



**BioForniture srl**

**Hospital Solution**

Via V. Petruzzi, 16 – 70017 Putignano BA

Tel. 080/4913786 – Fax 080/9902800

e-mail [srlbioforniture@legalmail.it](mailto:srlbioforniture@legalmail.it)

C.F. e P. IVA 03353790722

## Test Rapido Quantitativo Vitamina D 25-OH

Test rapido immunocromatografico a “sandwich” per il rilevamento quantitativo della Vitamina D 25-OH totale in campioni di sangue capillare o siero (REF GBD 7120-25T)

CE

Solo per uso diagnostico *in vitro*

Leggere le istruzioni per l'uso

### UTILIZZO

Il Test Rapido Quantitativo **25-OH Vitamin D** di Global Diagnostics è un test *in vitro* immunocromatografico *one step* per la determinazione quantitativa della 25-idrossivitamina D (25-OH Vitamin D) su campioni umani di sangue capillare o siero. Questa analisi fornisce un risultato diagnostico preliminare e può essere usata per lo screening della ipovitaminosi D. Per un'ulteriore conferma dei risultati si suggerisce di ricorrere ad un'analisi per mezzo di cromatografia liquida abbinata a spettrometria di massa (LC-MS/MS).

### RIASSUNTO E SPIEGAZIONE

La Vitamina D è un ormone steroideo responsabile dell'incremento dell'assorbimento intestinale del calcio e la regolazione della sua omeostasi. Le due forme comuni della Vitamina D sono la Vitamina D2 e la Vitamina D3. Quest'ultima è prodotta naturalmente nella pelle umana tramite l'esposizione alla luce ultravioletta, mentre la Vitamina D deriva essenzialmente dall'alimentazione. La Vitamina D è trasportata al fegato, dove viene metabolizzata a 25-idrossivitamina D, la cui rilevazione, in medicina, è utilizzata per determinare la concentrazione di vitamina D nel sangue, poiché la concentrazione sanguigna della 25-idrossivitamina D è considerato il migliore indicatore del livello di Vitamina D.

La carenza di Vitamina D è riconosciuta come una epidemia a livello globale. Ogni cellula del nostro corpo possiede recettori per la Vitamina D, ad indicare che tutte hanno la necessità di averne un livello sufficiente per poter funzionare correttamente. I rischi per la salute associati ad una carenza di Vitamina D sono molto maggiori di quanto non si pensasse in precedenza, poiché l'ipovitaminosi D è stata associata a varie gravi malattie: osteoporosi, osteomalacia, sclerosi multipla, malattie cardiovascolari, complicazioni in gravidanza, diabete, depressione, infarto, malattie autoimmuni, influenza, tumori, malattie infettive, Alzheimer, obesità ed alto tasso di mortalità. Per questo motivo, la valutazione del livello di Vitamina D (25-OH) è considerata come “test di screening necessario dal punto di vista medico” e mantenerne livelli sufficienti serve a migliorare non solo la salute delle ossa ma anche quella generale dell'organismo.

Varie linee guida per la carenza di Vitamina D sono state pubblicate da diverse organizzazioni sanitarie. La recente letteratura suggerisce i seguenti intervalli per la classificazione dello stato in relazione alla Vitamina D:

Livello di Vitamina D (25-OH)	Intervallo di riferimento (ng/ml)	Intervallo di riferimento (nmol/l)
Carenza	0 - 10	0 - 25
insufficienza	10 - 30	25 - 75
Sufficienza	30 - 100	75 - 250
Eccesso (non tossico)	100 - 150	250 - 375
Tossicità	>150	>375

## PRINCIPIO DEL TEST

Il Test Rapido Quantitativo **25-OH Vitamin D** sfrutta il principio della immunocromatografia, un originale test di immunodosaggio a "sandwich" a doppio sito su una membrana. Il test impiega una coppia "esclusiva" di anticorpi monoclonali anti-vitamina D 25-OH: uno coniugato con oro colloidale ed un altro immobilizzato nella fase solida. Ciò permette di selezionare selettivamente la vitamina D con un alto grado di sensibilità e specificità.

Mentre il campione di prova scorre attraverso la struttura a membrana all'interno del dispositivo di test, il complesso con oro colloidale colorato anti-vitamina D 25-OH si lega alla vitamina D 25-OH del campione. Questo complesso si muove ulteriormente sulla membrana, grazie all'azione capillare, verso l'area di test (T) dove è immobilizzato da un altro componente anti-vitamina D 25-OH di cui è rivestita la membrana, portando alla formazione di una banda di colore rosa/viola che conferma un risultato positivo del test. L'intensità della banda colorata nella zona della linea di test è dipendente dalla concentrazione di vitamina D 25-OH: maggiore è la concentrazione di vitamina D 25-OH nel campione testato, più intensa è la banda colorata. Nella finestra di test è presente una banda di controllo da usare come controllo procedurale. Se il dispositivo test è conservato in buone condizioni ed il test viene eseguito in modo appropriato, questa banda colorata dovrebbe sempre apparire nella zona della banda di controllo (C).

## MATERIALE FORNITO

1. Dispositivo per il test **25-OH Vitamin D** (Confezione da 25 test)
2. Stabilizzatore (diluente) del campione (1 fiala da 6 ml)
3. Dispositivo **UniSampler™** (25 tubo di raccolta + 25 capillari)
4. Scheda RFID - 1
5. Istruzioni per l'uso - 1

## MATERIALE RICHIESTO NON FORNITO

1. Timer o orologio
2. Lancette pungidito
3. Garze disinfettanti
4. **RapiRead™** - Affimedix RR-101 (Marchiato CE) – da acquistare separatamente
5. Controllo di Qualità (Marchiato CE) – da acquistare separatamente

## CONCENTRAZIONE E STABILITÀ

Il test deve essere conservato tra 4°C e 30°C e sarà efficace fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Il prodotto è sensibile all'umidità e deve essere usato immediatamente dopo essere stato aperto. Ogni prodotto sigillato in modo improprio deve essere scartato.

## PRECAUZIONI

1. Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
2. Non utilizzare il prodotto oltre la data di scadenza.
3. Maneggiare tutti i campioni come potenzialmente infetti.
4. Prodotto sensibile all'umidità, non aprire la busta sigillata finché non è il momento di eseguire il test.

## CONTROLLO QUALITÀ

La buona pratica di laboratorio raccomanda l'uso quotidiano dei materiali di controllo per convalidare l'affidabilità del dispositivo. Se i valori di controllo non rientrano nell'intervallo stabilito, i risultati del dosaggio non sono validi. Un set di due controlli confermati da LC-MS/MS è disponibile come accessorio opzionale.

Il test quantitativo **25-OH Vitamin D** fornisce un controllo di processo integrato con una diversa reazione antigene/anticorpo nella regione di controllo (C). Questa banda di controllo dovrebbe sempre apparire, indipendentemente dalla presenza di vitamina D. Se la banda di controllo non appare, il test deve essere scartato ed il risultato ottenuto non ritenuto valido. La presenza della banda di controllo serve a verificare 1) che sia stato utilizzato un volume di campione sufficiente e 2) che il flusso ottenuto sia adeguato.

## ATTENZIONE

Il test quantitativo **25-OH Vitamin D** è stato progettato SOLO per campioni di sangue (o siero) prelevati con dispositivo pungidito. NON utilizzare campioni di sangue o plasma con l'aggiunta di anticoagulanti per il test quantitativo **25-OH Vitamin D**, poiché gli anticoagulanti influiscono sui risultati del test.

## RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE

1. Lavarsi accuratamente la mano e asciugare completamente.
2. Pulire e disinfettare il dito anulare o medio della mano non dominante.
3. Pungere il lato del dito con un pungidito.
4. Raccogliere 10 µl di sangue usando il raccogliitore di sangue UniSampler™ (vedere le istruzioni qui di seguito) ed eseguire immediatamente il test.

## ISTRUZIONI PER L'UTILIZZO DEL DISPOSITIVO UniSampler™



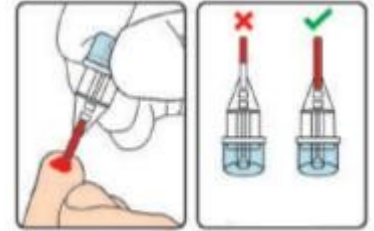
L'UniSampler™ è formato da un tubo di raccolta (sx) ed un capillare con tappo (dx).



Trasferire 5 gocce di soluzione diluente dalla fiala al tubo di raccolta.



Usare il pungidito per far formare una goccia di sangue capillare.



Appoggiare la punta del capillare alla goccia di sangue. Il capillare deve riempirsi completamente (10 µl). Se il sangue sembra non entrare nel capillare, toccare ripetutamente la goccia.



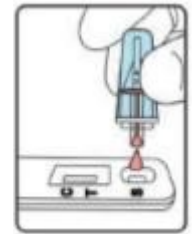
Inserire il capillare nel tubo di raccolta ed unire fermamente le due parti dell'UniSampler™.



Agitare l'UniSampler™ con fermezza almeno 3-4 volte per consentire al sangue di uscire dal capillare e miscelarsi completamente con la soluzione diluente.



Rimuovere il tappo dell'UniSampler™.



Capovolgere l'UniSampler™. Schiacciare con delicatezza le pareti del tubo di raccolta e dosare 3 gocce piene di campione nel pozzetto della membrana (S).

## ATTENZIONE

- La perfetta e completa (100%) miscelazione del sangue con lo Stabilizzatore del Campione (diluente) è "ESTREMAMENTE" importante per ottenere risultati corretti. La corretta miscelazione può essere determinata controllando il colore rosso uniforme del sangue premiscelato nel Tubo di Raccolta e nel Raccogliitore di Sangue.
- L'incompleta miscelazione del sangue con lo Stabilizzatore del Campione (diluente) compromette la corretta preparazione del campione e comporta, con tutta probabilità una sottostima del livello reale di Vitamina D.
- Per far cadere tre gocce complete di sangue premiscelato nel pozzetto del campione (S), la pressione dell'UniSampler™ deve essere "LEGGERA".

## PROCEDURA

1. Portare tutti i materiali ed i campioni a temperatura ambiente (circa 21-24°C).
2. Rimuovere il dispositivo a cassetta dalla busta sigillata e posizionarlo su una superficie dura e piana.
3. Seguire le istruzioni per utilizzare il dispositivo UniSampler™.
4. Dopo aver versato 3 gocce di sangue premiscelato nel pozzetto del campione (S), leggere e registrare i risultati dopo 15 minuti tramite il RapiRead™ CUBE Reader.

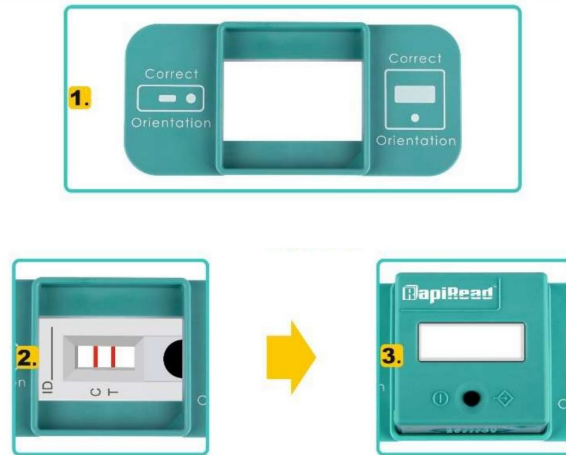
## CONTROLLO QUALITÀ / PROTOCOLLO ALTERNATIVO CON IL SIERO

Il test quantitativo **25-OH Vitamin D** è stato progettato per l'utilizzo con sangue capillare umano. Tuttavia, per il test può anche essere usato sia il Controllo di Qualità sia un campione di siero. Invece di prendere il sangue dal polpastrello,

versare 5 µl di Controllo o di siero nella provetta di raccolta usando una micropipetta (non fornita con il kit) e seguire le "Istruzioni per l'uso del dispositivo UniSampler™".

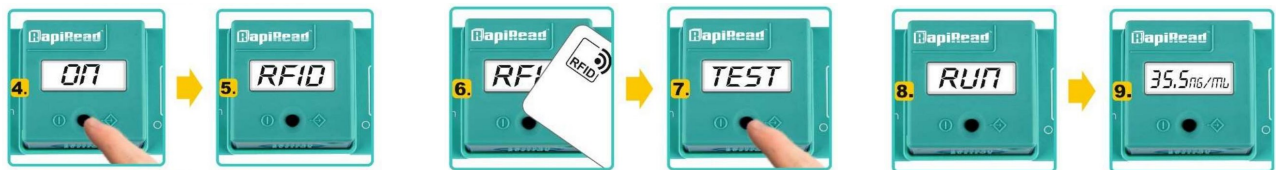
**Nota importante:** *Trascorso un periodo di tempo superiore ai 15 minuti il risultato potrebbe non essere accurato.*

## MISURAZIONE QUANTITATIVA MEDIANTE RapiRead™ CUBE READER



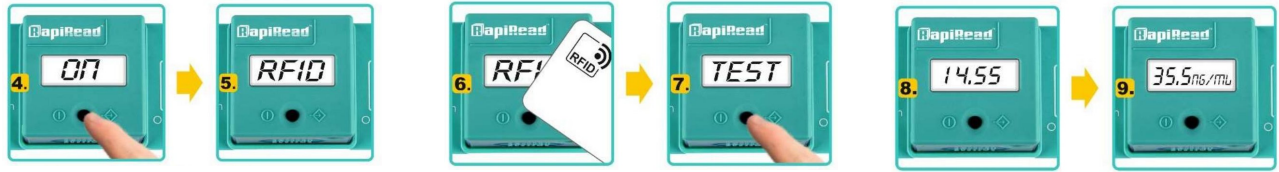
1. Verificare il corretto orientamento indicato sull'adattatore per il dispositivo test ed il RapiRead™ CUBE Reader.
2. Posizionare correttamente l'adattatore sopra il dispositivo test.
3. Posizionare correttamente il RapiRead™ CUBE Reader sopra l'adattatore:
  - dopo 15 minuti in caso di protocollo "NO TIMER";
  - in caso si utilizzi il protocollo "TIMER", posizionare il lettore sopra l'adattatore soltanto dopo aver aggiunto le tre gocce di soluzione campione sul dispositivo test.

### PROTOCOLLO "NON-TIMER"



4. Accendere il RapiRead™ CUBE Reader premendo il pulsante nero. Il lettore esegue un'autodiagnosi durante la quale sul display compare la scritta "WAIT". Dopo l'emissione di un segnale acustico, sul display compare "ON". Per effettuare una lettura, premere il pulsante nero per 1 secondo.
5. Il Display indicherà la scritta "RFID".
6. Posizionare sopra al lettore RapiRead™ la RFID Card specifica per il Lotto fornita con il kit. Ciò consente di trasferire al RapiRead™ i dati di Calibrazione del test contenuti nella RFID Card.
7. Dopo un segnale acustico, sul display compare la scritta "TEST". Premere brevemente il pulsante nero per far comparire sul display la scritta "RUN".
8. La misurazione è avviata.
9. Dopo un segnale acustico, il valore riscontrato di Vitamina D viene mostrato sul display in ng/ml (per ottenere il valore in nmol/l occorre moltiplicare per 2,5 il valore visualizzato).

## PROTOCOLLO "TIMER"



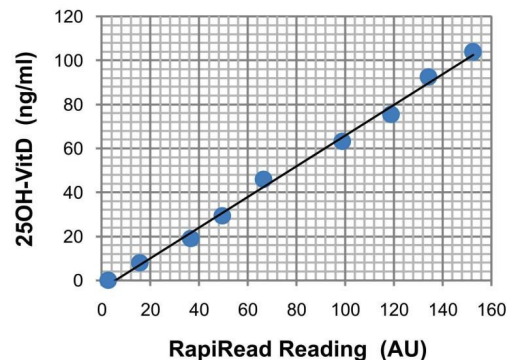
4. Accendere il **RapiRead™** CUBE Reader premendo il pulsante nero. Il lettore esegue un'autodiagnosi durante la quale sul display compare la scritta "WAIT". Dopo l'emissione di un segnale acustico, sul display compare "ON". Premere e tenere premuto il pulsante nero per 3 secondi.
5. Il Display indicherà la scritta "RFID".
6. Posizionare sopra al lettore **RapiRead™** la RFID Card specifica per il Lotto fornita con il kit. Ciò consente di trasferire al **RapiRead™** i dati di Calibrazione del test contenuti nella RFID Card.
7. Dopo un segnale acustico, sul display compare la scritta "TEST". Premere brevemente il pulsante nero per far comparire sul display il conto alla rovescia (15 min).
8. Sul display si avvia il conto alla rovescia.
9. Dopo un segnale acustico, il valore riscontrato di Vitamina D viene mostrato sul display in ng/ml (per ottenere il valore in nmol/l occorre moltiplicare per 2,5 il valore visualizzato).

## CURVA STANDARD USANDO IL **RapiRead™** CUBE Reader

Una tipica curva standard è illustrata sulla destra. La lettura AU viene automaticamente convertita in ng/ml dal **RapiRead™** Reader.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

**RapiRead™** CUBE Reader determina automaticamente il risultato finale confrontando l'AU di ogni campione con una curva di calibrazione prestabilita. I livelli di Vitamina D 25-OH sono espressi in ng/ml. I risultati ottenuti con il test rapido quantitativo **25-OH Vitamin D** sono interpretati come segue:



Livello di Vitamina D 25-OH	Risultato
< 10,0 ng/ml	carente
≥ 10,0 - < 30,0 ng/ml	insufficiente
≥ 30,0 - < 100,0 ng/ml	sufficiente
≥ 100,0 ng/ml	eccessivo

## PRESTAZIONI DEL TEST

### Sensibilità:

La sensibilità del test **25-OH Vitamin D** è di 3 ng/ml (7,5 nmol/l). La sensibilità è stata determinata calcolando la media più 3,3 volte la deviazione standard di venti test su siero senza vitamina D.

### Intervallo di rilevamento:

L'intervallo di rilevamento del test quantitativo **25-OH Vitamin D** con **RapiRead™** CUBE Reader va da 3 ng/ml (7,5 nmol/l) a 100 ng/ml (250 nmol/l).

### Accuratezza:

La precisione del test quantitativo **25-OH Vitamin D** è stata valutata utilizzando campioni di sangue umano prelevati con dispositivo pungidito confrontati con un controllo del dosaggio ELISA per la vitamina D 25-OH di riferimento utilizzando corrispondenti campioni di siero. Il risultato del confronto ha mostrato una regressione lineare con inclinazione di 1,02 e coefficiente di correlazione del 92%. In conclusione, i risultati del test quantitativo **25-OH Vitamin D** sui campioni di sangue umano hanno mostrato una buona corrispondenza con i risultati ELISA su corrispondenti campioni di siero.

La precisione del test quantitativo **25-OH Vitamin D** è stata anche valutata utilizzando 20 campioni di siero rispetto al test di dosaggio LC-MS/MS ("Standard di Riferimento" per la misurazione della vitamina D 25-OH). Il risultato del confronto ha mostrato una regressione lineare con inclinazione di 0,98 e coefficiente di correlazione del 98%. In conclusione, i risultati del test quantitativo **25-OH Vitamin D** concordano strettamente con i valori reali generati dal dosaggio LC-MS/MS.

### Precisione Intra Lotto:

Campione	Numero di replicazioni	Media (ng/ml)	Deviazione Standard	Coefficiente di variazione
Siero	20	40.4	3.1	7.6%
Sangue 1	10	33.0	2.5	7.6%
Sangue 2	10	38.7	3.9	10.1%

### Precisione Inter Lotto:

Campione	Numero di lotti	Numero di replicazioni	Media (ng/ml)	Deviazione Standard	Coefficiente di variazione
Siero 1	3	60	33.0	4.7	14.3%
Siero 2	3	60	55.9	6.1	11.0%
Sangue 1	3	15	38.8	4.3	11.8%

### Specificità:

Sono stati testati 30 campioni di siero privi di vitamina D e tutti hanno mostrato risultati negativi, suggerendo una specificità del 100%.

Non sono state osservate interferenze e reattività crociate con Bilirubina, Trigliceridi, Colesterolo, Vitamina B12 e Vitamina C.

### RISULTATI ATTESI

Il test quantitativo **25-OH Vitamin D** è un test di dosaggio rapido. Lo scopo del test è il monitoraggio individuale per l'identificazione dei livelli di vitamina D. Questo test di dosaggio fornisce solo un risultato preliminare; per confermare il risultato analitico, si raccomanda l'uso della cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS) o di un test di dosaggio immunologico quantitativo.



## BIBLIOGRAFIA

1. Holick, MF. Vitamin D statues: Measurement, Interpretation and clinical application. Ann. Epidemiol. 2009, 19(2):73-78.
2. Morris HA. Vitamin D: A Hormone for All Seasons – How much is enough? Clin. Biochem. Rev., 2005, 26:21-32.
3. Moyad MA. Vitamin D: a rapid review. Dermatol Nurs. 2009, 21:25-30.
4. Zerwekh JE. Blood biomarkers of vitamin D status. Am J. Clin Nutr. 2008, 87:1087S-91S.
5. Schöttker B, et al. Vitamin D and mortality: meta-analysis of individual participant data from a large consortium of cohort studies from Europe and the United States. BMJ. 2014, 348:g3656.
6. Worm N. Heilkraft D: Wie das Sonnenvitamin vor Herzinfarkt, Krebs und anderen Zivilisationskrankheiten schützt. systemed Verlag, Lünen. 2010, p12.

Versione N. 7/ 03--2021

**SHELF LIFE: 18 Mesi**

## INDICE DEI SIMBOLI



Leggere le istruzioni



Solo per uso diagnostico *in vitro*



Utilizzare entro



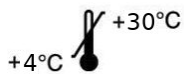
Numero di catalogo



Numero di Lotto



Non riutilizzare



Temperatura di conservazione



Numero di test per kit



Rappresentante Autorizzato



Produttore



**GLOBAL DIAGNOSTICS B**  
Sjsjesstraat 4, 24400 Geel, Belgium  
Tel: +32 468220039



**Qarad EC-REP BV.**  
Pas 257, 24400 Geel, Belgium