

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro



25-OH Vitamina D AUTO

MS 80115310260



ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO MESMO.

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR: SAC (21) 3907 2534 / 0800 015 1414 / sac@kovalent.com.br

APRESENTAÇÃO

Artigo nº	Apresentação
4270075K	R1 3x20mL + R2 1x15mL
4270075M	R1 3x20mL + R2 1x15mL
4270169.6R	R1 4x34,6mL + R2 4x10,3mL
4270250K	R1 5X40mL + R2 1x50mL

FINALIDADE

Este kit destina-se ao uso em laboratórios clínicos para a determinação quantitativa de 25-OH vitamina D (vitamina D) no soro e plasma humanos, usando analisadores bioquímicos automatizados. A medição da vitamina D é usada para a avaliação da suficiência de vitamina D. Apenas para uso diagnóstico in vitro.

SUMÁRIO^{1,2}

A vitamina D é um hormônio esteróide envolvido na absorção intestinal ativa do cálcio e na regulação de sua homeostase. A vitamina D tem duas formas: vitamina D2 e vitamina D3. A vitamina D2 é obtida a partir de produtos lácteos, enquanto a vitamina D3 é produzida na pele após a exposição à luz ultravioleta. No fígado, a vitamina D é hidroxilada no seu carbono 25 para formar 25-OH vitamina D. Esse metabólito é a forma circulante predominante da vitamina D e é considerado um indicador preciso do status geral de vitamina D de um indivíduo. A deficiência de vitamina D tem sido associada a muitas doenças, incluindo osteoporose, raquitismo e osteomalácia¹. Ambos os suplementos alimentares de vitamina D atualmente disponíveis no mercado (vitamina D2 e vitamina D3) são convertidos em 25-OH vitamina D no fígado. A soma das concentrações de 25-OH vitamina D2 e 25-OH vitamina D3, no soro ou no plasma, é denominada "25-OH vitamina D Total". O monitoramento preciso do nível total de 25-OH vitamina D é crítico em contextos clínicos^{1,5}.

MÉTODO

Ensaio imunoturbidimétrico com partículas de látex.

PRINCÍPIO

O kit 25-OH Vitamina D AUTO é um ensaio imunoturbidimétrico direto com partículas de látex. Os reagentes do kit são projetados para dissociar a vitamina D das proteínas de ligação à vitamina D, encontradas em amostras de soro ou plasma, enquanto as partículas revestidas com anticorpos anti-vitamina D se ligam à vitamina D dissociada, causando aglutinação. Essa aglutinação é detectada através da alteração de absorbância (a 700 nm), com a magnitude da alteração sendo proporcional à quantidade total de vitamina D na amostra. As concentrações das amostras são determinadas por interpolação a partir de uma curva de calibração de 5 pontos preparada a partir de calibradores de concentrações conhecidas

REAGENTES

REAGENTE 1: Solução tampão de fosfato (<100 mM), azida de sódio a 0,1%.

REAGENTE 2: Suspensão de partículas de látex (<0,5%) revestidas com anticorpos anti-vitamina D, prontos para uso.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes são estáveis até o prazo da data de validade, se armazenados a temperatura de 2 a 8 °C, protegidos da luz e a contaminação por evitada. Não misture diferentes lotes de reagente. Não congele os reagentes!

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- O reagente contém azida sódica (0,95 g/L) como conservante. Não ingerir! Evite contato com pele e membranas da mucosa.
- Por favor, consulte a ficha de segurança e tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório.

- Para um diagnóstico final, os resultados devem sempre ser correlacionados com o histórico médico do paciente, exames clínicos e outros resultados.
- Apenas para uso profissional.

GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS

Seguir as disposições da resolução em vigor que dispõe sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

PREPARO DOS REAGENTES

Os reagentes são prontos para o uso, estáveis e líquidos. **Misture invertendo pelo menos 10 vezes antes de usar.**

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Solução NaCl 9 g/L.
- Equipamento geral de laboratório.

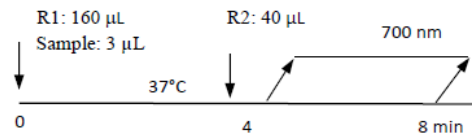
AMOSTRA

Podem ser utilizadas amostras de **soro, plasma K2-EDTA, plasma K3-EDTA ou plasma de heparina lítica**. A comparação de método das amostras de plasma K2-EDTA versus amostras de soro produziu a equação de regressão de $y = 1,0198x - 0,4985$ e $R^2 = 0,996$. A comparação do método das amostras de plasma K3-EDTA versus amostras de soro produziu a equação de regressão de $y = 1,0378x - 1,2959$ e $R^2 = 0,9944$. A comparação do método das amostras de plasma com Li-heparina versus amostras de soro produziu a equação de regressão de $y = 1,0475x - 1,3749$ e $R^2 = 0,9947$.

Para o plasma, misture a amostra por inversão suave antes da centrifugação. Centrifugar e separar soro ou plasma o mais rápido possível após a coleta. As amostras podem ser refrigeradas a 2-8 °C por até uma semana. Para armazenamento prolongado, podem ser armazenadas a -20 °C ou menos. Evite ciclos repetidos de congelamento e descongelamento (até três ciclos são aceitáveis). Não use amostras de soro ou plasma altamente turvos ou hemolisados. Deixe as amostras refrigeradas ou descongeladas equilibradas à temperatura ambiente por 30 minutos antes do uso; as amostras devem ser bem misturadas antes da análise.

PROCEDIMENTOS PARA O TESTE

Esquema de teste do ensaio e os parâmetros de aplicação específicos para o analisador Beckman AU 680:



CALIBRADORES E CONTROLES

Para a calibração em sistemas fotométricos automatizados, o calibrador TOPKAL 25 - OH VITAMINA D (5 níveis) é recomendado. Para controle de qualidade interno, o controle Topkon 25-OH Vitamina D (2 níveis) é indicado. Cada laboratório deve estabelecer ações corretivas em caso de desvios na recuperação dos controles.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as informações nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

RESULTADOS

Os resultados são expressos em **ng/mL**.

Nota: Amostras com valores maiores que 147,8 ng/mL devem ser relatadas como >147,8 ng/mL. Amostras com valores inferiores a 7,6 ng/mL devem ser relatadas como <7,6 ng/mL.

VALORES DE REFERÊNCIA

Segundo a Diretriz Aprovada C28-A3 - Terceira Edição, o intervalo de referência do ensaio de Vitamina D foi determinado pela medição das concentrações séricas de vitamina D 25-OH em uma população dos EUA de 145 adultos aparentemente saudáveis, entre 21 e 67 anos de idade, durante os meses de abril e maio (primavera). Os indivíduos eram de três localizações geográficas diferentes: 47 da Pensilvânia (norte dos EUA), 49 do Tennessee (EUA central) e 49 do Texas (sul dos EUA). Todos os 145 indivíduos não apresentaram doença renal, gastrointestinal, doença hepática, doença relacionada aos níveis de cálcio, tireóide, paratireóide, convulsões, doença crônica ou cirurgia bariátrica. Os 95% centrais da população apresentaram concentrações de 25-OH vitamina D variando entre 7,2 e 41,6 ng/mL, com uma concentração média de 20,1 ng/mL.

LIMITAÇÕES

1. O ensaio foi concebido para ser utilizado apenas com amostras de soro

Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico in vitro



e plasma humano.

2. Como em qualquer teste de diagnóstico, é possível que erros técnicos, procedimentais e substâncias e fatores não listados possam interferir no bom funcionamento do teste.

3. Anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com imunoglobulinas ou outros materiais nos reagentes, interferindo nos imunoenaios in vitro. Pacientes expostos rotineiramente a animais, produtos séricos de animais ou outros produtos imunogênicos que podem provocar a produção de anticorpos heterofílicos contra os reagentes do ensaio podem estar sujeitos a essa interferência e valores anômalos podem ser obtidos. Os resultados do teste devem ser utilizados em conjunto com outros dados clínicos e laboratoriais para auxiliar o clínico na tomada de decisões no gerenciamento de pacientes individuais em uma população adulta.

CARACTERÍSTICAS / DESEMPENHO

Os seguintes dados de desempenho foram obtidos no analisador bioquímico Beckman AU680.

SENSIBILIDADE

O LOB, LOD e LOQ do ensaio foram determinados seguindo a diretriz CLSI EP17-A2.

Limite do branco - LoB

O soro livre de vitamina D foi analisado com o teste de vitamina D Kovalent em cinco rodadas independentes (mais de 5 dias) com 12 repetições por execução. O LoB foi calculado como a média dos 57º e 58º valores de branco mais altos. O LoB do ensaio foi de 1,2 ng/mL.

Limite de detecção - LoD

Cinco amostras séricas de vitamina D muito baixas foram medidas em quatro rodadas independentes (mais de 4 dias), com 3 repetições por execução. O LoD foi definido como $LoD = LoB + (1,645 \times \text{desvio padrão de amostras baixas})$. A LoD do ensaio foi de 2,9 ng/mL.

Limite de quantificação - LoQ

Cinco amostras com baixa concentração de vitamina D foram medidas em 40 repetições obtidas de cinco execuções independentes (5 dias). O LoQ foi medido como a menor concentração com um CV de 20%. O LoQ declarado do ensaio foi de 7,6 ng/mL.

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS

A comparação entre métodos do ensaio foi avaliada seguindo a diretriz CLSI EP9-A3. Um total de 171 amostras de soro foi testado em comparação com um imunoensaio enzimático de 25-OH vitamina comercializado legalmente.

Os resultados para as 171 amostras de soro estão na tabela abaixo:

Análise de Regressão de Deming	Intervalo de confiança de 95%
Inclinação	1.062 (1.028 a 1.095)
Interceptação	-3.03 (-4.94 a -1.11)
Coefficiente de correlação	0.9785 (0.970 a 0.9841)
Range (ng/mL)	8.4 a 146.8

PRECISÃO

A precisão foi avaliada de acordo com as diretrizes do CLSI EP5-A2. Os controles e as amostras foram medidos diariamente ao longo de 20 dias, usando três lotes de reagentes e um analisador bioquímico. Foram realizadas 40 rodadas independentes para cada amostra. Cada rodada produziu duas medições. 80 pontos foram obtidos por amostra. Os resultados são mostrados abaixo:

25-OH Vitamina D (ng/mL)	Intra ensaio		Entre ensaio		Total			
	Amostra	n	Média	SD	%CV	SD	%CV	
CQ#1	80	21.7	0.9	3.9%	0.6	2.8%	1.3	6.2%
CQ #2	80	42.5	1.0	2.4%	0.8	2.0%	1.7	3.9%
Am. #1	80	11.1	0.9	8.3%	0.5	4.4%	1.8	16.6%
Am. #2	80	18.2	0.9	4.9%	0.7	3.9%	1.6	8.7%
Am. #3	80	22.1	0.8	3.8%	0.8	3.8%	1.2	5.6%
Am. #4	80	42.8	0.9	2.0%	1.0	2.4%	1.3	3.1%
Am. #5	80	59.5	1.0	1.7%	0.7	1.2%	1.6	2.7%
Am. #6	80	80.2	1.3	1.6%	1.1	1.4%	2.0	2.5%
Am. #7	80	99.5	1.8	1.8%	1.5	1.6%	2.7	2.8%
Am. #8	80	117.6	2.2	1.9%	2.0	1.7%	3.7	3.2%
Am. #9	80	139.2	2.7	1.9%	2.6	1.8%	4.1	2.9%

LINEARIDADE

Onze níveis de linearidade foram preparados diluindo uma amostra sérica alta com soro livre de vitamina D. Os níveis de linearidade foram preparados de acordo com a diretriz CLSI EP6-A. As medidas foram realizadas em triplicatas. Verificou-se que o ensaio era linear entre 7,6 e 147,8 ng/mL.

INTERFERENTES

Os estudos de interferência foram conduzidos de acordo com as diretrizes do CLSI EP7-A2. O critério de aceitação foi estabelecido em 10% ou menos de desvio entre a amostra com *spike* e o controle. Os resultados do teste não foram significativamente afetados pelas seguintes substâncias endógenas:

Substância	Tolerância	Unidade
Bilirrubina livre	40	mg/dL
Bilirrubina conjugada	40	mg/dL
Hemoglobina	600	mg/dL
Proteína Total	12.0	g/dL
Triglicerídeos	1000	mg/dL
Fator Reumatóide (RF)	200	IU/mL

Os resultados do ensaio também não foram afetados significativamente pelas seguintes substâncias exógenas:

Substância	Tolerância	Unidade
Acetaminofeno	20.0	mg/dL
Ácido Acetil Salicílico	60.0	mg/dL
Ampicilina	5.3	mg/dL
Ascorbato	3.0	mg/dL
Biotina	100.0	ng/mL
Carbamazepina	3.0	mg/dL
Cefotaxima	180.0	mg/dL
Cloramfenicol	5.0	mg/dL
Creatinina	30.0	mg/dL
Digoxina	6.1	ng/mL
Etanol	400.0	mg/dL
Etosuximida	25.0	mg/dL
Furosemida	6.0	mg/dL
HAMA	350	ng/mL
Heparina	3.0	U/mL
Ibuprofeno	50.0	mg/dL
Lidocaína	1.2	mg/dL
Acetato de Lítio	2.2	mg/dL
Noradrenalina	4.0	ug/mL
Rifampicina	5.0	mg/dL
Theofilina	4.0	mg/dL
Ureia	300.0	mg/dL
Ácido úrico	20.0	mg/dL
Ácido Valpróico	50.0	mg/dL
Vancomicina	10.0	mg/dL

A reatividade cruzada do kit foi determinada pela adição de vários metabólitos de vitamina D às amostras de pool de soro. Com base nos resultados da tabela abaixo, o ensaio não reagiu com vitamina D2 ou vitamina D3. O ensaio recuperou 25-OH vitamina D2 e 25-OH vitamina D3 da mesma forma. Os resultados da reatividade cruzada estão resumidos na tabela abaixo:

Componente	Concentração Testada	Reatividade Cruzada*
25-OH Vitamina D3	100.0 ng/mL	100%
25-OH Vitamina D2	100.0 ng/mL	106.9%
Vitamina D3	100.0 ng/mL	-0.8%
Vitamina D2	100.0 ng/mL	-1.7%
1,25-(OH)2 Vitamina D3	580.0 pg/mL	0.2%
1,25-(OH)2 Vitamina D2	580.0 pg/mL	-0.5%
24R,25-(OH)2 Vitamina D3	100.0 ng/mL	118.8%
3-epi-25-OH Vitamina D3	100.0 ng/mL	33.0%
3-epi-25-OH Vitamina D2	100.0 ng/mL	36.5%

*Reatividade cruzada= (Valor do ensaio corrigido/Concentração adicionada) * 100

O paricalcitol (Zemplar®) não apresentou reação cruzada significativa com o ensaio quando presente a 5 ng/mL.

REFERÊNCIAS

- Garland, C. F. et al. The Role of Vitamin D in Cancer Prevention. *Am J Public Health*. 2006, 96(2): 252–261.
- Giovannucci, E. The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: a review (United States). *Cancer Causes Control*. 2005, 16(2):83-95.
- van den Bemd, G. J., Chang, GT. Vitamin D and vitamin D analogs in cancer treatment. *Curr Drug Targets*. 2002, 3(1):85-94.
- Danik, J. S., Manson J. E. Vitamin D and Cardiovascular Disease. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*. 2012, 14(4): 414–424.
- Reid I. R.; Bolland M. J. Role of Vitamin D Deficiency in Cardiovascular Disease. *Heart*. 2012, 98(8):609-614.
- Lavie, C. J.; Lee, J. H.; Milani, R. V. Vitamin D and Cardiovascular Disease Will It Live Up to its Hype? *J Am Coll Cardiol*. 2011, 58(15):1547-1556
- Holick, MF. Vitamin D Status: Measurement, Interpretation and Clinical Application. *Ann Epidemiol*. 2009, 19(2): 73–78.
- Morris H. A. Vitamin D: A Hormone for All Seasons-How Much is enough? *Clin. Biochem. Rev.*, 2005, 26, 21-32.

Instruções de Uso















Somente para uso diagnóstico in vitro



9. Bikle D. D. Vitamin D and the skin. *J. Bone Miner. Metab.* 2010, 28, 117-30.
10. Zerwekh J. E. Blood biomarkers of vitamin D status. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008, 87:1087S-91S.
11. Moyad M. A. Vitamin D: a rapid review. *Dermatol Nurs.*, 2009, 21: 25-30.
12. Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining Vitamin D insufficiency. *Lancet*, 1998, 351, 805-806.
13. Holick MF et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011, 96 (7):1911-30.

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Símbolos Usados

-  Fabricante
-  Limites de temperatura
-  Diagnóstico in vitro
-  Cuidado, consulte documentos anexos
-  Consulte instruções de uso
-  Material Reciclável
-  Não rejeitar diretamente para o ambiente
-  Lote
-  Data de Fabricação
-  Validade
-  Risco Biológico
-  Altamente tóxico
-  Corrosivo
-  Nocivo

FABRICADO POR

Kovalent do Brasil Ltda.
Rua Cristóvão Sardenha, 110 – Jd. Bom Retiro São Gonçalo – RJ – CEP
24722-414 - Brasil www.kovalent.com.br
CNPJ: 04.842.199/0001-56
Farm. Resp.: Jorge A. Janoni CRF: 2648-RJ

SAC: sac@kovalent.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

Data de Vencimento e Nº de Lote: VIDE EMBALAGEM