

Immunozymetrischer Assay für die quantitative *In-vitro*-Bestimmung von 25-Hydroxyvitamin D₂, D₃ (25OH-D₂ und 25OH-D₃) in Serum.

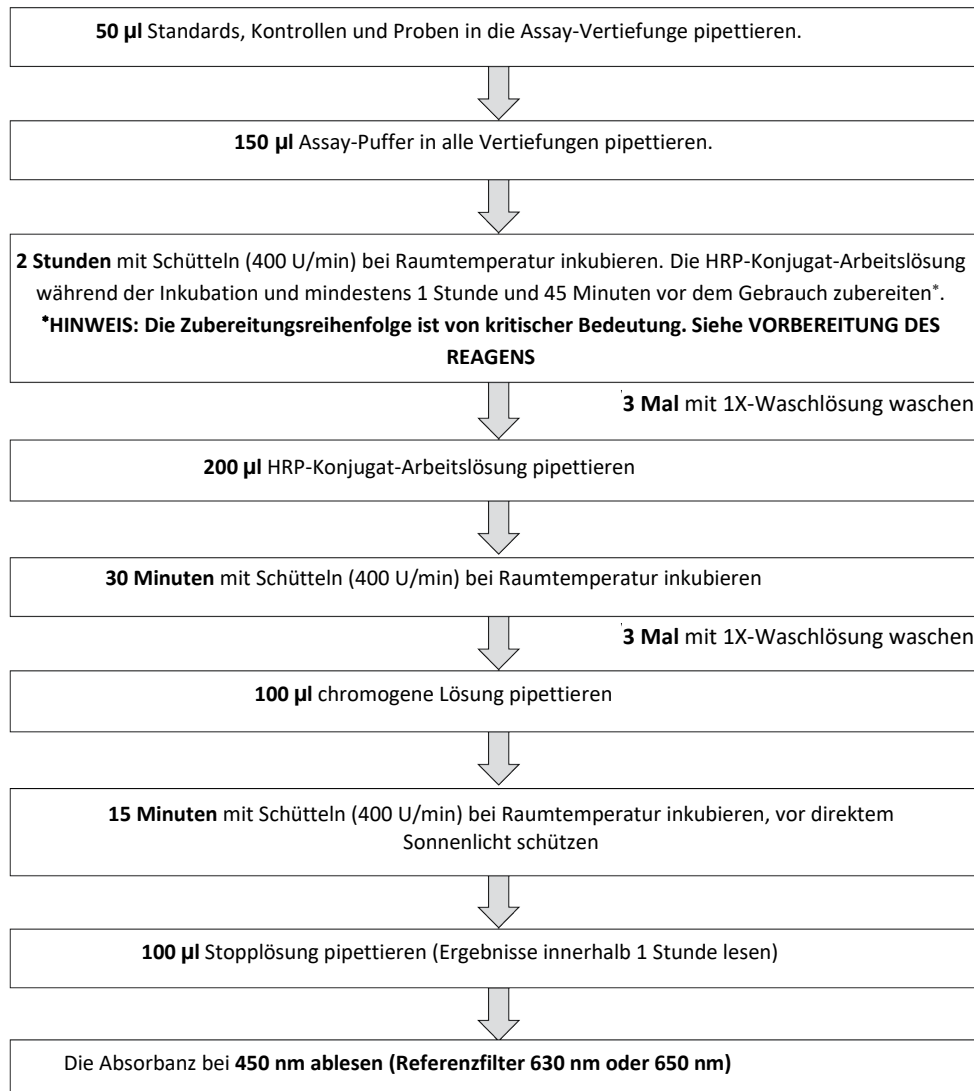
Rx ONLY

ZUSAMMENFASSUNG

Vorbereitung von Reagenzien und Proben

- Waschpufferkonzentrat 1:200 mit EI Wasser verdünnen
- Standards und Kontrollen mit entionisiertem oder destilliertem Wasser

Assay-Verfahren





VERWENDUNGSZWECK

Der MicroVue 25-OH Vitamin D EIA Test ist für die quantitative Bestimmung von 25-Hydroxyvitamin D₂ und D₃ (25OH D₂ und 25OH D₃) in Humanserum bestimmt. Die Ergebnisse sind zur Verwendung in Kombination mit anderen klinischen und Laborbefunden zu verwenden, um den Vitamin-D-Status des Patienten zu beurteilen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Vitamin D ist der Allgemeinbegriff zur Bezeichnung von Vitamin D₂ oder Ergocalciferol und Vitamin D₃ oder Cholecalciferol. Menschen stellen natürlich Vitamin D₃ her, wenn die Haut mit UV-Sonnenstrahlen in Kontakt kommt. Vitamin D₃ wird hauptsächlich in der Leber zu 25-Hydroxyvitamin D₃ (25OH D₃) verstoffwechselt, die Hauptform von Vitamin D, die im Körper zirkuliert. 25OH D₃ ist ein Vorstoff für andere Vitamin-D-Metaboliten und weist auch selbst eine begrenzte Wirkung auf. Das aktivste Derivat ist 1, 25-Hydroxyvitamin D₃, das durch die 1-Hydroxylation von 25OH D₃ in der Niere produziert wird. 25OH Vitamin D stimuliert die Aufnahme von Calcium und Phosphor im Darm sowie die Knochenresorption und -mineralisierung. 25OH Vitamin D könnte auch in anderen Geweben, die für den Calciumtransport verantwortlich sind (Plazenta, Niere, Milchdrüsen ...) und in endokrinen Drüsen (Nebenschilddrüse, Betazellen ...) aktiv sein.

Vitamin D₃ und Vitamin D₂ können auch mit der Nahrung oder über Nahrungsergänzungsmittel aufgenommen werden. Da Vitamin D₂ auf ähnliche Weise wie Vitamin D₃ verstoffwechselt wird, tragen beide zum Vitamin-D-Gesamtstatus einer Person bei. Deshalb ist es wichtig, beide Formen von 25OH Vitamin D gleichermaßen zu bestimmen, um eine korrekte Diagnose von Vitamin-D-Defizienz, -Insuffizienz oder -vergiftung zu erhalten.

Vitamin-D-Mangel ist ein bedeutender Risikofaktor für Rachitis, Osteomalazie, senile Osteoporose, Krebs und den Ausgang von Schwangerschaften. Die Messung beider Formen von 25OH Vitamin D ist auch nötig, um die Ursache auffälliger Serumcalciumkonzentrationen bei Patienten zu ermitteln. Es wurde gezeigt, dass Vitamin-D-Vergiftung zu Nieren- und Gewebeschäden führen kann.

GRUNDLAGEN DES VERFAHRENS

MicroVue 25-OH Vitamin D EIA ist ein enzymgekoppelter Festphase-Immunadsorptionstest, der auf Mikrotiterplatten durchgeführt wird. Während des ersten 2-stündigen Inkubationsschritts bei Raumtemperatur wird das gesamte in den Standards, Kontrollen und Proben vorhandene 25OH Vitamin D (D₂ und D₃) von den bindenden Serumproteinen dissoziiert und an den Anbindungsstellen eines bestimmten monoklonalen Antikörpers gebunden. Nach dem 1. Waschschrift konkurriert eine feste Menge von mit Biotin markiertem 25OH Vitamin D in Gegenwart von Meerrettichperoxidase (HRP) mit nicht markiertem 25OH Vitamin D₂ und 25OH Vitamin D₃ an den Anbindungsstellen des spezifischen monoklonalen Antikörpers. Nach einer 30-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur wird die Mikrotiterplatte gewaschen, um die Konkurrenzreaktion anzuhalten. Die chromogene Lösung (TMB) wird hinzugefügt und 15 Minuten lang inkubiert. Die Reaktion wird durch Hinzufügen der Stopplösung angehalten und die Mikrotiterplatte wird dann bei der geeigneten Wellenlänge gelesen. Die Substratumsetzungsmenge wird farbmetrisch durch Messung der Absorbanz bestimmt, die umgekehrt proportional zur Gesamtkonzentration von 25OH Vitamin D (D₂ und D₃) ist.

Es wird eine Kalibrationskurve erstellt und die Gesamtkonzentration von 25OH Vitamin D (D₂ und D₃) in den Proben wird durch eine Dosisinterpolation der Kalibrierungskurve ermittelt

BEREITGESTELLTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

MicroVue 25-OH Vitamin D EIA enthält:

A	25-OH Vitamin D Standard (Kalibrator 0) Lyophilisiert. Zero-Standard ist eine biologische Matrix (Humanplasma) mit Gentamycin und ProClin®. Mit 1 ml EI Wasser rekonstituieren.	Teil A	1 je x 1 ml (Std A)
B-F	25-OH Vitamin D Standards B-F (Kalibratoren 1-5) Lyophilisiert. Pferdeserum mit Gentamycin und Proclin®. Jedes Röhrchen mit 1 ml EI Wasser rekonstituieren.	Teil B-F	1 je x 1 ml (Std B-F)
L	25-OH Vitamin D Kontrolle (Kontrolle 1) Lyophilisiert. Humanserum mit ProClin®. Mit 1 ml EI Wasser rekonstituieren.	Teil 4219716	1 je x 1 ml
H	25-OH Vitamin D Kontrolle (Kontrolle 2) Lyophilisiert. Humanserum mit ProClin®. Mit 1 ml EI Wasser rekonstituieren.	Teil 4219717	1 je x 1 ml
1	Mikroassayplatte (Mikrotiterplatte) Mikrotiterplatte mit 96 Mab Anti-25OH Vitamin D ₂ und D ₃ beschichtete Vertiefungen.	Teil 4219708	12 x 8 Vertiefungen
2	Stopplösung Enthält 1M Salzsäure (HCl).	Teil SS04	12 ml
3	200X Waschpufferkonzentrat (Waschlösung) Enthält TRIS-HCl. Mit EI Wasser verdünnen.	Teil 4219711	10 ml
4	TMB-Substrat (Chromogene Lösung TMB) Gebrauchsfertig. Enthält 3,3',5,5'-Tetramethylbenziden (TMB).	Teil SB04	12 ml
5	Biotinyliertes 25-OH Vitamin D (konzentriertes Konjugat) 25OH konzentriertes Konjugat. Mit Rekonstitutionslösung verdünnen.	Teil von 4119703	0,3 ml
6	Konzentrierte HRP Enthält Konzentrierte HRP.	Teil 4119713	0,2 ml
7	Rekonstitutionslösung (Konjugatpuffer) Gebrauchsfertig. Konjugatpuffer mit Casein und ProClin®.	Teil 4119705	30 ml
8	Assaypuffer (Inkubationspuffer) Gebrauchsfertig. Inkubationspuffer mit Casein und ProClin®. ProClin® ist eine eingetragene Marke von Rohm and Haas Company.	Teil 4219713	20 ml

Hinweis: Verwenden Sie die 25-OH Vitamin D niedrige Kontrolle (Kontrolle 1) oder eine Serumprobe, die zuvor quantifiziert wurde und eine 25-OH-Konzentration von weniger als (<) 25 ng/ml und mehr als (>) 4,4 ng/ml hat, um Proben zu verdünnen, deren Werte über dem höchsten Standard liegen.

Verwenden Sie Kontrolle 1 oder die geeignete Serumprobe, um Proben mit hohen Konzentrationen 2X zu verdünnen. Berücksichtigen Sie die berechnete Konzentration von Kontrolle 1 oder der entsprechenden Serumprobe bei der Berechnung des Verdünnungsergebnisses.

Berechnungen für verdünnte Proben:

Probenwert = (gemessener Wert – F1 * gemessene Kontrolle 1) / F2

Wobei die Werte für F1 und F2 wie folgt lauten:

- Proben 2X verdünnt, F1 = 0,5; F2 = 0,5
- Probe 4X verdünnt, F1 = 0,75; F2 = 0,25
- Probe 8X verdünnt, F1 = 0,875; F2 = 0,125

Beispiel:

Eine Probe aus der Kalibrierungskurve wird mit Kontrolle 1 4X verdünnt und wird mit 70 ng/ml gemessen. Kontrolle 1 wird beim selben Durchlauf mit 20 ng/ml gemessen.

Verdünnung 4X, F1 = 0,75; F2 = 0,25

Berechneter Wert der Probe = $(70 - 0,75 \cdot 20) / 0,25 = 220$ ng/ml

Es steht kein internationales Referenzmaterial zur Verfügung.

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Folgende Materialien werden benötigt, sind jedoch nicht im Kit enthalten:

- Entionisiertes oder destilliertes Wasser
- Pipetten zur Abgabe von: 50 µl, 150 µl, 200 µl und 1 ml (es wird empfohlen, akkurate Pipetten mit Einweg-Kunststoffspitzen zu verwenden)
- Vortexmischer
- Magnetisches Rührgerät
- Plattenschüttler (400 U/min)
- Waschgerät für Mikroassayplatten
- Mikroassayplatten-Lesegerät, das mit Wellenlängen von 450 nm und 650 nm oder 630 nm lesen kann (bichromatisches Auslesen)

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Sicherheit

- Nur für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik.
- Die Humanblutkomponenten in diesem Kit wurden von in Europa und/oder von der FDA genehmigten Methoden getestet und zeigten Ergebnisse, die negativ für HBsAg, Anti-HIV-1 und 2 waren. Es ist keine Methode bekannt, mit der absolut gewährleistet werden kann, dass aus Humanblut gewonnene Derivate keine Hepatitis-, AIDS- oder andere Infektionen übertragen werden. Deshalb müssen bei der Handhabung von Reagenzien, Serum oder Plasmaproben die örtlichen Sicherheitsverfahren befolgt werden.
- Alle Tierprodukte und -derivate wurden von gesunden Tieren abgenommen. Rinderkomponenten stammen aus Ländern, in denen keine BSE bekannt ist. Trotzdem sind Komponenten, die Tiersubstanzen enthalten, als potenziell infektiös behandelt werden.
- Vermeiden Sie Hautkontakt mit allen Reagenzien. Die Stopplösung enthält HCl. Wenn es doch zu einem Kontakt kommt, die Stelle gründlich mit Wasser spülen.
- Im Arbeitsbereich nicht rauchen, trinken, essen oder Kosmetika auftragen. Nicht mit dem Mund pipettieren. Schutzkleidung und Einweghandschuhe tragen.
- Tests müssen in einer Umgebung mit ausreichender Belüftung durchgeführt werden.
- Behälter und ungebrauchte Inhalte gemäß den staatlichen, bundesstaatlichen und örtlichen behördlichen Anforderungen entsorgen.
- Beim Umgang mit den Inhalten dieses Kits geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.

- Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
- Bitte lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDB) auf quidel.com, um weitere Informationen zu Gefahrensymbolen, Sicherheit, Handhabung und Entsorgung der Komponenten in diesem Kit zu erhalten.

AUFBEWAHRUNG

- Bevor sie geöffnet oder rekonstituiert werden, sind alle Kitkomponenten bei Aufbewahrung zwischen 2 °C und 8 °C bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett haltbar.
- Nach der Rekonstitution sind die Standards und Kontrollen bei 2 °C bis 8 °C acht Wochen lang haltbar. Zur längeren Aufbewahrung sollten Aliquote angefertigt und maximal 4 Monate lang bei –20 °C aufbewahrt werden. Wiederholte Einfrier-/Auftauzyklen vermeiden.
- Frisch zubereitete Arbeitswaschlösung ist noch am selben Tag zu verbrauchen.
- Die Veränderung des Aussehens von Kitreagenzien können anzeigen, dass die Substanz verfallen oder ihre Qualität gemindert ist.

ANSETZEN VON REAGENZIEN

Waschpuffer

Bereiten Sie ein ausreichendes Volumen der Arbeitswaschlösung vor, indem Sie 199 Volumen EI Wasser zu 1 Volumen Waschlösung hinzugeben (200X). Homogenisieren Sie die Lösung mit einem magnetischen Rührgerät. Unverbrauchte Waschlösung muss am Ende des Tages entsorgt werden.

Standards

Rekonstituieren Sie die Standards A-F mit 1 ml destilliertem Wasser.

Kontrollen

Rekonstituieren Sie die Kontrollen mit 1 ml destilliertem Wasser.

HRP-Konjugat-Arbeitslösung

Die HRP-Konjugat-Arbeitslösung muss während der 2-stündigen Inkubation und mindestens 1 Stunde und 45 Minuten vor dem Gebrauch zubereitet werden.

Bereiten Sie ein ausreichendes Volumen HRP-Konjugat-Arbeitslösung vor, indem Sie drei (3) Reagenzien in der folgenden Reihenfolge mischen:

1. Rekonstitutionslösung (Konjugatpuffer)
2. Biotinyliertes 25-OH Vitamin D (konzentriertes Konjugat)
3. Vortexen
4. Konzentrierte HRP
5. Vortexen

Die Reihenfolge, in der die drei (3) Reagenzien hinzugefügt werden, ist von kritischer Bedeutung und muss streng eingehalten werden, um reproduzierbare optische Dichten zu erhalten.

Bereiten Sie wie unten beschrieben je nach Anzahl der verwendeten Streifen ein ausreichendes Volumen HRP-Konjugat-Arbeitslösung zu.

- Z. B. für 6 Streifen (48 Nöpfchen): 100 µl konzentriertes Konjugat und 50 µl konzentrierte HRP zu 10 ml Konjugatpuffer.
- Homogenisieren Sie die Mischung mit einem Vortexmischer.
- Bewahren Sie die HRP-Konjugat-Arbeitslösung bis zur Verwendung bei Raumtemperatur auf und vermeiden Sie direktes Sonnenlicht oder verwenden Sie für die Zubereitung ein braunes Glasröhrchen.

- Die Zubereitung von HRP-Konjugat-Arbeitslösung ist nicht stabil und muss entsorgt werden, wenn sie nicht verwendet wird.

Anzahl der Streifen	Volumen der Rekonstitutionslösung (ml)	Volumen des biotinylierten 25OH Vitamin D (µl)	Volumen der konzentrierte HRP (µl)
1	3	30	15
2	5	50	25
3	6	60 %	30
4	8	80	40
5	9	90	45
6	10	100	50
7	12	120	60
8	14	140	70
9	16	160	80
10	18	180	90
11	20	200	100
12	22	220	110

ENTNAHME UND AUFBEWAHRUNG VON PROBEN

Dieses Kit ist für Serumproben geeignet.

Serumproben müssen bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt werden.

Wenn der Test nicht innerhalb von 24 Stunden stattfindet, wird eine Probenahme und Aufbewahrung bei – 20 °C empfohlen.

Wiederholte Einfrier-/Auftauzyklen vermeiden.

ASSAY-VERFAHREN

Hinweise zur Handhabung

- Verwenden Sie das Kit und die Komponenten nicht nach dem Verfallsdatum.
- Verwenden Sie Materialien aus unterschiedlichen Kitchargen nicht zusammen.
- Lassen Sie alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen.
- Mischen Sie alle Reagenzien und Proben durch sanftes Rühren oder Schwenken.
- Bearbeiten Sie Standards, Kontrollen und Proben doppelt. Eine vertikale Ausrichtung wird empfohlen.
- Verwenden Sie für die Zubereitung der Waschlösung einen sauberen Kunststoffbehälter.
- Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, verwenden Sie zum Hinzufügen jedes Reagenz und jeder Probe eine saubere Einweg-Pipettenspitze.
- Verwenden Sie zur Abgabe des TMB-Substrats und der Stopplösung keine Pipetten mit Metallteilen.
- Hochpräzisionspipetten oder automatische Pipettiergeräte verbessern die Präzision.
- Halten Sie die Inkubationszeiten ein.
 - **Um Drift zu vermeiden, muss die Zeit zwischen dem ersten Standard und der letzten Probe auf die Zeit beschränkt werden, die unter *SPEZIFIZITÄT* (Zeitspanne) angegeben ist.**
- Erstellen Sie eine Standardkurve für jeden Durchlauf; verwenden Sie keine Daten von früheren Durchläufen.
- Geben Sie das TMB-Substrat innerhalb von 15 Minuten nach dem Waschen der Mikroassayplatte ab.
- Vermeiden Sie während der Inkubation des TMB-Substrats direktes Sonnenlicht auf der Mikroassayplatte.

Verfahren

1. Wählen Sie die erforderliche Anzahl von Mikroassayplatten-Streifen für den Durchlauf. Nicht verwendete Mikroassayplatten-Streifen müssen wieder in dem Beutel mit dem Trockenmittel verschlossen und bei 2 °C bis 8 °C aufbewahrt werden.
2. Befestigen Sie die Streifen im Halterahmen.
3. Pipettieren Sie je 50 µl des Standards, der Kontrolle und der Probe in die entsprechenden Vertiefungen.
4. 150 µl Assay-Puffer in alle Vertiefungen pipettieren.
5. Inkubieren Sie die Materialien 2 Stunden bei Raumtemperatur auf einem Plattenschüttler (400 U/min).
6. Bereiten Sie nach Beginn der Inkubation (innerhalb von 15 Minuten) die HRP-Konjugat-Arbeitslösung vor.
7. Ziehen Sie die Flüssigkeit aus jeder Vertiefung auf.
8. Waschen Sie die Platte 3 Mal, indem Sie:
 - in jede Vertiefung 0,35 ml Waschlösung pipettieren
 - den Inhalt jeder Vertiefung aufziehen
9. 200 µl der HRP-Konjugat-Arbeitslösung in jede Vertiefung pipettieren. Inkubieren Sie die Microassay-Platte 30 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Plattenschüttler (400 U/min).
10. Die Flüssigkeit aus jeder Vertiefung aufziehen.
11. Waschen Sie die Platte 3 Mal, indem Sie:
 - in jede Vertiefung 0,35 ml Waschlösung pipettieren
 - den Inhalt jeder Vertiefung aufziehen
12. Pipettieren Sie innerhalb von 15 Minuten nach dem Waschschrift 100 µl des TMB-Substrats in jede Vertiefung.
13. Inkubieren Sie die Microassay-Platte 15 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Plattenschüttler (400 U/min).
14. Pipettieren Sie 100 µl Stopplösung in jede Vertiefung.
15. Lesen Sie die Absorbanzen bei 450 nm (Referenzfilter 630 nm oder 650) innerhalb 1 Stunde und berechnen Sie die Ergebnisse wie im Abschnitt „Interpretation der Ergebnisse“ beschrieben.

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

- Wenn die Ergebnisse der Kontrolle L und/oder Kontrolle H nicht innerhalb des Bereichs liegen, der im Kit-CoA angegeben ist, können die Ergebnisse nicht verwendet werden, es sei denn, dass eine ausreichende Erklärung der Abweichung vorliegt.
- Falls gewünscht, kann jedes Labor seine eigenen Kontrollproben-Pools anfertigen. Diese sollten in Aliquoten eingefroren aufbewahrt werden. Kontrollen, die Azide enthalten, beeinträchtigen die enzymatische Reaktion und können deshalb nicht verwendet werden.
- Die Akzeptanzkriterien für den Unterschied zwischen doppelten Ergebnissen sollten sich an der guten Laborpraxis orientieren.
- Es wird empfohlen, die Kontrollen regelmäßig als unbekannte Proben zu testen, um die Variabilität des Tests zu messen. Die Leistung des Tests ist mit Qualitätskontrolldiagrammen der Kontrollen zu überwachen.
- Es gehört zur guten Praxis, die Passung der vom Computer gewählten Kurve visuell zu prüfen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Berechnung der Ergebnisse

1. Lesen Sie die Platte bei 450 nm gegen einen Referenzfilter, der auf 650 nm (oder 630 nm) eingestellt ist.
2. Berechnen Sie den Mittelwert doppelter Tests.
3. Stellen Sie die OD-Werte für jeden Standardpunkt als Funktion der 25OH Vitamin-D-Konzentration auf linear-linear oder halblogarithmischem Papier dar. Verwerfen Sie offensichtliche Ausreißer.

4. Zur Erstellung der Kalibrationskurve können auch computergestützte Methoden verwendet werden. Wenn die Ergebnisse automatisch verarbeitet werden, wird eine logistische 4-Parameter-Funktionskurvенеinpassung empfohlen.
5. Bestimmen Sie die 25OH Vitamin-D-Konzentrationen der Proben anhand der Kalibrationskurve durch Interpolation der OD-Werte der Proben.

TYPISCHE DATEN

Die folgenden Daten dienen nur zur Veranschaulichung und sollten auf keinen Fall an Stelle der Echtzeitkalibrationskurve verwendet werden.

Standard	Absorbanz (OD)	Ergebnis (ng/ml)
A	2,66	0
B	2.39	5,3
C	1,83	15
T	1,46	25,7
E	0,81	54.3
F	0,21	133

ERWARTETE WERTE

Es ist bekannt, dass die Aufnahme über die Nahrung, Rasse, Jahreszeit und Alter den normalen 25OH Vitamin D₃-Spiegel beeinflussen. Jedes Labor sollte seinen eigenen Bereich für die örtliche Population festlegen. Eine Prüfung der aktuellen Literatur deutet auf die folgenden Bereiche zur Klassifizierung des 25OH Vitamin-D-Status hin:

Spiegel	ng/ml
Mangel	<10
Ungenügend	10-29
Genügend	30-100
Potenzielle Toxizität	>100

REFERENZBEREICH

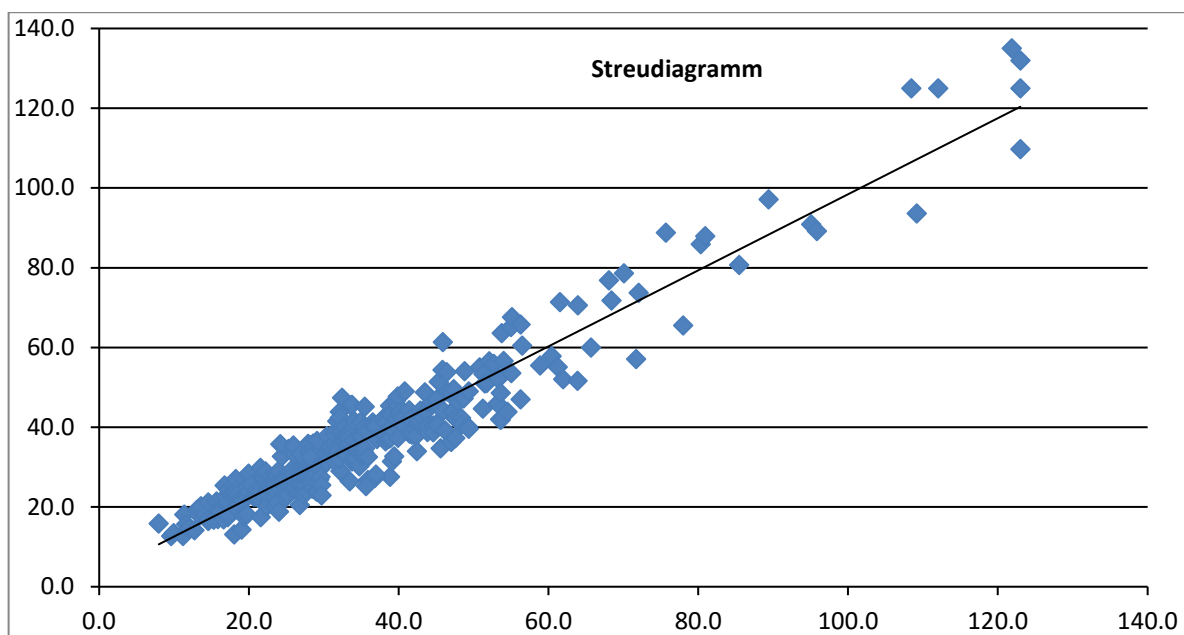
Referenzbereiche wurden anhand von 150 offenbar gesunden Personen aufgestellt. Die verwendeten Einzelproben von Patienten wurden aus zertifizierten gewerblichen Quellen bezogen und wurden an von der FDA lizenzierten Spenderzentren unter Einholung von Einwilligungserklärungen abgenommen. 50 Proben stammen aus dem Norden der USA (Pennsylvania), 50 Proben stammen aus der Mitte der USA (Tennessee) und 50 Proben stammen aus dem Süden der USA (Florida). Die Proben wurden in den Wintermonaten (Januar - März) bei Personen im Alter von 21-92 Jahren entnommen und sowohl von hell- als auch dunkelhäutigen Populationen. Die Personen, von denen die Proben stammen, nahmen keine Vitamin-D-Ergänzungsprodukte ein, hatten keine Nebennieren- oder Kalziumregulationsstörungen in der Familiengeschichte, hatten keine Nieren-, Leber- oder Nebennierenerkrankungen, keine kalziumbezogenen Störungen oder bariatrische Chirurgie in der Krankengeschichte und nahmen keine Medikamente ein, von denen bekannt ist, dass sie die Absorption und den Abbau von Vitamin D beeinflussen. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Konzentration	Florida	Tennessee	Pennsylvania	Gesamt
Höchste Konz. (ng/ml)	88,6	71,7	54,6	88,6
Geringste Konz. (ng/ml)	6,1	4,9	5,9	4,9
Mediane Konz. (ng/ml)	20,8 %	17,2	14,3 %	17,3

Es wurden nur die mittleren 95 % (2,5 % - 97,5 %) der beobachteten Ergebnisse verwendet.

METHODENVERGLEICH

Die Leistung des MicroVue 25-OH Vitamin D EIA Tests wurde mithilfe einer Korrelationsstudie an drei verschiedenen Standorten an insgesamt 356 Proben bestimmt. Die Proben wurden sowohl mit dem MicroVue 25-OH Vitamin D EIA Test und einem gewerblichen 25OH Vitamin D EIA Test geprüft. Die Ergebnisse reichten von 8,0 ng/ml bis 123,0 ng/ml, der Korrelationskoeffizient zwischen den beiden Methoden betrug 0,917, mit einem 95%igen Konfidenzintervall von 87,6 % bis 93,6 %, einer Steigung von 0,954 und einem y-Achsenabschnitt von 3,05. Die Ergebnisse sind in den folgenden Diagrammen zusammengefasst:



LEISTUNG DES TESTS

Grenzen des Tests

1. Der Test dient als Diagnosehilfe zur Verwendung zusammen mit klinischen Befunden.
2. Die Leistung dieses Assays in der pädiatrischen Population ist nicht nachgewiesen.
3. Proben, bei denen der Verdacht besteht, dass ihre Konzentration über dem des höchsten Kalibrators liegt, sollten verdünnt getestet werden.
4. Es dürfen keine hämolyseren Proben verwendet werden.

Nachweisgrenzen

Die höchste Nullwertgrenze (LOB), die Nachweisgrenze (LOD) und die Quantifizierungsgrenze (LOQ), wurden entsprechend der CLSI-Richtlinie EP17-A ermittelt.

- Die LOB wurde durch mehrmalige Messung der Nullgrenze und Berechnung des 95. Perzentils der Streuung der Testwerte berechnet. Die LOB wurde mit 1,69 ng/ml berechnet.
- Die LOD wurde wie in der Richtlinie beschrieben berechnet. Die LOD wurde mit 2,81 ng/ml berechnet.
- Die LOQ wurde durch Testen von 5 Proben mit niedrigem Wert 14 Mal in unterschiedlichen Tests berechnet.
- Die LDQ wurde mit 4,39 ng/ml mit einem CV von SK von 20 % berechnet.

SPEZIFIZITÄT

Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität des MicroVue 25-OH Vitamin D EIA wurde durch Testen von Seren mit dotierten und nicht dotierten Kreuzreagenzien getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Substanz und Konzentration	% Kreuzreaktion
25 OH-Vitamin D ₃ bei 10 ng/ml	100
25 OH-Vitamin D ₂ bei 10 ng/ml	86
1, 25(OH) ₂ -Vitamin D ₃ bei 200 ng/ml	20
1, 25(OH) ₂ -Vitamin D ₂ bei 690 ng/ml	1,9
Vitamin D ₃ bei 200 ng/ml	2,9
Vitamin D ₂ bei 200 ng/ml	1,3
24,25(OH) ₂ -Vitamin D ₃ bei 20 ng/ml	>100
25,26(OH) ₂ -Vitamin D ₃ bei 4 ng/ml	>100
3-epi-25OH-Vitamin D ₃ bei 20 µg/ml	0,1

Störsubstanzen

Die Wirkung von potenziell störenden Substanzen auf Proben bei Verwendung des MicroVue 25-OH Vitamin D EIA Tests wurde beurteilt. Unterschiedliche Konzentrationen von Hämoglobin, Bilirubin, Triglycerid, Vitamin C, konjugiertem und unkonjugiertem Bilirubin und Zemplar in Serumproben wurden an Proben mit verschiedenen 25OH Vitamin-D-Konzentrationen getestet. Unsere Akzeptanzkriterien sollten eine Interferenz von weniger als 10 % aufweisen. Die getesteten Substanzen hatten keinen Einfluss auf die Leistung des MicroVue 25-OH Vitamin D EIA Tests.

Substanz	25OH Vitamin D (ng/ml)	Konzentration des Interferenten (mg/dl)	Mittlere Variation in %
Hämoglobin	7,6	250	0,6 %
		500	

Substanz	25OH Vitamin D (ng/ml)	Konzentration des Interferenten (mg/dl)	Mittlere Variation in %
	29,3	250	
		500	
	42,5	250	
		500	
Konjugiertes Bilirubin	6,0	50	-3,4 %
		100	
	21,5	50	
		100	
	38,6	50	
		100	
Unkonjugiertes Bilirubin	7,6	50	2,5 %
		100	
	29,3	50	
		100	
	42,5	50	
		100	
Triglyzerid	7,6	7,5	-4,3 %
		125	
		250	
		500	
	29,3	7,5	
		125	
		250	
		500	
	42,5	7,5	
		125	
		250	
		500	
Vitamin C	6,0	1	2,5 %
		10	
		100	
	21,5	1	
		10	
		100	
	38,6	1	
		10	
		100	
Biotin	8,7	0,2	4,7 %
		2	
		4	
	19,8	0,2	
		2	
		4	
	36,1	0,2	
		2	

Substanz	25OH Vitamin D (ng/ml)	Konzentration des Interferenten (mg/dl)	Mittlere Variation in %
		4	
Zemplar	17,6	0,0013	-4,4 %
		0,0025	
		0,0050	
	33,5	0,0013	
		0,0025	
		0,0050	

Genauigkeit

Die Testpräzision wurde durch die Bearbeitung von Proben für mindestens 20 Tage in drei verschiedenen Chargen berechnet. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst.

Intra-Assay				Inter-Assay			
Probe	N	<X> ± SD (ng/ml)	SK (%)	Probe	N	<X> ± SD (ng/ml)	SK (%)
A	24	5,5 ± 0,4	7,8	A	39	17,7 ± 1,3	7,4
B	35	27,4 ± 1,5	%	B	10	26,3 ± 1,2	4,7
C	35	43,0 ± 1,2	5,7	C	10	42,1 ± 1,8	4,3
T	24	81,2 ± 2,0	2,7	T	21	85,4 ± 7,8	9,2
			2,5				

SD: Standardabweichung, SK: Streuungskoeffizient

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Assays wurde durch doppeltes Testen von drei Proben für fünf Tage, zweimal pro Tag an drei Standorten mit zwei Labortechnikern pro Standort ermittelt. Die mittleren Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Probe	n	ng/ml		Innerhalb des Laufs	Zwischen den Läufen	Zwischen den Tagen	Zwischen den Labortechnikern	Zwischen den Standorten	Gesamt
1	57	25,5	SD	0,22	0,61	0,98	1,54	2,21	2,59
			SK	0,3 %	0,9 %	3,8 %	6,0 %	8,7 %	10,2 %
2	57	52,9	SD	0,64	1,57%	1,11%	2,28	4,29	5,19
			SK	0,9 %	2,3%	2,1%	4,3 %	8,1 %	9,8 %
3	57	124,9	SD	1,00	1,74	1,84	3,39	4,98	6,25
			SK	1,4 %	2,5 %	1,5 %	2,7 %	4,0 %	5,0 %

Rückgewinnung

Die Rückgewinnung wurde durch Hinzufügen unterschiedlicher Konzentrationen von 25OH Vitamin D in die Proben ermittelt. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst:

Rückgewinnungstest	
Hinzugefügtes 25OH-Vit D ₃ (ng/ml)	Rückgewinnung (%)
0	100
25	96
50	92
Hinzugefügtes 25OH-Vit D ₂ (ng/ml)	Rückgewinnung (%)
0	100
25	105
50	95 %

Linearität

Eine Probe mit einer Konzentration, die bekannterweise über den gesamten messbaren Bereich verteilt ist, wurde mit abstandsgleichen Konzentrationen nach dem Probenverdünnungsprotokoll getestet, um den linearen Bereich des Assays zu ermitteln. Es wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Probenverdünnung		Theoretische Konzentration (ng/ml)	Gemessene Konzentration (ng/ml)	Steigung	y-Schnittpunkt	R ²	Rückgewinnung (%)
1/1		101,8	101,8	1,02	-1,91	>0,98	100
1/2	Mit Kontrolle 1 bei 27,1 ng/ml getestet.	64,4	62,9				98
1/4		45,7	52,0				114
1/8		36,4	34,8				96
1/16		31,7	33,6				106

Der lineare Bereich des Assays wurde als 33,6 ng/ml bis 101,8 ng/ml ermittelt.

Zeitspanne

Die Zeitspanne zwischen den Ergebnissen der Ausgabe des letzten Standards und der letzten Probe ist in der nachstehenden Tabelle gezeigt.

Zeitspanne			
	0 min (ng/ml)	10 min (ng/ml)	20 min (ng/ml)
Probe 1	27,9	30,5	30,2
Probe 2	49,5	47,5	49,0

Die Assay-Ergebnisse bleiben selbst dann akkurat, wenn der Assay-Puffer 10 und 20 Minuten nach Hinzufügen des Standards zu den beschichteten Nöpfchen abgegeben wird.

HILFE

Zum Bestellen oder für technischen Support wenden Sie sich bitte an einen Vertreter von Quidel unter 800 874 1517 (in den USA) oder 858 552 1100 (außerhalb der USA), Montag bis Freitag von 8.00 bis 17.00 Uhr Ostküstenzeit. Bestellungen können auch per Fax unter 740 592 9820 getätigt werden. Unterstützung per E-Mail erhalten Sie unter customerservice@quidel.com oder technicalsupport@quidel.com.

Für Services außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihren lokalen Vertragshändler. Zusätzliche Informationen zu Quidel, unseren Produkten und unseren Vertragshändlern finden Sie auf unserer Website unter quidel.com.

LITERATUR

1. Zerwekh, J.E. Blood biomarkers of Vitamin D status. *Am. J. Clin. Nutr.* 2008; 87(suppl):1087S-1091S.
2. Holick, M.F. Resurrection of Vitamin D deficiency and rickets. *J. Clin. Invest.* 2006; 116:2062-2072.
3. Heaney, R.P. VitaminD: how much do we need and how much is too much. *Osteoporos. Int.* 2000; 11(7) 553-555.
4. Dawson-Hughes B., Heaney R.P., Holick M.F., Lips P., Meunier P.J. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos. Int.*, 1997; 7:439-443.
5. Bischoff-Ferrari, H.A., Giovannucci, E., Willett, W.C., Dietrich, T., Dawson-Hughes, B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006; 84(1):18-28.
6. Holick, M.F. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 80(6 suppl):1678S-1688S.
7. Heaney, R.P. Defining deficiency of vitamin D. In: *Clinical Laboratory International*. 2010; 34:16-19.
8. Holick, M.F. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.* 2007; 357(3):266-281.
9. Taha, N.M., Vieth, R. The problem of an optimal target level for 25-Hydroxyvitamin D, the test for vitamin D nutritional status. In: *Clinical Laboratory International*. 2010; 34:28-30.
10. Holick, M.F. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann. Epidemiol.*, 2009;19:73-78.
11. National Osteoporosis Foundation Prevention – Vitamin D.
<http://www.nof.org/aboutosteoporosis/prevention/vitamins>
12. EP17-A Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation (EP17-A Protokolle für die Bestimmung der Nachweis- und Quantifizierungsgrenzen); Genehmigte Richtlinie, STANDARD veröffentlicht durch das Clinical and Laboratory Standards Institute.

REF

8046 – MicroVue 25-OH Vitamin D EIA Kit

IVD



MDSS GmbH
 Schiffgraben 41
 30175 Hannover
 Deutschland



Quidel Corporation
 2005 East State Street, Suite 100
 Athens, OH 45701, USA
quidel.com

PI8046002DE00 (11/19)

Revisionsänderungen:	Beschreibung
PI8046000EN00	Erstausgabe für die Quidel Corporation.
PI8046001EN00	<ol style="list-style-type: none"> 1. Test hinzugefügt zur Klärung der Verfahrensschritte zur Zubereitung der „HRP-Konjugat-Arbeitslösung“. 2. Verwendetes Volumen der Rekonstitutionslösung (Konjugatpuffer, Artikelnr. 411913) zur Tabelle zur Zubereitung der HRP-Konjugat-Arbeitslösung hinzugefügt. 3. Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ aktualisiert.
PI8046002EN00	<ol style="list-style-type: none"> 1. Optimierte Formulierung des Zero-Standards A (CAL A). 2. Änderung der Verdünnung von Proben von Verwendung von Standard A (CAL A) entweder zu Kontrolle 1 (Artikelnr. 4219716) oder einer anderen Serumprobe mit bekannter Konzentration. 3. Linearer Leistungsbereich von 7,7 bis 122,9 ng/ml zu 33,6 bis 101,8 ng/ml geändert. 4. Optimierte Konjugatkonzentration, die zu einer Volumenänderung von 0,4 zu 0,3 ml führt. 5. Die U/min zum Schütteln der Platte von 300 bis 700 U/min auf 400 U/min geändert, alle Schritte mit Plattenschütteln. 6. Platten-„Wasch“-Volumen für alle Waschschrte von 0,4 ml auf 0,35 ml geändert. 7. Neue Etikettierungskomponenten, um den Volumenänderungen der Folgenden zu entsprechen: <ol style="list-style-type: none"> a. CAL A-F (Standard A-F), rekonstituieren (RCNS) 1 ml b. Part 4119703 – Biotinyliertes 25-OH Vitamin D (konzentriertes Konjugat), 0,3-ml c. Teil 4219716 - Kontrolle 1, rekonstituieren (RCNS) 1 ml d. Teil 4219717 - Kontrolle 2, rekonstituieren (RCNS) 1 ml

GLOSSAR

REF

Katalognummer



CE-Konformitätszeichen

EC REP

Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft

LOT

Chargenbezeichnung



Verwendbar



Hersteller



Temperaturbegrenzung



Verwendungszweck

Rx ONLY

Verschreibungspflichtig



Für die Verwendung Anleitungen der digitalen Kennzeichnung beachten

IVD

Für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik



Inhalt reicht für 96 Bestimmungen

CONT

Inhalte/enthält

CONTROL

Kontrolle
