AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® 25OH Vitamin D

Ref 3810

CE | Σ 96 | 2°C – 8°C | IVD | eIFU WWW.AESKU.COM

Gebrauchsanweisung

Inhaltsverzeichnis

1 Zweckbestimmung 1
2 Klinische Anwendung und Testprinzip 1
3 KIT Bestandteile 2
4 Lagerung und Haltbarkeit 2
5 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen 3
6 Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung 4
7 Testdurchführung 4
8 Berechnung der Ergebnisse 8
9 Technische Daten 9
10 Testdaten/Testcharakteristik 10
11 Entsorgung 11
12 Literatur 12
13 Regulatorische Symbole 13

Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

1 Zweckbestimmung

Der ***AESKULISA®* 25OH Vitamin D** ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von 25-Hydroxyvitamin D und anderen hydroxylierten Metaboliten in humanem Serum. Der Test dient zur Überprüfung des Vitamin D Gesamtstatus.

2 Klinische Anwendung und Testprinzip

Vitamin D ist ein wichtiges Steroidhormon, das für seine Bedeutung in der Kalziumhomöostase und dem Knochenstoffwechsel bekannt ist. Darüber hinaus ist es an einer Reihe physiologischer Vorgänge beteiligt. Unzureichende Vitamin D-Werte werden mit Skeletterkrankungen wie Rachitis, Osteoporose und Osteomalazie in Verbindung gebracht. Neueste Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen Vitamin D-Mangel und einer Reihe nicht skelettbezogener Störungen, insbesondere Herz-Kreislauferkrankungen, Autoimmun- und Infektionskrankheiten, Diabetes und Krebs. Eine Vitamin D-Intoxikation tritt sehr selten auf, kann aber zu Gefäß- und Gewebeverkalkungen mit Folgeschäden an Herz, Blutgefäßen und Nieren führen. In der Schwangerschaft kann ein Vitamin D-Mangel die Prädisposition des Fötus beeinflussen, später chronische Erkrankungen zu entwickeln.
Es gibt zwei isomerische Formen von Vitamin D, Vitamin D_2 (Ergocalciferol) und Vitamin D_3 (Cholecalciferol). Während Nahrungsmittel wie fetter Fisch und Milchprodukte beide Formen beinhalten, wird Vitamin D_3 zusätzlich durch Sonnenbestrahlung in der Haut produziert. Es wird in der Leber in 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D) umgewandelt, das die hauptsächlich zirkulierende Form ist. Die beiden zirkulierenden Typen Vitamin D und 25(OH)D werden an das Vitamin-D-bindende Protein (VDBP) gebunden. 25(OH)D ist jedoch biologisch inaktiv und muss in den Nieren durch einen streng geregelten Mechanismus in seine biologisch aktive Form 1,25-Dihydroxyvitamin D ($1,25(OH)_2D$) umgewandelt werden.
Der Serumgehalt von 25-Hydroxyvitamin D (der D_2 und/oder D_3 abbildet) wird allgemein als nützlicher Biomarker zur Bestimmung des Vitamin-D-Status (Mangel, Insuffizienz, Suffizienz und Intoxikation) und als Therapiekontrolle verwendet. Weltweite Studien haben ergeben, dass schätzungsweise 1 Milliarde Menschen Vitamin-D-Werte unter dem Normbereich aufweisen. Besonders Menschen, die selten in der Sonne sind (chronisch Kranke oder pflegebedürftige Menschen, ethnische und religiöse Gruppen mit Ganzkörperbekleidung), Menschen nicht weißer Hautfarbe und Babys stellen Risikogruppen für Vitamin-D-Mangel dar.
Zur Bestimmung der 25-Hydroxyvitamin-D-Mengen werden routinemäßig Methoden wie die Flüssigchromatographie, Massenspektrometrie, Radioimmunassays, Enzymimmunoassays, kostengünstige Proteinbindeassays und Chemilumineszenz-Immunoassays verwendet.

Testprinzip

Die jeweiligen Kalibratoren, Kontrollen und Proben werden mit Biotin-markiertem 25(OH)D verdünnt und anschließend in den Kavitäten des **AESKULISA 25OH Vitamin D**, die mit einem hochspezifischen 25(OH)D-Antikörper beschichtet sind, inkubiert. Hierbei konkurrieren 25(OH)D aus dem Patientenserum und Biotin-markiertes 25(OH)D um die Bindung an den Antikörper auf der Platte. Ungebundene Serumkomponenten werden im folgenden Waschschritt weggewaschen. Danach wird mit Meerrettichperoxidase markiertes Avidin zugegeben, das selektiv an Biotinkomplexe bindet. Nach einem weiteren Waschschritt erfolgt eine enzymatische Farbreaktion (blau) mit Hilfe des Substrates (TMB), die mit verdünnter Säure abgestoppt wird (Farbumschlag nach gelb). Die Intensität der Farbentwicklung des Chromogens ist umgekehrt proportional zur 25(OH)D-Konzentration im Serum.

3 KIT Bestandteile

Vor Gebrauch verdünnen				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschluss	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Waschpuffer 50x	1 x 20ml	Weiß	Grün	50fach konzentriert Tris, NaCl, Tween 20, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
25(OH)D Biotinkonzentrat 50x	1 x 1ml	Gelb	n.z.	50fach konzentriert Lyophilisierter Puffer mit Biotin-markiertem 25(OH)D und proprietären Stabilisatoren
Gebrauchsfertig:				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschluss	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Kontrolle 1	1 x 1ml	Rot	Hellgelb	Humanserum: enthält 25(OH)D und 0,09% Natriumazid (Konservierungsstoff)
Kontrolle 2	1 x 1ml	Grün	Hellgelb	Humanserum: enthält 25(OH)D und 0,09% Natriumazid (Konservierungsstoff)
Kalibratoren A-G	7 x 1ml	Weiß	Hellgelb	Gepuffertes Humanserum; enthält 25(OH)D und 0,09% Natriumazid (Konservierungsstoff)
25(OH)D Puffer	1 x 50ml	Gelb	Gelb	Proprietäres Reagenz für das Dissoziieren von 25(OH)D von seinen Bindungsproteinen
Konjugat	1 x 15ml	Blau	Blau	Avidin markiert mit Meerrettichperoxidase, Protein, Enzymstabilisatoren und Konservierungsmitteln
TMB Substrat	1 x 15ml	Schwarz	Farblos	Stabilisiertes TMB/H_2O_2
Stop Lösung	1 x 15ml	Weiß	Farblos	1M Salzsäure
Mikrowell-Streifen	12 x 8 well strips	N/A	N/A	brechbar. Beschichtung siehe Punkt 2.
Erforderliche Materialien, nicht im Kit enthalten:				
Mikrotiterplatten-Photometer mit optischem Filter für 450 nm, optional mit Referenzwellenlänge von 620nm (600-690nm). Glaswaren (Zylinder 100-1000ml), Röhrchen aus Borosilikatglas oder Polypropylen für Verdünnungen, Vortexer, Mikropipetten (10, 100, 200, 500, 1000 µl) oder einstellbare Multipipette. Wascheinheit für Mikrotiterplatten (300µl Multipipette oder Mehrkanalpipette oder automatisches Waschsystem), Filterpapier. Unsere Tests wurden für die Verwendung mit gereinigtem Wasser (purified water) nach der Definition der U.S. Pharmakopöe (USP 26 - NF 21) und der Europäischen Pharmakopöe entwickelt (Eur. Ph. 4te Ed.).				

4 Lagerung und Haltbarkeit

Die Lagerung der Kitreagenzien und der Mikrotiterplatte soll bei 2–8 °C/35,6–46,4 °F in den Originalflaschen erfolgen. Rekonstituierte 25(OH)D-Biotinlösung ist nach Gebrauch lichtgeschützt bei 2–8 °C/35,6–46,4 °F 4 Wochen haltbar. Kalibratoren und Kontrollen sind nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F haltbar. Verdünnte Waschlösung ist bei 2–8 °C/35,6–46,4 °F einen Monat haltbar. Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Verfallene Kitbestandteile nicht benutzen! Eine starke Lichteinwirkung auf die Substratlösung TMB ist zu vermeiden. Mikrotiterplatten stets in der Verpackungsfolie mit Trockenbeutel verschlossen aufbewahren.

5 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

5.1 Gesundheitsrisiko

Dieses Produkt darf ausschließlich zur IN VITRO DIAGNOSTIK verwendet werden.

Die Anwendung muss durch Personal erfolgen, das speziell in der Verwendung von in vitro-Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien sind bei vorschriftmäßigem Gebrauch weder als toxisch noch als gesundheitsgefährlich einzustufen, dennoch sollte zur Gewährleistung der maximalen Sicherheit des Anwenders folgendes eingehalten werden:

Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen

Da einzelne Komponenten des Kits potentiell gefährdende Reagenzien enthalten, können diese eine Reizung der Augen und der Haut hervorrufen.

ACHTUNG: Kalibratoren, Kontrollen und Puffer enthalten Natriumazid (NaN_3) als Konservierungsstoff. NaN_3 kann toxisch wirken, sofern es eingenommen oder über die Haut oder Augen adsorbiert wird. NaN_3 kann mit Blei oder Kupferrohren hochexplosive Metallazide bilden. Zur Vermeidung von Azid-Anreicherungen sollte bei der Entsorgung dieser Lösungen bitte mit einer großen Menge Wasser nachgespült werden. Bitte die Vorgaben örtlicher/ nationaler Vorschriften zur Dekontamination beachten.

Während des Arbeitens mit dem Kit nicht essen, trinken oder rauchen. Nicht mit dem Mund pipettieren, Einmal-Handschuhe tragen.

Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien biologischen Ursprungs (Kontrollen und Kalibratoren) erwiesen sich bei der Prüfung auf Hepatitis B Oberflächen-Antigen (HbsAg), Hepatitis C und HIV 1 und 2 als negativ. Dennoch ist bei Produkten biologischen Ursprungs nie mit letzter Sicherheit auszuschließen, dass die genannten, andere oder ggf. noch nicht bekannte oder diagnostizierte Krankheitserreger enthalten sind. Daher sind diese als potentiell infektiös einzustufen und entsprechend der nationalen Rechtslage zu handhaben. Das Produkt enthält Bestandteile tierischen Ursprungs wie in der Tabelle der Bestandteile angegeben: Beim Umgang sind entsprechende nationale Richtlinien zu beachten.

5.2 Allgemeine Hinweise

Sollten Produktinformationen, einschließlich Labeling falsch oder inkorrekt sein, kontaktieren sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits.

Einzelne Kontrollen, Kalibratoren und Konjugate oder Mikrotiterplatten verschiedener Chargen sollten nicht ausgetauscht werden, da dies zu Verfälschungen der Messergebnisse führen kann.

Alle Kit-Komponenten vor Testbeginn auf Raumtemperatur (18-25 °C/64,4-77 °F) bringen und gut durchmischen. Das vorgeschriebene Protokoll zur Durchführung des Tests ist unbedingt einzuhalten.

Inkubation: Für eine Testabarbeitung mit Automaten empfehlen wir eine Temperatur von maximal 25 °C/77 °F.

Setzen Sie die einzelnen Kit-Komponenten niemals höheren Temperaturen als 30 °C/86 °F aus.

Die Substrat-Lösung immer mit verkaufsneuen Pipettenspitzen pipettieren, um Kontaminationen zu vermeiden. Intensiven Lichtkontakt der Substratlösung vermeiden. Konjugat-Lösung niemals mit Pipettenspitzen pipettieren, welche mit anderen Reagenzien kontaminiert sind.

Für den ***AESKULISA®* 25OH Vitamin D** keine Polystyrolröhrchen verwenden!

Nach dem Verdünnen der Proben, Kalibratoren und Kontrollen mit der Biotinlösung sind diese innerhalb von 30 Minuten in die Kavitäten zu pipettieren.

Platten während der Inkubation nicht übereinander stapeln, um eine gleichbleibende Temperatur für alle Platten sicherzustellen.

Die Platten während der Inkubationen abdecken/versiegeln.

Eine endgültige klinische Diagnose sollte nicht alleine auf den Ergebnissen des durchgeführten Tests erfolgen, sondern vom Arzt unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde erstellt werden. Die Diagnose sollte unbedingt mitverschiedenen diagnostischen Methoden bestätigt werden.

6 Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung

Die Verwendung frischer Serumproben wird empfohlen. Die Blutentnahme hat nach der nationalen Rechtslage zu erfolgen. Ikterische, lipämische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Serumproben nicht verwenden. Eine positive Abweichung der Ergebnisse findet man in Serenproben von Patienten, die Paricalcitol einnehmen. Bei trüben Proben die Partikel niedrig abzentrifugieren (<1000 x g). Blutproben in saubere, trockene und leere Röhrchen aufnehmen.

Nach der Gewinnung sollten Serenproben innerhalb von 8 h verwendet werden, bzw. verschlossen für 48h bei 2–8 °C/35,6–46,4 °F aufbewahrt werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtigt, sollten die Proben bei -20 °C/-4 °F tiefgefroren werden. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4)

7 Testdurchführung

7.1 Vorbereitung

Alle Reagenzien vor dem Gebrauch mindestens 90 Minuten lang auf Raumtemperatur bringen und durch mehrmaliges Überkopfdrehen gut mischen!

Rekonstitution des lyophilisierten 25(OH)D-Biotinkonzentrats:

3 ml 25(OH)D-Puffer in die Flasche mit dem lyophilisierten 25(OH)D-Biotinkonzentrat (blaue Farbe) geben. Stopfen wieder aufsetzen und 10-15 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen. Mehrmals über Kopf drehen, um eine vollständige Rekonstitution sicherzustellen. Das rekonstituierte 25(OH)D-Biotinkonzentrat (3 ml) zurück in die Flasche mit dem übrigen Puffer geben. Durch Überkopfdrehen der Flasche den Inhalt gut mischen. Die verdünnte Biotinlösung ist grün. Nach der Herstellung bei 2–8 °C/35,6–46,4 °F **lichtgeschützt** lagern.

Verdünnung konzentrierter Reagenzien:

Konzentrierten Waschpuffer 1:50 mit destilliertem Wasser verdünnen (z.B. 20 ml plus 980 ml).

Automatisiertes Waschen:

Für die Inbetriebnahme des Instrumentes und das Totvolumen sind zusätzliche Waschpuffermengen zu berücksichtigen.

Manuelles Waschen:

Flüssigkeit sorgfältig durch Ausklopfen der Platte auf Filterpapier entfernen. 300 µl verdünnten Waschpuffer in jede Kavität pipettieren, 20 Sekunden warten. Den Vorgang noch zweimal wiederholen.

Mikrotiterplatte:

Unbenutzte Kavitäten entfernen und fest verschlossen in der Verpackungsfolie mit Trockenbeutel kühl lagern (2–8 °C/35,6–46,4 °F).

7.2 Pipettierschema

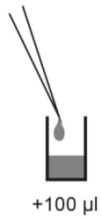
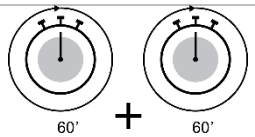
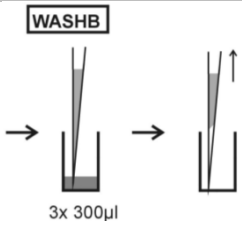
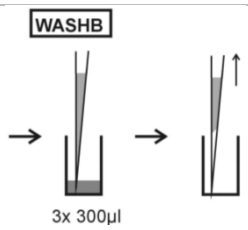
Wir empfehlen, die Kalibratoren, Kontrollen und Proben wie folgt zu pipettieren:

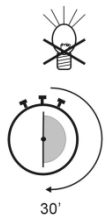
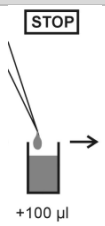
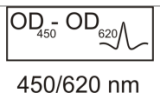
Zur *quantitativen* Auswertung

	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	Con 2	…
B	Cal A	Cal E	Con 2	…
C	Cal B	Cal F	P1	
D	Cal B	Cal F	P1	
E	Cal C	Cal G	P2	
F	Cal C	Cal G	P2	
G	Cal D	Con 1	P3	
H	Cal D	Con 1	P3	

Cal A: Kalibrator A	Cal D: Kalibrator D	Cal G: Kalibrator G	P1: Patient 1
Cal B: Kalibrator B	Cal E: Kalibrator E	Con 1: Kontrolle 1	P2: Patient 2
Cal C: Kalibrator C	Cal F: Kalibrator F	Con 2: Kontrolle 2	P3: Patient 3

7.3 Arbeitsschritte

Schritt	*Beschreibung*	
1.	Stellen Sie sicher, dass die Vorbereitungen aus Kapitel 7.1 vor Beginn durchgeführt worden sind.	
2.	Pro Kalibrator, Kontrolle und Probe ein Borosilikatglasröhrchen bzw. Polypropylen-röhrchen beschriften.	
	Kalibratoren, Kontrollen & Proben	
3.		10 µl von jedem Kalibrator, jeder Kontrolle bzw. jeder Probe in die entsprechend beschrifteten Röhrchen geben. 400 µl der angesetzten 25(OH)D-Biotinlösung in alle Röhrchen geben. Für 10 Sekunden gründlich vortexen. 100 µl von jedem verdünnten Kalibrator, jeder Kontrolle oder Probe in die entsprechende Vertiefung in Doppelbestimmung geben.
4.		Mikrotiterplatte abdecken. 2 Stunden bei 18-25 °C/64,4-77 °F inkubieren.
5.		3 mal mit jeweils 300 µl 1:50 verdünntem Waschpuffer waschen.
	KONJUGATE	
6.		Innerhalb von 5 Minuten nach dem Waschschritt 100 µl Enzymkonjugatlösung in jede Kavität geben.
7.		Mikrotiterplatte abdecken. 30 Minuten bei 18-25 °C/64,4-77 °F inkubieren.
8.		3 mal mit jeweils 300 µl 1:50 verdünntem Waschpuffer waschen.

	SUBSTRAT	
9.		Innerhalb von 5 Minuten nach dem Waschschritt 100 µl TMB-Substratlösung in jede Kavität pipettieren.
10.		Mikrotiterplatte abdecken. 30 Minuten bei 18-25 °C/64,4-77 °F inkubieren, vor intensiver Lichteinstrahlung schützen.
	STOP	
11.		100 µl Stopplösung pro Kavität in der Reihenfolge der Substratzugabe pipettieren.
12.		Mindestens 5 Minuten inkubieren.
13.		Platte vorsichtig 5 Sekunden schütteln.
14.		Optische Dichte bei 450 nm innerhalb von 30 Minuten messen (empfehlenswert bei 450/620 nm).

8 Berechnung der Ergebnisse

Die **quantitative Auswertung** erfolgt anhand einer Standardkurve, bei der die optische Dichte der Kalibratoren (y-Achse) gegen die Konzentration in ng/ml (x-Achse) aufgetragen wird. Eine log/lin Auftragung wird zur Auswertung empfohlen. Es ist eine 4-Parameterlogistik-Kurvenanpassung (4PL), einschließlich “A”-Kalibrator, erforderlich. Andere Algorithmen zur Kurvenanpassung werden nicht empfohlen. Anhand der Kurve wird aus der optischen Dichte der Probe die 25(OH) Vitamin D-Konzentration in ng/ml ermittelt.

Alternativ kann eine Kalibrierungskurve auf halblogarithmischen Millimeterpapier erstellt werden. Dazu wird die mittlere Absorption auf der y-Achse gegen die Konzentration von 25(OH) Vitamin D auf der x-Achse aufgetragen. Dabei sollte der Kalibrator A in der Kalibrierungskurve berücksichtigt werden.

Umrechnung der Einheiten:

Umrechnung der Ergebnisse in Masseneinheiten

ng/ml = nmol/l x 0,40

Umrechnung der Ergebnisse in SI-Einheiten

nmol/l = ng/ml x 2,5

Beispiel einer Standardkurve

Bei jedem Testlauf muss eine neue Kalibrierungskurve erstellt werden. Bitte beachten Sie, dass die Konzentrationen der Kalibratoren chargenspezifisch sind.

Dieses Beispiel darf nicht zur Interpretation der Patientenresultate benutzt werden!

Kalibrator	Konzentration (ng/ml)	OD 450/620 nm
A	0,37	2,224
B	5,27	1,589
C	10,23	1,270
D	21,38	0,895
E	36,95	0,644
F	57,56	0,474
G	90,20	0,336

Berechnungsbeispiel

Patient	Replikat (OD)	Mittelwert (OD)	Ergebnis (ng/ml)	Ergebnis (nmol/l)
P 01	1,075/1,125	1,100	14,26	35,65
P 02	0,488/0,458	0,473	57,81	144,53

Proben mit 25(OH)D-Konzentrationen über dem Messbereich müssen mit einer niedrig konzentrierten Humanserumprobe verdünnt und neu bewertet werden. Dazu müssen die Ergebnisse der verdünnten Proben mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert und für die geringe Probenkonzentration korrigiert werden.
Chargen spezifische Daten entnehmen Sie bitte dem beiliegenden Kontrollzertifikat. Medizinische Laboratorien sollten In-house Qualitätskontrollen mit eigenen Kontrollen und/oder Poolseren nach nationalem Reglement durchführen.

Im Kit sind zwei Kontrollen enthalten, die die Validierung der mit jeder Assay-Platte erhaltenen Ergebnisse unterstützen. Sollte ein Kontrollwert außerhalb des akzeptablen Bereichs liegen, ist die Validität der Ergebnisse dahingehend zu beurteilen, ob sich der Kontrollwert signifikant von den Mittelwerten der Laborserien unterscheidet. Darüber hinaus sollten folgenden technische Fakten überprüft werden: Haltbarkeitsdaten der Reagenzien, Lagerbedingungen, Pipetten, verwendete Geräte, Photometer, Inkubationsbedingungen und Waschmethode.

Sollten die getesteten Proben ungewöhnliche Werte oder Abweichungen zeigen, oder werden die Validierungskriterien aus unerfindlichen Gründen nicht erfüllt, kontaktieren sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits.

Beurteilung der Werte

Die optimale 25(OH)D-Konzentration ist nicht eindeutig definiert. Es gibt viele Faktoren, die die Werte beeinflussen können. Dazu gehören die Ernährung, die Tageszeit, die Jahreszeit, die geographische Lage, die Sonneneinstrahlung, das Alter, die Hautfarbe und der genetischen Hintergrund. Jedes Labor sollte seinen eigenen Bereich für seine lokale Bevölkerung festlegen.

Das deutsche Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) empfiehlt gemeinsam mit der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE), der Weltgesundheitsorganisation (WHO), dem Institute of Medicine (IOM) und dem National Institute of Health (NIH) folgende Referenzbereiche für die Serumkonzentration von 25OH Vitamin D [1, 2].

schwerer Mangel	< 12 ng/ml	< 30 nmol/l
Insuffizienz	12 - 20 ng/ml	30 - 50 nmol/l
Suffizienz	≥ 20 ng/ml	≥ 50 nmol/l
Vitamin-D-Intoxikation	> 160 ng/ml	> 400 nmol/l

[1] Deutsche Gesellschaft für Ernährung: Ann. Nutr. Metab.60:241–246, 2012

[2] Institute of Medicine, Food and Nutrition Board: Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: National Academy Press, 2010

9 Technische Daten

Probenmaterial:	Serum
Probenvolumen:	10 µl Serum
Gesamt-Inkubationszeit:	3 Stunden bei 18-25 °C/64,4-77 °F
Kalibrierungsbereich:	0 - 100 ng/ml (0 - 250 nmol/l), chargenspezifisch
Analytische Sensitivität:	
LoB	1,51 ng/ml (3,78 nmol/l)
LoD	3,66 ng/ml (9,15 nmol/l)
LoQ	4,54 ng/ml (11,35 nmol/l)
Lagerung:	bei 2–8 °C/35,6–46,4 °F in Originalflaschen
Zahl der Bestimmungen:	96 Tests

10 Testdaten/Testcharakteristik

10.1 Normalbereich

Seren von gesunden Spendern wurden mit ***AESKULISA®* 25OH Vitamin D** untersucht und es ergab sich folgende Verteilung:

Probenzahl	Mittelwert	Median	Höchste 25(OH)D Konzentration	Niedrigste 25(OH)D Konzentration
120	19,14 ng/ml	18,12 ng/ml	58,02 ng/ml	<4,54 ng/ml

Wir empfehlen jedem Labor, seinen eigenen Normalwertebereich zu ermitteln.

10.2 Präzision

Die Präzision der mit ***AESKULISA®* 25OH Vitamin D**, REF 3810 erhaltenen Testergebnisse wurde durch die Bestimmung der Intra- und Inter-Assay-Präzision sowie der Chargenvarianz durch die Analyse mehrerer Proben mit verschiedenen Vitamin D-Konzentrationen untersucht.

Proben-ID	Intra-Assay-Präzision		Inter-Assay-Präzision		Chargenpräzision	
	Durchschnitt (ng/ml)	VK	Durchschnitt (ng/ml)	VK	Durchschnitt (ng/ml)	VK
Probe 1	7,62	12,77	7,62	17,28	7,77	12,85
Probe 2	17,68	11,40	17,68	14,17	17,38	7,89
Probe 3	26,50	8,16	26,50	12,00	24,08	9,65
Probe 4	31,19	8,68	31,19	12,62	29,54	6,91
Probe 5	36,87	7,62	36,87	10,30	34,94	7,10
Probe 6	60,15	12,56	60,15	12,23	59,09	14,78

10.3 Sensitivität

Die Erfassungsgrenze (LoB), Nachweisgrenze (LoD) und Quantifizierungsgrenze (LoQ) wurde durch mehrfache Analyse von Probenpuffer und niedrig positiven Proben untersucht.
Für ***AESKULISA®* 25OH Vitamin D**, REF 3810 wurden folgende Werte bestimmt:

Sensitivität	25(OH)D-Konzentration	
LoB	1,51 ng/ml	3,76 nmol/L
LoD	3,66 ng/ml	9,15 nmol/L
LoQ	4,54 ng/ml	11,35 nmol/L

10.4 Spezifität

Zur Ermittlung der Spezifität des ***AESKULISA®* 25OH Vitamin D**, REF 3810 wurden Serumproben mit endogenen und synthetischen Vitamin D-Metaboliten gespikt und folgende Ergebnisse gemessen:

Kreuzreaktive Substanzen	Spike Konzentration (ng/ml)	Durchschnittliche Kreuzreaktivität
25(OH)D_3	10,0 20,0	95 %
25(OH)D_2	10,0 20,0	109%
24,25$(OH)_2D_3$	4,0 6,0	91%
3-epi-25(OH)D_3	100	-1%
3-epi-25(OH)D_2	100	-1%
1,25-$(OH)_2D_3$	2	5%
1,25-$(OH)_2D_2$	20	84%
Vitamin D_3 (Cholecalciferol)	1000	0%
Vitamin D_2 (Ergocalciferol)	100	6%
Paricalcitol	100	17%

10.5 Linearität

Drei Seren, die den gesamten Testbereich abdecken, wurden seriell mit einer hochdefizienten Serumprobe verdünnt. Die Mess- und Erwartungswerte der verschiedenen Verdünnungen wurden zur Berechnung einer linearen Regression verwendet. Für ***AESKULISA®* 25OH Vitamin D**, REF 3810 ergab die lineare Regression der beobachteten Konzentrationen im Vergleich zu den erwarteten Konzentrationen einen Korrelationskoeffizienten von R^2=0,99.

10.6 Methodenvergleich

Der ***AESKULISA®* 25OH Vitamin D**, REF 3810 wurde mit einem anderen handelsüblichen Assay zur quantitativen Bestimmung von 25(OH) Vitamin D verglichen. Insgesamt wurden 110 Proben mit 25(OH) Vitamin D Konzentrationen von 6,74 ng/ml bis 71,98 ng/ml getestet. An den Vergleichsdaten wurde eine Passing-Bablok-Regressionsanalyse durchgeführt:

n	Steigung	95% KI	Schnittpunkt	95% KI	R^2
80	0,898	0,828 bis 0,970	0,692 ng/ml	-0,980 bis 2,553 ng/ml	0,901

11 Entsorgung

Bitte beachten Sie die relevanten gesetzlichen Vorschriften!

12 Literatur

Dusso AS et al. Vitamin D. Am J Physiol Renal Physiol. 2005;289(1):F8-28.

Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. J Nutr. 2005;135(11):2739S-48S.

Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. Mayo Clin Proc. 2006;81(3):353-73.

Holick MF. Vitamin D deficiency. N Engl J Med. 2007;357(3):266-81.

Cannell JJ et al. Diagnosis and treatment of vitamin D deficiency. Expert Opin Pharmacother. 2008;9(1):107-18.

Zerwekh JE. Blood biomarkers of vitamin D status. Am J Clin Nutr. 2008;87(4):1087S-91S.

Kennel KA et al. Vitamin D deficiency in adults: when to test and how to treat. Mayo Clin Proc. 2010;85(8):752-7.

Wallace AM et al. Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations. Steroids. 2010;75(7):477-88.

Sempos CT et al. Vitamin D Standardization Program (VDSP). Vitamin D status as an international issue: national surveys and the problem of standardization. Scand J Clin Lab Invest Suppl. 2012;243:32-40.

Gröber U et al. Vitamin D: Update 2013: From rickets prophylaxis to general preventive healthcare. Dermatoendocrinol. 2013;5(3):331-47.

Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. Mayo Clin Proc. 2013;88(7):720-55.

Wacker M, Holick MF. Vitamin D - effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. Nutrients. 2013;5(1):111-48.

Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. Rev Endocr Metab Disord. 2017;18(2):153-165.

Phinney KW et al. Baseline Assessment of 25-Hydroxyvitamin D Reference Material and Proficiency Testing/External Quality Assurance Material Commutability: A Vitamin D Standardization Program Study. J AOAC Int. 2017 1;100(5):1288-1293.

Burdette CQ et al. Establishing an Accuracy Basis for the Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS). J AOAC Int. 2017;100(5):1277-1287.

Bouillon R, Carmeliet G. Vitamin D insufficiency: Definition, diagnosis and management. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2018;32(5):669-684.

13 Regulatorische Symbole

IVD	- Diagnosi in vitro	- For in vitro diagnostic use
	- Pour diagnostic in vitro	- Para uso diagnóstico in vitro
	- In Vitro Diagnostikum	- In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Bestellnummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo	- Unique Device Identifier
	- Identifiant unique de l'appareil	- Identificador único del dispositivo
	- eindeutige Produktidentifizierung	- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Identificador único do dispositivo	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Déclaracão CE de Conformidade	
Σ 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
eIFU www.aesku.com	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso	- See electronical instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation électronique	- Siga las instrucciones electrónicas de uso
	- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten	- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Seguir as instruções electrónicas de utilização	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	
+2°C +8°C	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	
CON	- Controllo	- Control
	- Contrôle	- Control
	- Kontrolle	- ορός ελέγχου
	- Controlo	
CAL	- Calibratore	- Calibrator
	- Etalon	- Calibrador
	- Kalibrator	- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	
25(OH)D BIO 50x	- Concentrato di biotina 25-D	- 25(OH)D biotin concentrate
	- Concentré de biotine 25-D	- Concentrado de 25-D biotina
	- 25(OH)D-Biotinkonzentrat	- συμπύκνωμα 25(OH) D βιοτίνης
	- Concentrado de biotina 25-D	
25(OH)D BUF	- Tampone de 25(OH)D	- 25(OH)D buffer
	- Tampon de 25(OH)D	- Tampón de 25(OH)D
	- 25(OH)D Puffer	- Διάλυμα 25(OH)D
	- Tampão de 25(OH)D	