



## Інструкція

з використання тест-системи для кількісного визначення загального 25-гідроксिवітаміну D в сироватці крові

### Вітамін D-ІФА

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

#### Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип конкурентного імуноферментного аналізу. У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (25-гідроксिवітамін D) вносять досліджуваний зразок та кон'югат (анти-25-гідроксивітамін D, мічений пероксидазою). Вітамін D загальний із зразка конкурує з антигеном на поверхні лунки за зв'язок з кон'югатом. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату, та вимірюється фотометрично. Інтенсивність кольорової реакції зворотно пропорційна кількості загального вітаміну D в зразку

#### Клінічне значення

Вітамін D відноситься до групи жиророзчинних стероїдів. Вітамін D, що надходить з їжі (D2) або синтезується шкірою (D3), є біологічно неактивним; для активації необхідне ферментативне перетворення (гідроксилювання) у печінці та нирках. Для людини найважливішими сполуками цієї групи є вітамін D3 (також відомий як холекальциферол) і вітамін D2 (ергокальциферол). Холекальциферол перетворюється в печінці на 25-гідроксихолекальциферол, Ергокальциферол перетворюється на 25-гідроксіергокальциферол.

Ці два метаболіти вітаміну D (так звані 25-гідроксивітамін D або 25-OH D) вимірюються в сироватці крові для визначення статусу вітаміну D людини. Кальцитріол циркулює як гормон у крові, відіграючи основну роль у регуляції концентрації кальцію та фосфору, а також сприяє здоровому росту та ремоделюванню кісток. Кальцитріол також має інші ефекти, в тому числі на ріст клітин, нервово-м'язову та імунну функції та зменшення запалення. Достатня кількість вітаміну D важлива з кількох причин, зокрема для підтримки здоров'я кісток і зубів; він також може захистити від низки захворювань, таких як рак, діабет 1 типу, і розсіяний склероз. Хоча добавки вітаміну D можна приймати, найкраще отримувати будь-які вітаміни чи мінерали з природних джерел, де це можливо. Цей аналіз призначений для кількісного визначення загального вітаміну D (25-OH) у сироватці крові людини, як допоміжний засіб для оцінки достатності вітаміну D.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

#### Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Набір калібраторів по 1 ml (мл) (всього 6 калібраторів: 0, 7.5, 15, 30, 75, 150 ng/mL (нг/мл)).
3. Буфер, 6 ml (мл) (1 фл.)
4. Кон'югат, 6 ml (мл) (1 фл.)
5. Відмиваючий розчин концентрат 40x, 25 ml (мл) (1 фл.)
6. Субстрат, 11 ml (мл) (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 6 ml (мл) (1 фл.)
8. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
9. Інструкція з використання.
10. Сертифікат якості.

#### Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 2.0 ng/mL (нг/мл).

Лінійність вимірювального діапазону: 2.0-150 ng/mL (нг/мл).

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

#### Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 7 d (доб) при

2-8°C, 1 mth (міс) при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Не використовуйте зразки термічно інактивовані та стабілізовані азидом.

#### Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000  $\mu$ l (мкл).  
Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 та 620 nm (нм).

#### Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 min (хв). До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте у 40 разів дистильованою водою в чистому посуді (25 ml (мл) концентрату + 975 ml (мл) дистильованої води). Отриманий розчин стабільний протягом 2 mth (міс) при кімнатній температурі.
3. Не використовуйте субстрат, якщо він виглядає синім.

#### Проведення аналізу

1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів для калібраторів та зразків.
2. Внесіть у лунки 50  $\mu$ l (мкл) калібраторів та зразків.
3. Внесіть у лунки 50  $\mu$ l (мкл) буферу.
4. Обережно струсіть планшет протягом 5 min (хв) для перемішування.
5. Внесіть у лунки 50  $\mu$ l (мкл) кон'югату.
6. Обережно струсіть планшет протягом 30 s (с) для перемішування.
7. Накрийте кришкою та інкубуйте 60 min (хв) при температурі 37°C.
8. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
9. Внесіть у лунки 100  $\mu$ l (мкл) субстрату.
10. Інкубуйте 15-20 min (хв) при температурі 20-25°C в темному місці.
11. Внесіть у лунки 50  $\mu$ l (мкл) зупиняючого розчину.
12. Струсіть протягом 15-20 s (с), щоб перемішати рідину в лунках.
13. Визначте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на фотометрі по двоххвильовій методиці 450-620 nm (нм). Результати слід зчитувати протягом 30 min (хв) після додавання стоп-розчину.
14. Використовуйте для обчислювання значень метод «точка-точка».
15. Визначте концентрацію Вітамін D в зразках за допомогою калібрувальної кривої.

#### Приклад

Наведені нижче дані лише для демонстрації, не використовувати для обчислювання!

Значення Калібратора ng/mL (нг/мл).	Поглинання
0	2.818
7.5	2.060
15	1.522
30	1.063
75	0.576
150	0.284

#### Примітка

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **своєю** кришкою.
3. Усі проби та стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250  $\mu$ l (мкл) відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні («замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко перегорніть планшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

#### Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Стан	ng/ml (нг/мл)
Дефіцит	<10
Недостатність	10-29
Достатність	30 - 100
Потенційна токсичність	>100

**Зберігання та стабільність**

Після розкриття пакета ретельно заклейте лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

**Вимоги безпеки та утилізації**

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток проводити згідно з чинним законодавством.

**Транспортування**

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

**Гарантії виробника**









1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

**Комплектація**

	Кат. № 13.006
Вміст	96 визн.
Планшет з іммобілізованими антигенами	8 x 12
Набір калібраторів	6 фл. x 1 ml (мл)
Буфер	1 фл. x 6 ml (мл)
Кон'югат	1 фл. x 6 ml (мл)
Відмиваючий розчин, концентрат 40x	1 фл. x 25 ml (мл)
Субстрат	1 фл. x 11 ml (мл)
Зупиняючий розчин	1 фл. x 6 ml (мл)
Стрічка для заклеювання планшет	1 шт.

 ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.  
Тел./факс: (057) 752-32-31, [www.granum.ua](http://www.granum.ua)

**Символи на продукції**

 Виробник	<b>Виготовлено:</b> Дата виробництва	<b>Придатно до:</b> Термін придатності	<b>Серія:</b> Номер серії	
 <b>IVD</b> Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання	 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне обмеження
 Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів	 Каталожний номер			