mistura das partículas magnéticas para manter a homogeneidade.

Não execute a varredura de nível do cartucho no cartucho de Immunoextraction do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}, pois isso resultará em menos de 50 testes obtidos do cartucho.

O cartucho deve estar carregado na bandeja de reagentes por pelo menos 60 minutos antes de se iniciar o ensaio. Deixe o cartucho de reagentes de imunextração no sistema até que o cartucho se esgote.

Cartucho de reagentes de Immunoassay

Os reagentes fornecidos no cartucho estão prontos para uso. Antes que um novo cartucho seja carregado no Sistema, misture o reservatório de partículas magnéticas com um movimento enérgico de rotação entre as palmas das mãos. Evite a formação de espuma.

IDS-iSYS XPrep (IS-XP01):

- Consulte o manual do usuário do IDS-iSYS XPrep para obter informações sobre as instruções de uso.

O código de barras é lido quando o cartucho é carregado na bandeja de reagentes. Se não for possível fazer a leitura do rótulo com o leitor de código de barras do Sistema, existe um procedimento manual para inserir os dados do código de barras (consulte o Manual do usuário do IDS-iSYS). Depois que o cartucho estiver na bandeja de reagentes, o Sistema realiza automaticamente a mistura das partículas magnéticas para manter a homogeneidade.

Não execute a varredura de nível do cartucho no cartucho de Immunoassay do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}, pois isso resultará em menos de 100 testes obtidos do cartucho.

O cartucho deve estar carregado na bandeja de reagentes por pelo menos 40 minutos antes de se iniciar o ensaio. Se o cartucho for removido da bandeja de reagentes, armazene o cartucho verticalmente entre 2°C e 8°C no escuro.

Calibradores

O ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} foi padronizado segundo normas de referência internas, as quais estão alinhadas à já validada LC-MS/MS da 1,25-di-hidroxitamina D.

Os calibradores do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} são liofilizados. Prepare os calibradores conforme os seguintes procedimentos:

- Certifique-se de que os calibradores estejam equilibrados com a temperatura ambiente (18°C a 25°C).
- Imediatamente antes do uso, adicione 1,2 mL de água destilada ou deionizada em cada frasco.
- Recoloque a tampa. Deixe os frascos em repouso durante 10 minutos a temperatura ambiente (18°C a 25°C).
- Faça um vórtice durante 2 a 3 segundos; inverta cuidadosamente para assegurar uma reconstituição completa.
- Transfira aproximadamente 750 µL para triplicar a calibração (180 µL por replicação) dos calibradores para os microtubos de polipropileno de 2 mL com base cônica contornada e tampa rosqueada, posicione-os no Sistema em até 15 minutos após a reconstituição, e meça dentro de um período de 3 horas. Os calibradores não passam pelo processo de purificação.
- Evite a formação de espuma em cada etapa.
- Continue de acordo com as instruções do Manual do usuário do IDS-iSYS.

Frequência de calibração

Uma nova calibração é necessária:

- Após carregar cada novo lote de cartuchos.
- Quando os valores de controle não estiverem dentro dos intervalos definidos.
- Quando o intervalo de calibração de 21 dias tiver expirado.
- Depois da manutenção do Sistema.

A verificação da calibração é automática e gerenciada pelo Sistema.

Calibração do Sistema

Os dois calibradores do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} são necessários para realizar o ajuste da curva principal. Os calibradores são fornecidos com o kit; não devem ser utilizados calibradores de outro lote. Todos os níveis do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set (IS-2030) DEVEM ser medidos ao mesmo tempo que os calibradores, para validar o ajuste da curva principal.

Todos os dados necessários para a calibração do cartucho podem ser encontrados no mini CD. Use os calibradores nos níveis A e B para ajustar a curva principal aos reagentes carregados no Sistema. Procure pela presença de um cartucho de Immunoextraction e de Immunoassay do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} na bandeja de reagentes e verifique a disponibilidade da curva principal do cartucho no banco de dados. Se os dados para o lote de calibradores não estiverem disponíveis no Sistema, carregue os dados usando o mini CD fornecido com o kit de reagentes.

Inicie a calibração do imunoensaio no Sistema de acordo com o Manual do usuário do Sistema. A calibração é realizada usando 3 réplicas de cada nível. Uma réplica pode ser removida para atender aos requisitos de calibração. Todos os níveis de controle também precisam ser medidos na duplicata para calibrar o ensaio. Verifique e aprove a calibração de acordo com o estado de calibração indicado na janela de calibração; descarte o volume restante dos calibradores e dos controles da bandeja de amostras depois do uso.

9. Controle de qualidade

Use o IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set para controle de qualidade. Para assegurar a validade dos resultados, é preciso medir pelo menos dois controles com níveis variáveis de 1,25(OH)₂D. É possível usar outro material de controle adequado, além do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set. Os controles devem ser testados no início (ou quase) de cada calibração contendo amostras de pacientes e também durante cada calibração de acordo com a regulamentação ou os requisitos de credenciamento locais, estaduais e/ou federais e com os procedimentos de qualidade do seu laboratório. Consulte as Instruções de uso do IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} Control Set para obter instruções de preparação e manuseio.

Determinação dos níveis de amostra de 1,25 di-hidroxitamina D (1,25(OH)₂D)

Processe as amostras de acordo com o Manual do usuário do Sistema IDS-iSYS.

10. Cálculo de resultados

A concentração de 1,25(OH)₂D dentro de cada amostra é calculada automaticamente. A exibição das concentrações (na tela ou impressas) é produzida de acordo com a solicitação do usuário.

O ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} usa um ajuste de curva logística de 4 parâmetros (4PL) para calcular as concentrações de 1,25(OH)₂D.

Para converter os resultados para unidades do SI: pmol/L = pg/mL x 2,4

11. Intervalo de medição (intervalo reportável)

O intervalo reportável do ensaio é 7,5 - 150 pg/mL (18 - 360 pmol/L). Qualquer valor indicado abaixo de 7,5 pg/mL (18 pmol/L) deve ser reportado como "<7,5 pg/mL" (<18 pmol/L).

12. Diluição

As amostras com concentrações de 1,25(OH)₂D acima do intervalo reportável devem ser diluídas manualmente com IDS-iSYS Diluent A (IS-10DA) em uma proporção de 1:2. Os resultados das amostras diluídas devem ser multiplicados pelo fator de diluição 2x.

13. Limitações de uso

- Como no caso de qualquer procedimento diagnóstico, os resultados devem ser interpretados em conjunto com o quadro clínico do paciente e outras informações disponíveis para o médico.
- As características de desempenho deste ensaio não foram estabelecidas em uma população pediátrica.
- Os anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas dos reagentes, interferindo com os imunoenaios *in vitro*⁵. Os pacientes rotineiramente expostos a animais ou produtos de soro animal podem estar propensos a essa interferência e apresentar valores anômalos.
- As seguintes substâncias não interferem no ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} quando as concentrações apresentadas na tabela a seguir estiverem abaixo do limite declarado.

Agente com potencial para interferência	Concentração limite
Albumina	7,5 g/dL
Bilirrubina, conjugada	40 mg/dL
Bilirrubina, não conjugada	40 mg/dL
Biotina	0,1 mg/dL
Colesterol, total	300 mg/dL
HAMA	1000 ng/mL
Hemoglobina	500 mg/dL
Fator reumatoide	7000 IU/mL
Triglicerídeos	3000 mg/dL
Paracetamol	9 mg/dL
Ibuprofeno	50 mg/dL
Carbamazepina	127 µmol/L
Fenitoína	198 µmol/L
Ácido acetilsalicílico	65 mg/dL
Ácido salicílico	60 mg/dL

14. Valores esperados

Os seguintes intervalos foram determinados usando-se o ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} e são fornecidos somente para fins de informação.

As amostras de 121 adultos de ambos os sexos aparentemente saudáveis com idades entre 19 e 69 anos de descendências étnicas variadas (34% de pele escura e 66% de pele clara) foram analisadas no IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}. As amostras foram coletadas durante o inverno (36%) e o verão (64%) em indivíduos com valores normais intactos de PTH, cálcio, fosfato e TSH das regiões norte e sul dos Estados Unidos. O intervalo de referência de 95% para adultos aparentemente saudáveis foi calculado por um método não paramétrico segundo a orientação do CLSI C28-A3 "Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory".

Intervalo obtido para adultos normais: 15,2 a 90,1 pg/mL (36,5 a 216,2 pmol/L)

15. Dados de desempenho

São mostrados dados representativos do desempenho. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

15.1 Sensibilidade

O limite de branco (LoB), o limite de detecção (LoD) e o limite de quantificação (LoQ) foram determinados com a orientação do CLSI EP17-A, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation".

Sensibilidade	Concentração de 1,25(OH) ₂ D	
	pg/mL	pmol/L
LoB (limite de branco)	2,5	6,0
LoD (limite de detecção)	4,2	10,1
LoQ (limite de quantificação)	7,5	18,0

15.2 Precisão

A precisão foi avaliada de acordo com um protocolo modificado com base em CLSI EP-5A2, "Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods". Um total de 6 amostras analisadas em duplicata, duas vezes por dia durante 7 dias e usando-se um lotes de reagentes em um sistema.

Amostra	n	Média		Repetibilidade			Total		
		pg/mL	pmol/L	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Soro 1	28	15,0	36,0	3,0	7,2	10,8	3,1	7,4	11,7
Soro 2	28	27,7	66,5	1,8	4,3	4,8	2,3	5,5	9,8
Soro 3	28	42,9	103,0	4,6	11,0	9,8	10,4	25,0	10,2
Soro 4	28	87,3	209,5	3,2	7,7	8,4	8,8	21,1	13,0
Controle 1	28	24,2	58,1	7,4	17,8	7,6	11,4	27,4	9,5
Controle 2	28	80,4	193,0	11,8	28,3	4,0	19,9	47,8	10,9

15.3 Linearidade

A linearidade foi avaliada com base no CLSI EP-6A, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". As amostras foram preparadas por diluição de uma amostra alta do paciente com uma amostra baixa do paciente antes do ensaio. Cada diluição é analisada usando-se três lotes de reagentes em duplicata. A regressão linear das concentrações observadas contra as concentrações esperadas (esperada = inclinação x observada ± interceptão) é:

Inclinação	Intercepção		Coeficiente de regressão (R ²)
	pg/mL	pmol/L	
1,08	-6,5	-15,6	0,99

15.4 Comparação do método

O ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp} foi comparado com o ensaio quantitativo disponível comercialmente IDS-iSYS 1,25-Dihydroxy Vitamin D, segundo CLSI EP-9A2, "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples". Um total de 105 amostras, selecionadas para representar uma grande variedade de concentrações de 1,25(OH)₂D [11,4 - 150 pg/mL (27,4 - 360 pmol/L)], foram analisadas com cada método. Uma análise de regressão Passing-Bablok foi realizada nos dados comparativos:

n	Inclinação	Intercepção		Coeficiente de correlação (r)
		pg/mL	pmol/L	
105	0,97	6,0	14,4	0,94

15.5 Especificidade

Os seguintes metabólitos de vitamina D sintéticos exógenos ou compostos de medicamentos de vitamina D foram injetados em amostras de soro e medidos com o ensaio IDS-iSYS 1,25 VitD^{xp}.

Análito	Reatividade cruzada (%)
1,25(OH) ₂ D ₃	97%
1,25(OH) ₂ D ₂	72%
1,24,25(OH) ₃ D ₃	106,7%
25-OH D ₃	0,04%
25-OH D ₂	0,16%
C3-epimer 25(OH)D ₃	0,00%
24,25(OH) ₂ D ₃	0,06%
24,25(OH) ₂ D ₂	0,00%
25,26(OH) ₂ D ₃	0,52%
Alfacalcidol	0,01%
Cholecalciferol (Vitamin D3)	0,00%
Ergocalciferol (Vitamin D2)	0,00%
Sensipar	0,00%
Zemplar (paracalcitol)	5,70%

16. Símbolos usados



Número do catálogo



Dispositivo de diagnóstico *In Vitro*



Fabricante



Aplicado de acordo com a diretiva 98/79/EC

Rx Only

Atenção: a Lei Federal dos EUA restringe a venda deste dispositivo por ou a pedido de um (profissional da saúde licenciado).

17. Referências bibliográficas

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
2. Shimada T et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35.
3. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:Suppl 3:S1-S201.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Suppl 113): S1-S130.
5. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27-33



Immunodiagnostic Systems Limited,
10 Didcot Way, Boldon Business Park,
Boldon, Tyne & Wear, NE35 9PD, UK
Tel.: +44 191 519 0660 • Fax: +44 191 519 0760
e-mail: info.uk@idsplc.com • www.idsplc.com

Immunodiagnostic Systems

EUA Immunodiagnostic Systems (IDS) Inc,
948 Clopper Road, Gaithersburg, MD 20878, USA.
Tel.: +1 877 852 6210 • Fax: +1 301 990 4236
e-mail: info.us@idsplc.com

França Immunodiagnostic Systems SAS,
153 Avenue D'Italie, 75013 Paris, France
Tel.: +33 140 770 450 • Fax: +33 140 770 455
e-mail: info.fr@idsplc.com

Bélgica Immunodiagnostic Systems S.A.,
Rue Ernest Solvay 101, 4000 Liège, Belgium
Tel.: +32 425 226 36 • Fax: +32 425 251 96
e-mail: info.be@idsplc.com

Alemanha Immunodiagnostic Systems GmbH (IDS GmbH),
Mainzer Landstrasse 49, 60329 Frankfurt am Main.
Tel.: +49 693 085 5025 • Fax: +49 693 085 5125
e-mail: info.de@idsplc.com

Escandinávia Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic a/s)
International House, Center Boulevard 5,
2300 København S, Denmark
Tel.: +45 448 400 91
e-mail: info.nordic@idsplc.com

Brasil IDS Brasil Diagnósticos Ltda.
Rua dos Pinheiros, 610 - conj 41 Edifício Win Work Pinheiros
São Paulo, SP Brasil. CEP: 05422 001
Tel.: +55 113 740 6100 • Fax: + 55 113 740 6105
e-mail: info.br@idsplc.com