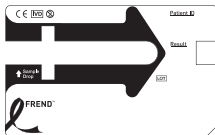


FREND Vitamin D

 FRVDAP 020



- English
- German
- Italian
- Spanish
- French
- Portuguese



NESPI-FVAP-001ML(V.0.0)



FREND Vitamin D

Quantitative Assay for Total 25-Hydroxy Vitamin D



FRVDAP 020

*For in vitro diagnostic use only*

1. Intended use

The FREND Vitamin D test is a rapid indirect competitive fluorescent immunoassay designed for the quantitative measurement of 25-Hydroxy vitamin D and related hydroxylated metabolites in human serum and plasma (K3EDTA, lithium-heparin and citrate) specimens using the FREND™ System, and the FREND™ AP. Measurements of total 25-hydroxy vitamin D and related hydroxylated metabolites are used to aid in the assessment of vitamin D sufficiency.

The FREND Vitamin D microfluidic flow cartridge is designed for use in the FREND™ System fluorescent immunoassay reader, and the FREND™ AP. The FREND Vitamin D test system is intended for use in clinical laboratories. For in vitro diagnostic use only. The test is not intended for use in point-of-care settings. For professional use only.

2. Summary and explanation of test

Vitamin D is a fat-soluble prohormone known for its role in regulating calcium and phosphorus levels in bone mineralization.^[1,2] Sunlight exposure produces vitamin D via photochemical conversion of 7-dehydrocholesterol in the epidermis and is the primary source of vitamin D.^[3,4] Seasonal changes, amount of exposure, sunscreen use, and skin pigmentation can cause variation in the amount of vitamin D produced in the body. A minor source of

vitamin D can be absorbed from food and vitamin supplements, with an estimated 10-20% absorbed by the body in this manner.^[5,6]

In circulation, 25-OH vitamin D is bound to vitamin D binding protein (VDBP) or albumin at 1000 times higher concentrations than the active form 1,25-(OH)₂-vitamin D.^[7] Additionally, the 25-OH form has a half-life of 2-3 weeks, as compared to the less stable 1,25-(OH)₂ form, which has a half-life of a few hours.^[8] 25-OH vitamin D exists as D2 (ergocalciferol) and D3 (cholecalciferol) isomers, with supplements available for both. Often, total 25-OH vitamin D is measured to assess the sufficiency in a patient and make appropriate clinical decisions.^[9]

3. Principle of the assay

The FRENDS Vitamin D test cartridge is a single-use rapid “competitive” immunoassay utilizing fluorescent nanoparticles in microfluidic flow to capture and quantify total 25-OH vitamin D in serum and plasma specimens. A 35 µL specimen is placed into a Dilution Tube and 70 µL of the diluted sample is placed into the FRENDS Vitamin D pretreatment tube, which contains proprietary reagents. The pretreatment tube is processed in the FRENDS™ AP (Advanced Preparing) device. The AP device mixes and incubates the sample and loads the correct volume onto the FRENDS Vitamin D cartridge. During the incubation labeled 25-OH vitamin D-antibody immune complexes are formed and the AP device transfers a 35 µL sample to the FRENDS Vitamin D cartridge. Vitamin D conjugated fluorescent nanoparticles in the cartridge compete with the 25-OH vitamin D-antibody immune complexes from the pretreatment tube for binding to antibodies immobilized in the test zone. The intensity of fluorescence is inversely proportional to the amount of 25-OH vitamin D in the sample. The FRENDS™ System measures the fluorescence and calculates, displays, stores and optionally prints the 25-OH Vitamin D concentration.

4. Material provided

Qty	Contents	Catalogue number
20	FRENDS Vitamin D cartridge(s)	FRVDAP 020
20	FRENDS Vitamin D pretreatment tube(s)	
20	FRENDS Vitamin D dilution tube(s)	
40	Disposable pipette tip(s)	
01	FRENDS Vitamin D Code chip	
01	FRENDS Vitamin D Package Insert	

One cartridge contains:

Monoclonal mouse anti-vitamin D
25-hydroxyvitamin D
Fluorescent particles

One pretreatment tube contains:

Perfluorohexanoic Acid

One dilution tube contains:

Gold nano-particle conjugation antibody

5. Materials required but not provided

- The FREND™ System
- The FREND™ AP
- Micro-pipette, or any pipette, capable of delivering 35 and 70 µL
- Personal protective equipment and biohazard waste disposal containers

6. Warning and Precautions

Caution: *In the United States, federal law restricts this device to sale by or on the order of a physician.*

- The FREND Vitamin D cartridges are intended for in vitro diagnostic use only.
- Vitamin D cartridges are only to be used on the FREND™ System.
- Vitamin D cartridges are disposable, single use devices. Do not reuse them under any circumstances.
- Allow sealed cartridges to come to room temperature for approximately 15–30 minutes prior to use.
- Cartridges and pretreatment tubes should not be frozen.
- Assure the humidity in the laboratory is in the 10–80% range when tests are run.
- Assure the room temperature remains in the range of 64 °F–77 °F (18–25 °C) when tests are run.
- Avoid cross-contamination between samples by using a new pipette tip for each new specimen.
- Avoid high humidity, direct sunlight or heat in the area used for cartridge storage.
- Inaccurate results are possible if the sample used is contaminated in any way.
- Using specimens containing clotted fibrin could result in erroneous results.

- Over or under loading the cartridge with sample may cause inaccurate results.
- Human specimens are not used in the preparation of this product. However, since human specimens will be used for samples, and since other quality control products in the lab may be derived from human materials please practice Universal Precautions when handling all specimens and controls.
- Do not use the cartridges, pretreatment tubes or dilution tubes beyond the expiration date on the pouch.
- Do not use the cartridge and pretreatment tubes if the pouch is damaged or the seal is broken.
- Perform testing as specified in the Package insert and User manual.
- Keep the cartridge and pretreatment tube sealed in the pouch until ready for use.
- Use the cartridge and pretreatment tube immediately after opening the pouch.
- Wear disposable gloves when handling the cartridges, pretreatment tubes and the samples.
- Wash hands thoroughly and often after handling reagent cartridges or samples.
- Do not ingest the silica gel package found in the cartridge pouch.
- The FREN D Vitamin D assay has been evaluated and no high dose hook effect was observed for Vitamin D concentrations up to 1600 ng/mL.
- Handle specimens in accordance with the OSHA Standard on Bloodborne Pathogens.^[10]

7. Storage and Stability

All unopened materials are stable until the expiration date on the label when stored at the specified temperature. Reagent stability has been demonstrated for twelve months from the date of manufacture.

The expiration date is clearly indicated on the product box and the cartridges

Materials	Catalogue number
Refrigerator temperature storage (2~8 °C)	
FREND Vitamin D cartridges, pouched	FRVDAP 020
FREND Vitamin D pretreatment tubes, pouched	None
FREND Vitamin D dilution tubes	None
Room temperature storage (18~25 °C)	
Pipette tips	None

8. Specimen collection and handling

Human serum and plasma (lithium-heparin, K3EDTA and citrate) samples are suitable for use with FREND Vitamin D cartridges.

Follow instructions detailed in this package insert as well as the specimen collection tube manufacturer's instructions for specimen collection and preparation (including manufacturer's instructions for centrifugation time and speed.)

For serum, a blood sample is collected aseptically without additives by venous puncture. After allowing the sample to clot for 30 minutes at room temperature, the collection tube should be centrifuged for 10 minutes at 3,000 rpm.

For plasma (lithium-heparin, K3EDTA and citrate), a venous blood sample is collected aseptically with the designated additive. After allowing the specimen to sufficiently mix with anticoagulant at room temperature, centrifuge the tube for 10 minutes at 3,000 rpm.

Samples may be stored at 36~46 °F (2~8 °C) for up to 6 hours prior to analysis. If the analysis is scheduled to be done at some later time, the serum or plasma sample should be separated from the red cells and stored frozen at -4 °F (-20°C) or below for future use.

Repeated freeze-thaw cycles should be avoided. Prior to assay, slowly bring frozen samples to room temperature (64~77 °F or 18~25 °C) and mix gently but thoroughly before testing.

For optimal results, avoid grossly hemolytic, lipemic, or turbid specimens. Specimens should be free of aggregated fibrin, red blood cells, or other particulate matter.

9. Procedure

Calibration

There is no need for calibration to be performed by the end user as is generally required on other automated laboratory equipment. All calibration statistics and information have been electronically stored on the FREN D Vitamin D Code chip included in each box of FREN D Vitamin D cartridges. The FREN D Vitamin D Code chip is specific for each lot of FREN D Vitamin D cartridges.

Calibration information should always be checked by running external quality control samples to verify that the results obtained for Vitamin D on the FREN D™ System using the FREN D Vitamin D cartridges meet the laboratory criteria for acceptability.

Code chip installation

Please refer to the FREN D™ System User manual for more detailed instructions relative to the Code chip installation. Abbreviated instructions follow here:

- 1) Insert the FREN D™ System electrical cord into an appropriate outlet.
- 2) Insert the Code chip into the Code chip slot at the rear of the FREN D™ System following the arrows.
- 3) Press the **'Setup'** button on the **'Main'** screen.
- 4) Press the **'Code chip'** button on the **'Setup'** screen.
- 5) The information embedded on the FREN D Vitamin D Code chip is automatically saved on the FREN D™ System.
- 6) When the Code chip installation is completed, press the **'OK'** button to go to the **'Setup'** screen.
- 7) Press the **'Item'** button on the **'Setup'** screen.
- 8) Check the FREN D Vitamin D cartridge lot number and the installation date of the Code chip.
- 9) Press the **'Home'** button to go to the **'Main'** screen to begin running external quality control and patient samples.

Quality control

• FREND™ System QC cartridges

FREND QC Cartridge contains multiple controls to check optic part of the system. By testing QC Cartridge, part of analytical components of the system of (1) laser power, (2) alignment, and (3) mechanical integrity are confirmed. For each day of patient testing, perform QC Cartridge testing. Refer to the quality control procedures section in the User Manual of FREND™ System. In brief, perform QC cartridge testing for the following conditions

- 1) Upon initial setup of the system
- 2) Each day of patient testing,
- 3) When the system has been transported or moved,
- 4) Whenever there is uncertainty about the performance of the system,
- 5) Whenever required by your laboratory's quality control requirements.

• Internal procedural controls

The FREND Vitamin D test cartridge contains a built-in control feature. Fluorescence signal in the reference zone of each cartridge shows: (1) that enough volume is added, (2) that proper flow is obtained, and (3) that the antibody is reactive. If this reference zone signal is missing or lower than threshold, the FREND™ System considers it an incorrect or failed test and produces an error message instead of a test result. In addition, with each cartridge run, the system monitors for (1) flow of sample, (2) speed of sample flow, (3) shelf-life of cartridge components, (4) function of internal barcode scanner, and (5) function of scanner's mechanical components.

• External quality control testing

Commercially available controls from a variety of manufacturers are available that contain 25-OH Vitamin D as a measured analyte. It is recommended that a minimum of two (2) levels of controls be run once per day on days when assaying patient samples on the FREND Vitamin D Test. Or another QC option may be adopted – Individualized Quality Control Plan (IQCP)^[1] is an all-inclusive approach to assuring the quality of the entire testing process. An IQCP includes practices, data and information that each laboratory already uses to ensure quality testing and meet CLIA, beyond testing a certain number of QC materials at a designated frequency.

To ensure that these control procedures are equivalent to CLIA QC regulations and suitable for each laboratory, it is required to establish and document the QC that is appropriate for the test system, testing environment and testing personnel.

Controls should be run according to local, state, federal regulations or accreditation requirements for quality control frequency. If any external quality control sample values are out of the acceptable range, it will be necessary to investigate the problem before reporting patient results to assure there is not an instrument or software malfunction. Do not assay patient samples on the FREND™ System using FREND Vitamin D if quality control results do not fall within the acceptable ranges.

Specimen processing

• Preparation

Remove sufficient FREND Vitamin D cartridges, Sample dilution tubes, and Gold Antibody pretreatment tubes from the refrigerator to test the number of patient samples and required external quality control materials. Allow the tubes and the sealed pouches containing the cartridges to come to room temperature for approximately 15–30 minutes prior to the start of the testing sequence.

When using refrigerated patient samples, remove those from the refrigerator and allow them to come to room temperature prior to testing. If frozen samples will be utilized, be sure these are removed from the freezer, thawed at room temperature and then mixed gently but thoroughly prior to testing. Testing should not begin on previously frozen samples until they have reached room temperature (64–77 °F or 18–25 °C).

There are no other reagents or sample preparations necessary.

• Assay procedure

- 1) Ensure that the FREND Vitamin D cartridge, pretreatment tube, Sample Dilution Tube and specimen are at room temperature (64–77 °F or 18–25°C).
- 2) Open the pouch and place the FREND Vitamin D cartridge into the cartridge tray of the AP device.
- 3) Press **“NEXT”** to close the cartridge tray and open the pretreatment tube tray.
- 4) Transfer 35µL of specimen into the Sample Dilution tube and mix well by vortexing or inverting.
- 5) Transfer a 70 µL aliquot of the diluted specimen to the FREND Vitamin D pretreatment tube.



Caution: *Once the sample is added to the pretreatment tube. Do not invert the tube.*

- 6) Insert the pretreatment tube into the tube hole in the FREND AP pretreatment tube tray. Refer to the FREND AP User manual for

- complete operating instructions.
- 7) Press the **"NEXT"** button. The pretreatment tray will close and the first incubation step (15 minutes) will begin.
 - 8) After the first incubation is complete, 35 µL of mixed sample will be loaded onto the cartridge and the second incubation step (2 minutes) will begin.
 - 9) When both incubation steps are completed, the cartridge tray will open and the cartridge will be ready to be inserted into the FREND™ System.
 - 10) Press the **'Test'** button on the **'Main'** screen of the FREND™ System.
 - 11) The system moves to the Patient ID screen automatically.
 - 12) Type the Patient ID and press the **'Enter'** button to begin the test.
 - 13) Insert the cartridge into the cartridge slot using the cartridge arrow as a guide.



Caution: Check the direction of the cartridge before insertion and assure the insertion is complete.

- 14) When the reaction in the cartridge is completed, the FREND™ System will automatically begin the reading process.
- 15) When the measurements are completed, the cartridge will automatically be expelled and the results displayed.



Caution: Do not disconnect power cord or shut off power on the FREND™ System while a cartridge is in the reading chamber. This may cause a system error.

- 16) If the FREND™ System is connected to the optional printer, press the **'Print'** button and the results will be output on the printer paper.
- 17) For more detailed instructions, please refer to the FREND™ System User manual.

10. Procedural notes

If the Vitamin D concentration of a specimen is found to be greater than the linearity limit of the assay of 110.00 ng/mL, report any value above 110.00 ng/mL as "greater than 110.00 ng/mL". There is no specific diluent provided in the FREND Vitamin D cartridge.

11. Calculation of results

The FREND™ System performs all sample and reagent handling operations automatically within the cartridge once the sample has been loaded into the sample inlet in the cartridge and the cartridge placed into the FREND™ System. The rate of fluorescence produced by the reaction is read at various intervals during the analysis process, blank readings are subtracted after

which the net rate is automatically converted to Vitamin D concentration in ng/mL based upon information stored on the FREND Vitamin D Code chip. This result is then output on the screen and to the optional printer. It is also stored in memory on the FREND™ System.

Screen displayed for various concentration scenarios

Displayed result	Description
	Vitamin D concentration Less than 10.00 ng/mL
	Vitamin D concentration Not less than 10.00 ng/mL and not higher than 110.00 ng/mL
	Vitamin D concentration Higher than 110.00 ng/mL

12. Limitations of the procedure

- 1) When used for diagnostic purposes, the results obtained from this assay should be used in conjunction with other data (e.g. symptoms, results of other tests, clinical impressions, medical history, therapy, etc.)
- 2) The FREND™ System paired with a FREND Vitamin D cartridge, is programmed to report 110.00 ng/mL as the highest concentration of Vitamin D measurable. The lowest measurable concentration is 13.0 ng/mL, the assay limit of detection.
- 3) Specimens from patients with heterophilic antibodies, such as anti-mouse (HAMA), anti-goat (HAGA), or anti-rabbit (HARA) antibodies, may show falsely elevated or depressed values or may result in an incomplete test.^[12, 13] Patients routinely exposed to animals or animal serum products can be prone to these types of heterophilic interferences.
- 4) Patients taking the drugs containing Paricalcitol (e.g., Zemplar) should not be tested by this assay.
- 5) Certain medications may interfere with assay performance. All results should be interpreted with respect to the clinical picture of the patient.
- 6) Although hemolysis has an insignificant effect on the assay, hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen prior to assay and results should be interpreted with caution.
- 7) Lipemia has an insignificant effect on the assay except in the case of gross lipemia where interference with the lateral flow of the sample in the cartridge may occur.
- 8) The concentration of Vitamin D in a given sample determined with assays from different manufacturers can vary due to differences in assay methods, calibration, and antibody specificity.
- 9) Please refer to the Specimen Collection and Handling, Warnings and Precautions, Storage and Stability, and Procedural Notes sections in this Package insert.
- 10) FREND Vitamin D has not been evaluated in point-of-care settings.
- 11) FREND Vitamin D is to be used in licensed clinical laboratories with trained technologists.

13. Performance characteristics

Precision

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) document EP5-A2 was utilized as a guideline for precision studies on FRENDD Vitamin D. Standard material with three different concentration was used for precision test. One operator tested with one lot for 20 days. One operator tested with three different lots for 4 times. Three different operators tested with same lot for 4 times.

1) One operator with one lot for 20 days

Standard material	Conc. (ng/mL)	Within-run		Between-run		Between-day		Within-laboratory	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
Low	30	2.458	8.1	0.895	2.9	0.689	2.3	2.705	8.9
Medium	60	0.146	4.9	0.040	1.3	0.021	0.7	0.153	5.1
High	100	4.865	4.9	0.801	0.8	1.336	1.3	2.108	5.1

2) One operator with three different lots for 4 times

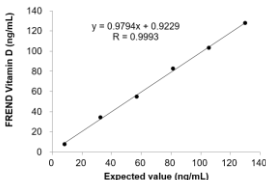
Standard material	Conc. (ng/mL)	Lot. 503904	Lot. 503905	Lot. 503906	Mean	SD	CV(%)
		Mean	Mean	Mean			
Low	30	31.14	31.913	30.553	31.292	0.682	2.2
Medium	60	58.98	59.473	60.68	59.711	0.875	1.5
High	100	95.528	100.645	98.085	98.086	2.559	2.6

3) Three different operators with one lot for 4 times

Standard material	Conc. (ng/mL)	Operator1	Operator2	Operator3	Mean	SD	CV(%)
		Mean	Mean	Mean			
Low	30	29.430	28.890	30.755	29.692	0.960	3.2
Medium	60	55.775	56.025	60.923	57.574	2.902	5.0
High	100	98.933	101.598	99.320	99.950	1.440	1.4

Dilution Linearity

The range of linearity in serum was established using CLSI document EP6-A. FREN D Vitamin D was found to have linearity within the reportable range of 8.00 ng/mL ~ 130.00 ng/mL with a mean recovery of 100±10%. The dilution linearity study was performed by diluting a high concentration Vitamin D specimen with a low concentration Vitamin D specimen.



Analytical sensitivity

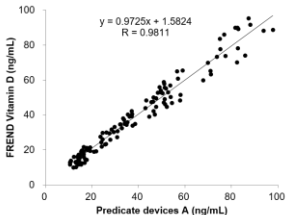
The limit of blank (LoB) and limit of detection (LoD) was determined using guidelines found in CLSI document EP17-A. LoB was determined from 60 replicate measurements using a calibrator A (vitamin D depleted serum). LoD was determined using 12 replicates measurements of five low patient samples.

LoB	LoD	LoQ
3.85 ng/mL	6.53 ng/mL	10.00 ng/mL

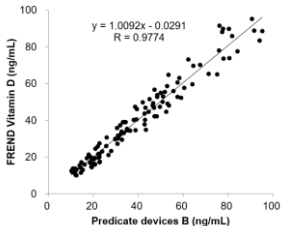
Comparative analysis

FREND Vitamin D was compared to the predicate device using guidelines outlined in CLSI document EP09-A2-IR. Samples (n=120) were measured in duplicate on both systems. Linear regression analysis demonstrated a correlation (r) of 0.9811 and 0.9774.

1) FREND Vitamin D VS Predicate device A



2) FREND Vitamin D VS Predicate device B



Cross-reactivity

The following substances were evaluated for potential cross-reactivity with the FRENED Vitamin D at three concentrations. Testing was done according to the CLSI protocol EP7-A2. No significant cross-reactivity was found.

No.	Potential cross reactants	Concentration
1	Vitamin D2(Ergocalciferol)	1,000 ng/mL
2	Vitamin D3(Cholecalciferol)	1,000 ng/mL
3	1,25-(OH) ₂ -Vitamin D2	100 ng/mL
4	1,25-(OH) ₂ -Vitamin D3	100 ng/mL
5	3-epi-25-(OH) Vitamin D3	100 ng/mL
6	25-(OH) Vitamin D2	25 ng/mL
7	25-(OH) Vitamin D3	25 ng/mL

Interference

The interference study was performed as recommended in the CLSI EP7-A2 protocol using three concentrations of Vit D. Recovery within 90% to 110% of the expected Vit D was considered as lack of interference. No interference by the substances below was found.

No.	Potential interfering	Concentration
1	Bilirubin	20.0 mg/dL
2	Biotin	30.0 ng/dL
3	Triglycerides	370.0 mg/dL
4	Human albumin	12.0 g/dL
5	Hemoglobin	200.0 mg/dL

Matrix effect

The heparin-plasma, EDTA-plasma, and Citrate-plasma can be used for the FRENED Vitamin D assay. The correlation values are $R^2=0.9816$ in serum with heparin-plasma, $R^2=0.9739$ in serum with EDTA-plasma, and $R^2=0.9797$ in serum with Citrate-plasma in each test and the values shows the high correlation.

14. References

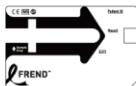
- 1) Holick, MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clinic Proceedings*. 2006, 81 (3): 353-373.
- 2) Bolland, MJ et al. The effect of vitamin D supplementation on skeletal, vascular, and cancer outcomes: a trial sequential meta-analysis. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014, 2 (4): 307-320.
- 3) Wolf, G. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. *Journal of Nutrition*. 2004, 134 (6): 1299-1302.
- 4) Holick, MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79 (3): 362-371.
- 5) Calvo, MS et al. Vitamin D intake: a global perspective of current status. *Journal of Nutrition*, 2005, 135 (2): 310-316.
- 6) Ross, AC et al. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington DC: *National Academies Press* 2011, p. 435.
- 7) Svasti, J et al. Molecular basis for the three major forms of human serum vitamin D binding protein. *Biochemistry* 1979, 18 (8): 1611-1617.
- 8) Holick, MF et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25- hydroxyvitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2008, 93 (3): 677-681.
- 9) Maxmen, A. Nutrition advice: the vitamin D-lemma. *Nature* 2011, 475 (7354): 23-25.
- 10) Chao, E.L.; Henshaw, J.L. Occupational Safety and Health Administration: Model Plans and Programs for the OSHA Bloodborne Pathogens and Hazard Communications Standards. *OSHA 3186-06R*, 2003.
- 11) Centers for Medicare & Medicaid Services. CLIA Individualized Quality Control Plan – Considerations when deciding to develop an IQCP. *CLIA Brochure #12*. November 2014.
- 12) Schroff, R.W.; Foon, K.A.; Beatty, S.M.; Oldham, R.K.; Morgan, A.C. Human Anti-Murine Immunoglobulin Responses in Patients Receiving Monoclonal Antibody Therapy. *Cancer Research*. 1985, 45: 879-885.
- 13) Boscatto, L.M.; Stuart, M.C. Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassays. *Clinical Chemistry*, 1988, 34 (1): 27-33.

Glossary of Symbols

	Caution, warning, Consult accompanying documents
	Catalogue number/Reference number
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consult Instructions for Use An electronic instructions for use (eIFU) indicator (website address) may accompany the symbol when used to indicate an instruction to consult an eIFU.
	Lot number/Batch number
	Use by YYYY-MM-DD or YYYY-MM
	Manufacturer
	CE marking
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Temperature limitation
	Contains sufficient for <n> tests
	Do not reuse
	Do not use if package is damaged
	For prescription use only CAUTION: Federal (U.S.) law restricts this device to sale by or on order of a physician.
	US Corporation
	Patient ID
	Result
	Sample Drop
	Authorized representative in the European Community

UK Representative	Authorized representative in United Kingdom
CH REP	Authorized representative in Switzerland
BRH	Authorized representative in Brazil

Kit Contents



Cartridge



Pretreatment tube



Dilution tube



Pipette tip



Code chip



Package insert

Revised on 2023.12

FREND Vitamin D

Quantitativer Test für das Gesamt-25-Hydroxy-Vitamin D

REF

FRVDAP 020

IVD

Nur für die professionelle *in-vitro*-diagnostische Verwendung.

1. Verwendungszweck

Der FREND Vitamin D Test ist ein schneller, indirekter, kompetitiver Fluoreszenz-Immunoassay für die quantitative Bestimmung von 25-Hydroxy-Vitamin-D und verwandten hydroxylierten Metaboliten in Humanserum- und Plasmaproben (K3EDTA, Lithium-Heparin und Zitrat) unter Verwendung des FREND™ Systems und des FREND™ AP. Die Bestimmung des Gesamt-25-Hydroxy-Vitamin D und der verwandten hydroxylierten Metaboliten dient der Beurteilung des Vitamin-D-Mangels.

Die FREND Vitamin D Mikrofluidik-Durchflusskartusche ist für die Verwendung im FREND™ System Fluoreszenz-Immunoassay-Lesegerät und dem FREND™ AP konzipiert. Das FREND Vitamin D Testsystem ist für den Einsatz in klinischen Labors bestimmt. Ausschließlich für In-vitro-Diagnostikzwecke bestimmt. Der Test ist nicht für den Einsatz am Behandlungsort bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Vitamin D ist ein fettlösliches Prohormon, dessen Rolle bei der Regulierung des Kalzium- und Phosphorgehalts in der Knochenmineralisierung bekannt ist.^[1,2] Durch Sonneneinstrahlung wird Vitamin D durch photochemische Umwandlung von 7-Dehydrocholesterin in der Epidermis gebildet und ist die Hauptquelle für Vitamin D.^[3,4] Je nach Jahreszeit, Intensität der

Sonnenbestrahlung, Verwendung von Sonnenschutzmitteln und Hautpigmentierung kann es zu Schwankungen der im Körper gebildeten Vitamin-D-Menge kommen. Die Aufnahme einer geringen Vitamin-D-Menge erfolgt über Lebensmittel und Vitaminpräparate, wobei schätzungsweise 10-20% auf diese Weise vom Körper aufgenommen werden.^[5,6]

Im Blutkreislauf ist das 25-OH-Vitamin-D in 1000-fach höherer Konzentration an das Vitamin-D-bindende Protein (VDBP) oder Albumin gebunden als die aktive Form 1,25-(OH)₂-Vitamin D.^[7] Außerdem hat die 25-OH-Form eine Halbwertszeit von 2 bis 3 Wochen im Vergleich zur weniger stabilen 1,25-(OH)₂-Form, die eine Halbwertszeit von einigen Stunden hat.^[8] Das 25-OH-Vitamin-D liegt als D₂-Isomer (Ergocalciferol) und als D₃-Isomer (Cholecalciferol) vor, wobei für beide Isomere Ergänzungsmittel erhältlich sind. Häufig erfolgt eine Bestimmung des Gesamtvolumens an 25-OH-Vitamin-D, sodass eine Beurteilung des Suffizienzgrades bei einem Patienten und das Treffen geeigneter klinischer Entscheidungen möglich sind.^[9]

3. Prinzip des Tests

Die FRENDD Vitamin D-Testkartusche ist ein schneller „kompetitiver“ Einweg-Immuntest, bei dem fluoreszierende Nanopartikel in einem mikrofluidischen Fluss zur Erfassung und Quantifizierung von Gesamt-25-OH-Vitamin-D in Serum- und Plasmaproben verwendet werden. Eine 35 µl Probe wird in ein Verdünnungsröhrchen gegeben und 70 µl der verdünnten Probe werden in das FRENDD Vitamin D Reagenzröhrchen gegeben, das proprietäre Reagenzien enthält. Die Verarbeitung des Reagenzröhrchens erfolgt im FRENDD™ AP (Advanced Preparing) Gerät. Das AP-Gerät sorgt für die Mischung und Inkubation der Probe und gibt das richtige Volumen in die FRENDD Vitamin D-Kartusche. Während der Inkubation werden markierte 25-OH-Vitamin-D-Antikörper-Immunkomplexe gebildet, und das AP-Gerät übermittelt eine 35-µl-Probe an die FRENDD Vitamin D-Kartusche. Mit Vitamin D konjugierte fluoreszierende Nanopartikel in der Kartusche konkurrieren mit den 25-OH-Vitamin-D-Antikörper-Immunkomplexen aus dem Reagenzröhrchen um die Bindung an die in der Testzone immobilisierten Antikörper. Die Intensität der Fluoreszenz ist umgekehrt proportional zur Menge an 25-OH-Vitamin-D in der Probe. Das FRENDD™ System dient der Messung der Fluoreszenz sowie der Berechnung, Anzeige, Speicherung und dem optionalen Ausdruck der Konzentration von 25-OH-Vitamin-D.

4. Mitgelieferte Materialien

Menge	Inhaltsverzeichnis	Referenznummer
20	FREND Vitamin D-Kartusche(n)	FRVDAP 020
20	FREND Vitamin D Reagenzröhrchen	
20	FREND Vitamin D Verdünnungsröhrchen	
40	Einweg-Pipettenspitze(n)	
01	FREND Vitamin D Code-Chip	
01	FREND Vitamin D Packungsbeilage	

Eine Kartusche enthält:

Monoklonaler Maus-Anti-Vitamin D
25-Hydroxy-Vitamin-D
Fluoreszierende Partikel

Ein Reagenzröhrchen enthält:

Perfluorohexansäure

Ein Verdünnungsröhrchen enthält:

Gold-Nanopartikel-Konjugationsantikörper

5. Benötigte Materialien (nicht enthalten)

- FREND™ System
- FREND™ AP
- Mikropipette oder eine beliebige Pipette zur Abgabe von 35 µL und 70 µL
- Persönliche Schutzausrüstung und Bioabfallbehälter

6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise



Achtung: Nach US-Bundesgesetzen darf dieses Gerät nur von einem Arzt bzw. auf Anordnung eines Arztes verkauft werden.

- Die FREND Vitamin D-Kartuschen sind ausschließlich für die in-vitro-Diagnostik bestimmt.
- Die Vitamin D-Kartuschen sind nur für das FREND™ System geeignet.

- Die Vitamin D-Kartuschen sind Einwegprodukte, die nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt sind. Sie dürfen unter keinen Umständen wiederverwendet werden.
- Die versiegelten Kartuschen vor dem Gebrauch für ca. 15-30 Minuten bei Raumtemperatur einlegen und auf Raumtemperatur bringen.
- Kartuschen und Reagenzröhrchen dürfen nicht tiefgekühlt gelagert werden.
- Achten Sie darauf, dass bei laufenden Tests die Luftfeuchtigkeit im Labor im Bereich von 10-80% liegt.
- Achten Sie darauf, dass bei laufenden Tests die Raumtemperatur im Bereich von 18-25 °C liegt.
- Unbedingt für jede neue Probe eine neue Pipettenspitze verwenden, um jegliche Kreuzkontamination von Proben zu vermeiden. Nachrichten.
- Bei der Lagerung von Kartuschen hohe Luftfeuchtigkeit, direkte Sonneneinstrahlung oder Hitze vermeiden.
- Bei einer Verunreinigung der verwendeten Probe sind ungenaue Ergebnisse möglich.
- Bei Verwendung von fibrinhaltigen Proben kann es zu fehlerhaften Ergebnissen kommen.
- Eine Über- oder Unterbeladung der Kartusche mit Proben kann ebenfalls zu ungenauen Ergebnissen führen.
- Bei der Herstellung dieses Produkts werden keine Humanproben verwendet. Da jedoch menschliche Proben als Proben verwendet werden und andere Qualitätskontrollprodukte im Labor von menschlichen Materialien stammen können, sind beim Umgang mit allen Proben und Kontrollen die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen anzuwenden.
- Verwenden Sie die Kartuschen, Reagenzröhrchen oder Verdünnungsröhrchen nicht nach dem auf der äußeren Verpackung angegebenen Verfallsdatum.
- Verwenden Sie die Kartusche und die Reagenzröhrchen nicht, wenn der Folienbeutel beschädigt oder das Siegel gebrochen ist.
- Der Test ist wie in der Packungsbeilage und der Gebrauchsanweisung beschrieben durchzuführen.
- Lassen Sie die Kartusche und das Reagenzröhrchen bis kurz vor der Verwendung Rohr versiegelt in ihrem Folienbeutel.
- Verwenden Sie die Kartusche und das Reagenzröhrchen sofort nach dem Öffnen des Folienbeutels.
- Beim Umgang mit den Kartuschen, Reagenzröhrchen und den Proben sind stets Einweghandschuhe zu tragen.
- Nach der Handhabung von Reagenzienkartuschen oder Proben die Hände gründlich und häufig waschen.

- Verschlucken Sie nicht das in der Kartuschentasche enthaltene Silikagel-Paket.
- Der FREND Vitamin D Test wurde evaluiert und es wurde kein „High-Dose-Hook-Effekt“ für Konzentrationen von Vitamin D bis zu 1600 ng/ml festgestellt.
- Die Proben sind gemäß der OSHA-Norm für blutübertragbare Krankheitserreger zu handhaben.^[10]

7. Lagerung und Haltbarkeit

Alle ungeöffneten Materialien bleiben bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar, wenn sie bei der angegebenen Temperatur aufbewahrt werden. Die Haltbarkeit der Reagenzien wurde für zwölf Monate ab dem Herstellungsdatum nachgewiesen.

Das Verfallsdatum ist deutlich auf dem Produktkarton und den Kartuschen angegeben

Materialien	Referenznummer
Kühlschranklagerung (2–8 °C)	
FREND Vitamin D-Kartuschen, in Folienbeuteln	FRVDAP 020
FREND Vitamin D-Reagenzröhrchen, in Folienbeuteln	Keine
FREND Vitamin D Verdünnungsröhrchen, in Folienbeuteln	Keine
Lagerung bei Raumtemperatur (18–25 °C)	
Pipettenspitzen	Keine

8. Probenentnahme und Handhabung

Humanserum- und Plasmaproben (Lithium-Heparin, K3EDTA und Zitrat) sind für die Verwendung mit FREND Vitamin D-Kartuschen geeignet.

Befolgen Sie die Anweisungen in dieser Packungsbeilage sowie die Anweisungen des Herstellers des Probenentnahmeröhrchens zur Probenentnahme und -vorbereitung (einschließlich der Anweisungen des Herstellers zu Zentrifugationszeit und -geschwindigkeit).

Bei Serum erfolgt eine aseptische Blutentnahme ohne Zusatzstoffe durch Venenpunktion. Nach einer 30-minütigen Gerinnungszeit bei Raumtemperatur sollte das Entnahmeröhrchen 10 Minuten lang bei 3.000 U/min zentrifugiert werden.

Bei Plasma (Lithium-Heparin, K3EDTA und Zitrat) erfolgt eine aseptische Entnahme einer venösen Blutprobe mit dem vorgesehenen Zusatzstoff. Nach ausreichender Durchmischung der Probe mit dem Antikoagulans bei Raumtemperatur sollte das Probenröhrchen 10 Minuten lang bei 3.000 U/min zentrifugiert werden.

Die Proben können vor der Analyse bis zu 6 Stunden bei 2-8 °C gelagert werden. Erfolgt die Analyse erst zu einem späteren Zeitpunkt, sollte die Serum- oder Plasmaprobe von den Erythrozyten getrennt und für die spätere Verwendung bei -20°C oder darunter eingefroren gelagert werden.

Wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen sind zu vermeiden. Gefrorene Proben müssen vor dem Test auf Raumtemperatur (18-25 °C) gebracht und vorsichtig, aber gründlich gemischt werden.

Für optimale Ergebnisse sollten grob hämolytische, lipämische oder trübe Proben vermieden werden. Die Proben sollten keine aggregierten Fibrinreste, roten Blutkörperchen oder andere Partikel enthalten.

9. Verfahren

Kalibrierung

Der Endbenutzer muss keine Kalibrierung durchführen, wie es bei anderen automatisierten Laborgeräten in der Regel der Fall ist. Alle Informationen und Statistiken zur Kalibrierung sind elektronisch auf dem mit jeder FREND Vitamin D-Kartuschenbox mitgelieferten FREND Vitamin D Code-Chip gespeichert. Der FREND Vitamin D Code-Chip ist speziell für jede hergestellte Charge von FREND Vitamin D-Kartuschen bestimmt.

Zur Überprüfung der Kalibrierungsdaten sollten immer externe Qualitätskontrollproben verwendet werden, um sicherzustellen, dass die mit dem FREND™ System unter Verwendung der FREND Vitamin D-Kartuschen erzielten Vitamin-D-Ergebnisse die Akzeptanzkriterien des Labors erfüllen.

Installation des Code-Chips

Ausführliche Anweisungen zur Installation des Code-Chips entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch für das FREND™ System. Nachfolgend finden Sie eine Kurzanleitung:

- 1) Schließen Sie das Netzkabel des FREND™ Systems an eine geeignete Steckdose an.

- 2) Führen Sie den Code-Chip in den Steckplatz für den Code-Chip auf der Rückseite des FREND™ Systems ein und folgen Sie dabei den Pfeilen.
- 3) Drücken Sie die Taste „**Setup**“ auf dem Hauptbildschirm.
- 4) Drücken Sie die Taste „**Code Chip**“ auf dem Bildschirm „**Setup**“.
- 5) Die auf dem FREND Vitamin D -Code-Chip enthaltenen Informationen werden automatisch im FREND™ System gespeichert.
- 6) Drücken Sie nach Abschluss der Installation des Code-Chips die Taste „**OK**“, um zum Bildschirm „**Setup**“ zu gelangen.
- 7) Drücken Sie die Taste „**Item**“ auf dem Bildschirm „**Setup**“.
- 8) Überprüfen Sie die Chargennummer der FREND Vitamin D-Kartusche und das Installationsdatum des Code-Chips.
- 9) Drücken Sie die Taste „**Home**“, um zum Bildschirm „**Main**“ zu gelangen und die externe Qualitätskontrolle der Patientenproben durchzuführen.

Qualitätskontrolle

• FREND™ System QK-Kartuschen

Die FREND QK-Kartusche enthält mehrere Kontrollen zur Überprüfung des optischen Teils des Systems. Durch das Testen der QK-Kartusche lassen sich ein Teil der analytischen Komponenten des Systems, nämlich (1) die Laserleistung, (2) die Ausrichtung und (3) die mechanische Integrität, bestätigen. Die Tests der QK-Kartusche sind an jedem Tag der Patientenuntersuchung durchzuführen. Siehe den Abschnitt „Qualitätskontrollverfahren“ im Benutzerhandbuch des FREND™ Systems. Die Prüfung der QK-Kartusche muss unter den folgenden Bedingungen erfolgen

- 1) Bei der Ersteinrichtung des Systems
- 2) An jedem Tag der Patientenuntersuchung.
- 3) Nach dem Transport oder der Bewegung des Systems.
- 4) Bei jeder Unsicherheit über die Leistung des Systems.
- 5) Sobald dies von den Qualitätskontrollanforderungen Ihres Labors gefordert wird.

• Interne Verfahrenskontrollen

Die FREND Vitamin D-Testkartusche verfügt über eine integrierte Kontrollfunktion. Das Fluoreszenzsignal in der Referenzzone jeder Kartusche zeigt (1) dass genügend Probenvolumen zugegeben wurde; (2) dass ein angemessener Durchfluss erzielt wurde; und (3) dass der Antikörper reaktiv ist. Fehlt dieses Referenzzonensignal oder liegt es unter dem Schwellenwert, gilt der Test für das FREND™ System als fehlerhaft

oder nicht bestanden und es wird eine Fehlermeldung anstelle eines Testergebnisses ausgegeben. Darüber hinaus überwacht das System bei jedem Kartuschenlauf unter anderem (1) den Probenfluss, (2) die Geschwindigkeit des Probenflusses, (3) die Haltbarkeit der Kartuschenkomponenten, (4) die Funktion des internen Barcode-Scanners und (5) die Funktion der mechanischen Komponenten des Scanners.

- **Externe Qualitätskontrolltests**

Im Handel sind Kontrollen von verschiedenen Herstellern erhältlich, die 25-OH-Vitamin-D als Messanalyt enthalten. Es ist sinnvoll, mindestens zwei (2) Kontrollstufen pro Tag bei der Untersuchung von Patientenproben mit dem FREND Vitamin D Test durchzuführen. Oder es kann eine andere Möglichkeit der Qualitätskontrolle gewählt werden – ein individualisierter Qualitätskontrollplan (IQCP)^[11] – der einen allumfassenden Ansatz zur Sicherung der Qualität des gesamten Testprozesses darstellt. Der IQCP umfasst die von jedem Labor bereits eingesetzten Verfahren, Daten und Informationen, mit denen die Qualität der Tests sichergestellt und die CLIA-Vorschriften über die Prüfung einer bestimmten Anzahl von QK-Materialien in einer festgelegten Häufigkeit hinaus erfüllt werden.

Zur Gewährleistung, dass diese Kontrollverfahren den CLIA-Qualitätskontrollvorschriften entsprechen und für jedes Labor geeignet sind, muss eine für das Testsystem, die Testumgebung und das Testpersonal geeignete Qualitätskontrolle festgelegt und dokumentiert werden.

Die Durchführung der Kontrollen sollte gemäß den örtlichen, staatlichen und bundesstaatlichen Vorschriften oder den Akkreditierungsanforderungen für die Häufigkeit der Qualitätskontrolle erfolgen. Liegen die Werte einer externen Qualitätskontrolle außerhalb des zulässigen Bereichs, muss das Problem vor der Meldung der Patientenergebnisse untersucht werden, um sicherzustellen, dass es sich nicht um eine Fehlfunktion des Geräts oder der Software handelt. Es sollten keine Patientenproben auf dem FREND™ System mit dem FREND Vitamin D untersucht werden, wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle nicht innerhalb der akzeptablen Bereiche liegen.

Verarbeitung der Proben

- **Vorbereitung**

Nehmen Sie genügend FREND Vitamin D-Kartuschen, Probenverdünnungsröhrchen und Gold-Antikörper-Reagenzröhrchen aus dem Kühlschrank, um die Patientenproben und die erforderlichen externen Qualitätskontrollmaterialien zu testen. Die Röhrchen und die versiegelten

Folienbeutel mit den Kartuschen vor Beginn der Testsequenz ca. 15-30 Minuten lang auf Raumtemperatur kommen lassen.

Bei Verwendung gekühlter Patientenproben diese aus dem Kühlschrank nehmen und vor dem Test auf Raumtemperatur kommen lassen. Bei Verwendung gefrorener Proben ist darauf zu achten, dass diese aus dem Gefrierschrank genommen, bei Raumtemperatur aufgetaut und dann vor dem Test vorsichtig, aber gründlich gemischt werden. Die Proben sollten erst dann untersucht werden, wenn sie Raumtemperatur (18-25 °C) erreicht haben.

Es sind keine weiteren Reagenzien oder Probenvorbereitungen erforderlich.

• Testverfahren

- 1) Es ist sicherzustellen, dass die FREND Vitamin D-Kartusche, das Reagenzröhrchen, das Probenverdünnungsröhrchen und die Probe Raumtemperatur haben (64–77 °F oder 18–25°C).
- 2) Öffnen Sie den Folienbeutel und legen Sie die FREND Vitamin D-Kartusche in das Kartuschenfach des AP-Geräts.
- 3) Drücken Sie auf „**NEXT**“, um das Kartuschenfach zu schließen und das Fach für das Reagenzröhrchen zu öffnen.
- 4) Geben Sie 35µl der Probe in das Probenverdünnungsröhrchen und mischen Sie sie gut durch Vortexen oder Umdrehen.
- 5) Geben Sie ein 70 µl Aliquot der verdünnten Probe in das FREND Vitamin D-Reagenzröhrchen.



Achtung: Sobald die Probe in das Reagenzröhrchen gegeben wurde, sollte das Röhrchen nicht mehr umgedreht werden.

- 6) Legen Sie das Reagenzröhrchen in das Röhrchenfach des FREND AP-Geräts. Detaillierte Bedienungsanweisungen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch des FREND AP-Geräts.
- 7) Drücken Sie die Taste „**NEXT**“. Das Röhrchenfach wird geschlossen und es beginnt der erste Inkubationsschritt (15 Minuten).
- 8) Nach der ersten Inkubation werden 35µl der gemischten Probe auf die Kartusche gegeben und es beginnt der zweite Inkubationsschritt (2 Minuten).
- 9) Nach Abschluss beider Inkubationsschritte öffnet sich das Kartuschenfach und die Kartusche kann in das FREND™ System eingelegt werden.
- 10) Drücken Sie die Taste „**Test**“ auf dem Hauptbildschirm des FREND™ Systems.
- 11) Das System wechselt automatisch zum Bildschirm mit der Patienten-ID.

- 12) Geben Sie die Patienten-ID ein und drücken Sie die Taste „Enter“, um den Test zu starten.
- 13) Führen Sie die Kartusche in den Kartuschensteckplatz ein und orientieren Sie sich dabei am Pfeil der Kartusche.



Vorsicht: Bitte überprüfen Sie die Richtung der Kartusche, bevor Sie sie einführen, und achten Sie darauf, dass sie vollständig eingelegt ist.

- 14) Nach ist die Reaktion in der Kartusche abgeschlossen, und das FREND™ System beginnt automatisch mit dem Ablesen.
- 15) Nach Abschluss der Messungen erfolgt automatisch das Auswerfen der Kartusche und die Ergebnisse werden angezeigt.



Vorsicht: Ziehen Sie das Netzkabel nicht aus der Steckdose ab und schalten Sie das FREND™ System nicht aus, während sich eine Kartusche in der Lesekammer befindet. Dies kann zu einem Systemfehler führen.

- 16) Wenn das FREND™ System an einen optionalen Drucker angeschlossen ist, drücken Sie die Taste „Print“ (Drucken) und die Messergebnisse werden ausgedruckt.
- 17) Ausführlichere Anweisungen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch für das FREND™ System.

10. Hinweise zum Verfahren

Liegt die Konzentration von Vitamin D in einer Probe über der Linearitätsgrenze des Tests von 110,00 ng/ml, ist jeder Wert über 110,00 ng/ml als „größer als 110,00 ng/ml“ anzugeben. Die FREND Vitamin D-Kartusche enthält kein spezifisches Verdünnungsmittel.

11. Berechnung der Ergebnisse

Beim FREND™ System erfolgen alle Operationen zur Proben- und Reagenzienhandhabung automatisch innerhalb der Kartusche, nachdem die Probe in den Probeneinfluss der Kartusche geladen und die Kartusche in das FREND™ System eingesetzt wurde. Die durch die Reaktion erzeugte Fluoreszenzrate wird in verschiedenen Intervallen während des Analyseprozesses abgelesen, Leerwerte werden subtrahiert, woraufhin die Nettrate basierend auf den auf dem FREND Vitamin D Code-Chip gespeicherten Informationen automatisch in die Konzentration von Vitamin D in ng/ml umgerechnet wird. Dieses Ergebnis wird dann auf dem Bildschirm angezeigt und über den optionalen Drucker ausgedruckt. Es wird auch im FREND™ System gespeichert.

Bildschirmanzeigen für verschiedene Konzentrationsszenarien

Angezeigtes Ergebnis	Beschreibung
	Konzentration von Vitamin D Weniger als 10,00 ng/ml
	Konzentration von Vitamin D Nicht weniger als 10,00 ng/ml und nicht höher als 110,00 ng/ml
	Konzentration von Vitamin D Höher als 110,00 ng/ml

12. Einschränkungen des Verfahrens

- 1) Bei der Verwendung zu diagnostischen Zwecken sollten die mit diesem Test erzielten Ergebnisse in Verbindung mit anderen Daten (z. B. Symptome, Ergebnisse anderer Tests, klinischer Eindruck, Krankengeschichte, Therapie usw.) verwendet werden.
- 2) Das FREND™ System ist in Verbindung mit einer FREN Vitamin D-Kartusche so programmiert, dass 110,00 ng/ml als höchste messbare Konzentration von Vitamin D angezeigt wird. Die niedrigste messbare Konzentration liegt bei 13,0 ng/ml als Nachweisgrenze des Tests.
- 3) Patientenproben mit heterophilen Antikörpern, wie z. B. Anti-Maus-(HAMA), Anti-Ziegen- (HAGA) oder Anti-Kaninchen-Antikörpern (HARA), können fälschlicherweise erhöhte oder erniedrigte Werte aufweisen oder zu einem unvollständigen Test führen.^[12,13] Patienten, die routinemäßig Tieren oder tierischen Serumprodukten ausgesetzt sind, können für diese Art von heterophilen Interferenzen anfällig sein.
- 4) Patienten, die Paricalcitol-haltige Medikamente (z. B. Zemplar) einnehmen, sollten nicht mit diesem Test getestet werden.
- 5) Bestimmte Medikamente können die Testleistung beeinträchtigen. Die Interpretation aller Ergebnisse sollte im Hinblick auf das klinische Bild des Patienten erfolgen.
- 6) Zwar übt die Hämolyse einen kaum nennenswerten Einfluss auf den Test aus, doch können hämolysierte Proben auf eine unsachgemäße Behandlung der Probe vor dem Test hinweisen, und die Ergebnisse sollten mit Vorsicht interpretiert werden.
- 7) Eine Lipämie hat keine signifikante Auswirkung auf den Test, außer im Falle einer groben Lipämie, bei der es zu Störungen des seitlichen Flusses der Probe in der Kartusche kommen kann.
- 8) Die mit Tests verschiedener Hersteller ermittelte Vitamin D-Konzentration in einer bestimmten Probe kann je nach Testmethode, Kalibrierung und Antikörperspezifität variieren.
- 9) Bitte beachten Sie die Abschnitte Probenentnahme und Handhabung, Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen, Lagerung und Haltbarkeit sowie Hinweise zum Verfahren in dieser Packungsbeilage.
- 10) Der FREN Vitamin D-Test wurde nicht für den Einsatz am Behandlungsort evaluiert.
- 11) Der FREN Vitamin D-Test ist für die Verwendung in lizenzierten klinischen Labors mit geschulten Technologen konzipiert.

13. Leistungsmerkmale

Präzision

Das Dokument EP5-A2 des Instituts für klinische und Laborstandards (CLSI) diene als Leitfaden für Präzisionsstudien zu FREND Vitamin D. Für den Präzisionstest wurde Standardmaterial mit drei verschiedenen Konzentrationen verwendet. Ein Bediener führte 20 Tage lang Tests mit einer Charge durch. Ein Bediener führte 4 Tests mit drei verschiedenen Chargen durch. Drei verschiedene Bediener führten 4 Tests mit derselben Charge durch.

- 1) Ein Bediener führte 20 Tage lang Tests mit einer Charge durch

Standard-material	Konzentration (ng/mL)	Innerhalb des Testlaufes		Zwischen den Testläufen		Zwischen den Tagen		Innerhalb des Labors	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Niedrig	30	2,458	8,1	0,895	2,9	0,689	2,3	2,705	8,9
Mittel	60	0,146	4,9	0,040	1,3	0,021	0,7	0,153	5,1
Hoch	100	4,865	4,9	0,801	0,8	1,336	1,3	2,108	5,1

- 2) Ein Bediener führte 4 Tests mit drei verschiedenen Chargen durch

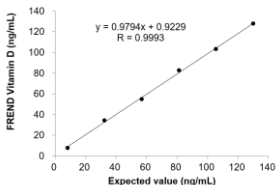
Standard-material	Konzentration (ng/mL)	Charge 503904	Charge 503905	Charge 503906	Mittlerer	SD	CV (%)
		Mittelwert	Mittelwert	Mittelwert			
Niedrig	30	31,14	31,913	30,553	31,292	0,682	2,2
Mittel	60	58,98	59,473	60,68	59,711	0,875	1,5
Hoch	100	95,528	100,645	98,085	98,086	2,559	2,6

- 3) Drei verschiedene Bediener führten 4 Tests mit derselben Charge durch

Standard-material	Konzentration (ng/mL)	Bediener 1	Bediener 2	Bediener 3	Mittlerer	SD	CV (%)
		Mittelwert	Mittelwert	Mittelwert			
Niedrig	30	29,430	28,890	30,755	29,692	0,960	3,2
Mittel	60	55,775	56,025	60,923	57,574	2,902	5,0
Hoch	100	98,933	101,598	99,320	99,950	1,440	1,4

Verdünnungslinearität

Die Bestimmung des Linearitätsbereichs im Serum erfolgte anhand der CLSI-Richtlinie EP6-A. Es wurde festgestellt, dass FREN D Vitamin D eine Linearität innerhalb des meldepflichtigen Bereichs von 8,00 ng/mL – 130,00 ng/mL mit einer mittleren Wiederfindung von 100 ± 10 % aufweist. Die Verdünnungslinearität-Studie wurde durch Verdünnen einer hochkonzentrierten Vitamin-D-Probe mit einer niedrigkonzentrierten Vitamin-D-Probe durchgeführt.



Analytische Empfindlichkeit

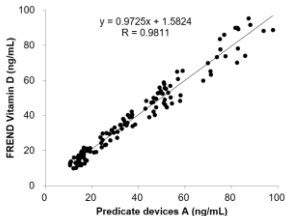
Die Bestimmung der Leerwertgrenze (LoB) und der Nachweisgrenze (LoD) erfolgte nach der CLSI-Richtlinie EP17-A. Die LoB wurde anhand von 60 Wiederholungsmessungen unter Verwendung eines Kalibrators A (Vitamin-D-verarmtes Serum) bestimmt. Die Bestimmung der LoD erfolgte anhand von 12 Wiederholungsmessungen von fünf Patientenproben mit niedriger Konzentration.

LoB	LoD	LoQ
3,85 ng/ml	6,53 ng/ml	10,00 ng/ml

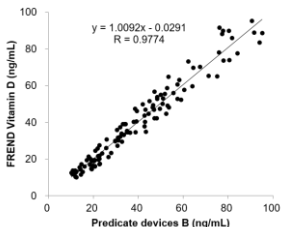
Vergleichende Analyse

Der Vergleich zwischen FRENED Vitamin D und dem Prädikatsgerät erfolgte nach den im CLSI-Dokument EP09-A2-IR beschriebenen Richtlinien. Die Proben (n=120) wurden mit beiden Systemen in doppelter Ausführung gemessen. Die lineare Regressionsanalyse ergab eine Korrelation (r) von 0,9811 und 0,9774.

1) FRENED Vitamin D vs. Prädikatgerät A



2) FRENED Vitamin D vs. Prädikatgerät B



Kreuzreaktivität

Bei den folgenden Substanzen wurde eine mögliche Kreuzreaktivität mit dem FREN D Vitamin D in drei Konzentrationen untersucht. Die Durchführung der Tests erfolgte gemäß des CLSI-Protokolls EP7-A2. Es wurde keine signifikante Kreuzreaktivität festgestellt.

Nr.	Potenzielle Kreuzreagenzien	Konzentration
1	Vitamin D2 (Ergocalciferol)	1.000 ng/ml
2	Vitamin D3 (Cholecalciferol)	1.000 ng/ml
3	1,25-(OH) ₂ -Vitamin-D2	100 ng/mL
4	1,25-(OH) ₂ -Vitamin-D3	100 ng/mL
5	3-epi-25(OH)-Vitamin-D3	100 ng/mL
6	25(OH)-Vitamin-D2	25 ng/ml
7	25(OH)-Vitamin-D3	25 ng/ml

Interferenz

Die Interferenzstudie wurde gemäß den Empfehlungen des CLSI-Protokolls EP7-A2 unter Verwendung von drei Vitamin D-Konzentrationen durchgeführt. Wiederfindungswerte innerhalb von 90 % bis 110 % der erwarteten Vitamin D-Konzentration galten als interferenzfrei. Es wurde keine Interferenz durch die unten aufgeführten Substanzen festgestellt.

Nr.	Potenzielle Störsubstanz	Konzentration
1	Bilirubin	20,0 mg/dl
2	Biotin	30,0 ng/dL
3	Triglyceride	370,0 mg/dl
4	Humanes Albumin	12,0 g/dl
5	Hämoglobin	200,0 mg/dl

Matrix-Effekt

Für den FREN D Vitamin D-Test können Heparin-Plasma, EDTA-Plasma und Citrat-Plasma verwendet werden. Die Korrelationswerte sind $R^2 = 0,9816$ im Serum mit Heparin-Plasma, $R^2 = 0,9739$ im Serum mit EDTA-Plasma und $R^2 = 0,9797$ im Serum mit Citrat-Plasma in jedem Test und diese Werte zeigen die hohe Korrelation.

14. Referenzen

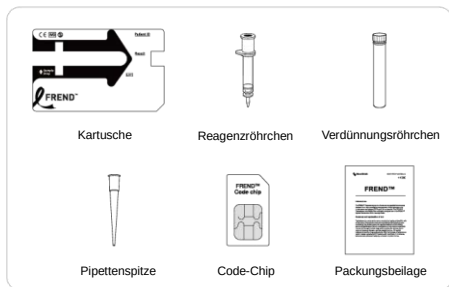
- 1) Holick, M.F. Hohe Prävalenz des Vitamin-D-Mangels und Auswirkungen auf die Gesundheit. *Mayo Clinic Proceedings*. 2006, 81 (3): 353-373.
- 2) Bolland, M.J., et al. The effect of vitamin D supplementation on skeletal, vascular, and cancer outcomes: a trial sequential meta-analysis. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014, 2 (4): 307-320.
- 3) Wolf, G. Die Entdeckung von Vitamin D: der Beitrag von Adolf Windaus. *Journal of Nutrition*. 2004, 134 (6): 1299-1302.
- 4) Holick, M.F. Vitamin D: Die Bedeutung für die Prävention von Krebs, Typ-1-Diabetes, Herzerkrankungen und Osteoporose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79 (3): 362-371.
- 5) Calvo, MS et al. Vitamin D intake: a global perspective of current status. *Journal of Nutrition*, 2005, 135 (2): 310-316.
- 6) Ross, AC et al. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington DC: *National Academies Press* 2011, p. 435.
- 7) Svasti, J et al. Molecular basis for the three major forms of human serum vitamin D binding protein. *Biochemistry* 1979, 18 (8): 1611-1617.
- 8) Holick, MF et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25- hydroxyvitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2008, 93 (3): 677-681.
- 9) Maxmen, A. Nutrition advice: the vitamin D-lemma. *Nature* 2011, 475 (7354): 23-25.
- 10) Chao, E.L.; Henshaw, J.L. Occupational Safety and Health Administration: Model Plans and Programs for the OSHA Bloodborne Pathogens and Hazard Communications Standards. *OSHA 3186-06R*, 2003.
- 11) Centers for Medicare & Medicaid Services. CLIA Individualized Quality Control Plan – Considerations when deciding to develop an IQCP. *CLIA Brochure #12*. November 2014.
- 12) Schroff, R.W.; Foon, K.A.; Beatty, S.M.; Oldham, R.K.; Morgan, A.C. Human Anti-Murine Immunoglobulin Responses in Patients Receiving Monoclonal Antibody Therapy. *Cancer Research*. 1985, 45: 879-885.
- 13) Boscatto, L.M.; Stuart, M.C. Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassays. *Clinical Chemistry*, 1988, 34 (1): 27-33.

Symbolerklärung

	Vorsicht, Warnung, siehe Begleiddokumente
	Katalognummer / Referenznummer
 www.nanoentek.com/efu.php	Gebrauchsanweisung beachten Bei Verwendung zur Angabe einer Anleitung zur Konsultation der elektronischen Gebrauchsanweisung (eFU) wird dieses Symbol von einem eFU-Indikator (eFU-Website) begleitet und neben dem Symbol platziert.
	Losnummer / Chargennummer
	Verwendbar bis JJJJ-MM-TT oder JJJJ-MM
	Hersteller
	CE-Kennzeichen
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Temperaturbegrenzung
	Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Nicht wiederverwenden
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist
	Nur gegen Rezept erhältlich HINWEIS: Nach US-Bundesgesetzen darf dieses Gerät nur von einem Arzt bzw. auf Anordnung eines Arztes verkauft werden.
	US-amerikanisches Unternehmen
	Patienten-ID
	Ergebnis
 Sample Drop	Probentropfen

EC REP	In der Gemeinschaft niedergelassener Bevollmächtigter
UK Representative	Bevollmächtigter im Vereinigten Königreich
CH REP	Bevollmächtigter in der Schweiz
BRH	Bevollmächtigter in Brasilien

Lieferumfang



Fassung vom Dezember 2023

FREND Vitamin D

Test quantitativo per la 25-Idrossi Vitamina D Totale

REF FRVDAP 020

IVD Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. Uso previsto

Il test FREND Vitamin D è un rapido immunodosaggio competitivo indiretto a fluorescenza progettato per la misurazione quantitativa della 25-idrossi vitamina D e dei relativi metaboliti idrossilati in campioni di siero e plasma umano (K3EDTA, litio-eparina e citrato) utilizzando il Sistema FREND™ e il FREND™ AP. La misurazione della 25-idrossi vitamina D totale e dei relativi metaboliti idrossilati viene utilizzata come aiuto nella valutazione della sufficienza di vitamina D.

La cartuccia microfluidica FREND Vitamin D è progettata per l'uso nel lettore di immunodosaggi fluorescenti del Sistema FREND™ e nella FREND™ AP. Il sistema FREND di test per la vitamina D è destinato all'uso nei laboratori clinici. Solo per uso diagnostico in vitro. Il test non è destinato all'uso nelle impostazioni di point-of-care. Solo per uso professionale.

2. Sintesi e spiegazione del test

La vitamina D è un proormone liposolubile noto per il suo ruolo nella regolazione dei livelli di calcio e fosforo nella mineralizzazione delle ossa.^[1,2] L'esposizione alla luce solare produce la vitamina D attraverso la conversione fotochimica del 7- deidrocolesterolo nell'epidermide ed è la fonte primaria di vitamina D.^[3,4] I cambiamenti stagionali, l'intensità

dell'esposizione, l'uso di creme solari e la pigmentazione della pelle possono causare variazioni nella quantità di vitamina D prodotta nell'organismo. Una fonte minore di vitamina D può essere il suo assorbimento da alimenti e da integratori vitaminici; secondo le stime, il 10 o 20% viene assorbito dall'organismo in questo modo.^[5,6]

Nella circolazione, la vitamina D 25-OH si lega alla proteina legante la vitamina D (VDBP) o all'albumina in concentrazioni 1000 volte superiori rispetto alla forma attiva di 1,25-(OH)₂-vitamina D.^[7] Inoltre, la forma 25-OH ha un'emivita di 2-3 settimane, rispetto alla forma 1,25-(OH)₂, meno stabile, che ha un'emivita di poche ore.^[8] La vitamina D 25-OH esiste come isomero D2 (ergocalciferolo) e D3 (colecalciferolo), con integratori disponibili per entrambi. Spesso, la vitamina D 25-OH totale viene misurata per valutare la sufficienza in un paziente e prendere decisioni cliniche appropriate.^[9]

3. Principio del test

La cartuccia FREND Vitamin D è un test immunologico rapido "competitivo" monouso che utilizza nanoparticelle fluorescenti in un flusso microfluidico per catturare e quantificare la 25-OH vitamina D totale in campioni di siero e plasma. Un campione da 35 µL viene inserito in una provetta di diluizione e 70 µL del campione diluito vengono inseriti nella provetta di pretrattamento FREND Vitamin D, che contiene reagenti brevettati. La provetta di pretrattamento viene lavorata nel dispositivo FREND™ AP (Advanced Preparing - preparazione avanzata). Il dispositivo AP mescola e incuba il campione e carica il volume corretto sulla cartuccia di FREND Vitamin D. Durante l'incubazione si formano immunocomplessi etichettati 25-OH vitamina D-anticorpo e il dispositivo AP trasferisce un campione di 35 µL alla cartuccia di FREND Vitamin D. Le nanoparticelle fluorescenti coniugate con la vitamina D presenti nella cartuccia competono con gli immunocomplessi vitamina D 25-OH-anticorpo provenienti dalla provetta di pretrattamento per legarsi agli anticorpi immobilizzati nella zona di analisi. L'intensità della fluorescenza è inversamente proporzionale alla quantità di vitamina D 25-OH nel campione. Il sistema FREND™ misura la fluorescenza e calcola, visualizza, memorizza e, facoltativamente, stampa la concentrazione di vitamina D 25-OH.

4. Materiale fornito

Quantità	Contenuto	Numero di catalogo
20	Cartuccia(-e) FREND Vitamin D	FRVDAP 020
20	Tubo(-i) di pretrattamento di FREND Vitamin D	
20	Provetta di diluizione di FREND Vitamin D	
40	Punta(-e) monouso per pipetta	
01	Chip di codice di FREND Vitamin D	
01	Foglietto illustrativo di FREND Vitamin D	

Una cartuccia contiene:

Topo monoclonale anti-vitamina D
25-idrossivitamina D
Particelle fluorescenti

Un tubo di pretrattamento contiene:

Acido perfluoroesanoico

Una provetta di diluizione contiene:

Anticorpo coniugato con nano-particelle d'oro

5. Materiali richiesti ma non forniti

- Sistema FREND™
- FREND™ AP
- Micro-pipetta, o qualsiasi pipetta, in grado di erogare 35 e 70 µL
- Dispositivi di protezione individuale e contenitori per lo smaltimento dei rifiuti a rischio biologico

6. Avvertenze e precauzioni



Attenzione: Negli Stati Uniti, la legge federale autorizza la vendita di questo dispositivo solo a medici o su prescrizione medica.

- Le cartucce FREND Vitamin D sono destinate esclusivamente all'uso diagnostico in vitro.
- Le cartucce Vitamin D devono essere utilizzate solo con il sistema FREND™.
- Le cartucce Vitamin D sono dispositivi monouso "usa e getta". Non riutilizzarle in nessun caso.

- Lasciare che le cartucce sigillate raggiungano la temperatura ambiente per circa 15-30 minuti prima dell'uso.
- Le cartucce e i tubi di pretrattamento non devono essere congelati.
- Assicurarsi che l'umidità in laboratorio sia compresa tra il 10 e l'80% quando vengono eseguiti i test.
- Assicurarsi che la temperatura ambiente rimanga nell'intervallo 64 °F–77 °F (18–25 °C) durante l'esecuzione dei test.
- Evitare la contaminazione incrociata tra i campioni utilizzando una nuova punta di pipetta per ogni nuovo campione.
- Evitare alta umidità, luce solare diretta o calore nella zona utilizzata per la conservazione della cartuccia.
- Risultati imprecisi sono possibili se il campione utilizzato è contaminato in qualche modo.
- L'utilizzo di campioni contenenti fibrina coagulata potrebbe dare luogo a risultati errati.
- Il caricamento eccessivo o insufficiente della cartuccia con il campione può causare risultati imprecisi.
- Nella preparazione di questo prodotto non vengono utilizzati campioni umani. Tuttavia, dal momento che verranno utilizzati campioni umani e che altri prodotti di controllo qualità del laboratorio possono derivare da materiali umani, si consiglia di adottare le precauzioni universali quando si maneggiano tutti i campioni e i controlli.
- Non utilizzare le cartucce, le provette di pretrattamento o le provette di diluizione oltre la data di scadenza riportata sul sacchetto.
- Non utilizzare la cartuccia se il sacchetto è danneggiato o il sigillo è rotto.
- Eseguire i test come indicato nel foglietto illustrativo e nel manuale d'uso.
- Tenere la cartuccia e la provetta di pretrattamento sigillate nel sacchetto fino al momento dell'uso.
- Utilizzare la cartuccia e la provetta di pretrattamento immediatamente dopo l'apertura del sacchetto.
- Indossare guanti monouso quando si maneggiano le cartucce, le provette di pretrattamento e i campioni.
- Lavarsi accuratamente e spesso le mani dopo aver maneggiato cartucce o campioni di reagenti.
- Non ingerire la confezione di gel di silice contenuta nel sacchetto della cartuccia.
- Il test FREND Vitamin D è stato valutato e non è stato osservato alcun effetto di hook ad alte dosi per concentrazioni di vitamina D fino a 1600 ng/mL.
- Maneggiare i campioni in conformità con lo standard OSHA relativo ai patogeni di origine ematica.^[10]

7. Stoccaggio e stabilità

Tutti i materiali non aperti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta se conservati alla temperatura specificata. La stabilità del reagente è stata dimostrata per dodici mesi dalla data di fabbricazione.

La data di scadenza è chiaramente indicata sulla confezione del prodotto e sulle cartucce

Materiali	Numero di catalogo
Conservazione a temperatura di frigorifero (2~8 °C)	
Cartucce FREND Vitamin D, in sacchetti	FRVDAP 020
Provette di pretrattamento FREND Vitamin D, in sacchetti	Nessuna
Provette di diluizione FREND Vitamin D	Nessuna
Stoccaggio a temperatura ambiente (18~25 °C)	
Punte per pipette	Nessuna

8. Raccolta e manipolazione dei campioni

I campioni di siero e plasma umano (litio-eparina, K3EDTA e citrato) sono adatti per l'uso con le cartucce FREND Vitamin D.

Seguire le istruzioni riportate in questo foglietto illustrativo e le istruzioni del produttore della provetta per la raccolta e la preparazione del campione (comprese le istruzioni del produttore per il tempo e la velocità di centrifugazione).

Per il siero, un campione di sangue viene raccolto asetticamente senza additivi mediante puntura venosa. Dopo aver lasciato coagulare il campione per 30 minuti a temperatura ambiente, il tubo di raccolta deve essere centrifugato per 10 minuti a 3.000 giri / min.

Per il plasma (litio-eparina, K3EDTA e citrato), un campione di sangue venoso viene prelevato asetticamente con l'additivo designato. Dopo aver permesso al campione di mescolarsi sufficientemente con l'anticoagulante a temperatura ambiente, centrifugare la provetta per 10 minuti a 3.000 giri/min.

I campioni possono essere conservati a 36~46 °F (2~8 °C) per un massimo di 6 ore prima dell'analisi. Se l'analisi viene programmata in un tempo successivo, il campione di siero o di plasma deve essere separato dagli

eritrociti e conservato congelato a -4 °F (-20°C) o meno per un uso futuro.

I cicli ripetuti di gelo-disgelo devono essere evitati. Prima del test, portare lentamente i campioni congelati a temperatura ambiente (64~77 °F o 18~25 °C) e mescolarli delicatamente ma accuratamente prima di analizzarli.

Per risultati ottimali, evitare campioni fortemente emolitici, lipemici o torbidi. I campioni devono essere privi di fibrina aggregata, globuli rossi o altre particelle.

9. Procedura

Calibrazione

Non è necessaria la calibrazione eseguita da parte dell'utente finale, generalmente richiesta per altre apparecchiature di laboratorio automatizzate. Tutte le statistiche e le informazioni sulla calibrazione sono state memorizzate elettronicamente sul chip di codice di FREND Vitamin D incluso in ogni confezione di cartucce FREND Vitamin D. Il chip di codice FREND Vitamin D è specifico per ogni lotto di cartucce FREND Vitamin D.

Le informazioni di calibrazione devono sempre essere verificate con l'esecuzione di campioni esterni di controllo qualità per controllare che i risultati ottenuti per la vitamina D sul Sistema FREND™ utilizzando le cartucce FREND Vitamin D soddisfino i criteri di accettabilità del laboratorio.

Installazione del chip di codice

Fare riferimento al manuale utente del sistema FREND™ per istruzioni più dettagliate relative all'installazione del chip di codice. Qui sotto sono incluse istruzioni abbreviate:

- 1) Inserire il cavo elettrico del FREND™ System in una presa appropriata.
- 2) Inserire il chip di codice nello slot di chip di codice sul retro del FREND™ System seguendo le frecce.
- 3) Premere il pulsante **"Setup"** nella schermata **"Main"**.
- 4) Premere il pulsante **"Code chip"** nella schermata **"Setup"**.
- 5) Le informazioni contenute nel Chip di codice FREND Vitamin D vengono automaticamente salvate nel sistema FREND™.
- 6) Una volta completata l'installazione del Chip di codice, premere il pulsante **'OK'** per passare alla schermata **'Setup'**.
- 7) Premere il pulsante **'Item'** nella schermata **'Setup'**.

- 8) Controllare il numero di lotto della cartuccia FREND Vitamin D e la data di installazione del chip di codice.
- 9) Premere il pulsante '**Home**' per andare alla schermata '**Main**' per iniziare a eseguire il controllo esterno di qualità e campioni paziente.

Controllo qualità

• Cartucce CQ del Sistema FREND™

La cartuccia FREND QC contiene controlli multipli per verificare la parte ottica del sistema. Testando la cartuccia CQ, una parte dei componenti analitici del sistema di (1) potenza laser, (2) allineamento e (3) integrità meccanica sono confermati. Per ogni giorno di test del paziente, eseguire il test di CQ della cartuccia. Fare riferimento alla sezione procedure di controllo qualità del Manuale utente del FREND™ System. In breve, eseguire il test della cartuccia CQ nelle seguenti circostanze

- 1) Dopo la configurazione iniziale del sistema
- 2) Ogni giorno di test paziente,
- 3) Quando il sistema è stato trasportato o spostato,
- 4) Ogni volta che c'è incertezza sulle prestazioni del sistema,
- 5) Ogni volta che il test è richiesto dai requisiti di controllo qualità del vostro laboratorio.

• Controlli procedurali interni

La cartuccia di test FREND Vitamin D contiene una funzione di controllo integrata. Il segnale di fluorescenza nella zona di riferimento di ciascuna cartuccia mostra: (1) che un volume sufficiente è stato aggiunto, (2) che un flusso adeguato è stato ottenuto, e (3) che l'anticorpo è reattivo. Se questo segnale di zona di riferimento è assente o inferiore alla soglia, il Sistema FREND™ lo considera un test errato o fallito e produce un messaggio di errore anziché un risultato del test. Inoltre, con ogni funzionamento della cartuccia, il sistema controlla, in parte, (1) il flusso del campione, (2) la velocità del flusso del campione, (3) la durata di conservazione dei componenti della cartuccia, (4) il funzionamento dello scanner interno di codici a barre e (5) il funzionamento dei componenti meccanici dello scanner.

- **Test esterno di controllo qualità**

Sono disponibili controlli commercialmente disponibili da una varietà di produttori che contengono la vitamina D 25-OH come analita misurato. Si raccomanda di eseguire almeno due (2) livelli di controllo una volta al giorno nei giorni in cui si analizzano i campioni dei pazienti con il test FREN D Vitamin D. Oppure si può adottare un'altra opzione per il controllo di qualità: il piano di controllo di qualità individualizzato (IQCP)^[11] è un approccio onnicomprensivo per garantire la qualità dell'intero processo di analisi. Un IQCP comprende le pratiche, i dati e le informazioni che ogni laboratorio già utilizza per garantire la qualità dei test e soddisfare il CLIA, oltre a testare un certo numero di materiali di CQ con una frequenza prestabilita.

Per garantire che queste procedure di controllo siano equivalenti alle normative CLIA sul CQ e adatte a ciascun laboratorio, è necessario stabilire e documentare il CQ appropriato per il sistema di analisi, l'ambiente di analisi e il personale analitico.

I controlli devono essere eseguiti in base alle normative locali, statali e federali o ai requisiti di accreditamento per la frequenza dei controlli di qualità. Se i valori dei campioni di controllo qualità esterni sono fuori dall'intervallo accettabile, sarà necessario indagare sul problema prima di segnalare i risultati paziente per assicurare che non vi sia un malfunzionamento dello strumento o del software. Non analizzare i campioni dei pazienti con il Sistema FREN D™ utilizzando FREN D Vitamin D se i risultati del controllo qualità non rientrano negli intervalli accettabili.

Elaborazione del campione

- **Preparazione**

Rimuovere le cartucce FREN D Vitamin D, le provette di diluizione dei campioni e le provette di pretrattamento dell'anticorpo d'oro dal frigorifero per verificare il numero di campioni paziente e i materiali di controllo qualità esterni necessari. Lasciare che le provette e i sacchetti sigillati contenenti le cartucce arrivino a temperatura ambiente per circa 15-30 minuti prima dell'inizio della sequenza di test.

Quando si utilizzano campioni paziente refrigerati, rimuoverli dal frigorifero e lasciarli arrivare a temperatura ambiente prima del test. Se verranno utilizzati campioni congelati, assicurarsi che questi vengano rimossi dal congelatore, scongelati a temperatura ambiente e quindi mescolati delicatamente ma accuratamente prima dell'analisi. I test non devono iniziare su campioni precedentemente congelati finché non hanno raggiunto la temperatura ambiente (64–77 °F o 18–25 °C).

Non sono necessari altri reagenti o preparati di campioni.

• **Procedura di analisi**

- 1) Assicurarci che la cartuccia FREND Vitamin D, la provetta di pretrattamento, la provetta di diluizione del campione e il campione siano a temperatura ambiente (64~77 °F o 18~25°C).
- 2) Aprire il sacchetto e inserire la cartuccia FREND Vitamin D nella vachetta cartucce del dispositivo AP.
- 3) Premere "NEXT" per chiudere la vaschetta cartucce e aprire la vaschetta provette di pretrattamento.
- 4) Trasferire 35 µL di campione nella provetta di diluizione del campione e mescolare bene agitando o capovolgendo.
- 5) Trasferire un'aliquota da 70 µL del campione diluito nella provetta di pretrattamento di FREND Vitamin D.



Attenzione: Una volta aggiunto il campione alla provetta di pretrattamento. Non capovolgere la provetta.

- 6) Inserire la provetta di pretrattamento nel foro provette della vaschetta provette di pretrattamento di FREND AP. Fare riferimento al manuale utente FREND AP per istruzioni operative complete.
- 7) Premere il pulsante "NEXT". La vaschetta di pretrattamento si chiude e inizia la prima fase di incubazione (15 minuti).
- 8) Al termine della prima incubazione, 35 µL di campione mescolato vengono caricati sulla cartuccia e inizia la seconda fase di incubazione (2 minuti).
- 9) Quando entrambe le fasi di incubazione sono completate, la vaschetta cartucce si aprirà e la cartuccia sarà pronta per essere inserita nel Sistema FREND™.
- 10) Premere il pulsante 'Test' sulla schermata 'Main' del FREND™ System.
- 11) Il sistema passa automaticamente alla schermata di ID paziente.
- 12) Digitare l'ID paziente e premere il pulsante 'Enter' per iniziare il test.
- 13) Inserire la cartuccia nello slot per cartucce usando le frecce della cartuccia come guida.



Attenzione: Controllare la direzione della cartuccia prima di inserirla e assicurarsi che l'inserimento sia completo.

- 14) Quando la reazione nella cartuccia è completata, il FREND™ System inizierà automaticamente il processo di lettura.

- 16) Una volta completate le misurazioni, la cartuccia verrà espulsa automaticamente e verranno visualizzati i risultati.
-  **Attenzione:** Non scollegare il cavo di alimentazione o spegnere il Sistema FREND™ mentre la cartuccia è nella camera di lettura. Ciò potrebbe causare un errore di sistema.
- 17) Se il FREND™ System è collegato alla stampante opzionale, premere il pulsante "Print" e i risultati verranno visualizzati sulla carta della stampante.
- 18) Per istruzioni più dettagliate, consultare il Manuale utente del Sistema FREND™.

10. Note procedurali

Se la concentrazione di vitamina D in un campione risulta superiore al limite di linearità del test di 110,00 ng/mL, riportare qualsiasi valore superiore a 110,00 ng/mL come "superiore a 110,00 ng/mL". La cartuccia FREND Vitamin D non contiene un diluente specifico.

11. Calcolo dei risultati

Il FREND™ System esegue automaticamente tutte le operazioni di manipolazione di campioni e reagenti all'interno della cartuccia una volta che il campione è stato caricato nell'area di introduzione del campione della cartuccia e la cartuccia è stata inserita nel Sistema FREND™. Il tasso di fluorescenza prodotto dalla reazione viene letto a vari intervalli durante il processo di analisi, le letture del bianco vengono sottratte dopodiché il tasso netto viene convertito automaticamente in concentrazione di vitamina D in ng/mL in base alle informazioni memorizzate sul Chip di codice di FREND Vitamin D. Questo risultato viene quindi visualizzato sullo schermo e sulla stampante opzionale. È anche memorizzato nel FREND™ System.

Schermo visualizzato per vari scenari di concentrazione

Risultato visualizzato	Descrizione
	Concentrazione di vitamina D Meno di 10,00 ng/mL
	Concentrazione di vitamina D Non meno di 10,00 ng/mL e non più di 110,00 ng/mL
	Concentrazione di vitamina D Superiore a 110,00 ng/mL

12. Limitazioni della procedura

- 1) In caso di utilizzo per scopi diagnostici, i risultati ottenuti da questo test devono essere utilizzati in combinazione con altri dati (ad esempio, sintomi, risultati di altri test, impressioni cliniche, anamnesi, terapia, ecc.)
- 2) Il Sistema FREND™ abbinato a una cartuccia FREND Vitamin D è programmato per riportare 110,00 ng/mL come massima concentrazione di vitamina D misurabile. La concentrazione minima misurabile è di 13,0 ng/mL, il limite di rilevazione del test.
- 3) Campioni di pazienti con anticorpi eterofili, come anticorpi anti-topo (HAMA), anti-capra (HAGA) o anti-coniglio (HARA), possono mostrare valori falsamente elevati o abbassati o causare un messaggio di errore "Test incompleto".^[12, 13] I pazienti che sono regolarmente in contatto con animali o prodotti di siero di origine animale possono essere soggetti a questi tipi di interferenze eterofile.
- 4) I pazienti che assumono farmaci contenenti paracalcitolo (ad es. Zemplar) non devono essere sottoposti a questo test.
- 5) Alcuni farmaci possono interferire con le prestazioni del test. Tutti i risultati devono essere interpretati rispetto al quadro clinico del paziente.
- 6) Sebbene l'emolisi abbia un effetto insignificante sul saggio, i campioni emolizzati possono indicare un maltrattamento di un campione prima del test e i risultati devono essere interpretati con cautela.
- 7) La lipemia ha un effetto insignificante sul saggio tranne nel caso di lipemia grave in cui può verificarsi un'interferenza con il flusso laterale del campione nella cartuccia.
- 8) La concentrazione di vitamina D in un campione concreto, determinata con test di produttori diversi, può variare a causa delle differenze nei metodi di analisi, nella calibrazione e nella specificità degli anticorpi.
- 9) Fare riferimento alle sezioni Raccolta e manipolazione del campione, Avvertenze e precauzioni, Conservazione e stabilità e Note procedurali di questo foglietto illustrativo.
- 10) Il FREND Vitamin D non è stato valutato nelle impostazioni di point-of-care.
- 11) FREND Vitamin D deve essere utilizzato in laboratori clinici autorizzati con tecnologie qualificati.

13. Caratteristiche prestazionali

Precisione

Il documento EP5-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) è stato utilizzato come linea guida per gli studi di precisione su FREND Vitamin D. Per il test di precisione è stato utilizzato materiale standard con tre diverse concentrazioni. Un operatore ha testato un lotto per 20 giorni. Un operatore ha effettuato il test con tre lotti diversi per 4 volte. Tre diversi operatori hanno testato lo stesso lotto per 4 volte.

1) Un operatore con un lotto per 20 giorni

Materiale standard	Conc. (ng/mL)	All'interno della corsa		Tra-esecuzioni		Tra-giorni		All'interno del laboratorio	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
Basso	30	2,458	8,1	0,895	2,9	0,689	2,3	2,705	8,9
Medio	60	0,146	4,9	0,040	1,3	0,021	0,7	0,153	5,1
Alto	100	4,865	4,9	0,801	0,8	1,336	1,3	2,108	5,1

2) Un operatore con tre lotti diversi per 4 volte

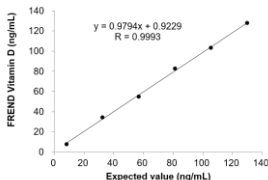
Materiale standard	Conc. (ng/mL)	Lotto. 503904	Lotto. 503905	Lotto. 503906	Significa	SD	CV(%)
		Significato	Significato	Significato			
Basso	30	31,14	31,913	30,553	31,292	0,682	2,2
Medio	60	58,98	59,473	60,68	59,711	0,875	1,5
Alto	100	95,528	100,645	98,085	98,086	2,559	2,6

3) Tre operatori diversi con un unico lotto per 4 volte

Materiale standard	Conc. (ng/mL)	Operatore 1	Operatore 2	Operatore 3	Significa	SD	CV(%)
		Significato	Significato	Significato			
Basso	30	29,430	28,890	30,755	29,692	0,960	3,2
Medio	60	55,775	56,025	60,923	57,574	2,902	5,0
Alto	100	98,933	101,598	99,320	99,950	1,440	1,4

Linearità della diluizione

L'intervallo di linearità nel siero è stato stabilito utilizzando il documento EP6-A di CLSI. Il FRENED Vitamin D è risultato avere una linearità all'interno dell'intervallo di riferimento di 8,00 ng/mL ~ 130,00 ng/mL con un recupero medio del 100±10%. Lo studio di linearità della diluizione è stato eseguito diluendo un campione di vitamina D ad alta concentrazione con un campione di vitamina D a bassa concentrazione.



Sensibilità analitica

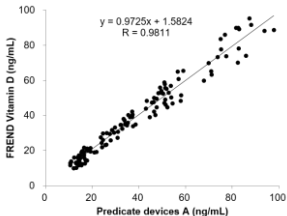
Il limite di bianco (LoB) e il limite di rilevamento (LoD) sono stati determinati utilizzando le linee guida contenute nel documento EP17-A di CLSI. LoB è stato determinato da 60 misurazioni ripetute utilizzando una soluzione standard negativa. Il LoD è stato determinato utilizzando 12 repliche di misurazione di cinque campioni di pazienti a basso livello.

LoB	LoD	LoQ
3,85 ng/mL	6,53 ng/mL	10,00 ng/mL

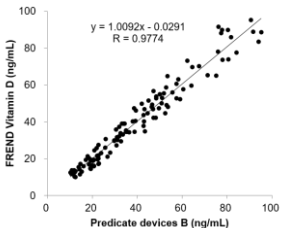
Analisi comparativa

FREND Vitamin D è stato confrontato con il dispositivo di riferimento utilizzando le linee guida delineate nel documento EP09-A2-IR di CLSI. I campioni (n=120) sono stati misurati in duplicato su entrambi i sistemi. L'analisi di regressione lineare ha dimostrato un coefficiente di correlazione (r) di 0,9811 e 0,9774.

1) FREND Vitamina D VS Dispositivo predicato A



2) FREND Vitamina D VS Dispositivo predicato B



Reattività incrociata

Le seguenti sostanze sono state valutate per la potenziale reattività crociata con FRENED Vitamin D a tre concentrazioni. Il test è stato eseguito secondo il protocollo CLSI EP7-A2. Non è stata riscontrata alcuna reattività crociata significativa.

No.	Potenziati reagenti incrociati	Concentrazione
1	Vitamina D2 (ergocalciferolo)	1.000 ng/mL
2	Vitamina D3 (colecalfiferolo)	1.000 ng/mL
3	1,25-(OH)2-vitamina D2	100 ng/mL
4	1,25-(OH)2-vitamina D3	100 ng/mL
5	3-epi-25-(OH) vitamina D3	100 ng/mL
6	25-(OH) vitamina D2	25 ng/mL
7	25-(OH) vitamina D3	25 ng/mL

Interferenza

Lo studio dell'interferenza è stato eseguito come raccomandato nel protocollo EP7-A2 di CLSI utilizzando tre concentrazioni di Vit D. Il recupero entro il 90%-110% della Vit D attesa è stato considerato come assenza di interferenza. Non è stata trovata alcuna interferenza da parte delle sostanze sottostanti.

No.	Potenziale d'interferenza	Concentrazione
1	Bilirubina	20,0 mg/dL
2	Biotina	30,0 ng/dL
3	Trigliceridi	370,0 mg/dL
4	Albumina umana	12,0 g/dL
5	Emoglobina	200,0 mg/dL

Effetto matrice

Il plasma eparinato, il plasma EDTA e il plasma citrato possono essere utilizzati per il dosaggio di FRENED Vitamin D. I valori di correlazione sono $R^2=0,9816$ nel siero con eparina-plasma, $R^2=0,9739$ nel siero con EDTA-plasma e $R^2=0,9797$ nel siero con citrato-plasma in ogni test e i valori mostrano un'elevata correlazione.

14. Riferimenti

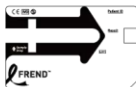
- 1) Holick, MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Atti della Mayo Clinic*. 2006, 81 (3): 353-373.
- 2) Bolland, MJ et al. The effect of vitamin D supplementation on skeletal, vascular, and cancer outcomes: a trial sequential meta-analysis. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014, 2 (4): 307-320.
- 3) Wolf, G. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. *Journal of Nutrition*. 2004, 134 (6): 1299-1302.
- 4) Holick, MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, 79 (3): 362-371.
- 5) Calvo, MS et al. Vitamin D intake: a global perspective of current status. *Journal of Nutrition*, 2005, 135 (2): 310-316.
- 6) Ross, AC et al. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington DC: *National Academies Press* 2011, p. 435.
- 7) Svasti, J et al. Molecular basis for the three major forms of human serum vitamin D binding protein. *Biochemistry* 1979, 18 (8): 1611-1617.
- 8) Holick, MF et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25- hydroxyvitamin D. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2008, 93 (3): 677-681.
- 9) Maxmen, A. Nutrition advice: the vitamin D-lemma. *Nature* 2011, 475 (7354): 23-25.
- 10) Chao, E.L.; Henshaw, J.L. Occupational Safety and Health Administration: Model Plans and Programs for the OSHA Bloodborne Pathogens and Hazard Communications Standards. *OSHA 3186-06R*, 2003.
- 11) Centers for Medicare & Medicaid Services. CLIA Individualized Quality Control Plan – Considerations when deciding to develop an IQCP. *CLIA Brochure #12*. November 2014.
- 12) Schroff, R.W.; Foon, K.A.; Beatty, S.M.; Oldham, R.K.; Morgan, A.C. Human Anti-Murine Immunoglobulin Responses in Patients Receiving Monoclonal Antibody Therapy. *Cancer Research*. 1985, 45: 879-885.
- 13) Boscatto, L.M.; Stuart, M.C. Heterophilic Antibodies: A Problem for All Immunoassays. *Clinical Chemistry*, 1988, 34 (1): 27-33.

Glossario dei simboli

	Attenzione, avvertenza, Consultare i documenti di accompagnamento
REF	Numero di catalogo / Numero di riferimento
 www.nanocentek.com/eifu.php	Consultare le istruzioni per l'uso Un indicatore elettronico delle istruzioni per l'uso (eIFU) (indirizzo del sito web) può accompagnare il simbolo quando viene utilizzato per indicare un'istruzione di consultazione di un eIFU.
LOT	Numero di lotto / Numero di partita
	Utilizzare da GG-MM-AAAA o MM-AAAA
	Società
	Marcatura CE
IVD	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Limitazione della temperatura
	Contiene un numero sufficiente di <n> test
	Non riutilizzare
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata
Rx Only	Solo per uso su prescrizione medica ATTENZIONE: la legge federale (USA) limita la vendita di questo dispositivo da parte o su ordine di un medico.
US Corporation	Società statunitense
<u>Patient ID</u>	ID paziente
<u>Result</u>	Risultato
 Sample Drop	Goccia del campione
EC REP	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea

UK Representative	Rappresentante autorizzato nel Regno Unito
CH REP	Rappresentante autorizzato in Svizzera
BRH	Rappresentante autorizzato in Brasile

Contenuto del kit



Cartuccia



Tubo di pretrattamento



Provetta di diluizione



Punta di pipetta



Chip di codice



Foglietto illustrativo

Rivisto in data 12.2023

FREND Vitamina D

Ensayo cuantitativo de 25-Hidroxivitamina D Total

REF FRVDAP 020

IVD Solamente para uso diagnóstico *in vitro*

1. Uso previsto

La prueba FREND Vitamina D es un inmunoensayo fluorescente competitivo indirecto rápido diseñado para la medición cuantitativa de 25-Hidroxi vitamina D, y metabolitos hidroxilados relacionados en muestras de suero y plasma humano (K3EDTA, litio-heparina y citrato), utilizando el Sistema FREND™, y el FREND™ AP. Las mediciones de la 25-hidroxivitamina D total y de los metabolitos hidroxilados relacionados, se utilizan para ayudar a evaluar la suficiencia de vitamina D.

El cartucho de flujo microfluídico FREND Vitamina D está diseñado para su uso en el Sistema lector de inmunoensayo fluorescente de FREND™, y en el FREND™ AP. El sistema de análisis de vitamina D FREND está destinado a su uso en laboratorios clínicos. Solo para uso diagnóstico *in vitro*. La prueba no está pensada para su uso en entornos de puntos de atención médica. Sólo para uso profesional.

2. Resumen y explicación de la prueba

La vitamina D es una prohormona liposoluble conocida por su papel en la regulación de los niveles de calcio y fósforo en la mineralización ósea.^[1,2] La exposición a la luz solar produce vitamina D mediante la conversión fotoquímica del 7-deshidrocolesterol en la epidermis, y es la principal fuente

de vitamina D.^[3,4] Los cambios estacionales, la cantidad de exposición, el uso de protectores solares y la pigmentación de la piel pueden provocar variaciones en la cantidad de vitamina D producida en el organismo. Una fuente menor de vitamina D puede absorberse de los alimentos y los suplementos vitamínicos, y se calcula que el organismo absorbe entre un 10 y un 20% de esta forma.^[5,6]

En circulación, la vitamina D 25-OH se une a la proteína de unión a la vitamina D (VDBP) o a la albúmina en concentraciones 1000 veces superiores a las de la forma activa 1,25-(OH)₂-vitamina D.^[7] Además, la forma 25-OH tiene una semi-vida de 2-3 semanas, en comparación con la forma menos estable 1,25-(OH)₂, que tiene una semi-vida de unas pocas horas.^[8] La vitamina D 25-OH existe en forma de isómeros D2 (ergocalciferol) y D3 (colecalciferol), y existen suplementos para ambos. A menudo, se mide la vitamina D 25-OH total para evaluar la suficiencia en un paciente, y tomar las decisiones clínicas adecuadas.^[9]

3. Principio del ensayo

El cartucho de prueba FREND Vitamina D es un inmunoensayo rápido "competitivo" de un solo uso, que utiliza nanopartículas fluorescentes en un flujo microfluidico para capturar y cuantificar la vitamina D 25-OH total en muestras de suero y plasma. Se coloca una muestra de 35 µL en una pipeta de dilución, y 70 µL de la muestra diluida se colocan en la pipeta de pre-tratamiento de vitamina D FREND, que contiene reactivos patentados. La pipeta de pre-tratamiento se procesa en el dispositivo FREND™ AP (Preparación Avanzada). El dispositivo AP mezcla e incuba la muestra y carga el volumen correcto en el cartucho de FREND Vitamina D. Durante la incubación se forman complejos inmunes 25-OH vitamina anticuerpo-D marcados, y el dispositivo AP transfiere una muestra de 35 µL al cartucho FREND Vitamina D. Las nanopartículas fluorescentes conjugadas con vitamina D del cartucho compiten con los inmunocomplejos 25-OH vitamina anticuerpo-D de la pipeta de pretratamiento, para unirse a los anticuerpos inmovilizados en la zona de prueba. La intensidad de la fluorescencia es inversamente proporcional a la cantidad de 25-OH vitamina D en la muestra. El sistema FREND™ mide la fluorescencia y calcula, muestra, almacena y opcionalmente imprime la concentración de 25- OH Vitamina D.

4. Material suministrado

Cantidad	Contenido	Número de catálogo
20	Cartucho(s) de vitamina D FREND	FRVDAP 020
20	Pipeta(s) de pretratamiento de vitamina D FREND	
20	Pipeta(s) de dilución de vitamina D FREND	
40	Puntas de pipeta desechables	
01	Chip de Código de Vitamina D FREND	
01	Prospecto de Vitamina D FREND	

Un cartucho contiene:

Antivitamina D monoclonal de ratón
25-hidroxivitamina D
Partículas fluorescentes

Una pipeta de pretratamiento contiene:

Ácido perfluorohexanoico

Una pipeta de dilución contiene:

Anticuerpo conjugado con nanopartículas de oro

5. Materiales necesarios, pero no proporcionados

- El Sistema FREND™
- El FREND™ AP
- Micro pipeta, o cualquier pipeta, con capacidad para 35 y 70 µl
- Equipos de protección individual y contenedores de eliminación de residuos biológicamente peligrosos

6. Advertencias y Precauciones



Precaución: En los Estados Unidos, la ley federal restringe la venta de este dispositivo a médicos, o bajo prescripción facultativa.

- Los cartuchos FREND Vitamina D están destinados exclusivamente al diagnóstico in vitro.
- Los cartuchos de vitamina D solo deben utilizarse en el sistema FREND™.
- Los cartuchos de vitamina D son dispositivos desechables de un solo

uso. No los reutilice en ningún caso.

- Deje que los cartuchos sellados alcancen la temperatura ambiente durante aproximadamente 15–30 minutos antes de utilizarlos.
- Los cartuchos y las pipetas de pre-tratamiento no deben congelarse.
- Asegúrese de que la humedad en el laboratorio es del 10–80% cuando se ejecuten las pruebas.
- Asegúrese de que la temperatura ambiente se mantiene dentro del intervalo de 18–25 °C (64–77 °F) cuando se realicen las pruebas.
- Evite la contaminación cruzada entre muestras utilizando una punta de pipeta nueva para cada nueva muestra.
- Evite la humedad elevada, la luz solar directa o el calor en la zona utilizada para almacenar los cartuchos.
- Es posible obtener resultados inexactos si la muestra utilizada está contaminada de algún modo.
- El uso de muestras que contengan fibrina coagulada podría dar lugar a resultados erróneos.
- La carga excesiva o insuficiente del cartucho con la muestra, puede provocar resultados inexactos.
- En la preparación de este producto no se utilizan especímenes humanos. No obstante, dado que se utilizarán especímenes humanos como muestras y que otros productos de control de calidad del laboratorio pueden derivarse de materiales humanos, le rogamos que aplique las Precauciones Universales al manipular todos los especímenes y controles.
- No utilice los cartuchos, pipetas de pre-tratamiento o tubos de dilución después de la fecha de caducidad indicada en el paquete.
- No utilice el cartucho ni las pipetas de pretratamiento si la bolsa está dañada o el precinto está roto.
- Realice las pruebas según se especifica en el prospecto y en el manual del usuario.
- Mantenga el cartucho y la pipeta de pre-tratamiento sellados en su paquete hasta el momento de su uso.
- Utilice el cartucho y la pipeta de pretratamiento inmediatamente después de abrir la bolsa.
- Utilice guantes desechables para manipular los cartuchos, las pipetas de pretratamiento y las muestras.
- Lávese bien las manos y con frecuencia después de manipular cartuchos de reactivos o muestras.
- No ingiera el paquete de gel de sílice que se encuentra en la bolsa del cartucho.

- Se ha evaluado el ensayo FREND Vitamina D y no se observó ningún efecto de gancho de dosis alta para concentraciones de vitamina D de hasta 1600 ng/mL.
- Manipule las muestras de acuerdo con la Norma OSHA sobre Patógenos Transmitidos por la Sangre.^[10]

7. Almacenamiento y Estabilidad

Todos los materiales sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta si se almacenan a la temperatura especificada. Se ha demostrado la estabilidad del reactivo durante doce meses a partir de la fecha de fabricación.

La fecha de caducidad está claramente indicada en la caja del producto y en los cartuchos

Materiales	Número de catálogo
Almacenamiento a temperatura de refrigerador (2~8 °C)	
Cartuchos de vitamina D FREND, en su paquete	FRVDAP 020
Pipetas de pre-tratamiento de vitamina D FREND, en su paquete	Ninguno
Pipetas de dilución de vitamina D FREND	Ninguno
Almacenamiento a temperatura ambiente (18~25 °C)	
Puntas de pipeta	Ninguno

8. Recogida y manipulación de muestras

Las muestras de suero y plasma humano (litio-heparina, K3EDTA y citrato) son adecuadas para su uso con los cartuchos FREND Vitamina D.

Siga las instrucciones detalladas en este prospecto, así como las instrucciones del fabricante de la pipeta para la recolección y preparación de la muestra (incluidas las instrucciones del fabricante para el tiempo y la velocidad de centrifugación).

Para el suero, se recoge una muestra de sangre aséptica sin aditivos por punción venosa. Después de dejar coagular la muestra durante 30 minutos a temperatura ambiente, la pipeta de recogida debe centrifugarse durante 10 minutos a 3.000 rpm.

Para el plasma (litio-heparina, K3EDTA y citrato), se recoge asépticamente una muestra de sangre venosa con el aditivo designado. Tras dejar que la muestra se mezcle suficientemente con el anticoagulante a temperatura ambiente, centrifugue la pipeta durante 10 minutos a 3.000 rpm.

Las muestras pueden conservarse a 2–8 °C (36–46 °F) durante un máximo de 6 horas antes del análisis. Si el análisis está programado para más adelante, la muestra de suero o plasma debe separarse de los eritrocitos y conservarse congelada a -20 °C (-4 °F) o menos, para su uso futuro.

Deben evitarse los ciclos repetidos de congelación y descongelación. Antes del ensayo, llevar lentamente las muestras congeladas a temperatura ambiente (64–77 °F o 18–25 °C) y mezclar suavemente, pero a fondo, antes del ensayo.

Para obtener resultados óptimos, evite las muestras hemolíticas, lipémicas o turbias. Las muestras deben estar libres de fibrina agregada, glóbulos rojos u otras partículas.

9. Procedimiento

Calibración

No es necesario que el usuario final realice la calibración, como suele ser necesario en otros equipos de laboratorio automatizados. Todas las estadísticas e información de calibración se han almacenado electrónicamente en el chip de código FREND Vitamina D incluido en cada caja de cartuchos FREND Vitamina D. El chip de código FREND Vitamina D es específico para cada lote de cartuchos FREND Vitamina D.

La información de calibración debe comprobarse siempre ejecutando muestras externas de control de calidad, para verificar que los resultados obtenidos para la vitamina D en el sistema FREND™, utilizando los cartuchos FREND Vitamina D, cumplen los criterios de aceptabilidad del laboratorio.

Instalación del Chip de Código

Consulte el manual del usuario del sistema FREND™ para obtener instrucciones más detalladas relativas a la instalación del Chip de Código. Aquí encontrará instrucciones abreviadas:

- 1) Inserte el cable eléctrico del Sistema FREND™ en una toma de corriente adecuada.

- 2) Inserte el Chip de Código en la ranura situada en la parte posterior del Sistema FRENDSTM, siguiendo las flechas.
- 3) Presione el botón **"Configuración"** en la pantalla **"Principal"**.
- 4) Presione el botón **"Chip de Código"** en la pantalla **"Configuración"**.
- 5) La información incrustada en el chip de código FRENDS Vitamin D, se guarda automáticamente en el Sistema FRENDSTM.
- 6) Una vez finalizada la instalación del Chip de Código, presione el botón **"ENTENDIDO"** para pasar a la pantalla **"Configuración"**.
- 7) Presione el botón **"Artículo"** en la pantalla **"Configuración"**.
- 8) Compruebe el número de lote del cartucho FRENDS Vitamina D y la fecha de instalación del chip de código.
- 9) Presione el botón **"Inicio"** para ir a la pantalla **"Principal"** y comenzar a ejecutar el control de calidad externo y las muestras de pacientes.

Control de calidad (QC)

• Cartuchos de QC del Sistema FRENDS

El cartucho FRENDS QC contiene múltiples controles para comprobar la parte óptica del sistema. Al probar el Cartucho QC, se confirman parte de los componentes analíticos del sistema de (1) potencia láser, (2) alineación e (3) integridad mecánica. Para cada día cada de pruebas de pacientes, realice pruebas QC de Cartucho. Consulte la sección de procedimientos de control de calidad en el Manual del Usuario del Sistema FRENDSTM. En resumen, realice pruebas QC de cartucho para las siguientes condiciones

- 1) Tras la configuración inicial del sistema
- 2) Cada día de prueba del paciente,
- 3) Cuando el sistema ha sido transportado o trasladado,
- 4) Siempre que haya incertidumbre sobre el desempeño del sistema,
- 5) Siempre que lo exijan los requisitos de control de calidad de su laboratorio.

• Controles internos de procedimiento

El cartucho de prueba de FRENDS Vitamina D contiene una función de control incorporada. La señal de fluorescencia en la zona de referencia de cada cartucho muestra: (1) que se ha añadido suficiente volumen, (2) que se ha obtenido el flujo fluido adecuado y (3) que el anticuerpo es reactivo. Si esta señal de zona de referencia falta o es inferior al umbral, el sistema FRENDSTM la considera una prueba incorrecta o fallida, y produce un mensaje de error en lugar del resultado de la prueba. Además, con cada ejecución del

cartucho, el sistema controla (1) el flujo de la muestra, (2) la velocidad del flujo de la muestra, (3) la vida útil de los componentes del cartucho, (4) el funcionamiento del escáner de código de barras interno, y (5) el funcionamiento de los componentes mecánicos del escáner.

- **Pruebas externas de control de calidad**

Existen controles comerciales de diversos fabricantes que contienen 25-OH Vitamina D como analito medido. Se recomienda realizar un mínimo de dos (2) niveles de controles una vez al día durante los días en que se analicen muestras de pacientes en las pruebas de FRENED Vitamina D. También puede adoptarse otra opción de control de calidad: el Plan Individualizado de Control de Calidad (IQCP)^[11], que es un enfoque global para garantizar la calidad de todo el proceso de ensayo. Un IQCP incluye prácticas, datos e información que cada laboratorio ya utiliza para garantizar la calidad de las pruebas y cumplir la CLIA, más allá de probar un determinado número de materiales de control de calidad (QC) con una frecuencia designada.

Para garantizar que estos procedimientos de control son equivalentes a la normativa de QC de CLIA, y adecuados para cada laboratorio, es necesario establecer y documentar el QC adecuado para el sistema de ensayo, el entorno de ensayo y el personal de ensayo.

Los controles deben realizarse de acuerdo con la normativa local, estatal y federal, o con los requisitos de acreditación para la frecuencia de los controles de calidad. Si alguno de los valores de la muestra de control de calidad externo está fuera del rango aceptable, será necesario investigar el problema antes de informar de los resultados del paciente, para asegurarse de que no se trata de un mal funcionamiento de los instrumentos o del software. No analice muestras de pacientes en el sistema FRENED™ utilizando FRENED Vitamina D, si los resultados del control de calidad no se encuentran dentro de los rangos aceptables.

Tratamiento de muestras

- **Preparación**

Saque del refrigerador suficientes cartuchos FRENED Vitamina D, pipetas de dilución de muestras, y pipetas de pre-tratamiento de Anticuerpos de Oro, para comprobar el número de muestras de pacientes y los materiales de control de calidad externos necesarios. Deje que las pipetas y los paquetes sellados que contienen los cartuchos, alcancen la temperatura ambiente durante aproximadamente 15–30 minutos antes de iniciar la secuencia de pruebas.

Cuando utilice muestras refrigeradas de pacientes, sáquelas del refrigerador y deje que alcancen la temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Si se van a utilizar muestras congeladas, asegúrese de sacarlas del congelador, descongelarlas a temperatura ambiente y mezclarlas suave pero minuciosamente antes del análisis. Las pruebas no deben comenzar en muestras previamente congeladas hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente (64–77 °F o 18–25 °C).

No son necesarios otros reactivos ni preparaciones de muestras.

• **Procedimiento de ensayo**

- 1) Asegúrese de que el cartucho FREND Vitamina D, la pipeta de pre-tratamiento, la pipeta de dilución de muestras y la muestra, estén a temperatura ambiente (64–77 °F o 18–25°C).
- 2) Abra el paquete y coloque el cartucho FREND Vitamina D en la bandeja de cartuchos del dispositivo AP.
- 3) Presione **"SIGUIENTE"** para cerrar la bandeja de cartuchos y abrir la bandeja de pipetas de pretratamiento.
- 4) Transferir 35µL de muestra a la pipeta de dilución de muestras y mezclar bien mediante un vórtex o inversor.
- 5) Transfiera una alícuota de 70 µl de la muestra diluida a la pipeta de pre-tratamiento FREND Vitamina D.



Precaución: Una vez añadida la muestra a la pipeta de pretratamiento. No invierta la pipeta.

- 6) Inserte la pipeta de pretratamiento en el orificio de la bandeja para pipeta de pretratamiento FREND™ AP. Consulte el manual del Usuario del FREND™ AP para obtener instrucciones de funcionamiento completas.
- 7) Presione el botón **"SIGUIENTE"**. La bandeja de pre-tratamiento se cerrará y comenzará el primer paso de incubación (15 minutos).
- 8) Una vez finalizada la primera incubación, se cargarán 35 µL de muestra mezclada en el cartucho, y comenzará el segundo paso de incubación (2 minutos).
- 9) Una vez completados ambos pasos de incubación, la bandeja de cartuchos se abrirá y el cartucho estará listo para ser insertado en el Sistema FREND™.
- 10) Presione el botón **"Prueba"** en la pantalla **"Menú Principal"** del sistema FREND™.
- 11) El sistema pasa automáticamente a la pantalla de Identificación del Paciente.
- 12) Escriba el ID del paciente y presione el botón **"Enter"** para iniciar la prueba.

- 13) Inserte el cartucho en la ranura utilizando la flecha del cartucho como guía.



Precaución: Compruebe la dirección del cartucho antes de insertarlo, y asegúrese de que la inserción es completa.

- 14) Cuando se complete la reacción en el cartucho, el Sistema FREND™ iniciará automáticamente el proceso de lectura.
- 15) Una vez finalizadas las mediciones, el cartucho se expulsará automáticamente y se visualizarán los resultados.



Precaución: No desconecte el cable de energía ni apague el sistema FREND™ mientras haya un cartucho en la cámara de lectura. Esto puede causar un error en el sistema.

- 16) Si el Sistema FREND™ está conectado a la impresora opcional, presione el botón **"Imprimir"** y los resultados se imprimirán en el papel de la impresora.
- 17) Para obtener instrucciones más detalladas, consulte el Manual del Usuario del Sistema FREND™.

10. Notas de procedimiento

Si la concentración de vitamina D de una muestra es superior al límite de linealidad del ensayo de 110,00 ng/mL, informe cualquier valor superior a 110,00 ng/mL como "superior a 110,00 ng/mL". El cartucho FREND Vitamina D no contiene un diluyente específico.

11. Cálculo de los resultados

El sistema FREND™ realiza todas las operaciones de manipulación de muestras y reactivos automáticamente dentro del cartucho, una vez que la muestra se ha cargado en el cartucho, y el cartucho se ha colocado en el sistema FREND™. La tasa de fluorescencia producida por la reacción se lee en varios intervalos durante el proceso de análisis, las lecturas en blanco se restan, después de lo cual, la tasa neta se convierte automáticamente en concentración de vitamina D en ng/mL, basada en la información almacenada en el chip de código FREND Vitamina D. El resultado se muestra en la pantalla y en la impresora opcional. También se almacena en la memoria del sistema FREND™.

Pantalla visualizada para varios escenarios de concentración

Resultado visualizado	Descripción
	Concentración de vitamina D Menos de 10,00 ng/mL
	Concentración de vitamina D No menos de 10,00 ng/mL y no superior a 110,00 ng/mL
	Concentración de vitamina D Superior a 110,00 ng/mL

12. Limitaciones del procedimiento

- 1) Cuando se utilicen con fines diagnósticos, los resultados obtenidos con este ensayo deberán utilizarse junto con otros datos (por ejemplo, síntomas, resultados de otras pruebas, impresiones clínicas, historial médico, terapia, etc.).
- 2) El Sistema FREND™ emparejado con un cartucho FREND Vitamina D, está programado para reportar 110,00 ng/mL como la concentración más alta de Vitamina D medible. La concentración mínima medible es de 13,0 ng/mL, el límite de detección del ensayo.
- 3) Las muestras de pacientes con anticuerpos heterofílicos, como los anticuerpos anti-ratón (HAMA), anti-cabra (HAGA) o anti-conejo (HARA), pueden mostrar valores falsamente elevados o disminuidos, o pueden dar lugar a una prueba incompleta^{12, 13}. Los pacientes expuestos habitualmente a animales o productos de suero animal, pueden ser propensos a este tipo de interferencias heterofílicas.
- 4) Los pacientes que tomen medicamentos que contengan Paricalcitol (por ejemplo, Zemplar) no deben someterse a este ensayo.
- 5) Ciertos medicamentos pueden interferir con el desempeño del ensayo. Todos los resultados deben interpretarse con respecto al cuadro clínico del paciente.
- 6) Aunque la hemólisis tiene un efecto insignificante en el ensayo, las muestras hemolizadas pueden indicar un tratamiento incorrecto de una muestra antes del ensayo y los resultados deben interpretarse con precaución.
- 7) La lipemia tiene un efecto insignificante en el ensayo, excepto en el caso de la lipemia macroscópica, en la que puede producirse una interferencia con el flujo lateral de la muestra en el cartucho.
- 8) La concentración de vitamina D en una muestra determinada con ensayos de distintos fabricantes puede variar debido a diferencias en los métodos de ensayo, la calibración y la especificidad de los anticuerpos.
- 9) Consulte las secciones "Recolección y Manipulación de Muestras", "Advertencias y Precauciones, Almacenamiento y Estabilidad, y Notas de procedimiento, en este prospecto.
- 10) FREND Vitamina D no se ha evaluado en los puntos de atención médica.
- 11) FREND Vitamina D debe utilizarse en laboratorios clínicos autorizados con tecnólogos capacitados.

13. Características de desempeño

Precisión

Se utilizó el documento EP5-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) como directriz para los estudios de precisión de FRENDD Vitamina D. Se utilizó material estándar con tres concentraciones diferentes, para la prueba de precisión. Un operador realizó pruebas con un lote durante 20 días. Un operador probó con tres lotes diferentes 4 veces. Tres operadores diferentes hicieron pruebas con el mismo lote 4 veces.

4) Un operador con un lote durante 20 días

Material estándar	Concentración (ng/mL)	Dentro de una ejecución		Entre ejecuciones		Entre días		Dentro del laboratorio	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
Bajo	30	2,458	8,1	0,895	2,9	0,689	2,3	2,705	8,9
Medio	60	0,146	4,9	0,040	1,3	0,021	0,7	0,153	5,1
Alto	100	4,865	4,9	0,801	0,8	1,336	1,3	2,108	5,1

5) Un operador con tres lotes diferentes para 4 veces

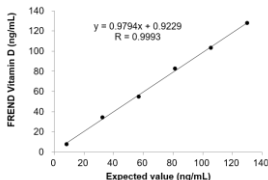
Material estándar	Concentración (ng/mL)	Lote. 503904	Lote. 503905	Lote. 503906	Media	SD	CV(%)
		Media	Media	Media			
Bajo	30	31,14	31,913	30,553	31,292	0,682	2,2
Medio	60	58,98	59,473	60,68	59,711	0,875	1,5
Alto	100	95,528	100,645	98,085	98,086	2,559	2,6

6) Tres operadores diferentes con un lote para 4 veces

Material estándar	Concentración (ng/mL)	Operador 1	Operador 2	Operador 3	Media	SD	CV(%)
		Media	Media	Media			
Bajo	30	29,430	28,890	30,755	29,692	0,960	3,2
Medio	60	55,775	56,025	60,923	57,574	2,902	5,0
Alto	100	98,933	101,598	99,320	99,950	1,440	1,4

Linealidad de Dilución

El rango de linealidad en suero se estableció utilizando el documento EP6-A del CLSI. Se encontró que FREN D Vitamina D tiene linealidad dentro del rango reportable de 8,00 ng/mL ~ 130,00 ng/mL, con una recuperación media de 100±10%. El estudio de linealidad de dilución se realizó diluyendo una muestra de Vitamina D de alta concentración, con una muestra de Vitamina D de baja concentración.



Sensibilidad analítica

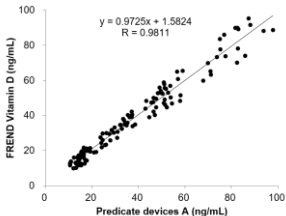
El límite de vacío (LoB) y el límite de detección (LoD) se determinaron siguiendo las directrices del documento EP17-A del CLSI. El LoB se determinó a partir de 60 mediciones replicadas utilizando un calibrador A (suero empobrecido en vitamina D). La LoD se determinó utilizando 12 mediciones replicadas de cinco muestras de pacientes de bajo nivel.

LoB	LoD	LoQ
3,85 ng/mL	6,53 ng/mL	10,00 ng/mL

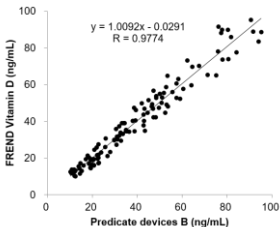
Análisis comparativo

FREND Vitamina D se comparó con el dispositivo de referencia utilizando las directrices descritas en el documento EP09-A2-IR del CLSI. Las muestras (n=120) se midieron por duplicado en ambos sistemas. El análisis de regresión lineal demostró una correlación (r) de 0,9811 y 0,9774.

1) FREND Vitamina D. Preceptor VS del dispositivo A



2) FREND Vitamina D VS. Preceptor del dispositivo B



Reactividad cruzada

Se evaluó la posible reactividad cruzada de las siguientes sustancias con el FREND Vitamina D en tres concentraciones. Las pruebas se realizaron de acuerdo con el protocolo EP7-A2 del CLSI. No se encontró ninguna reactividad cruzada significativa.

Nº.	Reactivos cruzados potenciales	Concentración
1	Vitamina D2 (Ergocalciferol)	1 000 ng/mL
2	Vitamina D3 (Colecalciferol)	1 000 ng/mL
3	1,25-(OH) ₂ -Vitamina D2	100 ng/mL
4	1,25-(OH) ₂ -Vitamina D3	100 ng/mL
5	3-epi-25-(OH) Vitamina D3	100 ng/mL
6	25-(OH) Vitamina D2	25 ng/mL
7	25-(OH) Vitamina D3	25 ng/mL

Interferencias

El estudio de interferencia se realizó según lo recomendado en el protocolo CLSI EP7-A2, utilizando tres concentraciones de Vitamina D. La recuperación dentro del 90% al 110% de la Vitamina D esperada, se consideró como ausencia de interferencia. No se detectó ninguna interferencia por parte de las sustancias indicadas a continuación.

Nº.	Posibles interferencias	Concentración
1	Bilirrubina	20,0 mg/dL
2	Biotina	30,0 ng/dL
3	Triglicéridos	370,0 mg/dL
4	Albumina humana	12,0 g/dL
5	Hemoglobina	200,0 mg/dL

Efecto matriz

El plasma con heparina, el plasma con EDTA, y el plasma con citrato, pueden utilizarse para el ensayo FREND Vitamina D. Los valores de correlación son $R^2=0,9816$ en suero con heparina-plasma. $R^2=0,9739$ en suero con EDTA-plasma, y $R^2=0,9797$ en suero con Citrato-plasma en cada prueba, y los valores muestran la alta correlación.

14. Referencias

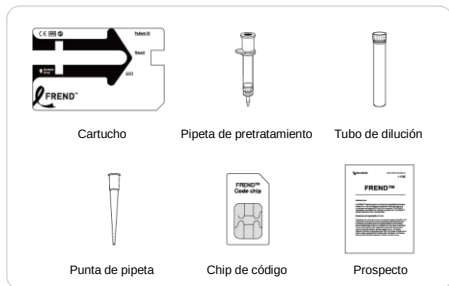
- 1) Holick, MF. Alta prevalencia de insuficiencia de vitamina D e implicaciones para la salud. *Actas Clínicas Mayo*. 2006, 81 (3): 353-373.
- 2) Bolland, MJ et al. El efecto de la suplementación con vitamina D sobre los resultados esqueléticos, vasculares y del cáncer: un metanálisis secuencial de ensayos. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014, 2 (4): 307-320.
- 3) Wolf, G. El descubrimiento de la vitamina D: la contribución de Adolf Windaus. *Revista de Nutrición*. 2004, 134 (6): 1299-1302.
- 4) Holick, MF. Vitamina D: importancia en la prevención de cánceres, diabetes de tipo 1, cardiopatías y osteoporosis. *Revista Americana de Nutrición Clínica*, 2004, 79 (3): 362-371.
- 5) Calvo, MS et al. Ingesta de vitamina D: una perspectiva global de la situación actual. *Revista de Nutrición*, 2005, 135 (2): 310-316.
- 6) Ross, AC et al. Ingestas Dietéticas de Referencia de Calcio y Vitamina D. Washington DC: *National Academies Press* 2011, p. 435.
- 7) Svasti, J et al. Base molecular de las tres formas principales de la proteína sérica humana fijadora de la vitamina D. *Bioquímica* 1979, 18 (8): 1611-1617.
- 8) Holick, MF et al. La vitamina D2 es tan eficaz como la vitamina D3 para mantener las concentraciones circulantes de 25-hidroxivitamina D. *Revista de Endocrinología Clínica y Metabolismo*, 2008, 93 (3): 677-681.
- 9) Maxmen, A. Consejos nutricionales: el dilema de la vitamina D. *Naturaleza* 2011, 475 (7354): 23-25.
- 10) Chao, E.L.; Henshaw, J.L. Administración de Seguridad y Salud en el Trabajo: Planes y Programas Modelo para Las Normas de Osha Sobre Patógenos Transmitidos por La Sangre, y Comunicaciones de Riesgos. *OSHA 3186-06R*, 2003.
- 11) Centros de Servicios de Medicare y Medicaid (Seguros Médicos Gubernamentales de EE.UU.) Plan Individualizado de Control de Calidad CLIA - Consideraciones a la hora de decidir desarrollar un IQCP. *Folleto CLIA N° 12. Noviembre* de 2014.
- 12) Schroff, R.W.; Foon, K.A.; Beatty, S.M.; Oldham, R.K.; Morgan, A.C. Respuestas a La Inmunoglobulina Antimurina Humana en Pacientes que Reciben Terapia con Anticuerpos Monoclonales. *Cancer Research*. 1985, 45: 879-885.
- 13) Boscatto, L.M.; Stuart, M.C. Anticuerpos heterofílicos: Un problema para todos los inmunoensayos. *Química Clínica*, 1988, 34 (1): 27-33.

Glosario de Símbolos

	Precaución, advertencia, Consulte los documentos adjuntos
	Número de catálogo/Número de referencia
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consulte las instrucciones de uso Un indicador de instrucciones electrónicas de uso (eIFU) (dirección de sitio web) podrá acompañar al símbolo cuando se utilice para indicar una instrucción de consulta de un eIFU.
	Número de Lote
	Usar para la fecha DD-MM-YYYY o MM-AAAA
	Fabricante
	Marcado de la CE (Comunidad Europea)
	Dispositivos médicos para diagnósticos <i>in vitro</i>
	Limitación de temperatura
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	No reutilizar
	No utilizar si el paquete está dañado
	Solo con receta médica PRECAUCIÓN: La legislación federal (EE.UU.) restringe la venta de este dispositivo a médicos, o por prescripción facultativa.
	Corporación Estadounidense
	Identificación del Paciente (ID)
	Resultado
 Sample Drop	Gota de Muestra
	Representante autorizado en la Comunidad Europea

UK Representative	Representante autorizado en el Reino Unido
CH REP	Representante autorizado en Suiza
BRH	Representante autorizado en Brasil

Contenido del Kit



Revisado en 12.2023

FREND Vitamin D

Dosage quantitatif de la Vitamine D totale 25-Hydroxy

REF

FRVDAP 020

IVDPour usage diagnostique *in vitro* uniquement.

1. Utilisation prévue

Le test FREND Vitamine D est un immunoessai rapide, indirect et compétitif par fluorescence, conçu pour la mesure quantitative du 25-Hydroxy vitamine D et des métabolites hydroxylés apparentés dans le sérum et le plasma humains (K3EDTA, lithium-héparine et citrate) à l'aide du système FREND™ et du système FREND™ AP. Les mesures de la 25-hydroxy vitamine D totale et des métabolites hydroxylés apparentés sont utilisées pour faciliter l'évaluation de la suffisance en vitamine D.

La cartouche de microfluidique FREND Vitamin D est conçue pour être utilisée dans le lecteur d'immunoessai du système FREND™ fluorescent et le FREND™ AP. Le système de test FREND Vitamin D est destiné à être utilisé dans les laboratoires cliniques. Pour usage diagnostique *in vitro* uniquement. Le test n'est pas destiné à être utilisé dans les contextes de soins de proximité. Pour un usage professionnel uniquement

2. Résumé et explication du test

La vitamine D est une prohormone liposoluble connue pour son rôle dans la régulation des taux de calcium et de phosphore dans la minéralisation osseuse^[1,2]. L'exposition au soleil produit de la vitamine D par conversion photochimique du 7-déshydrocholestérol dans l'épiderme et constitue la

principale source de vitamine D^[3,4]. Les changements saisonniers, la durée d'exposition, l'utilisation de crème solaire et la pigmentation de la peau peuvent entraîner des variations de la quantité de vitamine D produite par l'organisme. Une source mineure de vitamine D peut être absorbée à partir des aliments et des suppléments vitaminiques, avec une estimation de 10 à 20 % absorbés par l'organisme de cette manière.^[5,6]

Dans la circulation, la 25-OH-vitamine D est liée à la protéine de liaison de la vitamine D (VDBP) ou à l'albumine à des concentrations 1 000 fois plus élevées que la forme active 1,25-(OH)₂-vitamine D.^[7] En outre, la forme 25-OH a une demi-vie de 2 à 3 semaines, par rapport à la forme 1,25-(OH)₂, moins stable, qui a une demi-vie de quelques heures.^[8] La vitamine D 25-OH existe sous forme d'isomères D2 (ergocalciférol) et D3 (cholécalférol), et des suppléments sont disponibles pour les deux. Souvent, la 25-OH-vitamine D totale est mesurée pour évaluer la suffisance d'un patient et prendre les décisions cliniques appropriées.^[9]

3. Principe du test

La cartouche de test FREND Vitamin D est un test immunologique « compétitif » rapide à usage unique utilisant des nanoparticules fluorescentes dans un flux microfluidique pour capturer et quantifier la 25-OH-vitamine D totale dans les échantillons de sérum et de plasma. Un échantillon de 35 µl est placé dans un tube de dilution et 70 µl de l'échantillon dilué sont placés dans le tube de prétraitement FREND Vitamin D, qui contient des réactifs exclusifs. Le tube de prétraitement est traité dans le dispositif FREND™ AP (Advanced Preparing). Le dispositif AP mélange et incube l'échantillon et charge le volume correct sur la cartouche FREND Vitamin D. Pendant l'incubation, des complexes immuns 25-OH-vitamine D-anticorps marqués se forment et le dispositif AP transfère un échantillon de 35 µl à la cartouche FREND Vitamin D. Les nanoparticules fluorescentes conjuguées à la vitamine D contenues dans la cartouche entrent en compétition avec les complexes immuns 25-OH-vitamine D-anticorps provenant du tube de prétraitement pour se lier aux anticorps immobilisés dans la zone de test. L'intensité de la fluorescence est inversement proportionnelle à la quantité de 25-OH-vitamine D dans l'échantillon. Le système FREND™ mesure la fluorescence et calcule, affiche, enregistre et imprime éventuellement la concentration en 25-OH-vitamine D.

4. Matériel fourni

Qté	Contenu	Numéro catalogue	de
20	Cartouche(s) FREN D Vitamin D	FRVDAP 020	
20	Tube(s) de prétraitement FREN D Vitamin D		
20	Tube(s) de dilution FREN D Vitamin D		
40	Pointes de pipette jetables		
01	Puce d'étalonnage pour FREN D Vitamin D		
01	Notice d'emballage FREN D Vitamin D		

Une cartouche contient:

Anti-vitamine D monoclonale de souris
25-hydroxyvitamine D
Particule fluorescente

Un tube de prétraitement contient :

Acide perfluorohexanoïque

Un tube de dilution contient :

Anticorps conjugué à des nanoparticules d'or

5. Matériel requis mais non fourni

- Le système FREN D™
- Le FREN D™ AP
- Micro-pipette ou toute pipette, capable de délivrer 35 et 70 µL.
- Équipement de protection individuelle et conteneurs d'élimination des déchets biologiques

6. Avertissement et précautions



Attention : Aux États-Unis, la loi fédérale restreint la vente de ce dispositif par un médecin ou sur ordonnance d'un médecin.

- Les cartouches FREN D Vitamin D sont destinées uniquement au diagnostic in vitro.
- Les cartouches de vitamine D ne peuvent être utilisées qu'avec le système FREN D™.
- Les cartouches de vitamine D sont des dispositifs jetables à usage unique. Ne les réutilisez en aucun cas.

- Laissez les cartouches scellées atteindre la température ambiante pendant 15 à 30 minutes avant de les utiliser.
- Les cartouches et les tubes de prétraitement ne doivent pas être congelés.
- Veillez à ce que l'humidité dans le laboratoire soit comprise entre 10 et 80 % lorsque les tests sont effectués.
- Veillez à ce que la température de la pièce reste comprise entre 18 et 25 °C (64 et 77 °F) lorsque les tests sont effectués.
- Évitez la contamination croisée entre les échantillons en utilisant une nouvelle pointe de pipette pour chaque nouvel échantillon.
- Évitez une forte humidité, la lumière directe du soleil ou la chaleur dans la zone utilisée pour le stockage des cartouches.
- Des résultats inexacts sont possibles si l'échantillon utilisé est contaminé de quelque manière que ce soit.
- L'utilisation de spécimens contenant de la fibrine coagulée pourrait entraîner des résultats erronés.
- Un chargement excessif ou insuffisant de la cartouche avec l'échantillon peut entraîner des résultats inexacts.
- Les échantillons humains ne sont pas utilisés dans la préparation de ce produit. Toutefois, étant donné que des spécimens humains seront utilisés pour les échantillons et que d'autres produits de contrôle de la qualité dans le laboratoire peuvent être dérivés de matériaux humains, veuillez appliquer les précautions universelles lors de la manipulation de tous les spécimens et de tous les contrôles.
- Ne pas utiliser les cartouches, les tubes de prétraitement ou les tubes de dilution au-delà de la date de péremption figurant sur le sachet.
- Ne pas utiliser la cartouche et les tubes de prétraitement si le sachet est endommagé ou si le scellé est brisé.
- Effectuer les tests comme spécifié dans la notice d'emballage et le manuel de l'utilisateur.
- Gardez la cartouche et le tube de prétraitement scellés dans le sachet jusqu'à ce qu'ils soient prêts à être utilisés.
- Utilisez la cartouche et le tube de prétraitement immédiatement après avoir ouvert le sachet.
- Portez des gants jetables lors de la manipulation des cartouches, tubes de prétraitement et des échantillons.
- Se laver les mains soigneusement et souvent après avoir manipulé des cartouches de réactifs ou des échantillons.
- Ne pas ingérer le paquet de gel de silice qui se trouve dans le sachet de la cartouche.
- Le test FREN D Vitamin D a été évalué et aucun effet crochet à haute dose n'a été observé pour des concentrations de vitamine D allant jusqu'à 1 600 ng/mL.

- Manipulez les spécimens conformément à la norme OSHA sur les agents pathogènes transmis par le sang.^[10]

7. Stockage et stabilité

Tous les produits non ouverts sont stables jusqu'à la date d'expiration figurant sur l'étiquette lorsqu'ils sont stockés à la température spécifiée. La stabilité du réactif a été démontrée pendant douze mois à compter de la date de fabrication.

La date d'expiration est clairement indiquée sur la boîte du produit et sur les cartouches.

Matériaux	Numéro de catalogue
Stockage à température de réfrigérateur (2 à 8 °C)	
Cartouches FREND Vitamin D, en sachet	FRVDAP 020
Tubes de prétraitement FREND Vitamin D, en sachet	Aucun
Tubes de dilution FREND Vitamin D	Aucun
Stockage à température ambiante (18 à 25 °C)	
Pointes de pipette	Aucun

8. Collecte et manipulation des spécimens

Les échantillons de sérum et de plasma humains (lithium-héparine, K3EDTA et citrate) peuvent être utilisés avec les cartouches FREND Vitamin D.

Suivez les instructions détaillées dans cette Notice d'emballage ainsi que les instructions du fabricant du tube de prélèvement pour le prélèvement et la préparation de l'échantillon (y compris les instructions du fabricant concernant la durée et la vitesse de centrifugation).

Pour le sérum, un échantillon de sang est prélevé de manière aseptique sans additif par ponction veineuse. Après avoir laissé l'échantillon coaguler pendant 30 minutes à température ambiante, le tube de prélèvement doit être centrifugé pendant 10 minutes à 3 000 tr/min.

Pour le plasma (lithium-héparine, K3EDTA et citrate), un échantillon de sang veineux est prélevé de manière aseptique avec l'additif désigné. Après avoir laissé l'échantillon se mélanger suffisamment à l'anticoagulant à température ambiante, centrifuger le tube pendant 10 minutes à 3 000 tr/min.

Les échantillons peuvent être conservés à 2–8 °C (36–46 °F) jusqu'à 6 heures avant l'analyse. Si l'analyse doit être effectuée ultérieurement, l'échantillon de sérum ou de plasma doit être séparé des globules rouges et conservé à l'état congelé à -20°C ou moins en vue d'une utilisation ultérieure.

Les cycles répétés de gel-dégel doivent être évités. Avant de procéder à l'analyse, amener lentement les échantillons congelés à température ambiante (64–77 °F ou 18–25 °C) et mélanger doucement mais complètement avant l'analyse.

Pour des résultats optimaux, évitez les échantillons grossièrement hémolysés, lipémiques ou troubles. Les échantillons doivent être exempts de fibrine agrégée, de globules rouges ou d'autres particules.

9. Procédure

Étalonnage

Il n'est pas nécessaire que l'utilisateur final procède à un étalonnage, comme c'est généralement le cas pour d'autres équipements de laboratoire automatisés. Toutes les statistiques et informations relatives à l'étalonnage ont été enregistrées électroniquement sur la puce d'étalonnage FREND Vitamin D incluse dans chaque boîte de cartouche FREND Vitamin D. La puce d'étalonnage FREND Vitamin D est spécifique à chaque lot de cartouches FREND Vitamin D.

Les informations relatives à l'étalonnage doivent toujours être vérifiées en exécutant des échantillons de contrôle de qualité externes pour vérifier que les résultats obtenus pour la vitamine D sur le système FREND™ en utilisant les cartouches FREND Vitamin D répondent aux critères d'acceptabilité du laboratoire.

Installation de la puce d'étalonnage

Veuillez vous référer au manuel d'utilisation du système FREND™ pour des instructions plus détaillées relatives à l'installation de la puce d'étalonnage. Des instructions abrégées sont données ici :

- 1) Insérez le cordon électrique du système FREND™ dans une prise de courant appropriée.
- 2) Insérez la puce d'étalonnage dans la fente prévue à cet effet à l'arrière du système FREND™ en suivant les flèches.
- 3) Appuyez sur le bouton « **Setup** » sur l'écran « **Main** ».
- 4) Appuyez sur le bouton « **Code chip** » sur l'écran « **Setup** ».
- 5) Les informations intégrées à la puce d'étalonnage FREND Vitamin D

- D sont automatiquement enregistrées sur le système FREND™.
- 6) Une fois l'installation de la puce d'étalonnage terminée, appuyez sur le bouton « **OK** » pour accéder à l'écran « **Setup** ».
 - 7) Appuyez sur le bouton « **Item** » dans l'écran « **Setup** ».
 - 8) Vérifiez le numéro de lot de la cartouche FREND Vitamin D et la date d'installation de la puce d'étalonnage.
 - 9) Appuyez sur le bouton « **Home** » pour accéder à l'écran « **Main** » et commencer à analyser le contrôle de qualité externe et les échantillons de patients.

Contrôle de qualité

• Cartouches CQ du système FREND™

La cartouche CQ FREND™ contient plusieurs contrôles pour vérifier la partie optique du système. En testant la cartouche CQ, certaines composantes analytiques du système sont confirmées : (1) la puissance du laser, (2) l'alignement, et (3) l'intégrité mécanique. Pour chaque jour de tests sur les patients, réalisez des tests avec la cartouche CQ. Consultez la section sur les procédures de contrôle de qualité dans le Manuel d'Utilisateur du système FREND™. En bref, effectuez des tests de cartouche CQ dans les conditions suivantes :

- 1) Lors de la configuration initiale du système
- 2) Chaque jour de tests sur les patients,
- 3) Lorsque le système a été transporté ou déplacé,
- 4) Chaque fois qu'il y a une incertitude sur la performance du système,
- 5) Chaque fois que cela est requis par les exigences de contrôle de qualité de votre laboratoire.

• Contrôles procéduraux internes

La cartouche de test FREND Vitamin D contient une fonction de contrôle intégrée. Le signal de fluorescence dans la zone de référence de chaque cartouche indique : (1) qu'un volume suffisant est ajouté, (2) qu'un flux approprié est obtenu, et (3) que l'anticorps est réactif. Si ce signal de la zone de référence est manquant ou inférieur au seuil, le système FREND™ le considère comme un test incorrect ou échoué, et produit un message d'erreur au lieu d'un résultat de test. De plus, à chaque utilisation de cartouche, le système surveille, (1) le flux de l'échantillon, (2) la vitesse de flux de l'échantillon, (3) la durée de vie des composants de la cartouche, (4) le fonctionnement du scanner de code-barres interne, et (5) le fonctionnement des composants mécaniques du scanner.

- **Tests de contrôle de qualité externe**

Des contrôles commercialement disponibles provenant de divers fabricants sont disponibles, contenant la 25-OH-vitamine D comme analyte mesuré. Il est recommandé d'effectuer au moins deux (2) niveaux de contrôle une fois par jour les jours où l'on analyse des échantillons de patients avec le test FREND Vitamin D. Une autre option de CQ peut également être adoptée - le plan de contrôle de la qualité individualisé (IQCP)^[11] est une approche globale visant à garantir la qualité de l'ensemble du processus de test. Un IQCP comprend des pratiques, des données et des informations que chaque laboratoire utilise déjà pour garantir des tests de qualité et répondre aux exigences de la CLIA, au-delà de l'analyse d'un certain nombre de matériaux de contrôle de qualité à une fréquence désignée.

Pour s'assurer que ces procédures de contrôle sont équivalentes aux réglementations de CQ du CLIA et adaptées à chaque laboratoire, il est nécessaire d'établir et de documenter le CQ approprié au système de test, à l'environnement de test et au personnel de test.

Les contrôles doivent être effectués conformément aux réglementations locales, nationales et fédérales ou aux exigences d'accréditation relatives à la fréquence des contrôles de qualité. Si les valeurs d'un échantillon de contrôle de qualité externe se situent hors de la plage acceptable, il sera nécessaire d'examiner le problème avant de communiquer les résultats du patient afin de s'assurer qu'il ne s'agit pas d'un dysfonctionnement de l'instrument ou du logiciel. Ne pas analyser les échantillons de patients sur le système FREND™ en utilisant FREND Vitamin D si les résultats du contrôle de qualité ne se situent pas dans les fourchettes acceptables.

Traitement des échantillons

- **Préparation**

Retirez suffisamment de cartouches FREND Vitamin D, de tubes de dilution d'échantillon et de tubes de prétraitement d'or-anticorps du réfrigérateur pour tester le nombre d'échantillons de patients et le matériel de contrôle de qualité externe requis. Laissez les tubes et les sachets scellés contenant les cartouches atteindre la température ambiante pendant 15 à 30 minutes avant le début de la séquence de test.

Si vous utilisez des échantillons de patients réfrigérés, sortez-les du réfrigérateur et laissez-les revenir à température ambiante avant de les tester. Si des échantillons congelés sont utilisés, assurez-vous qu'ils sont sortis du congélateur, décongelés à température ambiante et mélangés doucement mais complètement avant le test. Les échantillons

précédemment congelés ne doivent pas être testés avant d'avoir atteint la température ambiante (64–77 °F ou 18–25 °C).

Il n'y a pas d'autres réactifs ou préparations d'échantillons nécessaires.

• **Procédure de test**

- 1) Assurez-vous que la cartouche FREN D Vitamin D, le tube de prétraitement, le tube de dilution de l'échantillon et le spécimen sont à température ambiante (64–77 °F ou 18–25°C).
- 2) Ouvrez le sachet et placez la cartouche FREN D Vitamin D dans le plateau de la cartouche de l'appareil AP.
- 3) Appuyez sur « **NEXT** » pour fermer le plateau de la cartouche et ouvrir le plateau du tube de prétraitement.
- 4) Transférez 35µL d'échantillon dans le tube de dilution de l'échantillon et bien mélanger en vortexant ou en retournant le tube.
- 5) Transférez une aliquote de 70 µl de l'échantillon dilué dans le tube de prétraitement FREN D Vitamin D.



Attention: Une fois l'échantillon ajouté au tube de prétraitement. Ne pas inverser le tube.

- 6) Insérez le tube de prétraitement dans le trou du tube dans le plateau du tube de prétraitement FREN D™ AP. Reportez-vous au manuel de l'utilisateur FREN D™ AP pour les instructions complètes d'utilisation.
- 7) Appuyez sur le bouton « **NEXT** ». Le plateau de prétraitement se ferme et la première étape d'incubation (15 minutes) commencera.
- 8) Après la fin de la première incubation, 35µL de l'échantillon mélangé seront chargés sur la cartouche et la deuxième étape d'incubation (2 minutes) commencera.
- 9) Lorsque les deux étapes d'incubation sont terminées, le plateau de la cartouche s'ouvrira et la cartouche sera prête à être insérée dans le système FREN D™.
- 10) Appuyez sur le bouton « **Test** » de l'écran « **Main** » du système FREN D™.
- 11) Le système passe automatiquement à l'écran d'identification du patient.
- 12) Saisissez l'identifiant du patient et appuyez sur le bouton « **Enter** » pour commencer le test.
- 13) Insérez la cartouche dans la fente de la cartouche en utilisant les flèches de la cartouche comme guide.



Attention : Veuillez vérifier le sens de la cartouche avant de l'insérer et assurez-vous que l'insertion est complète.

- 14) Lorsque la réaction dans les cartouches est terminée, le système FREND™ commence automatiquement le processus de lecture.
- 15) Lorsque les mesures sont terminées, la cartouche est automatiquement expulsée et les résultats sont affichés.



Attention : *Ne débranchez pas le cordon d'alimentation et ne mettez pas le système FREND™ hors tension lorsqu'une cartouche se trouve dans la chambre de lecture. Cela peut provoquer une erreur système.*

- 16) Si le système FREND™ est connecté à l'imprimante en option, appuyez sur le bouton « **Print** » et les résultats seront édités sur le papier de l'imprimante.
- 17) Pour des instructions plus détaillées, veuillez vous reporter au « Manuel de l'utilisateur du système FREND™ ».

10. Notes de procédure

Si la concentration en vitamine D d'un échantillon est supérieure à la limite de linéarité du test de 110,00 ng/ml, indiquer toute valeur supérieure à 110,00 ng/ml comme « supérieure à 110,00 ng/ml ». La cartouche FREND Vitamin D ne contient pas de diluant spécifique.

11. Calcul des résultats

Le système FREND™ effectue automatiquement toutes les opérations de manipulation de l'échantillon et de réactif à l'intérieur de la cartouche, une fois que l'échantillon a été ajouté dans l'entrée d'échantillon de la cartouche et que la cartouche a été placée dans le système FREND™. Le taux de fluorescence produit par la réaction est lu à divers intervalles pendant le processus d'analyse, les lectures de blanc sont soustraites après quoi le taux net est automatiquement converti en concentration de vitamine D en ng/mL basé sur les informations stockées sur la puce d'étalonnage FREND Vitamin D. Le résultat est ensuite affiché à l'écran et sur l'imprimante en option. Il est également stocké en mémoire sur le système FREND™.

Affichages à l'écran pour différents scénarios de concentration

Résultat affiché	Description
	Concentration de vitamine D Moins de 10,00 ng/mL
	Concentration de vitamine D Pas moins de 10,00 ng/mL et pas plus de 110,00 ng/mL
	Concentration de vitamine D Supérieur à 110,00 ng/mL

12. Limites de la procédure

- 1) Lorsqu'ils sont utilisés à des fins de diagnostic, les résultats obtenus par ce test doivent être utilisés conjointement avec d'autres données (par exemple, les symptômes, les résultats d'autres tests, les impressions cliniques, les antécédents médicaux, le traitement, etc.)
- 2) Le système FREND™, associé à une cartouche FREND Vitamin D, est programmé pour signaler 110,0 ng/mL, soit la plus forte concentration du vitamine D mesurable. La plus faible concentration mesurable est de 13,0 ng/dL - la limite de détection de l'essai.
- 3) Les échantillons provenant de patients ayant des anticorps hétérophiles, tels que les anticorps anti-souris (HAMA), anti-chèvre (HAGA) ou anti-lapin (HARA), peuvent montrer des valeurs faussement élevées ou diminuées ou peuvent entraîner un test incomplet.^[12, 13] Les patients régulièrement exposés aux animaux ou aux produits sériques animaux peuvent être sujets à ces types d'interférences hétérophiles.
- 4) Les patients prenant des médicaments contenant du paricalcitol (par exemple, Zemplar) ne doivent pas être testés par ce test.
- 5) Certains médicaments peuvent interférer avec la performance du test. Tous les résultats doivent être interprétés en fonction du tableau clinique du patient.
- 6) Bien que l'hémolyse ait un effet insignifiant sur l'essai, les échantillons hémolysés peuvent indiquer un mauvais traitement d'un échantillon avant l'essai et les résultats doivent être interprétés avec prudence.
- 7) La lipémie a un effet insignifiant sur l'essai, sauf en cas de lipémie grossière où une interférence avec l'écoulement latéral de l'échantillon dans la cartouche peut se produire.
- 8) La concentration du vitamine D dans un échantillon donné, déterminée à l'aide de tests de différents fabricants, peut varier en raison de différences dans les méthodes de test, l'étalonnage et la spécificité des anticorps.
- 9) Veuillez vous reporter aux sections Collecte et manipulation des échantillons, Avertissements et précautions, Stockage et stabilité, et Notes de procédure de cette notice.
- 10) FREND Vitamin D n'a pas été évaluée dans les centres de soins.
- 11) Le FREND Vitamin D doit être utilisé dans des laboratoires cliniques agréés avec des technologues formés.

13. Caractéristiques de performance

Précision

Le document EP5-A2 de l'Institut des Normes Cliniques et de Laboratoire, (CLSI) a été utilisé comme ligne directrice pour les études de précision sur FRENED Vitamin D. Un matériau standard avec trois concentrations différentes a été utilisé pour le test de précision. Un opérateur a testé un lot pendant 20 jours. Un opérateur a testé trois lots différents à quatre reprises. Trois opérateurs différents ont testé le même lot à quatre reprises.

7) Un opérateur avec un lot pour 20 jours

Matériau standard	Conc. (ng/mL)	Intra-série		Entre les séries		Entre les jours		Intra-laboratoire	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Faible	30	2,458	8,1	0,895	2,9	0,689	2,3	2,705	8,9
Moyenne	60	0,146	4,9	0,040	1,3	0,021	0,7	0,153	5,1
Haute	100	4,865	4,9	0,801	0,8	1,336	1,3	2,108	5,1

8) Un opérateur a testé trois lots différents à quatre reprises

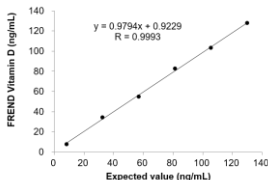
Matériau standard	Conc. (ng/mL)	Lot 503904	Lot 503905	Lot 503906	Moyenne	SD	CV (%)
		Moyenne	Moyenne	Moyenne			
Faible	30	31,14	31,913	30,553	31,292	0,682	2,2
Moyenne	60	58,98	59,473	60,68	59,711	0,875	1,5
Haute	100	95,528	100,645	98,085	98,086	2,559	2,6

9) Trois opérateurs différents avec un seul lot pour 4 fois

Matériau standard	Conc. (ng/mL)	Opérateur 1	Opérateur 2	Opérateur 3	Moyenne	SD	CV (%)
		Moyenne	Moyenne	Moyenne			
Faible	30	29,430	28,890	30,755	29,692	0,960	3,2
Moyenne	60	55,775	56,025	60,923	57,574	2,902	5,0
Haute	100	98,933	101,598	99,320	99,950	1,440	1,4

Linéarité de la dilution

La gamme de linéarité dans le sérum a été établie en utilisant le document EP6-A du CLSI. La linéarité de FRENZ Vitamin D s'est avérée être dans la plage de mesure de 8,00 ng/mL ~ 130,00 ng/mL avec une récupération moyenne de 100±10%. L'étude de linéarité de la dilution a été réalisée en diluant un échantillon de vitamine D à forte concentration avec un échantillon de vitamine D à faible concentration.



Sensibilité analytique

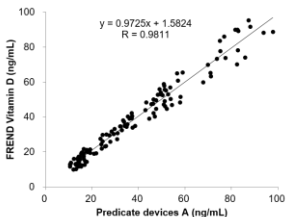
La limite du blanc (LoB) et la limite de détection (LoD) ont été déterminées à l'aide des directives figurant dans le document EP17-A du CLSI. La limite du blanc a été déterminée à partir de 60 mesures répétées en utilisant un calibrateur A (sérum appauvri en vitamine D). La limite de détection (LoD) a été déterminée à l'aide de 12 mesures répétées de cinq échantillons de patients de faible poids.

LoB	LoD	LoQ
3,85 ng/mL	6,53 ng/mL	10,00 ng/mL

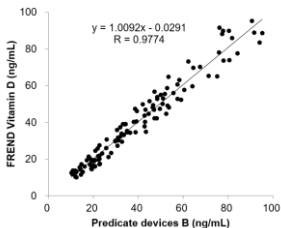
Analyse comparative

FREND Vitamin D a été comparée au dispositif prédicat en utilisant les directives décrites dans le document EP09-A2-IR du CLSI. Les échantillons (n=120) ont été mesurés en double sur les deux systèmes. L'analyse de régression linéaire a démontré une corrélation (r) de 0,9811 et 0,9774.

1) FREND Vitamin D VS Dispositif prédicat A



2) FREND Vitamin D VS Predicate dispositif B



Réactivité croisée

Les substances suivantes ont été évaluées pour leur réactivité croisée potentielle avec le FREND Vitamin D à trois concentrations. Les tests ont été effectués conformément au protocole EP7-A2 du CLSI. Aucune réactivité croisée significative n'a été constatée.

N°	Réactifs croisés potentiels	Concentration
1	Vitamine D2 (Ergocalciférol)	1 000 ng/mL
2	Vitamine D3 (cholécalficérol)	1 000 ng/mL
3	1,25-(OH) ₂ -Vitamine D2	100 ng/mL
4	1,25-(OH) ₂ -Vitamine D3	100 ng/mL
5	3-epi-25-(OH) Vitamine D3	100 ng/mL
6	25-(OH) Vitamine D2	25 ng/mL
7	25-(OH) Vitamine D3	25 ng/mL

Interférence

L'étude d'interférence a été réalisée conformément aux recommandations du protocole EP7-A2 du CLSI en utilisant trois concentrations de vitamine D. La récupération de 90% à 110% de la vitamine D attendue a été considérée comme une absence d'interférence. Aucune interférence des substances ci-dessous n'a été constatée.

N°	Interférence potentielle	Concentration
1	Bilirubine	20,0 mg/dL
2	Biotine	30,0 ng/dL
3	Triglycérides	370,0 mg/dL
4	Albumine humaine	12,0 g/dL
5	Hémoglobine	200,0 mg/dL

Effet de matrice

Le plasma hépariné, le plasma EDTA et le plasma citraté peuvent être utilisés pour le test de la FREND Vitamin D. Les valeurs de corrélation sont $R^2 = 0,9816$ dans le sérum avec héparine-plasma, $R^2 = 0,9739$ dans le sérum avec EDTA-plasma, et $R^2 = 0,9797$ dans le sérum avec Citrate-plasma dans chaque test et les valeurs montrent une corrélation élevée.

14. Références

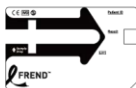
- 1) Holick, MF. Haute prévalence de l'insuffisance en vitamine D et implications pour la santé. *Mayo Clinic Proceedings*. 2006, 81 (3) : 353-373.
- 2) Bolland, MJ et al. L'effet de la supplémentation en vitamine D sur les résultats squelettiques, vasculaires et cancéreux : une méta-analyse séquentielle d'essais. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014, 2 (4) : 307-320.
- 3) Wolf, G. La découverte de la vitamine D : la contribution d'Adolf Windaus. *Journal of Nutrition*. 2004, 134 (6) : 1299-1302.
- 4) Holick, MF. Importance de la vitamine D dans la prévention des cancers, du diabète de type 1, des maladies cardiaques et de l'ostéoporose. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2004, 79 (3) : 362-371.
- 5) Calvo, MS et al. Apport en vitamine D : une perspective mondiale de l'état actuel. *Journal of Nutrition*. 2005, 135 (2) : 310-316.
- 6) Ross, AC et al. Apports de référence diététiques pour le calcium et la vitamine D. Washington DC : *National Academies Press* 2011, p. 435.
- 7) Svasti, J et al. Base moléculaire pour les trois principales formes de protéine de liaison de la vitamine D dans le sérum humain. *Biochemistry*, 1979, 18 (8) : 1611-1617.
- 8) Holick, MF et al. La vitamine D2 est aussi efficace que la vitamine D3 pour maintenir les concentrations circulantes de 25-hydroxyvitamine D. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2008, 93 (3) : 677-681.
- 9) Maxmen, A. Conseils nutritionnels : le dilemme de la vitamine D. *Nature*, 2011, 475 (7354) : 23-25.
- 10) Chao, E.L.; Henshaw, J.L. Administration de la Sécurité et de la Santé au Travail : Modèles de plans et programmes pour les normes de pathogènes transmissibles par le sang et de communication des dangers de l'OSHA. *OSHA 3186-06R*, 2003.
- 11) Centres pour Medicare & Medicaid Services. Plan de Contrôle de Qualité Individualisé CLIA— Considérations lors de la décision de développer un IQCP. *Brochure CLIA #12. Novembre* 2014.
- 12) Schroff, R.W.; Foon, K.A.; Beatty, S.M.; Oldham, R.K.; Morgan, A.C. Réponses immunoglobulines humaines anti-murines chez les patients recevant une thérapie par anticorps monoclonal. *Cancer Research*, 1985, 45 : 879-885.
- 13) Boscato, L.M., Stuart, M.C. Les anticorps hétérophiles : un problème pour tous les dosages immunologiques. *Clinical Chemistry*, 1988, 34:1, 27-33.

Glossaire des symbols

	Attention, avertissement, Consultez les documents d'accompagnement
	Numéro de catalogue/Numéro de référence
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consulter les instructions d'utilisation Un indicateur d'instructions d'utilisation électronique (eIFU) - (adresse du site web) peut accompagner le symbole lorsqu'il est utilisé pour indiquer une instruction de consulter un eIFU.
	Numéro de lot
	Date limite d'utilisation AAAA-MM-JJ ou AAAA-MM
	Fabricant
	Marquage CE
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Limite de température
	Contient suffisamment pour <n> tests
	Ne pas réutiliser
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Uniquement sur ordonnance ATTENTION : La loi fédérale (américaine) restreint la vente de ce dispositif par un médecin ou sur ordonnance d'un médecin.
	Société américaine
	Identification du patient
	Résultat
 Sample Drop	Goutte d'échantillon
	Représentant autorisé dans la Communauté européenne

UK Representative	Représentant autorisé au Royaume-Uni
CH REP	Représentant autorisé en Suisse
BRH	Représentant autorisé au Brésil

Contenu du kit



Cartouche



Tube de prétraitement



Tube de dilution



Pointe de pipette



Puce d'étalonnage



Notice d'emballage

Révisé le 2023.12



NESPI-FVAP-001ML(V.0.0)



FREND Vitamina D

Ensaio quantitativo para Vitamina D Total 25-Hidroxi

REF FRVDAP 020

IVD Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*

1. Uso pretendido

O teste FREND Vitamina D é um imunoenensaio fluorescente competitivo indireto rápido, projetado para a medição quantitativa de vitamina D 25-hidroxi e metabolitos hidroxilados relacionados em amostras de soro e plasma humano (K3EDTA, heparina-lítio e citrato) utilizando o Sistema FREND™ e o FREND™ AP. Medidas da vitamina D total 25-hidroxi e metabolitos hidroxilados relacionados são usadas para auxiliar na avaliação da suficiência de vitamina D.

O cartucho de fluxo microfluídico FREND Vitamina D é projetado para uso no leitor de imunoenensaio fluorescente Sistema FREND™ e no FREND™ AP. O teste FREND Vitamina D destina-se a ser usado em laboratórios clínicos. Apenas para uso em diagnóstico *in vitro*. O teste não se destina a ser utilizado em pontos de atendimento. Apenas para uso profissional.

2. Resumo e explicação do teste

A vitamina D é uma pro-hormona lipossolúvel conhecida pelo seu papel na regulação dos níveis de cálcio e fósforo na mineralização óssea.^[1,2] A exposição ao sol produz vitamina D através da conversão fotoquímica de 7-desidrocolesterol na epiderme e é a principal fonte de vitamina D.^[3,4] Mudanças sazonais, quantidade de exposição, uso de protetor solar e

pigmentação da pele podem causar variação na quantidade de vitamina D produzida no corpo. Uma fonte menor de vitamina D pode ser absorvida de alimentos e suplementos vitamínicos, com uma estimativa de 10-20% absorvida pelo corpo desta maneira.^[5,6]

Em circulação, a vitamina D 25-OH está ligada à proteína de ligação à vitamina D (VDBP) ou albumina em concentrações 1000 vezes maiores que a forma ativa 1,25-(OH)₂-vitamina D.^[7] Adicionalmente, a forma 25-OH tem uma meia-vida de 2-3 semanas, em comparação com a forma menos estável 1,25-(OH)₂, que tem uma meia-vida de algumas horas.^[8] A vitamina D 25-OH existe como isômeros D2 (ergocalciferol) e D3 (colecalciferol), com suplementos disponíveis para ambos. Frequentemente, mede-se a vitamina D total 25-OH para avaliar a suficiência em um paciente e tomar decisões clínicas apropriadas.^[9]

3. Princípio do ensaio

O cartucho de teste FRENDA Vitamina D é um imunoensaio "competitivo" de uso único e rápido que utiliza nanopartículas fluorescentes em fluxo microfluídico para capturar e quantificar a vitamina D total 25-OH em amostras de soro e plasma. Uma amostra de 35 µL é colocada num Tubo de Diluição e 70 µL da amostra diluída são colocados no tubo de pré-tratamento FRENDA Vitamina D, que contém reagentes proprietários. O tubo de pré-tratamento é processado no dispositivo FRENDA™ AP (Preparação Avançada). O dispositivo AP mistura e incuba a amostra e carrega o volume correto no cartucho FRENDA Vitamina D. Durante a incubação, são formados complexos imunes de anticorpos marcados com vitamina D 25-OH e o dispositivo AP transfere uma amostra de 35 µL para o cartucho FRENDA Vitamina D. Nanopartículas fluorescentes conjugadas com vitamina D no cartucho competem com os complexos imunes de anticorpos de vitamina D 25-OH do tubo de pré-tratamento pela ligação aos anticorpos imobilizados na zona de teste. A intensidade da fluorescência é inversamente proporcional à quantidade de vitamina D 25-OH na amostra. O Sistema FRENDA™ mede a fluorescência e calcula, exibe, armazena e, opcionalmente, imprime a concentração de Vitamina D 25-OH.

4. Material fornecido

Quant.	Conteúdo	Número de catálogo
20	Cartucho(s) FREND Vitamina D	FRVDAP 020
20	Tubo(s) de pré-tratamento FREND Vitamina D	
20	Tubo(s) de diluição FREND Vitamina D	
40	Ponta(s) de pipeta descartável(eis)	
01	Chip de código FREND Vitamina D	
01	Inserção de embalagem FREND Vitamina D	

Um cartucho contém:

Anticorpo monoclonal de rato anti-vitamina D
25-hidroxivitamina D
Partículas fluorescentes

Um tubo de pré-tratamento contém:

Ácido perfluorohexanóico

Um tubo de diluição contém:

Anticorpo de conjugação de nanopartículas de ouro

5. Materiais necessários mas não fornecidos

- O Sistema FREND™
- O AP FREND™
- Micropipeta, ou qualquer pipeta, capaz de fornecer 35 e 70 µL
- Equipamentos de proteção individual e recipientes para descarte de resíduos com risco biológico

6. Advertências e precauções



Atenção: *Nos Estados Unidos, a lei federal restringe a venda deste dispositivo a médicos ou por ordem de um médico.*

- Os cartuchos de FREND Vitamina D destinam-se apenas ao diagnóstico in vitro.
- Os cartuchos de Vitamina D devem ser usados apenas no sistema FREND™.
- Os cartuchos de Vitamina D são dispositivos descartáveis e de uso único. Não os reutilize em hipótese alguma.

- Deixe os cartuchos atingirem a temperatura ambiente durante aproximadamente 15-30 minutos antes de usar.
- Os cartuchos e os tubos de pré-tratamento não devem ser congelados.
- Certifique-se de que a humidade no laboratório esteja na faixa de 10–80% quando os testes forem executados.
- Assegure-se de que a temperatura ambiente se mantenha entre 64 °F–77 °F (18–25 °C) durante a realização dos testes.
- Evite a contaminação cruzada entre as amostras usando uma nova ponta de pipeta para cada nova amostra.
- Evite alta humidade, luz solar direta ou calor na área usada para armazenamento de cartuchos.
- Resultados imprecisos são possíveis se a amostra usada estiver contaminada de alguma forma.
- O uso de amostras contendo fibrina coagulada pode resultar em resultados errôneos.
- Carregar o cartucho com excesso ou insuficiência de amostra pode causar resultados imprecisos.
- Amostras humanas não são utilizadas na preparação deste produto. No entanto, uma vez que amostras humanas serão utilizadas para as amostras, e visto que outros produtos de controle de qualidade no laboratório podem ser derivados de materiais humanos, por favor pratique Precauções Universais ao manusear todas as amostras e controles.
- Não utilize os cartuchos, tubos de pré-tratamento ou tubos de diluição após a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilize o cartucho e os tubos de pré-tratamento se a embalagem estiver danificada ou o selo estiver violado.
- Realize os testes conforme especificado no Folheto Informativo e no Manual do Usuário.
- Manter o cartucho e o tubo de pré-tratamento selados na bolsa até estarem prontos para uso.
- Utilize o cartucho e o tubo de pré-tratamento imediatamente após abrir a embalagem.
- Use luvas descartáveis ao manusear os cartuchos, tubos de pré-tratamento e as amostras.
- Lave bem as mãos e frequentemente após manusear os cartuchos de reagentes ou amostras.
- Não ingira o pacote de sílica gel encontrado na embalagem do cartucho.
- O ensaio FRENDD Vitamina D foi avaliado e não foi observado nenhum efeito de gancho de dose alta para concentrações de Vitamina D até 1600 ng/mL.
- Manuseie as amostras de acordo com o padrão OSHA sobre patógenos transmitidos pelo sangue.^[10]

7. Armazenamento e estabilidade

Todos os materiais fechados são estáveis até à data de validade no rótulo quando armazenados à temperatura especificada. A estabilidade dos reagentes foi demonstrada durante doze meses a contar da data de fabricação.

A data de validade está claramente indicada na caixa do produto e nos cartuchos

Materiais	Número de catálogo
Armazenamento a temperatura de geladeira (2-8 °C)	
Cartuchos FREND Vitamina D, em embalagens	FRVDAP 020
Tubos de pré-tratamento FREND Vitamina D, em embalagens	Nenhum
Tubos de diluição FREND Vitamina D	Nenhum
Armazenamento à temperatura ambiente (18-25 °C)	
Ponteiras de pipeta	Nenhum

8. Coleta e manuseio de amostras

Amostras de soro e plasma humano (heparina-lítio, K3EDTA e citrato) são adequadas para uso com cartuchos FREND Vitamina D.

Siga as instruções detalhadas neste folheto informativo, bem como as instruções do fabricante do tubo de colheita de amostras para a colheita e preparação de amostras (incluindo as instruções do fabricante relativamente ao tempo e velocidade de centrifugação).

Para o soro, uma amostra de sangue é recolhida assepticamente, sem aditivos, por punção venosa. Após deixar a amostra coagular durante 30 minutos à temperatura ambiente, o tubo coletor deve ser centrifugado durante 10 minutos a 3.000 rpm.

Para plasma (heparina-lítio, K3EDTA e citrato), uma amostra de sangue venoso é coletada assepticamente com o aditivo designado. Após permitir que a amostra se misture suficientemente com o anticoagulante à temperatura ambiente, centrifugue o tubo por 10 minutos a 3,000 rpm.

As amostras podem ser armazenadas a 36–46 °F (2–8 °C) por até 6 horas antes da análise. Se a análise estiver agendada para ser feita em algum momento posterior, a amostra de soro ou plasma deve ser separada das células vermelhas e armazenada congelada a -4 °F (-20°C) ou abaixo para uso futuro.

Ciclos repetidos de congelamento e descongelamento devem ser evitados. Antes do ensaio, traga lentamente as amostras congeladas à temperatura ambiente (64–77 °F ou 18–25 °C) e misture-as suavemente, mas de forma completa, antes de testar.

Para obter os melhores resultados, evite amostras muito hemolíticas, lipêmicas ou turvas. As amostras devem estar livres de fibrina agregada, glóbulos vermelhos ou outras partículas.

9. Procedimento

Calibração

Não há necessidade de calibração a ser realizada pelo usuário final, como geralmente é exigido em outros equipamentos automatizados de laboratório. Todas as estatísticas e informações de calibração estão armazenadas eletronicamente no chip de código FREND Vitamina D incluído em cada caixa de cartuchos FREND Vitamina D. O chip de código FREND Vitamina D é específico para cada lote de cartuchos FREND Vitamina D.

A informação de calibração deve ser sempre verificada através da execução de amostras de controle de qualidade externo para verificar se os resultados obtidos para a Vitamina D no Sistema FREND™, usando os cartuchos FREND Vitamina D, cumprem os critérios laboratoriais de aceitabilidade.

Instalação do chip de código

Por favor, consulte o manual do utilizador do sistema FREND™ para obter instruções mais pormenorizadas relativas à instalação do chip de código. As instruções abreviadas seguem aqui:

- 1) Insira o cabo elétrico do FREND™ System em uma tomada apropriada.
- 2) Insira o chip de código na ranhura do chip de código na parte traseira do FREND™ System seguindo as setas.
- 3) Pressione o botão '**Configuração**' no ecrã '**Principal**'.
- 4) Pressione o botão '**Chip de código**' no ecrã '**Configuração**'.
- 5) A informação incorporada no chip de código do FREND Vitamin D é automaticamente guardada no FREND™ System.

- 6) Quando a instalação do Chip de código estiver concluída, pressione o botão '**OK**' para ir para o ecrã '**Configuração**'.
- 7) Pressione o botão '**Item**' no ecrã '**Configuração**'.
- 8) Verifique o número de lote do cartucho do FRENDA Vitamina D e a data de instalação do chip de código.
- 9) Pressione o botão '**Início**' para ir para o ecrã '**Principal**' para começar a executar o controlo de qualidade externo e as amostras do paciente.

Controlo de qualidade

• Cartuchos de controlo de qualidade do FRENDA™ System

O cartucho de controlo de qualidade FRENDA contém múltiplos controlos para verificar a parte óptica do sistema. Ao testar o cartucho de controlo de qualidade, parte dos componentes analíticos do sistema de (1) potência do laser, (2) alinhamento e (3) integridade mecânica são confirmados. Para cada dia de teste do paciente, execute o teste do cartucho de CQ (controlo de qualidade). Consulte a secção de Procedimentos de Controlo de Qualidade no Manual do Usuário do FRENDA™ System. Em resumo, execute o teste de cartucho de CQ para as seguintes condições

- 1) Após a configuração inicial do sistema
- 2) Cada dia de teste do paciente,
- 3) Quando o sistema tiver sido transportado ou movimentado,
- 4) Sempre que houver incerteza quanto ao desempenho do sistema,
- 5) Sempre que exigido pelos requisitos de controlo de qualidade do seu laboratório.

• Controlos processuais internos

O cartucho de teste FRENDA Vitamina D contém uma funcionalidade de controlo integrada. O sinal de fluorescência na zona de referência de cada cartucho mostra: (1) que é adicionado um volume suficiente, (2) que é obtido um fluxo adequado e (3) que o anticorpo é reactivo. Se este sinal da zona de referência estiver ausente ou for inferior ao limiar, o sistema FRENDA™ o considerará isso um teste incorreto ou com falha e produzirá uma mensagem de erro em vez de um resultado de teste. Além disso, com cada cartucho executado, o sistema monitoriza (1) o fluxo de amostra, (2) a velocidade do fluxo de amostra, (3) o prazo de validade dos componentes do cartucho, (4) a função do leitor de código de barras interno, e (5) a função dos componentes mecânicos do scanner.

- **Testes de controlo de qualidade externos**

Existem controlos disponíveis comercialmente de vários fabricantes que contêm Vitamina D 25-OH como um analito medido. Recomenda-se que no mínimo dois (2) níveis de controlos sejam executados uma vez por dia nos dias em que amostras de pacientes são analisadas no Teste FRENDD Vitamina D. Ou outra opção de QC pode ser adotada – o Plano de Controle de Qualidade Individualizado (IQCP)^[11] é uma abordagem inclusiva para assegurar a qualidade de todo o processo de teste. Um IQCP inclui práticas, dados e informações que cada laboratório já utiliza para garantir testes de qualidade e cumprir com a CLIA, além de testar um determinado número de materiais de QC numa frequência designada.

Para garantir que esses procedimentos de controlo sejam equivalentes às regulamentações de QC da CLIA e adequados para cada laboratório, é necessário estabelecer e documentar o QC que seja apropriado para o sistema de teste, ambiente de teste e pessoal de teste.

Os controlos devem ser executados de acordo com regulamentações locais, estaduais, federais ou requisitos de acreditação para a frequência de controle de qualidade. Se algum valor de amostra de controlo de qualidade externo estiver fora do intervalo aceitável, será necessário investigar o problema antes de relatar os resultados do paciente para garantir que não haja mau funcionamento de um instrumento ou software. Não analise amostras de pacientes no Sistema FRENDDTM usando FRENDD Vitamina D se os resultados de controle de qualidade não estiverem dentro dos intervalos aceitáveis.

Processamento de amostras

- **Preparação**

Remova do frigorífico cartuchos FRENDD Vitamina D, tubos de diluição de amostra e tubos de pré-tratamento com Anticorpo de Ouro suficientes para testar o número de amostras de pacientes e os materiais de controle de qualidade externos necessários. Deixe que os tubos e as bolsas seladas que contêm os cartuchos atinjam a temperatura ambiente durante aproximadamente 15-30 minutos antes do início da sequência de teste.

Ao estiver usando amostras de pacientes refrigeradas, remova-as do frigorífico e deixe-as atingir a temperatura ambiente antes dos testes. Se amostras congeladas forem utilizadas, certifique-se de que estas sejam retiradas do congelador, descongeladas à temperatura ambiente e depois misturadas suavemente, mas completamente antes de testar. Os testes não devem começar em amostras previamente congeladas até que estas

atinjam a temperatura ambiente (64–77 °F o 18–25 °C).

Não são necessários outros reagentes ou preparações de amostras.

• **Procedimento de ensaio**

- 1) Certifique-se de que o cartucho FREND Vitamina D, tubo de pré-tratamento, Tubo de Diluição de Amostra e amostra estejam à temperatura ambiente (64–77 °F o 18–25°C).
- 2) Abra a bolsa e coloque o cartucho FREND Vitamina D na bandeja de cartuchos do dispositivo AP.
- 3) Pressione "**NEXT**" para fechar a bandeja do cartucho e abrir a bandeja do tubo de pré-tratamento.
- 4) Transfira 35µL da amostra para o Tubo de Diluição de Amostra e misture bem por vórtex ou invertendo.
- 5) Transfira um alíquota de 70 µL da amostra diluída para o tubo de pré-tratamento FREND Vitamina D.



Cuidado: Quando a amostra é adicionada ao tubo de pré-tratamento. Não inverta o tubo.

- 6) Insira o tubo de pré-tratamento no orifício do tubo na bandeja do tubo de pré-tratamento AP FREND™. Consulte o manual do usuário AP FREND™ para instruções de operação completas.
- 7) Pressione o botão "**NEXT**". A bandeja de pré-tratamento será fechada e a primeira etapa de incubação (15 minutos) começará.
- 8) Após a conclusão da primeira incubação, 35 µL de amostra misturada serão carregados no cartucho e a segunda etapa de incubação (2 minutos) começará.
- 9) Quando ambas as etapas de incubação estiverem concluídas, a bandeja do cartucho será aberta e o cartucho estará pronto para ser inserido no FREND™ System.
- 10) Pressione o botão '**Testar**' no ecrã '**Principal**' do FREND™ System.
- 11) O sistema move-se automaticamente para o ecrã do ID do doente.
- 12) Digite o ID do paciente e pressione o botão '**Enter**' para iniciar o teste.
- 13) Insira o cartucho na ranhura do cartucho usando as setas do cartucho como guia.



Cuidado: Verifique por favor o sentido do cartucho antes da inserção e assegure-se de que a inserção esteja completa.

- 14) Quando a reação no cartucho for concluída, o FREND™ System iniciará automaticamente o processo de leitura.

- 15) Quando as medições estiverem concluídas, o cartucho será automaticamente expelido e os resultados exibidos.



Cuidado: Não desligue o cabo de alimentação nem desligue a alimentação do sistema FREND™ enquanto um cartucho estiver na câmara de leitura. Isso pode causar um erro no sistema.

- 16) Se o FREND™ System estiver conectado à impressora opcional, pressione o botão 'Print' e os resultados serão impressos no papel da impressora.
- 17) Para obter instruções mais detalhadas, consulte o Manual do usuário do FREND™ System.

10. Notas processuais

Se a concentração de Vitamina D de uma amostra for superior ao limite de linearidade do ensaio de 110,00 ng/mL, reporte qualquer valor acima de 110,00 ng/mL como "superior a 110,00 ng/mL". Não é fornecido um diluente específico no cartucho FREND Vitamina D.

11. Cálculo dos resultados

O Sistema FREND™ realiza todas as operações de manipulação de amostras e reagentes automaticamente dentro do cartucho, uma vez que a amostra tenha sido carregada na entrada de amostra no cartucho e o cartucho colocado no Sistema FREND™. A taxa de fluorescência produzida pela reação é lida em vários intervalos durante o processo de análise, as leituras em branco são subtraídas após o que a taxa líquida é automaticamente convertida para a concentração de Vitamina D em ng/mL com base nas informações armazenadas no chip de código FREND Vitamina D. Esse resultado é exibido no ecrã e na impressora opcional. Também é armazenado na memória do FREND™ System.

Tela exibida para vários cenários de concentração

Resultado exibido	Descrição
	Concentração de Vitamina D Inferior a 10,00 ng/mL
	Concentração de Vitamina D Não inferior a 10,00 ng/mL e não superior a 110,00 ng/mL
	Concentração de Vitamina D Superior a 110,00 ng/mL

12. Limitações do procedimento

- 1) Quando usados para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser usados em conjunto com outros dados (por exemplo, sintomas, resultados de outros testes, impressões clínicas, histórico médico, terapia, etc.)
- 2) O Sistema FREND™ emparelhado com um cartucho FREND Vitamina D, está programado para reportar 110,00 ng/mL como a maior concentração de Vitamina D mensurável. A menor concentração mensurável é 13,0 ng/mL, o limite de detecção do ensaio.
- 3) Amostras de pacientes com anticorpos heterofílicos, como anti-rato (HAMA), anti-cabra (HAGA) ou anti-coelho (HARA), podem apresentar valores falsamente elevados ou reduzidos ou podem resultar em um teste incompleto.^[12, 13] Pacientes rotineiramente expostos a animais ou produtos de soro animal podem ser propensos a estes tipos de interferências heterofílicas.
- 4) Pacientes que tomam medicamentos contendo Paricalcitol (por exemplo, Zemplar) não devem ser testados por este ensaio.
- 5) Certos medicamentos podem interferir no desempenho do ensaio. Todos os resultados devem ser interpretados em relação ao quadro clínico do paciente.
- 6) Embora a hemólise tenha um efeito insignificante no ensaio, amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorreto de uma amostra antes do ensaio e os resultados devem ser interpretados com cuidado.
- 7) A lipemia tem um efeito insignificante no ensaio, exceto no caso de lipemia grosseira, onde pode ocorrer interferência com o fluxo lateral da amostra no cartucho.
- 8) A concentração de Vitamina D em uma determinada amostra dada com ensaios de diferentes fabricantes pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio, calibração e especificidade dos anticorpos.
- 9) Consulte as seções Coleta e Manuseio de Amostras, Advertências e Precauções, Armazenamento e Estabilidade e Notas de Procedimento neste folheto informativo.
- 10) O FREND Vitamina D não foi avaliado em contextos de ponto de atendimento.
- 11) O FREND Vitamina D deve ser usado em laboratórios clínicos licenciados com tecnologistas treinados.

13. Características de desempenho

Precisão

O documento EP5-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) foi utilizado como uma diretriz para estudos de precisão sobre o FRENDO Vitamina D. Material padrão com três diferentes concentrações foi usado para o teste de precisão. Um operador testou com um lote durante 20 dias. Um operador testou com três lotes diferentes por 4 vezes. Três operadores diferentes testaram com o mesmo lote por 4 vezes.

10) Um operador com um lote durante 20 dias

Material padrão	Conc. (ng/mL)	Dentro da execução		Entre execuções		Entre dia		Dentro do laboratório	
		SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)	SD	CV(%)
Baixa	30	2,458	8,1	0,895	2,9	0,689	2,3	2,705	8,9
Média	60	0,146	4,9	0,040	1,3	0,021	0,7	0,153	5,1
Alta	100	4,865	4,9	0,801	0,8	1,336	1,3	2,108	5,1

11) Um operador com três lotes diferentes por 4 vezes

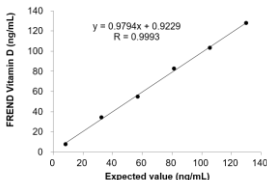
Material padrão	Conc. (ng/mL)	Lote. 503904	Lote. 503905	Lote. 503906	Média	SD	CV(%)
		Média	Média	Média			
Baixa	30	31,14	31,913	30,553	31,292	0,682	2,2
Média	60	58,98	59,473	60,68	59,711	0,875	1,5
Alta	100	95,528	100,645	98,085	98,086	2,559	2,6

12) Três operadores diferentes com um lote por 4 vezes

Material padrão	Conc. (ng/mL)	Operador1	Operador2	Operador3	Média	SD	CV(%)
		Média	Média	Média			
Baixa	30	29,430	28,890	30,755	29,692	0,960	3,2
Média	60	55,775	56,025	60,923	57,574	2,902	5,0
Alta	100	98,933	101,598	99,320	99,950	1,440	1,4

Linearidade de diluição

O intervalo de linearidade no soro foi estabelecido usando o documento EP6-A do CLSI. O FREN D Vitamina D demonstrou linearidade dentro do intervalo reportável de 8,00 ng/mL a 130,00 ng/mL com uma recuperação média de 100±10%. O estudo de linearidade por diluição foi realizado diluindo uma amostra de Vitamina D de alta concentração com uma amostra de Vitamina D de baixa concentração.



Sensibilidade analítica

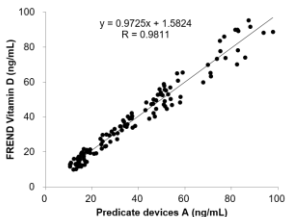
O limite de branco (LoB) e o limite de detecção (LoD) foram determinados usando as diretrizes encontradas no documento EP17-A do CLSI. O LoB foi determinado a partir de 60 medições replicadas usando um calibrador A (soro depletado de vitamina D). O LoD foi determinado usando 12 medições replicadas de cinco amostras de pacientes com baixos níveis.

LoB	LoD	LoQ
3,85 ng/mL	6,53 ng/mL	10,00 ng/mL

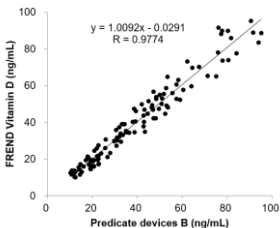
Análise comparativa

O FREND Vitamina D foi comparado ao dispositivo preditivo usando diretrizes delineadas no documento EP09-A2-IR do CLSI. As amostras (n=120) foram medidas em duplicado em ambos os sistemas. A análise de regressão linear demonstrou uma correlação (r) de 0,9811 e 0,9774.

1) FREND Vitamina D VS Dispositivo Preditivo A



2) FREND Vitamina D VS Dispositivo Preditivo B



Reatividade cruzada

As seguintes substâncias foram avaliadas quanto à potencial reatividade cruzada com o FRENDA Vitamina D em três concentrações. Os testes foram realizados de acordo com o protocolo CLSI EP7-A2. Não foi encontrada reatividade cruzada significativa.

Nº	Potenciais reagentes cruzados	Concentration
1	Vitamina D2 (Ergocalciferol)	1.000 ng/mL
2	Vitamina D3 (Colecalciferol)	1.000 ng/mL
3	1,25-(OH) ₂ -Vitamina D2	100 ng/mL
4	1,25-(OH) ₂ -Vitamina D3	100 ng/mL
5	3-epi-25-(OH) Vitamina D3	100 ng/mL
6	25-(OH) Vitamina D2	25 ng/mL
7	25-(OH) Vitamina D3	25 ng/mL

Interferência

O estudo de interferência foi realizado conforme recomendado no protocolo EP7-A2 do CLSI usando três concentrações de Vit D. Uma recuperação dentro de 90% a 110% da Vit D esperada foi considerada como ausência de interferência. Não foi detectada nenhuma interferência das substâncias abaixo indicadas.

Nº	Interferência potencial	Concentration
1	Bilirrubina	20,0 mg/dL
2	Biotina	30,0 ng/dL
3	Triglicéridos	370,0 mg/dL
4	Albumina Humana	12,0 g/dL
5	Hemoglobina	200,0 mg/dL

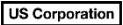
Efeito de Matriz

O plasma-heparina, plasma-EDTA e plasma-citrato podem ser usados para o ensaio FRENDA Vitamina D. Os valores de correlação são $R^2=0,9816$ no soro com plasma-heparina, $R^2=0,9739$ no soro com plasma-EDTA e $R^2=0,9797$ no soro com plasma-citrato em cada teste e os valores mostram alta correlação.

14. Referências

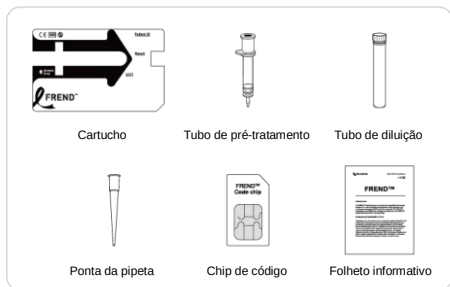
- 1) Holick, MF. Alta prevalência de inadequação de vitamina D e implicações para a saúde. *Procedimentos da Clínica Mayo*. 2006, 81 (3): 353-373.
- 2) Bolland, MJ e outros. O efeito da suplementação de vitamina D nos resultados esqueléticos, vasculares e oncológicos: uma meta-análise sequencial de ensaios. *The Lancet Diabetes & Endocrinologia*. 2014, 2 (4): 307-320.
- 3) Wolf, G. A descoberta da vitamina D: a contribuição de Adolf Windaus. *Jornal de Nutrição*. 2004, 134 (6): 1299-1302.
- 4) Holick, MF. Vitamina D: importância na prevenção de cânceres, diabetes tipo 1, doenças cardíacas e osteoporose. *O Jornal Americano de Nutrição Clínica*, 2004, 79 (3): 362-371.
- 5) Calvo, MS e outros. Ingestão de Vitamina D: uma perspectiva global do estado atual. *Jornal de Nutrição*, 2005, 135 (2): 310-316.
- 6) Ross, AC e outros. Ingestões de Referência Dietética para Cálcio e Vitamina D. Washington DC: *National Academies Press* 2011, p. 435.
- 7) Svasti, J e outros. Base molecular para as três principais formas de proteína de ligação à vitamina D no soro humano. *Bioquímica* 1979, 18 (8): 1611-1617.
- 8) Holick, MF e outros. A vitamina D2 é tão eficaz quanto a vitamina D3 na manutenção das concentrações circulantes de 25-hidroxivitamina D. *O Jornal de Endocrinologia Clínica e Metabolismo*, 2008, 93 (3): 677-681.
- 9) Maxmen, A. Conselhos de nutrição: o dilema da vitamina D. *Nature* 2011, 475 (7354): 23-25.
- 10) Chao, E.L, Henshaw, J.L. Administração de Segurança e Saúde Ocupacional: Modelos de Planos e Programas para os Padrões de Patógenos Transmitidos pelo Sangue e Comunicação de Riscos da OSHA. *OSHA 3186-06R*, 2003.
- 11) Centros de Serviços de Medicare & Medicaid. Plano de Controle de Qualidade Individualizado CLIA – Considerações ao decidir desenvolver um IQCP. *Brochura CLIA #12. Novembro* de 2014.
- 12) Schroff, R.W., Foon, K.A., Beatty, S.M., Oldham, R.K., Morgan, A.C. Respostas Imunoglobulinas Anti-Murinas em Pacientes Recebendo Terapia com Anticorpos Monoclonais. *Pesquisa sobre Câncer*. 1985, 45: 879-885.
- 13) Boscatto, L.M., Stuart, M.C. Anticorpos Heterofílicos: Um Problema para Todos os Imunoensaios. *Química Clínica*, 1988, 34 (1): 27-33.

Glossário de símbolos

	Cuidado, aviso, Consultar os documentos de acompanhamento
	Número de catálogo/Número de referência
 www.nanoentek.com/eifu.php	Consultar as instruções de uso Um indicador de instruções eletrônicas de uso (eIFU) (endereço do website) pode acompanhar o símbolo quando usado para indicar uma instrução para consultar um eIFU.
	Número do lote/Número do batch
	Usado por AAAA-MM-DD ou AAAA-MM
	Fabricante
	Marcação CE
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limitação de temperatura
	Contém suficiente para < n > testes
	Não reutilizar
	Não usar se a embalagem estiver danificada
	Apenas para uso sob receita médica CUIDADO: A lei federal (EUA) restringe a venda deste dispositivo a médicos ou mediante prescrição médica.
	Corporação dos EUA
	ID do paciente
	Resultado
 Sample Drop	Gota de amostra

EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia
UK Representative	Representante autorizado no Reino Unido
CH REP	Representante autorizado na Suíça
BRH	Representante autorizado no Brasil

Conteúdo do kit



Revisado em 2023.12



e-mail : ivdst@nanoentek.com

website : www.nanoentek.com



NanoEntek, Inc.

851-14, Seohae-ro, Paltan-myeon, Hwaseong-si, Gyeonggi-do, 18531, Korea

Tel: +82-2-6220-7940 / Fax: +82-2-6220-7999

US Corporation

NanoEntek America, inc.

220 Bear Hill Road, Suite 102, Waltham, MA 02451, USA

Tel: +1-781-472-2558 / Fax: +1-781-790-5649

EC REP

MT Promedt Consulting GmbH

Ernst-Heckel-Straße 7, 66386 St. Ingbert, Germany