

ACB-Vitamine D

Immunturbidimétrie

REF VIDT001

R1 1 x 8 ml
R2 1 x 2 ml
Cal 5 x 0.2 ml

Utilisation

Réactif pour la détermination quantitative de la vitamine D dans le sérum et le plasma humains par un système manuel ou automatique.

Rappel

La vitamine D (ou le calciférol) a deux origines, exogène apportée par l'alimentation et majoritairement endogène produite par la peau exposée au soleil (Vit. D3). Sa biosynthèse est initiée par la réaction des rayons UV avec le 7-hydrocholestérol (pro vit.D cutanée) pour produire la pré vit.D3 qui est isomérisée en cholécalciférol (Vit.D3). Son activation passe par deux étapes : Une première hydroxylation hépatique catalysée par l'enzyme CYP du réticulum endoplasmique en position 25 qui conduit à la formation de 25(OH)VitD3; forme de réserve dont la demi vie plasmatique est de 2-3 semaines; qui est ensuite prise en charge par la protéine plasmatique VDBP (Vit.D Binding Protein) afin d'être véhiculée jusqu'au rein où elle subit une deuxième hydroxylation par l'enzyme CYP des mitochondries en position 1 qui conduit à la (1.25(OH)2D3) ; forme biologiquement active dont la demi vie plasmatique est d'environ 4 heures.

Son action est accomplie par l'intermédiaire des récepteurs répartis dans l'organisme.

Sa fonction principale est d'augmenter les concentrations de calcium et de phosphore dans le sang permettant ainsi d'assurer une minéralisation optimale des tissus notamment os, cartilage et dents.

Son rôle est ubiquitaire, impliquée ainsi dans des processus anti-inflammatoires, anti-infectieux, anti-tumoraux, de protection cardiovasculaire et neuronale. Le reflet du statut vitaminique D de l'organisme est représenté par le taux plasmatique de 25(OH)D (la forme de réserve).

Principe de la méthode

La vitamine D se dissocie des protéines présentes dans l'échantillon et se lie aux anticorps anti-vitamine D liés aux particules de latex provoquant ainsi une agglutination. La mesure photométrique du trouble amené par la réaction Ag-Ac est directement proportionnelle à la concentration de la vitamine D dans l'échantillon.

Composition

R1 : Tampon

Solution tampon phosphate < 100 mM
Azoture de sodium 0.1 %

R2 : Réactif au latex

Suspension de particules de latex recouvertes d'anticorps anti-vitamine D. < 0.5 %

Cal : 5 niveaux

Sérum humain contenant de la vitamine D à concentration connue.

Azoture de sodium 0.1 %
Les 5 différentes concentrations sont indiquées sur les étiquettes des flacons.

Précautions et mise en garde

Ne pas ingérer ou inhaler, éviter tout contact avec les yeux, la peau et les muqueuses.

Les réactifs contiennent de l'azoture de sodium qui peut réagir avec les canalisations en cuivre ou en plomb.

Symboles sur l'emballage du produit

	Pour diagnostic in vitro		Températures limites
	Numéro de lot		Date d'expiration
	Référence		Fabriqué par
	ATTENTION. Lire les instructions d'utilisation		(Xi) - Irritant

Les réactifs doivent être considérés comme une matière potentiellement infectieuse.

Préparation, conservation et stabilité

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les étiquettes lorsqu'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8 °C.

Après ouverture, les réactifs sont stables pendant un mois à la température spécifiée.

NE PAS CONGELER.

Prélèvement, conservation et stabilité des échantillons

Utiliser du sérum ou du plasma.

Les seuls anticoagulants acceptables sont K₂-EDTA, K₃-EDTA et Li-héparine.

Séparer le sérum ou le plasma dès que possible après le prélèvement.

Procédure

Paramètres du système

Longueur d'onde	700 nm (680 - 700)
Cuvette	1 cm
Type de réaction	Temps fixe
Sens de réaction	Croissant
Température d'incubation	37 °C

Pour un système automatique

- Bien homogénéiser en tournant les flacons doucement au moins 10 fois. Ne pas agiter.
- Pipeter dans des tubes à essai :

	Cal	Echantillon
R1	120 µl	120 µl
Cal/ Echantillon	4 µl	4 µl

- Mélanger et incuber pendant exactement 4 minutes à 37 °C puis ajouter R2 :

	Cal	Echantillon
R2	30 µl	30 µl

- Lire l'absorbance (A1) immédiatement, puis l'absorbance (A2) après 4 minutes.

Pour un système semi automatique

- Bien homogénéiser en tournant les flacons doucement au moins 10 fois. Ne pas agiter.
- Pipeter dans des tubes à essai :

	Cal	Echantillon
R1	160 µl	160 µl
Cal/ Echantillon	5 µl	5 µl

- Mélanger et incuber pendant exactement 4 minutes à 37 °C puis ajouter R2 :

	Cal	Echantillon
R2	40 µl	40 µl

- Lire l'absorbance (A1) immédiatement, puis l'absorbance (A2) après 4 minutes.

Calcul

Etablir une courbe d'étalonnage à l'aide des 5 calibrateurs de vitamine D.

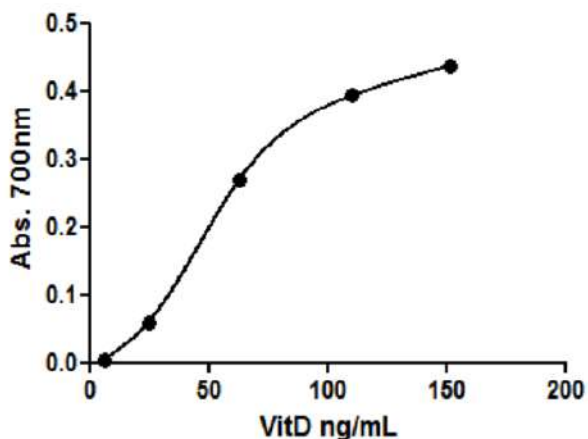
Déterminer (ΔA) de l'échantillon et de chaque calibrateur comme suit :

(ΔA) Echantillon ou Cal = A2 - A1 Echantillon ou Cal

Tracer la courbe d'étalonnage et obtenir les résultats.

Courbe d'étalonnage de la vitamine D

Calibrateur ng/ml	5	20	55	98	152
Absorbance	-0.018	0.022	0.088	0.127	0.153



Remarque

Chaque laboratoire doit établir sa propre courbe d'étalonnage. Les valeurs indiquées ne peuvent être qu'une indication approximative.

Contrôle de qualité

Il est recommandé de tester conjointement des sérums de contrôle normal et pathologique à chaque série.

Performance de la méthode

Précision

Etablie en analysant 20 fois des échantillons de différentes concentrations en vitamine D, chaque résultat est présenté ci-dessous :

25-OH Vitamine D (ng/ml)		Répétabilité		Reproductibilité		Total		
Echantillon	n	Moyenne	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Contrôle 1	80	21.7	0.9	3.9	0.6	2.8	1.3	6.2
Contrôle 2	80	42.5	1.0	2.4	0.8	2.0	1.7	3.9
Echantillon 1	80	11.1	0.9	8.3	0.5	4.4	1.8	16.6
Echantillon 2	80	18.2	0.9	4.9	0.7	3.9	1.6	8.7
Echantillon 3	80	22.1	0.8	3.8	0.8	3.8	1.2	5.6
Echantillon 4	80	42.8	0.9	2.0	1.0	2.4	1.3	3.1
Echantillon 5	80	59.5	1.0	1.7	0.7	1.2	1.6	2.7
Echantillon 6	80	80.2	1.3	1.6	1.1	1.4	2.0	2.5
Echantillon 7	80	99.5	1.8	1.8	1.5	1.6	2.7	2.8
Echantillon 8	80	117.6	2.2	1.9	2.0	1.7	3.7	3.2
Echantillon 9	80	139.2	2.7	1.9	2.6	1.8	4.1	2.9

Sensibilité

Lorsqu'il est utilisé tel que recommandé, le seuil de détection du réactif est de 5 ng/ml.

Intervalle analytique

5 - 160 ng/ml.

Interférences

Aucune interférence significative jusqu'à des taux de :

Hémoglobine	600 mg/dl
Bilirubine libre	40 mg/dl
Bilirubine conjuguée	40 mg/dl
Protéines totales	12 g/dl
Triglycérides	1000 mg/dl
Facteur rhumatoïde	200 UI/ml

Valeurs de référence

Interprétation	intervalle
Carence	< 7.4 ng/ml
Insuffisance	7.4 - 20 ng/ml
Taux normal	20 - 40 ng/ml
Intervalle thérapeutique	50 - 100 ng/ml
Intoxication	> 100 ng/ml

Traitement des déchets

Ce produit est fabriqué pour être utilisé par des professionnels dans les laboratoires. Consulter la réglementation locale pour la procédure de traitement des déchets.

S56 : Eliminer ce matériel et son emballage dans un conteneur de collecte de déchets dangereux ou spéciaux.

S57 : Utiliser un conteneur adapté afin d'éviter la contamination de l'environnement.

S61 : Eviter l'élimination dans la nature ; se référer aux instructions de fiche de sécurité.

Bibliographie

1. Wacker M, Holick MF. Sunlight and Vitamin D: A global perspective for health. *Dermatoendocrinol.* 2013, 5, 51-108.
2. Holick, MF. Vitamin D Status: Measurement, Interpretation and Clinical Application. *Ann Epidemiol.* 2009, 19, 73-78.
3. Morris H. A. Vitamin D: A Hormone for All Seasons-How Much is enough *ClinBiochem. Rev.*, 2005, 26, 21-32.
4. Bikle D. D. Vitamin D and the skin. *J. Bone Miner. Metab.*, 2010, 28,11730.
5. Zerwekh J. E. Blood biomarkers of vitamin D status. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008, 87,1087S-91S.