

NADAL[®] Vitamin D Quant Test (test cassette)

REF 2260004NBUL-25



de	Gebrauchsanweisung	2	cs	Návod k použití	25
en	Instructions for use	6		Symbols	31
fr	Instructions d'utilisation	9		Our Teams	32
es	Instrucciones de uso	13			
it	Istruzioni per l'uso	17			
pl	Sposób użycia	21			



1. Zastosowanie

Test NADAL® Vitamin D Quant jest testem przepływu bocznego do ilościowego oznaczania całkowitej 25-hydroksywitminy D (25-OH witaminy D) w ludzkiej krwi włośniczkowej lub surowicy. Test jest przeznaczony do badań przesiewowych pod kątem niedoboru witaminy D. W celu dalszego potwierdzenia wyników testów diagnostycznych zaleca się chromatografię ciecząową z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) lub inne ilościowe testy immunologiczne. Pomiar ilościowy i ocena wyniku testu odbywa się za pomocą czytnika Colibri point-of-care. Test jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Witamina D to hormon steroidowy odpowiedzialny za poprawę wchłaniania wapnia w jelitach i regulację homeostazy wapnia. Dwie popularne formy witaminy D to witamina D2 i witamina D3. Witamina D3 wytwarzana jest naturalnie w ludzkiej skórze poprzez ekspozycję na światło ultrafioletowe, podczas gdy witamina D2 jest spożywana głównie z pożywieniem. Witamina D jest transportowana do wątroby, gdzie jest metabolizowana do 25-OH witaminy D. Badanie krwi 25-OH witaminy D służy do określenia poziomu witaminy D w organizmie. Stężenie 25-OH witaminy D we krwi jest uważane za najlepszy wskaźnik poziomu witaminy D.

Niedobór witaminy D jest obecnie uznawany za globalną epidemię. Praktycznie każda komórka w ludzkim ciele ma receptory dla witaminy D, co oznacza, że wszystkie potrzebują odpowiedniej ilości witaminy D do prawidłowego funkcjonowania. Zagrożenia dla zdrowia związane z niedoborem witaminy D są znacznie poważniejsze niż wcześniej sądzono. Niedobór witaminy D wiąże się z kilkoma poważnymi chorobami: osteoporoza, osteomalacja, stwardnienie rozsiane, choroby układu krążenia, powikłania w ciąży, cukrzyca, depresja, udar, choroby autoimmunologiczne, grypa, COVID-19, choroby zakaźne, różne nowotwory, choroba Alzheimer'a, otyłość, zwiększona śmiertelność itp. W związku z tym pomiar poziomu 25-OH witaminy D jest obecnie uważany za niezbędny z medycznego punktu widzenia, a utrzymanie odpowiedniego poziomu jest uważane za kluczowe nie tylko dla poprawy zdrowia kości, ale także dla ogólnego stanu zdrowia i samopoczucia.

Różne organizacje zdrowotne opublikowały wiele wytycznych dotyczących niedoboru witaminy D; jednak ogólne zalecenie jest nadal w toku. Ostatnia literatura sugeruje następujące zakresy klasyfikacji statusu witaminy D:

25-OH poziom witaminy D	Zakres referencyjny (ng/ml)	Zakres referencyjny (nmol/L)
Niedobór	0-10	0-25
Niewystarczający	10-30	25-75
Wystarczający	30-100	75-250
Nadmierny, ale nie toksyczny	100-150	250-375
Toksyczny	>150	>375

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Vitamin D Quant umożliwia ilościowe oznaczenie 25-OH witaminy D poprzez ocenę intensywności koloru linii testowej. Test NADAL® Vitamin D Quant to test immunochromatograficzny oparty na dwóch swoistych przeciwciałach monoklonalnych przeciw 25 OH witaminy D, jednemu skoniugowanemu ze złotem koloidalnym i drugiemu unieruchomionemu na membranie testowej. Zależne od stężenia tworzenie barwy linii testowej umożliwiła szybkie, ilościowe oznaczenie 25-OH witaminy D w ludzkiej krwi z opuszki palca lub surowicy.

Gdy materiał próbki migruje wzdłuż membrany w kasiecie testowej przez działanie sił kapilarnych, barwny koniugat anty-25-OH witaminy D ze złotem tworzy kompleks z 25-OH witaminy D z próbki. Kompleks ten kontynuuje migrację wzdłuż membrany do obszaru testowego (T), gdzie jest wychwytywany przez inną anty-25-OH witaminę D unieruchomioną na membranie, co powoduje powstanie różowej/fioletowej linii. Intensywność kolorowej linii w obszarze testowym koreluje ze stężeniem 25-OH witaminy D: im wyższe stężenie 25-OH witaminy D w badanej próbce, tym silniejsze zabarwienie linii testowej. Linia kontrolna jest zawarta w oknie testowym i służy jako kontrola proceduralna. Ta kolorowa linia powinna zawsze pojawiać się w obszarze linii kontrolnej (C), jeśli kasetka testowa przechowywana jest w zalecanych warunkach i test został wykonany prawidłowo.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 25 testów NADAL® Vitamin D Quant
- 26 próbek buforowych
- 26 kolektorów krwi
- 1 karta RFID
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Nakłuwacz
- Wacik nasączony alkoholem
- Czytnik Point Of Care Colibri
- Stoper (niepotrzebny, gdy używany jest zintegrowany timer w Colibri)
- Kontrola witaminy D
- Mikropipeta 5 µL (do użytku z próbkami surowicy lub kontrolą witaminy D)

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe należy przechowywać w temperaturze 4-30°C. Testy zachowują stabilność do daty ważności podanej na zamkniętym opakowaniu. Kasety testowe muszą pozostać w zamkniętych opakowaniach do czasu użycia, ponieważ są wrażliwe na wilgoć. Nie zamrażać kaset testowych. Nie używać testów po upływie daty ważności podanej na opakowaniu. Należy zwrócić uwagę na to, aby elementy składowe zestawu testowego, nie uległy zabrudzeniu. Nie należy używać składników zestawu testowego, jeśli istnieją dowody skażenia mikrobiologicznego lub osadu. Biologiczne zanieczyszczenie pipet, zbiorników lub odczynników, może prowadzić do fałszowanych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.

- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie należy używać żadnych części zestawu testowego, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Testy są przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Aby uzyskać wiarygodne wyniki, należy użyć prawidłowej karty RFID. Karty RFID są specyficzne dla danych testów i serii.
- Nie dodawać próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).
- Unikać zanieczyszczenia krzyżowego próbki, używając nowej probówki z buforem i kolektora krwi dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odcynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Zestaw testowy zawiera wyroby pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności, np. unikać połknięcia lub wdychania.
- Temperatury mogą wpływać na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Przygotowanie

Przed wykonaniem testu upewnić się, że wszystkie elementy zostały doprowadzone do temperatury pokojowej (patrz „Przechowywanie i okres trwałości”).

Pobieranie próbki krwi

- Umyć rękę pacjenta mydłem i ciepłą wodą lub przetrzeć wacikiem nasączonym alkoholem i pozostawić do wyschnięcia.
- Nie dotykając miejsca nakłucia, masować dłoń w kierunku czubka palca środkowego lub serdecznego.
- Nakłuć skórę przy pomocy sterylnego nakłuwacza. Wytrzeć pierwszą kroplę krwi.
- Delikatnie pocierać rękę od nadgarstka do dłoni, a następnie od palca, aby uformować okrągłą kroplę krwi nad miejscem nakłucia.
- Zebrać 10 µl krwi za pomocą kolektora krwi.

9. Przeprowadzanie testu

Badanie krwi włośniczkowej

Testy, próbki, bufony i/lub kontrole należy przed badaniem doprowadzić do temperatury pokojowej.

1. Wyciągnąć kasetę testową z zamkniętego opakowania foliowego i przeprowadzić test tak szybko, jak jest to tylko możliwe. Najlepsze wyniki zostają osiągnięte, gdy test przeprowadzony zostaje bezpośrednio po jego otwarciu. Oznaczyć kasetę testową z pacjenta oraz identyfikacją kontrolną.
2. Kasetę testową położyć na czystą i równą powierzchnię.
3. Postukać probówką z buforem o płaską powierzchnię, aby upewnić się, że cały płyn znajduje się na dnie probówki.
4. Zdjąć folię aluminiową z górnej części probówki buforowej.
5. Pobrać krew zgodnie z powyższymi instrukcjami („Pobieranie próbki krwi”). Delikatnie dotknąć kropli krwi końcówką kolektora krwi. Siła kapilarna wciąga 10 µl krwi do kolektora krwi; siła kapilarna zatrzymuje się automatycznie po całkowitym napełnieniu kapilary.
6. Sprawdzić poziom krwi w kapilarze z krwią. Kapilara wewnątrz kolektora krwi musi być **całkowicie** wypełniona krwią.
7. Wprowadzić kolektor krwi do probówki z buforem i **mocno ścisnąć**, aby się szczelnie zamknął.
8. Energicznie wstrząsać połączoną probówką 3-4 razy, aby przenieść krew z kolektora do probówki z buforem i obracać, aż roztwory zostaną **całkowicie wymieszane**.
9. Zdjąć nakrętkę z kolektora krwi.
10. Odwrócić probówkę zawierającą próbkę i dodać 3 krople do zagłębienia na próbkę (S) na kasiecie testowej, **delikatnie** ścisnąć probówkę.
11. Po 15 minutach odczytać wyniki za pomocą czytnika Point-of-Care Colibri i zapisać je (w razie zastosowania czytnika Colibri Point-of-Care Reader, należy przeczytać odpowiednią instrukcję).

Ważne wskazówki:

- Temperatura może wpływać na wyniki testu. Dlatego badania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej (jeśli to możliwe 21-24°C).
- Aby uzyskać najlepsze wyniki, upewnić się, że próbka krwi jest całkowicie wymieszana z buforem. Można to ustalić, sprawdzając jednolity czerwony kolor wstępnie wymieszanej krwi w probówce z buforem i kolektorze krwi.



Nieodpowiednie wymieszanie krwi może prowadzić do nieprawidłowych wyników testu.

- Po wymieszaniu próbówkę z buforem należy delikatnie ścisnąć, aby dozować trzy pełne krople próbki do zagłębienia na próbce (S).
- Wyniki należy odczytać za pomocą czytnika Point-of-Care Colibri dokładnie 15 minut po umieszczeniu próbki w zagłębieniu na próbce (S). W przeciwnym razie mogą wystąpić niedokładne wyniki.
- W teście NADAL® Vitamin D Quant nie wolno używać antykoagulowanych próbek krwi lub osocza, ponieważ antykoagulanty wpływają na wyniki testu.

Testowanie z kontrolą witaminy D / surowicy:

Test NADAL® Vitamin D Quant jest przeznaczony do stosowania z krwią włośniczkową. Można jednak również użyć kontroli witaminy D lub próbek surowicy. Aby przygotować się do testu, przeczytać kroki 1-4 w części „Badanie krwi włośniczkowej” (patrz powyżej). Zamiast pobierać próbkę z palca za pomocą urządzenia do pobierania krwi, dodać 5 µL kontroli witaminy D lub surowicy do próbki z buforem za pomocą mikropipety (nieościeżonej z zestawem testowym) i przejść do kroków 7-11 rozdziału „Badanie krwi włośniczkowej” (patrz wyżej).

Ważne wskazówki:

- **Uważać, aby przeniósł dokładnie 5 µl surowicy/roztworu kontrolnego do próbki zbiorczej.** Jeśli na zewnętrznej stronie końcówki pipety znajduje się płyn, delikatnie wytrzeć go ręcznikiem papierowym w kierunku końcówki pipety. Ze względu na małą objętość próbki nawet najmniejsze zmiany objętości mogą prowadzić do niedokładnych wyników pomiarów.

INTERPRETACJA WYNIKÓW:

Czytnik point-of-care Colibri automatycznie oblicza wynik końcowy na podstawie wykrytej intensywności linii testowej i krzywej kalibracji zapisanej na odpowiedniej karcie RFID. Poziom witaminy D 25-OH podaje się w ng/mL. Wyniki uzyskane za pomocą testu NADAL® Vitamin D Quant są interpretowane według następujących kategorii:

Poziom 25-OH Vitamin D (ng/mL)	Kategoryzacja
< 10,0 ng/mL	NIEDOBÓR
≥ 10,0 – < 30,0 ng/mL	NIEWYSTARCZAJĄCY
≥ 30,0 – < 100,0 ng/mL	WYSTARCZAJĄCY
≥ 100,0 ng/mL	NADMIAR LUB TOKSYCZNY

10. Kontrola jakości

W kasie testowej znajduje się wewnętrzna kontrola proceduralna: kolorowa linia w obszarze linii kontrolnej (C) jest uważana za wewnętrzną kontrolę proceduralną. Potwierdza odpowiednią objętość próbki, prawidłową technikę postępowania i odpowiednie uszczelnienie membrany.

Dobra praktyka laboratoryjna zaleca stosowanie zewnętrznych materiałów kontrolnych w celu zapewnienia prawidłowego działania zestawu testowego. Jeżeli wartości kontrolne nie mieszczą się w określonym zakresie, wyniki testu należy uznać za nieważne. Zestaw kontrolny składający się z dwóch kontroli witaminy D potwierdzonych metodą LC-MS/MS można nabyć osobno.

11. Charakterystyka testu

Czułość:

Czułość testu NADAL® Vitamin D Quant wynosi 3 ng/mL (7,5 nmol/L). Czułość określono obliczając średnią plus 3,3-krotność odchylenia standardowego 20 testów surowicy bez witaminy D.

Obszar wykrywania:

Zakres wykrywania testu NADAL® Vitamin D Quant z czytnikiem Colibri wynosi od 3 ng/mL (7,5 nmol/L) do 100 ng/mL (250 nmol/L).

Dokładność:

Dokładność testu NADAL® Vitamin D Quant została oceniona przy użyciu próbek krwi ludzkiej z opuszki palca w porównaniu z testem referencyjnym 25-OH witaminy D ELISA z odpowiednimi próbkami surowicy. Wynik porównania wykazał regresję liniową z nachyleniem 1,02 i współczynnikiem korelacji 92%. Podsumowując, wyniki testu NADAL® z próbkami krwi z opuszki palca wykazują dobrą zgodność z wynikami testu ELISA z odpowiednimi próbkami surowicy. Dokładność testu NADAL® Vitamin D Quant Test została również oceniona przy użyciu 20 próbek surowicy w porównaniu z testem LC-MS/MS (standard dla pomiaru 25-OH witaminy D). Wynik porównania wykazał regresję liniową o nachyleniu 0,98 i współczynniku korelacji 98%. Podsumowując, wyniki testu NADAL® Vitamin D Quant bardzo dobrze zgadzają się z rzeczywistymi wartościami wyznaczonymi za pomocą testu LC-MS/MS.

Precyzyjność:

Wewnątrzserjina

Próbka	Replikaty	MW (ng/mL)	Odchylenie standardowe (ng/mL)	C.V. (%)
Surowica	20	40,4	3,1	7,6%
Krew-1	10	33,0	2,5	7,6%
Krew-2	10	38,7	3,9	10,1%

Międzyserjina

Próbka	Ilość serii LOT	Replikaty	MW (ng/mL)	Odchylenie standardowe (ng/mL)	C.V. (%)
Surowica #1	3	60	33,0	4,7	14,3%
Surowica #2	3	60	55,9	6,1	11,0%
Krew-1	3	15	38,8	4,3	11,8%

Swoistość:

Przebadano 30 próbek surowicy bez witaminy D i wszystkie wykazały negatywne wyniki, co wskazuje na 100% swoistość.

Nie zaobserwowano interferencji ani reaktywności krzyżowej z bilirubiną, trójglicerydami, cholesterolem, witaminą B12 i witaminą C.

12. Oczekiwane wyniki

NADAL® Vitamin D Quant to szybki test ilościowy. Test jest przeznaczony do badań przesiewowych ludzi w celu określenia poziomu witaminy D. Test ten zapewnia jedynie wstępny wynik analityczny. W celu potwierdzenia wyniku analitycznego

zaleca się chromatografię cieczową z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) lub ilościowe testy immunologiczne.

13. Bibliografia

1. Holick, MF. Vitamin D status: 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. Jenkinson C et al. High throughput LC-MS/MS method for the simultaneous analysis of multiple vitamin D analytes in serum. *Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2016 Mar 1; 1014:56-63.

Rev.0, 2022-05-24 AM