

Testes de vitamina D 25-hidroxi precisos e rastreáveis num analisador de acesso aleatório

Resultados de vitamina D total completamente automatizados e altamente específicos, com um amplo intervalo de medição

Embora designada vitamina, a vitamina D é uma pró-hormona¹ com uma importância crescente nos cuidados médicos. A vitamina D promove a absorção de cálcio², reduz a inflamação e modula o crescimento celular e a função neuromuscular e imune³. Muitos genes que regulam a diferenciação e a proliferação celular são modulados, em parte, pela vitamina D⁴. Existe uma quantidade significativa de dados que ligam a deficiência de vitamina D a uma grande variedade de riscos graves para a saúde⁵, incluindo osteoporose⁶, hipertensão⁷, cancro⁸ e outras doenças⁹.

O consumo alimentar é apenas uma fonte reduzida de vitamina D; a maior fonte é a ação da luz solar sobre a pele. Existem duas (2) formas biologicamente relevantes, conhecidas como vitamina D₂ (ergocalciferol) e vitamina D₃ (colecalfiferol). A colecalfiferol é a forma biologicamente ativa¹⁰. O Thermo Scientific™ Cascadion™ SM Vitamin D mede tanto a vitamina D₂ como a vitamina D₃ e reporta a soma como vitamina D total.

Vários estudos demonstraram que até 90% da população global, dependendo da localização e da estação do ano, sofre de deficiência ou insuficiência de vitamina D^{11, 12}, tornando necessária a suplementação. A falta de consistência nos resultados complica a realização de testes. Os ensaios de vitamina D estão sujeitos a interferências de várias fontes, desde metabolitos de vitamina D a suplementos alimentares comuns¹³. Esta interferência pode camuflar a insuficiência e atrasar o tratamento necessário.

Os Centros de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) estabeleceram o método de cromatografia líquida/espectroscopia de massa em tandem (LC-MS/MS) como método de referência para os testes de vitamina D. Este método elimina as interferências e mede apenas as frações relevantes de ergocalciferol (D₂) e colecalfiferol (D₃)^{14, 15}. A desvantagem da LC-MS/MS é a dificuldade técnica e os requisitos práticos de tempo.

Para permitir a normalização das medições da vitamina D 25-hidroxi, foram estabelecidos três procedimentos de método de referência aceites e programas de normalização associados (Ghent University, CDC e NIST)¹⁶. Os critérios de desempenho exigidos por estes programas requerem um desvio médio de $\leq 5\%$ e uma imprecisão geral de $< 10\%$, num intervalo de medição de 22,5 – 275 ng/ml¹⁷. A Thermo Fisher Scientific é agora um participante ativo no Vitamin D Standardization and Certification Program (VDSCP, Programa de normalização e certificação da vitamina D).



O Cascadion SM 25-Hydroxy Vitamin D Assay é o primeiro ensaio de vitamina D 25-hidroxi LC-MS/MS a ser executado num analisador químico totalmente automático e fácil de utilizar. O ensaio maximiza a precisão medindo 100% das frações D₂ e D₃ de vitamina D 25-hidroxi e excluindo ambos os epímeros C3. A vitamina D total é reportada com os resultados D₂ e D₃ disponíveis para o utilizador e registados no software do instrumento. Os calibradores são rastreáveis às normas NIST, garantindo resultados precisos.

Generalidades

A vitamina D 25-hidroxi total é obtida medindo primeiro os resultados de vitamina D₂ 25-hidroxi e D₃ 25-hidroxi e, em seguida, adicionando-os para calcular o resultado de vitamina D 25-hidroxi total.

Composto	LOQ	Intervalo de medição analítica
Vitamina D ₂ 25-hidroxi	3,4 ng/ml (8,24 nmol/L)	3,4 ng/ml – 132 ng/ml (8,24 – 320 nmol/L)
Vitamina D ₃ 25-hidroxi	3,4 ng/ml (8,49 nmol/L)	3,4 ng/ml – 132 ng/ml (8,49 – 329 nmol/L)
Vitamina D 25-hidroxi total	3,4 ng/ml	3,4 ng/ml – 264 ng/ml



Especificidade

A especificidade do ensaio de vitamina D foi testada ao adicionar às amostras de soro ou de plasma do dador substâncias de estrutura química semelhante, substâncias que causam interferência e outras substâncias endógenas e exógenas. Os testes foram efetuados de acordo com as diretrizes do Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)¹⁸. As substâncias testadas que apresentaram um viés de <10% foram designadas como não interferentes.

Tabela A. Compostos endógenos e exógenos selecionados

Composto	Concentração de teste	Composto	Concentração de teste
Bilirrubina, conjugada e não conjugada	40 mg/dl	Biotina	3500 ng/ml
Colesterol	500 mg/dl	Ácido ascórbico	5 mg/ml
Triglicéridos	2000 mg/dl	Acetaminofeno	0,2 mg/ml
β-D-Glucose	10 mg/ml	Pantoprazol	30,0 µg/ml
Hemoglobina	1000 mg/dl	Loratadina	87,0 ng/ml
Fator reumatoide	400 UI/ml	Gamaglobulina humana, albumina humana	6 g/dl

Tabela B. Metabolitos e compostos selecionados com estruturas químicas semelhantes

Composto	Concentração de teste	Composto	Concentração de teste
1,25-(OH) ₂ Vitamina D ₂	10 ng/ml	3-Epi-1,25-(OH) ₂ Vitamina D ₂	10 ng/ml
1.25-(OH) ₂ Vitamina D ₃	10 ng/ml	3-Epi-1,25-(OH) ₂ Vitamina D ₃	10 ng/ml
Vitamina D ₂ (Ergocalciferol)	750 ng/ml	3-Epi-25-(OH) Vitamina D ₂	72,5 ng/ml
Vitamina D ₃ (Colecalciferol)	750 ng/ml	3-Epi-25-(OH) Vitamina D ₃	100 ng/ml
25(OH) Vitamina D ₂	300 ng/ml	25, 26-(OH) ₂ Vitamina D ₃	10 ng/ml
25(OH) Vitamina D ₃	300 ng/ml	Ácido cólico	12 µg/ml
24,25(OH) ₂ Vitamina D ₂	150 ng/ml	Sitagliptina	1,15 µg/ml
24,25(OH) ₂ Vitamina D ₃	150 ng/ml	Mesoridazina	3,15 µg/ml

Precisão do ensaio

A precisão foi avaliada de acordo com a norma CLSI EP05-A3 pelo software EP Evaluator¹⁹. As amostras de soro foram enriquecidas ou diluídas para fornecer seis (6) concentrações de vitamina D₂ e vitamina D₃ no intervalo de <3,7 ng/ml a 109 ng/ml. Duas réplicas de cada nível foram processadas duas vezes por dia durante 7 dias em cada um dos três (3) analisadores Cascadion. O Cascadion SM Clinical Analyzer calcula a vitamina D total como a soma de D₂ e D₃.

Analito	Amostra de teste	N	Média (ng/mL)	Repetibilidade		Entre determinações		Entre dias		Dentro do laboratório	
				SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Vitamina D ₂ 25-hidroxi	1	84	Sem concentração mensurável de vitamina D ₂ 25-hidroxi								
	6	84	Sem concentração mensurável de vitamina D ₂ 25-hidroxi								
	4	84	5.24	0.301	5.7	0.056	1.1	0.093	1.8	0.32	6.1
	2	84	26.15	0.768	2.9	0.000	0.0	0.463	1.8	0.897	3.4
	3	84	8.57	0.362	4.2	0.000	0.0	0.146	1.7	0.391	4.6
	5	84	104.54	2.562	2.5	2.101	2.0	0.000	0.0	3.313	3.2
Vitamina D ₃ 25-hidroxi	1	84	5.95	0.434	7.3	0.028	0.5	0.131	2.2	0.454	7.6
	6	84	14.13	0.597	4.2	0.155	1.1	0.282	2.0	0.678	4.8
	4	84	24.08	0.689	2.9	0.127	0.5	0.000	0.0	0.701	2.9
	2	84	29.94	0.813	2.7	0.000	0.0	0.491	1.6	0.950	3.2
	3	84	102.94	2.615	2.5	0.992	1.0	1.982	1.9	3.428	3.3
	5	84	10.07	0.507	5.0	0.000	0.0	0.239	2.4	0.561	5.6
Vitamina D 25-hidroxi total	1	84	5.95	0.434	7.3	0.028	0.5	0.131	2.2	0.454	7.6
	6	84	14.13	0.597	4.2	0.155	1.1	0.282	2.0	0.678	4.8
	4	84	29.32	0.766	2.6	0.000	0.0	0.000	0.0	0.766	2.6
	2	84	56.09	1.130	2.0	0.000	0.0	0.668	1.2	1.313	2.3
	3	84	111.51	2.676	2.4	0.825	0.7	2.057	1.8	3.474	3.1
	5	84	114.61	2.600	2.3	2.275	2.0	0.000	0.0	3.455	3.0



Principais características do produto

Material da amostra	Soro e plasma humanos
Tubos de colheita de amostras validados	16 tubos
Frequência de calibração	30 dias
Estabilidade de norma interna integrada	30 dias

- Exclui os epímeros C3, medindo apenas D₂ e D₃, com vitamina D 25-OH total reportada e os resultados D₂ e D₃ disponíveis para o utilizador
- Norma interna, controlos e calibradores prontos a usar
- Calibradores e controlos rastreáveis pelo NIST

Informações de encomenda

Item	Número do componente	Item	Número do componente
Cascadion SM 25-Hydroxy Vitamin D Calibrator Set	10018760	Probe Wash Solution 1	T001252500
Cascadion SM 25-Hydroxy Vitamin D Control 1	10018761	Probe Wash Solution 2	T001262500
Cascadion SM 25-Hydroxy Vitamin D Control 2	10018762	Probe Wash Solution 3	MB124-212
Cascadion SM 25-Hydroxy Vitamin D Control 3	10018763	Cascadion Evaporation Caps	991100
Cascadion SM 25-Hydroxy Vitamin D Internal Standard	10018764	Quick Connect Cartridge C	CH-955002
Solvent A	MB123-1	Cascadion Mass Focus Solution	990910
Solvent B	MB122-1	Sample Cup 0,5 ml 1000 PCS	989220
Solvent C	MB124-1		

Referências

1. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, et al., editors. Seção 3, Visão geral da vitamina D. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56061/>
2. Vitamin D: Fact Sheet for Professionals, Office of Dietary Supplements, National Institutes of Health, March 2018. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminD-HealthProfessional/>
3. Ibid.
4. Vitamin D found to influence over 200 genes, highlighting links to disease, Wellcome Center for Human Genetics, Nuffield Department of Medicine, Oxford University, 2010. <http://www.well.ox.ac.uk/aug-10-vitamin-d-influences-over-200-genes>.
5. Journal of Advanced Nutrition and Human Metabolism 2016; 2: e1208. doi: 10.14800/janhm.1208; © 2016 by Ram B. Jain. http://www.smartscitech.com/index.php/JANHM/article/view/1208/pdf_15
6. Vitamin D: Fact Sheet for Professionals, Office of Dietary Supplements, National Institutes of Health, March 2018. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminD-HealthProfessional/>
7. Journal of Advanced Nutrition and Human Metabolism 2016; 2: e1208. doi: 10.14800/janhm.1208; © 2016 by Ram B. Jain. http://www.smartscitech.com/index.php/JANHM/article/view/1208/pdf_15
8. Vitamin D: Fact Sheet for Professionals, Office of Dietary Supplements, National Institutes of Health, March 2018. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminD-HealthProfessional/>
9. Ibid.
10. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, et al., editors. Seção 3, Visão geral da vitamina D. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56061/>
11. J Steroid Mol Biol Oct 2014. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4018438/>
12. Ibid.
13. Lee JH, Choi J-H, Discrepancy between Vitamin D Total Immunoassays due to Various Cross-reactivities, J Bone Metab, Vol. 22, No. 3, Aug 2015. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4572031/>
14. Vesper H, Botelho J, Vitamin D Standardization Certification Program, CDC publication March 2014, https://www.cdc.gov/labstandards/pdf/hs/Vitamin_D_Protocol.pdf
15. Analytical Note for 25-Hydroxyvitamin D Data Analysis using NHANES III (1988-1994), NHANES 2001-2006, and NHANES 2007-2010 (October 2015), National Health and Nutrition Examination Survey, National Center for Health Statistics, CDC. <https://wwwn.cdc.gov/nchs/nhanes/vitamind/analyticalnote.aspx>
16. Vesper H, Botelho J, Vitamin D Standardization Certification Program, CDC publication March 2014. https://www.cdc.gov/labstandards/pdf/hs/Vitamin_D_Protocol.pdf
17. CDC Vitamin D Standardization-Certification Program (VDSCP). https://www.cdc.gov/labstandards/pdf/hs/CDC_Certified_Vitamin_D_Procedures.pdf
18. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). EP07, 3rd ed., Vol. 25, No. 27.
19. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). EP05-A3, Vol. 34, No. 13.

Saiba mais em thermofisher.com/cascadion

ThermoFisher
SCIENTIFIC

Os produtos da Thermo Fisher Scientific são distribuídos globalmente, pelo que as utilizações, aplicações e disponibilidade do produto em cada país dependem do estado de autorização local para comercialização regulamentar.

© 2019 - 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos os direitos reservados. Todas as marcas comerciais são propriedade da Thermo Fisher Scientific e respetivas subsidiárias, salvo especificação em contrário. **D19461-02-PT 112020**