

25-OH VITAMINA D3 e 25-OH VITAMINA D2 PLASMATICHE IN LC-MS/MS

REF LC19115

Questo prodotto adempie a tutte le esigenze della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD). La dichiarazione di conformità è disponibile su richiesta.



ISTRUZIONI PER L'USO

IVD

Per uso diagnostico *in vitro*

CE



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com

INDICE

DESTINAZIONE D'USO	3
CONTENUTO DEL KIT PER 500 TESTS	3
ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE	4
STRUMENTAZIONE	4
MATRICE – PROCEDURA DI RACCOLTA E CONSERVAZIONE	5
VALORI DI RIFERIMENTO	5
PROCEDURA ANALITICA	6
GRADIENTE	7
PARAMETRI	7
FRAMMENTAZIONE DEGLI ANALITI E DELLO STANDARD INTERNO (IS) DEUTERATO	7
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I	8
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II	9
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III	9
CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO	10
AVVERTENZE GENERALI	13
ABBREVIAZIONI	14
BIBLIOGRAFIA	15
NORME DI RIFERIMENTO	16
SIMBOLI IVD	17

DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo Medico diagnostico *in vitro* per la rilevazione e il monitoraggio quantitativo dei livelli di Vitamina D2 e D3 nel plasma come ausilio alla determinazione dello stato di ipovitaminosi D.

Metodo manuale per uso professionale.

CONTENUTO DEL KIT PER 500 TESTS

CONTENUTO	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO	AVVERTENZE
Reagente A	Soluzione di Deproteinizzazione	2 x 50 ml	Stoccare a  -25 °C dopo l'aggiunta del Reagente B
Reagente B	Soluzione Standard Interni	1 x 1 ml	Stabile 6 mesi a  -25 °C
Calibratore plasmatico multiparametrico		7 x 2 x 1 ml	(confezionato a parte – Codice LC19016 – vedi scheda tecnica)
Reagente M1	Fase Mobile M1	2 x 500 ml	Stoccare a  +2 °C
Reagente M2	Fase Mobile M2	4 x 500 ml	Stoccare a  +2 °C

ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO
LC19016	Calibratore per 25-OH-Vitamina D3 e 25-OH Vitamina D2 plasmatiche in LC/MS	7 x 2 x 1 ml
LC19019	Controllo per 25-OH-Vitamina D3 and 25-OH Vitamina D2 plasmatiche LC/MS	3 x 5 x 1 ml
SK19110	Starter kit per 25-OH-Vitamina D3 e 25-OH Vitamina D2 plasmatiche LC/MS	4 x 1 ml
LC19011	25-OH-Vitamina D3 e 25-OH Vitamina D2 plasmatiche in LC/MS - Fase Mobile M1	4 x 500 ml
LC19021	25-OH-Vitamina D3 e 25-OH Vitamina D2 plasmatiche in LC/MS – Fase Mobile M2	4 x 500 ml
LC19130	Soluzione Standard Interni Deuterati	1 x 200 µl
ZRE9309A52	Colonna Analitica RAPTOR BIPHENYL (50 x 2,1 mm. 2,7 µm)	1 Pz
Z51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 15 µl 1,5 ml	1 x 100 Pz
Z51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 15 µl 1,5 ml	1 x 100 Pz
L-30-210	Provetta conica con tappo tipo Eppendorf da 1,5 ml	1 x 1000 Pz

STRUMENTAZIONE

DESCRIZIONE	AVVERTENZE
LC-MS triplo quadrupolo di medio-alto livello (S/N di almeno 10.000/1 per 1 pg di Reserpina iniettata) Analisi con gradiente binario – Modalità di lavoro MRM, APCI positivo Valvola divert a 6 vie Pompa Binaria	Necessario
Computer gestionale	Necessario
Autocampionatore	Necessario

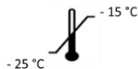
MATRICE – PROCEDURA DI RACCOLTA E CONSERVAZIONE

MATRICE	PROCEDURA
Plasma	Dispensare 3 ml di sangue intero in una provetta con EDTA come anticoagulante. Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il plasma. Stabile per 4 settimane a $+2^{\circ}\text{C}$ o 4 mesi a $+8^{\circ}\text{C}$ -15°C -25°C

VALORI DI RIFERIMENTO

Vitamine	Range di Normalità (ng/ml)
25-OH Vitamina D2	20 - 120
25-OH Vitamina D3	20 - 120

PROCEDURA ANALITICA

FASE	DESCRIZIONE																				
1	Dispensare 500 µl di Reagente B in ogni flacone contenente 50 ml of Reagente A secondo l'utilizzo. Stabile 3 mesi a  . In provette di tipo Eppendorf, dispensare In sequenza: <table><tr><td></td><td>Calibratore (µl)</td><td>Campione (µl)</td><td>Controlli (µl)</td></tr><tr><td>Calibratore</td><td>100</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Campione</td><td></td><td>100</td><td></td></tr><tr><td>Controlli</td><td></td><td></td><td>100</td></tr><tr><td>Reagente A (prelevato direttamente da  e utilizzato freddo)</td><td>200</td><td>200</td><td>200</td></tr></table> Chiudere le provette - Vortex per 30 sec.		Calibratore (µl)	Campione (µl)	Controlli (µl)	Calibratore	100			Campione		100		Controlli			100	Reagente A (prelevato direttamente da  e utilizzato freddo)	200	200	200
	Calibratore (µl)	Campione (µl)	Controlli (µl)																		
Calibratore	100																				
Campione		100																			
Controlli			100																		
Reagente A (prelevato direttamente da  e utilizzato freddo)	200	200	200																		
2	Porre le provette a  per 10 minuti.																				
3	Centrifugare a 15.000 rpm per 15 minuti.																				
4	Prelevare il surnatante e trasferirlo in vial provviste di insert.																				
INIEZIONE	Iniettare 20 µl della soluzione nel Sistema LC																				

GRADIENTE

TEMPO (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	FLUSSO (µl/min)
0.2	60	40	400
0.3	25	75	400
2.5	20	80	400
2.6	0	100	400
3.5	0	100	400
3.51	60	40	400
4.5	60	40	400

PARAMETRI

Parametri settati su APCI 4500

CURTAIN GAS (CUR)	35
COLLISION GAS (CAD)	8
ION SPRAY VOLTAGE (IS)	5.500 V
TEMPERATURE (TEM)	470°C
ION SOURCE GAS 1 (GS1)	50
ION SOURCE GAS 2 (GS2)	/

FRAMMENTAZIONE DEGLI ANALITI E DELLO STANDARD INTERNO (IS) DEUTERATO

ANALITI	RT (min)	FRAMMENTI		S.I. DEUTERATO USATO PER LA CALIBRAZIONE	RT (min)	FRAMMENTI	
		PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)			PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)
25-OH Vitamina D2	2.5	395.0	209.0	25-OH Vitamina D2-d3	2.5	398.0	230.0
		395.0	269.0			398.0	212.0
25-OH Vitamina D3	2.3	383.3	257.2-211.2	25-OH Vitamina D3-d6	2.3	389.3	263.2

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I

ABBREVIAZIONI	SIGNIFICATO
C LLOQ	Concentrazione al limite minimo di quantificazione
C1	Concentrazione bassa
C2	Concentrazione media
Max C	La più alta concentrazione

ANALITI	CONCENTRAZIONI USATE PER CALCOLARE LA RIPRODUCIBILITÀ E L'ACCURATEZZA (ng/ml)			
	C LLOQ	C1	C2	MAX C
25-OH Vitamina D2	2	7,5	30	75
25-OH Vitamina D3	2	7,5	30	75

ANALITI	ACCURATEZZA INTRA SERIE (ERRORE RELATIVO %)			
	CLLOQ (%)	C1 (%)	C2 (%)	MAX C (%)
25-OH Vitamina D2	9,84	4,50	4,29	5,15
25-OH Vitamina D3	13,14	6,37	4,03	3,67

ANALITI	ACCURATEZZA INTER SERIE (ERRORE RELATIVO %)			
	CLLOQ (%)	C1 (%)	C2 (%)	MAX C (%)
25-OH Vitamina D2	10,94	6,04	5,33	5,17
25-OH Vitamina D3	17,74	7,61	6,46	6,21

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II

ANALITI	RIPRODUCIBILITÀ INTRA SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)			
	CLLOQ (%)	C1 (%)	C2 (%)	MAX C (%)
25-OH Vitamina D2	5,33	4,78	5,65	1,63
25-OH Vitamina D3	2,99	1,73	3,13	3,29

ANALITI	RIPRODUCIBILITÀ INTER SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)			
	CLLOQ (%)	C1 (%)	C2 (%)	MAX C (%)
25-OH Vitamina D2	10,79	6,13	7,22	5,72
25-OH Vitamina D3	8,89	6,61	4,52	6,44

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III

ANALITI	LLOD (ng/ml)	LINEARITÀ (ng/ml)	COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE R2 + DEV STD
25-OH Vitamina D2	0,6	2 – 1.000	0,9977 ± 0,0016
25-OH Vitamina D3	0,6	2 – 1.000	0,9982 ± 0,0005

ANALITI	RECUPERO (%)	EFFETTO MATRICE (%)	CARRY OVER (%)	VARIABILITÀ LOTTI (%)
25-OH Vitamina D2	108,0	110,7	2,43	3,58
25-OH Vitamina D3	91,8	111,8	12,05	9,23

CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO

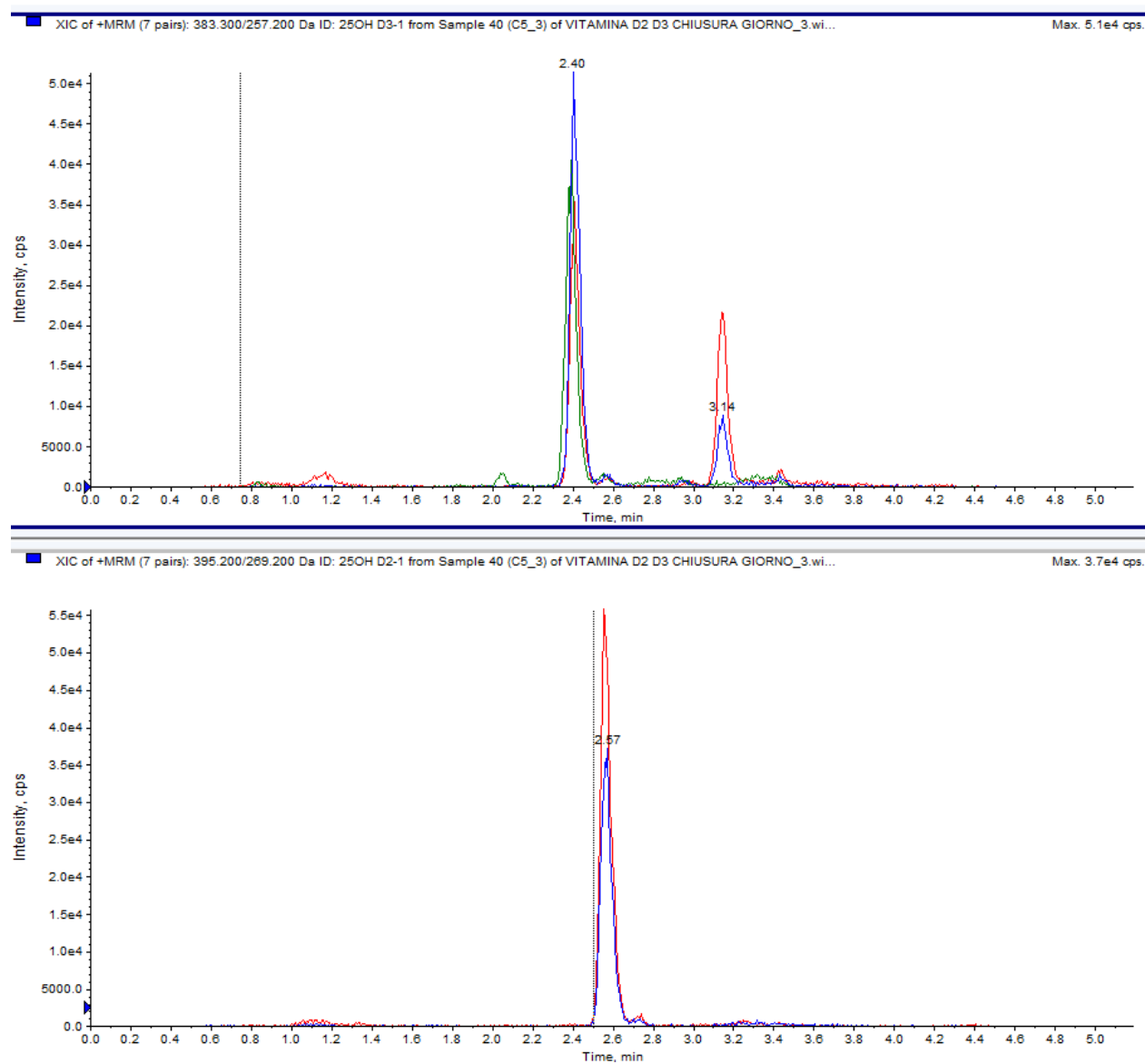


Fig.1 Calibratore livello 5 per le Vitamine 25 OH D3/D2. In alto ci sono i cromatogrammi relativi alla Vitamina 25 OH D3 e al corrispondente standard interno. In basso i cromatogrammi relativi alla Vitamina 25 OH D2.

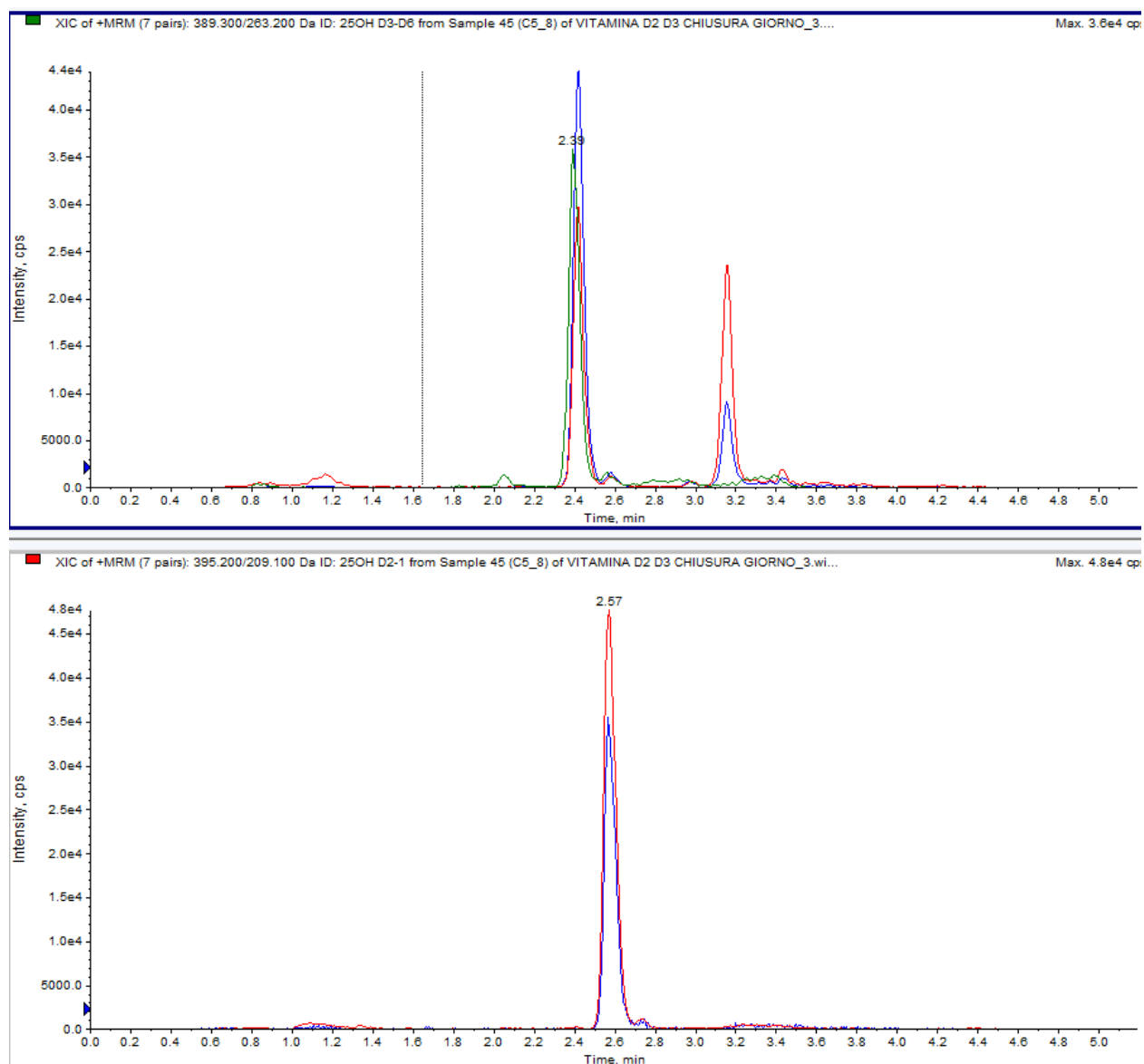


Fig.2 Controllo livello 2 Vitamine 25 OH D3/D2. In alto ci sono I cromatogrammi relativi alla Vitamina 25 OH D3 e il corrispondente standard interno, in basso I cromatogrammi relativi alla Vitamina 25-OH D2.

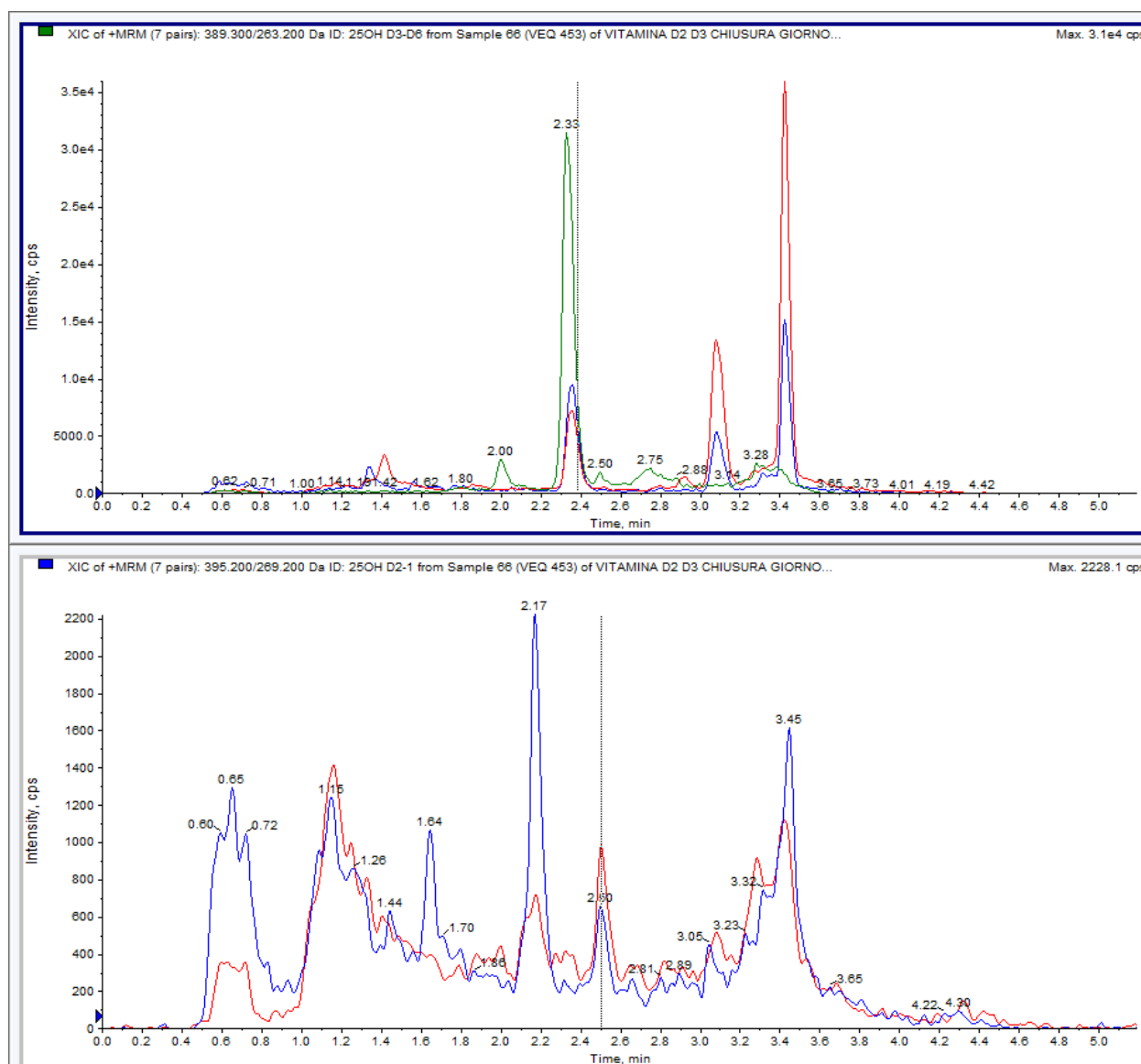


Fig.3 Campioni reali trattati per il dosaggio delle vitamine 25 OH D3 e D2. In alto ci sono i cromatogrammi relativi alla vitamina 25 OH D3 e il corrispondente standard interno. In basso i cromatogrammi della vitamina 25 OH D2.

AVVERTENZE GENERALI

1. STOCCAGGIO E DURATA DI CONSERVAZIONE

Tutti i componenti sono pronti all'uso. Sono stabili per 3 anni a $+2^{\circ}\text{C}$  $+8^{\circ}\text{C}$  tranne il Reagente A (Soluzione Deproteinizzante) e il Reagente B (Soluzione Standard Interno) che devono essere stoccati a -25°C  -15°C .

Dopo l'apertura la durata dei nostri Standard Interni è di 6 mesi se conservati a  -15 °C

2. TRATTAMENTO DELLA NUOVA COLONNA

Installare la nuova colonna analitica (RAPTOR BIPHENYL (50 x 2,1 mm - 2,7 μ m) termostata a 60°C. Disconnettere il rilevatore e far fluire una soluzione di Acetonitrile e impostare il flusso a 0,3 ml/minuto per 30 minuti. **Non riciclare le soluzioni di lavaggio.**

3. CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Condizionare la nuova Colonna analitica RAPTOR BIPHENYL (50 x 2,1 mm - 2,7 µm) con una soluzione di Fase Mobile M1: M2 (80:20) per 10 minuti al flusso di 400 µl / minuto.

Effettuare una iniezione di Acqua di grado HPLC prima di procedere con la seduta analitica.

Non è possibile effettuare analisi a ricircolo di fase. Se la temperatura ambiente è $>20^{\circ}\text{C}$,

conservare la fase mobile  da una sessione analitica all'altra.

4. PULIZIA DELLA COLONNA

Scollegare il rivelatore. Lavare la Colonna con una soluzione di fase mobile M2 al flusso di 400 µl/minute per 10 minuti. La Colonna va stoccata in una soluzione di Fase Mobile M2.

5. LAVAGGIO SIRINGA AUTOCAMPIONATORE

Lavare la siringa con Metanolo prima di usarla.

ABBREVIAZIONI

ABBREVIAZIONI	SIGNIFICATO
Es. 7 x 2 x 1 ml	N° di livelli x N° di vial x volume
Es. confezionamento dello starter kit: 3 x 1 ml	N° di vial x volume Nota: ogni vial contiene una molecola (analita o standard interno deuterato)
25-OH Vitamina D2	25-Idrossi Vitamina D2
25-OH Vitamina D3	25-Idrossi Vitamina D3
SI	Standard Interno
PZ	Pezzo/Pezzi
RT	Tempo di Ritenzione
STD DEV	Deviazione Standard

BIBLIOGRAFIA

1. Rashmi Lote-Oke *et al.* A LC–MS method for 25-hydroxy-vitamin D3 measurements from dried blood spots for an epidemiological survey in India Scientific Reports volume 10, Article number: 19873 (2020)
2. Mehrdad Yazdanpanah *et al.* Analytical measurement of serum 25-OH-vitamin D3, 25-OH-vitamin D2 and their 2 C3-epimers by LC–MS/MS in infant and pediatric specimens Clinical Biochemistry Volume 46, Issues 13–14, September 2013, Pages 1264-1271
3. Ahmet C Gören *et al.* Rapid and simultaneous determination of 25-OH-vitamin D2 and D3 in human serum by LC/MS/MS: Validation and uncertainty assessment J. Chem. Metrl. 1:1 (2007) 1-9
4. Ravinder J. Singh Quantitation of 25-OH-Vitamin D (25OHD) Using Liquid Tandem Mass Spectrometry (LC-MS-MS) Clinical Applications of Mass Spectrometry pp 509-517
5. Kornelia Galior *et al.* 10 years of 25-hydroxyvitamin-D testing by LC-MS/MS-trends in vitamin D deficiency and sufficiency Bone Reports Volume 8, June 2018, Pages 268-273
6. Jiri Adamec *et al.* Development and optimization of an LC-MS/MS-based method for simultaneous quantification of vitamin D2, vitamin D3, 25-hydroxyvitamin D2 and 25-hydroxyvitamin D3 J. Sep. Sci. 2011, 34, 11–20

NORME DI RIFERIMENTO

Sistema di **Garanzia della Qualità** conforme alle normative:

UNI CEI EN ISO 13485:2016,

UNI EN ISO 9001:2015

Ogni modifica apportata al Dispositivo Medico se non autorizzata da Eureka S.r.l. - Lab Division rende la presente dichiarazione non valida.

Si dichiara che i dispositivi in oggetto ottemperano alle seguenti **Norme Tecniche**:

UNI CEI EN ISO 14971:2012

UNI CEI EN ISO 15223-1:2017

UNI EN ISO 18113-2:2012

Si dichiara che il dispositivo in oggetto viene commercializzato in confezione non sterile.

SIMBOLI IVD

NUMERO	SIMBOLO	DESCRIZIONE
1		Fabbricante
2		Numero di catalogo
3		Avvertenze
4		Numero di lotto del prodotto
5		Utilizzare entro
6		Consultare le istruzioni per l'uso
7		Data di fabbricazione
8		Limite di temperatura
9		Per uso diagnostico <i>in vitro</i>
10		Conformità Europea
11		Confezione