



**IMMUNOASSAYS AND SERVICES**

**BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY**

LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co.KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

**Інструкція по застосуванню**  
**25-ОН вітаміну D (загальний) ІФА**  
**MS E-5800**



IVD



## **1. ВВЕДЕННЯ**

### **1.1 Призначення**

25-ОН вітамін D (всього) ELISA є імуноферментним аналізом для кількісної in-vitro діагностики виміру 25-ОН вітаміну D загального (вітамін D2 і вітаміну D3) в сироватці та плазмі.

### **1.2 Загальна інформація і пояснення**

Вітамін D є стероїдним гормоном, залученим в кишковій абсорбції кальцію та регулюванні гомеостазу кальцію. Дві основні форми вітаміну D, названі вітамін D3 (холекальциферол) і вітамін D2 (ергокальциферол), мають ізомерні структури, але D2 повинен бути менш активний, ніж D3. Фізіологічні рівні вітаміну D3 є результатом не тільки дієтичного поглинання, але також можуть бути отримані з попередніх холестерину, 7-дегідрохолестерину в шкірі під час перебування на сонці. D2, отриманий з рослинних джерел, становить менше 5% від загального вітаміну D в тілі. У печінці, вітамін D гідроксилюється до 25-гідроксивітаміну D (25-ОН D), основного циркулюючого метаболіта вітаміну D.

Вітамін D і 25-ОН D входять в кровообіг, пов'язані з вітаміном D-зв'язуючим білком (VDBP). При потребі, невелика частина 25-ОН D додатково гідроксилюється в нирках з утворенням біологічно активного гормону 1,25 дигідроксивітаміну D (1,25 (ОН) 2 D). Цей процес жорстко регулюється концентрацією 1,25 (ОН) 2D, ПТГ, гіпофосфатемією і іонізованими рівнями кальцію. Концентрації 1,25 (ОН) 2 є приблизно в 1000 разів нижче, ніж 25-ОН D. Хоча 1,25 (ОН) 2 D зображує біологічну активну форму вітаміну D, широко визнано, що вимір циркулюючого 25-ОН D забезпечує кращу інформацію щодо статусу пацієнтів вітаміну D і дозволяє використовувати його в діагностиці гіповітамінозу. Концентрація 25-ОН D зменшується в зимовий час (зменшено вплив сонця), з темним коліром шкіри і з віком.

Визначення 25-ОН D в сироватці або плазмі крові буде підтримувати контроль діагностики і терапії постменопаузального остеопорозу, рахіту у дітей, остеомаліції, ниркової остеодистрофії, неонатальної гіпокальціємії і гіперпаратиреозу. Крім того, ефекти переважного субклінічного дефіциту вітаміну D в різних європейських країнах критично обговорюються. Вітаміном D інтоксикація в основному відбувається під час прийому великої кількості фармацевтичних препаратів вітаміну D і може привести до гіперкальціємії і нефрокальцинозу у сприйнятливих дітей.

## **2 ПРИНЦИП АНАЛІЗУ**

25-ОН вітаміну D (загальний) ELISA набір являє собою твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA), заснований на принципі конкурентного зв'язування. На першому етапі, зразки повинні бути попередньо оброблені в окремих флаконах з денатурації буфера для екстракції аналіту, так як більшість циркулюючого 25-ОН Віт D пов'язані з VDBP в природних умовах. Після нейтралізації додають біотинілірований 25-ОН вітамін D (фермент кон'югат) і мічена пероксидаза стрептавідину (ферментний комплекс). Після ретельного перемішування, розчин переносять в лунки мікропланшета. Ендогенний 25-ОН вітамін D зразка пацієнта конкурує з 25-ОН вітаміну D3-біотин-кон'югату за зв'язування з VDBG, який іммобілізований на пластині. Зв'язування 25-ОН вітаміну D-біотин виявляється міченою пероксидазою стрептавідину. Інкубація слідує після кроку промивання для видалення незв'язаних компонентів. Кольорова реакція починається з додаванням субстрату фермента і зупиняється після закінчення певного часу. Інтенсивність забарвлення зворотно пропорційна концентрації 25-ОН вітаміну D в зразку.

### **3 ПОПЕРЕДЖЕННЯ І ЗАСТЕРЕЖЕННЯ.**

1. Цей набір призначений тільки для IN-VITRO діагностики. Тільки для професійного використання.
2. Всі реагенти даного набору, які містять людську сироватку або плазму, були перевірені і підтверджені негативними на ВІЛ-I / II, HBsAg і HCV по FDA затвердженим процедурам. Всі реагенти, однак, повинні розглядатися як потенційно інфіковані у використанні і для утилізації.
3. Перед початком аналізу, прочитайте інструкцію повністю й уважно. Використовуйте чинну версію вкладишу інструкції, яка входить в комплект упаковки. Переконайтеся, що все зрозуміло.
4. Мікропланшет містить стріпи, що відламуються. Невикористані лунки повинні зберігатися при температурі від 2 ° C до 8 ° C в герметично закритому пакеті з фольги і використовуватись в передбачених рамках.
5. Прокапування зразків і реагентів повинно бути зроблено настільки швидко, наскільки це можливо, і в тій же послідовності для кожного кроку.
6. Використовуйте резервуари тільки для окремих реагентів. Це особливо відноситься до резервуарів субстрату. Використання резервуару для дозування розчину субстрату, який раніше був використаний для розчину кон'югату може привести до забарвлення розчину. Не вливайте реагенти назад у флакон, оскільки може відбутися забруднення.
7. Змішайте вміст стріпи ретельно, щоб забезпечити хороші результати тестування. Не використовуйте мікропланшет повторно.
8. Не допускайте висихання лунок під час аналізу; додати реагенти відразу після завершення стадії ополаскування.
9. Довести реагенти до кімнатної температури (21 ° C до 26 ° C) до початку випробування. Температура буде впливати на показання оптичної щільності , яка читається в аналізі. Однак значення для зразків пацієнтів не будуть порушені.
10. Ніколи не прокапувати ротом і уникати контакту реагентів і зразків з шкірою та слизовими оболонками.
11. Не палити, не їсти, не пити або застосовувати косметику в тих областях, де звертаються зразки або реагенти набору .
12. Використовуйте одноразові латексні рукавички при роботі зі зразками і реагентами. Мікробне забруднення зразків або реагентів може привести до неправдивих результатів.
13. Вантажно-розвантажувальні роботи повинні здійснюватися відповідно до процедур, визначених відповідними національним законодавством щодо біологічно небезпечних речовин або правилами.
14. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, який указано на етикетках набору.
15. Всі зазначені обсяги повинні бути виконані відповідно до протоколу. Оптимальні результати випробувань спостерігаються тільки при використанні каліброваних піпеток і рідера мікропланшетів.
16. Не слід змішувати або використовувати компоненти з наборів з різними номерами лотів. Рекомендується не обмінювати лунки або різні пластини навіть з одного і того ж лоту.

Набори можуть транспортуватися або зберігатися при різних умовах і зв'язуючі характеристики пластин можуть привести до невеликої різниці.

17. Уникати контакту з Стоп-розчином, що містить 0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Це може викликати роздратування шкіри і слизових оболонок.

18. Деякі реагенти містять проклін 300, БНД і / або МІТ в якості консервантів. При попаданні в очі або на шкіру, негайно промийте великою кількістю води.

19. ТМВ субстрат має подразнюючу дію на шкіру та слизову оболонку. У разі можливого контакту, промийте очі рясним обсягом води і шкіру з милом і великою кількістю води. Промити забруднені об'єкти перед їх використанням. При вдиханні, вивести людину на відкрите повітря.

20. Хімікати і приготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національного законодавства щодо використання біологічно небезпечних речовин, директиви безпеки або правил.

21. Для отримання інформації про небезпечні речовини, що входять в комплект, будь ласка, зверніться до листів Паспорта безпеки. Дані безпеки для даного продукту надаються за запитом безпосередньо від виробника.

## 4. РЕАГЕНТИ.

### 4.1 Реагенти, що постачаються.

#### MS E-5831 Мікропланшет луночний

12 x 8 (стріпи, що відламуються) , 96 лунок; Лунки покриті Вітамін D зв'язуючим білком(VDBG) .

**Стандарти** готові до використання

	Каталожний номер	стандарт	концентрація	Об`єм/флакон
Стандарт А	MS E-5801	Стандарт А(0)	0 нг/мл	1 мл
Стандарт В	MS E-5802	Стандарт В(1)	4 нг/мл	1 мл
Стандарт С	MS E-5803	Стандарт С (2)	10 нг/мл	1 мл
Стандарт D	MS E-5804	Стандарт D (3)	25 нг/мл	1 мл
Стандарт Е	MS E-5805	Стандарт Е (4)	60 нг/мл	1 мл
Стандарт F	MS E-5806	Стандарт F (5)	130 нг/мл	1 мл

Конверсія: 1 нг / мл = 2,5 нмоль / л.

Стандарти відкалібровані по NIST стандартних довідкових матеріалів (SRM) 2972; містять нертутний консервант.

#### Контроль 1MS E-5851 низький контроль

1 флакон, 1 мл, готовий до використання; для отримання контрольних значень і діапазонів, будь ласка, зверніться до етикетки флакона або QC-Технічного паспорту . Містить нертутний консервант

### **Контроль 2.MS E-5852** Високий контроль.

1 флакон, 1 мл, готовий до використання; для отримання контрольних значень і діапазонів, будь ласка, зверніться до етикетки флакона або КК-Технічного паспорту . Містить нертутний консервант.

### **DENUT BUF MS E-5842** Денатурація буфер

1 флакон, 10 мл, готовий до використання

### **NEUTR BUF MS E-5843** Нейтралізації буфер

1 флакон, 25 мл, готовий до використання, містить нертутний консервант.

### **MS E-5840** Фермент кон'югат

1 флакон, 7 мл, готовий до використання; Вітамін D3, кон'югований з біотином, містить нертутний консервант

### **Complex MS E-5841** Комплекс ферменту

1 флакон, 7 мл, готовий до використання; Стрептавідин-пероксидаза кон'югат. Містить нертутний консервант.

### **SUBSTRATE SA E-0055** субстрату розчин

1 флакон, 25 мл, готовий до використання; Тетраметілбензидин (ТМВ) .

### **STOP SOLN FR E-0080** Стоп розчин

1 флакон, 14 мл, готовий до використання; містить 0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Уникати контакту зі стоп-розчином. Це може викликати роздратування шкіри і слизових оболонок.

### **FR E-0030** Промивочний розчин

1 флакон, 30 мл (40X концентрований); дивіться в розділі "Підготовка реагентів" .

### **Фольга для накриття**

1 лист клейкої фольги для накриття

**Примітка:** Додатковий стандарт А для розведення зразка доступний по запиту.

### **4.2 Необхідні матеріали, що не постачаються.**

- флакони для Вітамін D крок вивільнення
- окремі флакони
- Інкубатор 37 ° C (98,6 ° F)
- рідер мікропланшетних пластин відкалібрований (450 ± 10 нм)
- точно калібровані мікропіпетки різні
- Абсорбуючий папір

- дистильована або деіонізована вода

- Полу логарифмічний або міліметровий папір або програмне забезпечення для даних

#### 4.3 Умови зберігання .

При зберіганні при 2 ° С до 8 ° С невідкриті реагенти зберігають активність до закінчення терміну придатності. Не використовуйте реагенти після цієї дати. Відкриті реагенти повинні зберігатися при температурі 2 ° С до 8 ° С. Лунки мікропланшету повинні зберігатися при 2 ° С до 8 ° С. Після того, як пакет з фольги був відкритий, слід подбати, щоб закрити його щільно знову. Відкриті набори зберігають активність протягом двох місяців при зберіганні, як описано вище.

#### 4.4 Підготовка реагентів.

Доведіть всі реагенти і необхідну кількість стріпів до кімнатної температури перед використанням.

#### Промивочний розчин.

Додати деіонізовану воду в 40х промивний концентрований промивочний розчин. Розвести 30 мл концентрованого розчину для промивання з 1170 мл деіонізованої води до кінцевого об'єму 1200 мл. Розбавлений промивний розчин стабільний протягом 2-х тижнів при кімнатній температурі.

#### Робочий розчин кон'югату

Приготуйте достатній обсяг робочого розчину кон'югата шляхом змішування ферментного кон'югату з Комплексом ферменту мінімум за 30 хвилин до використання. Стабільність підготовленого робочого розчину кон'югата: 1 тиждень при температурі від 2 ° С до 8 ° С в запечатаним контейнері.

**Приклад:** Якщо вся пластина використовується, змішайте 6 мл ферментного кон'югату з 6 мл ферментного комплексу в загальному обсязі 12 мл. Якщо ціла плита не використовується відразу, підготувати необхідну кількість робочого розчину кон'югата змішуванням 0.5 мл ферментного кон'югату з 0,5 мл ферментного комплексу на стріпі (дивись таблицю нижче):

№ стріпи	Фермент кон'югат	Фермент комплекс (мл)
1	0.5	0.5
2	1.0	1.0
3	1.5	1.5
4	2.0	2.0
5	2.5	2.5
6	3.0	3.0
7	3.5	3.5
8	4.0	4.0
9	4.5	4.5
10	5.0	5.0
11	5.5	5.5
12	6.0	6.0

#### 4.5 Утилізація набору

Утилізація набору повинна бути зроблена відповідно до національних правил. Спеціальна інформація для цього продукту наведена в матеріалах безпеки листах даних.

#### 4.6 Пошкоджені набори

В випадку серйозного пошкодження набору або його компонентів, виробник повинен бути проінформований у письмовому вигляді не пізніше, ніж через тиждень після отримання набору. Пошкоджені компоненти не повинні використовуватися для тестових прогонів. Вони повинні бути збережені до моменту прийняття остаточного рішення. Після цього вони повинні бути утилізовані відповідно до офіційних правил.

#### 5. ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ .

Сироватка або плазма (EDTA-, гепарін- або цитрат плазма) можуть бути використані в цьому аналізі. Не використовувати гемолитичні, жовтяничні або ліпемічні зразки. Будь ласка, зауваження: зразки що містить азид натрію, не повинні використовуватися в аналізі.

##### 5.1.ЗАБІР зразка

**Сироватка:** Зібрати кров з вени (наприклад, Sarstedt Monovette для сироватки), дати згорнутися і відокремити сироватку центрифугуванням при кімнатній температурі. Не центрифугувати до повного згортання. Пацієнти, отримуючі антикоагулянтну терапію, можуть потребувати підвищеного часу згортання.

**Плазма:** Цілісна кров повинна бути зібрана в центрифужні пробірки, що містять антикоагулянт (наприклад Зарштедт Monovette з відповідною підготовкою плазми) і центрифугувана відразу після забору.

##### 5.2. Підготовка та зберігання зразків

Зразки повинні бути закритими і можуть зберігатися до 3 діб при температурі від 2 ° C до 8 ° C до аналізу. Зразки, які зберігаються протягом тривалого часу (до двох місяців) повинні бути заморожені тільки один раз при -20 ° c до аналізу. Розморожені зразки слід кілька разів перевернути до аналізу.

##### 5.3. Розведення зразків

На початку аналізу зразки, що виявляється містять більш ніж найвищий стандарт, зразки можуть бути розведені зі стандартом А й досліджені повторно, як описано в процедурі аналізу. Для розрахунку концентрації цей коефіцієнт розбавлення повинен братися до уваги.

##### Приклад:

- а) розведення 1:10: 10 мкл зразка + 90 мкл Стандарт А (ретельно перемішати)
- б) розведення 1: 100: 10 мкл розчин а) 1:10 + 90 мкл Стандарт А (ретельно перемішати) .

#### 6 ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

##### 6.1 Загальні зауваження

Всі реагенти і зразки повинні бути нагріті до кімнатної температури перед використанням. Всі реагенти повинні бути змішані без піноутворення.

- Після того, як був запущений тест, всі кроки повинні бути завершені без перерви
- використовувати нові одноразові наконечники піпеток для кожного стандарту, контролю або зразка, щоб уникнути перехрестного зараження.
- Абсорбція є функцією часу інкубації і температури. Перед початком аналізу, рекомендовано приготувати всі реагенти, зняти кришки, закріпити всі необхідні лунки в тримачі і т.д. Це забезпечить рівний час для кожного розкопування без перерви.
- Як правило, ферментна реакція лінійно пропорційна часу і температурі.

##### 6,2 Процедура аналізу

Кожний прогін повинен включати в себе стандартну криву. Вся зразки і контролю повинні бути прогнані в двох примірниках. Всі стандарти, зразки і контролю повинні бути прогнані одночасно, щоб забезпечити однакові умови тестування .

### 6.2.1 Процедура вивільнення і підготовка.

1. Підготуйте адекватний обсяг робочого розчину кон'югата (дивись розділ 4.4)
2. Закріпити необхідну кількість відповідних флаконів або непокритих пластин для кроку Вітамін D вивільнення ( не включений до цього комплекту) .
3. Розлити 25 мкл кожного стандарту, контролю і зразку з новими одноразовими наконечниками в флакони.
4. Розлити по 50 мкл денатурації буфера в кожний флакон.
5. Запечатати флакони і інкубувати протягом 30 хвилин при 37 ° С.
6. Додати 200 мкл нейтралізуючого буфера в кожний флакон.
7. Додати 100 мкл робочого розчину кон'югату в кожний флакон.
8. Ретельно перемішати протягом 10 секунд. Важливо мати повне перемішування розчину в цьому кроці. Використати 200 мкл цього змішаного розчину для ELISA.

### 6.2.2 ELISA процедура.

1. Закріпити необхідну кількість лунок в рамці утримувача.
2. Розподілити 150 мкл змішаного розчину кожного стандарту, контролю і зразка з новими змінними наконечниками до відповідних лунок. (Наприклад, якщо на етапі "Порядок випуску та попередньої обробки" стійку з 96 флаконів /лунок використовують, 8-канальна піпетка може бути використаний для розподілу.)
3. Ретельно ущільнити лунки і інкубувати протягом 60 хвилин при 37 ° С.
4. Витрусить вміст лунок. Промити лунки 4 рази розведеним мийним розчином (300 мкл на лунку). Плашкою різко надавати на абсорбуючий папір, щоб видалити залишкові краплі. Важна примітка: чутливість і точність даного аналізу помітно залежить від правильного виконання процедури промивки!
5. Додайте 150 мкл розчину субстрату в кожну лунку.
6. Інкубувати протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.
7. Зупинити ферментативну реакцію додаванням 100 мкл стоп-розчину в кожну лунку.
8. Визначити оптичну щільність (ОЩ) кожної лунки при  $450 \pm 10$  нм з рідером мікропланшетів. Рекомендується, щоб лунки були лічені протягом 10 хвилин після додавання Стоп Розчину.

### 6.3 Розрахунок результатів

1. Обчислити середні значення оптичної щільності для кожного набору стандартів, контролів і зразків пацієнтів.
2. Використовуючи полулогарифмічний або міліметровий папери, побудувати стандартну криву, накреслюючи середнє значення оптичної щільності, отримане від кожного стандарту проти його концентрації зі значенням оптичної щільності на вертикальній (Y) осі і концентрації на горизонтальній (X) осі.
3. Використовуючи значення середньої оптичної щільності для кожного зразка визначити відповідну концентрацію від стандартної кривої.
4. Автоматичний метод: Результати в IFU були розраховані автоматично за допомогою кривої 4 параметра (4 Параметр Rodbard або 4 параметра Марквардт є кращими методами.) Інше скорочення обсягу даних функції можуть дати дещо інші результати.
5. Концентрацію зразків можна зчитувати безпосередньо зі стандартної кривої. Зразки з концентрацією вище, ніж у самого високого стандарту, необхідно розводити або повідомляти в вигляді  $> 130$  нг / мл. Для розрахунку концентрації цей коефіцієнт розбавлення необхідно брати до розрахунку.

#### 6.3.1 Приклад типової стандартної кривої.

Наступні дані тільки для демонстрації і не можуть бути використані замість поколінь даних під час аналізу.

стандарт	Оптичні одиниці (450 нм)
Стандарт А (0 нг/мл)	2.13
Стандарт В (4 нг/мл)	1.91



Стандарт С (10 нг/мл)	1.63
Стандарт D (25 нг/мл)	1.12
Стандарт E (60 нг/мл)	0.57
Стандарт F (130 нг/мл)	0.24

## 7.ОЧІКУВАНІ НОРМАЛЬНІ ЗНАЧЕННЯ

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія повинна визначити свої власні нормальні і ненормальні значення.

В дослідженнях, проведених з очевидно нормальними здоровими дорослими, використовуючи вітамін 25-ОН D ELISA, спостерігалися наступні значення :

населення	кількість	Вік (років)	Середній вік	Середня концентрація (нг/мл)	5 процентний (нг/мл)	95% (нг/мл)
загальний	120	21-76	44	23.7	8.69	51.0
чоловіки	64	26-76	47	25.8	9.78	51.9
жінки	56	21-75	40	21.2	7.70	41.3
кавказці	61	21-75	44	28.2	12.6	52.5
іспанці	24	21-76	40	23.2	12.1	40.8
Афро-американці	35	24-65	45	16.1	5,95	36.5
северний	40	21-75	43	20.3	11.8	32.3
центральний	40	24-62	43	16.1	6.36	29.6
южний	40	24-76	45	34.6	18.9	56.0
літо	60	24-76	47	29.7	12.7	52.7
зима	60	21-66	40	17.6	6.67	29.5

Зразки були зібрані з об'єктів з різними тонами шкіри, в 3-х різних географічних точках (Північної, Південної і Центральної США), під час літнього і зимового часу.

Результати самі по собі не можуть бути єдиною причиною для будь-яких терапевтичних наслідків. Результати повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями і діагностичними тестами.

Огляд літератури пропонує наступні діапазони для класифікації стану 25-ОН вітаміну D :

Вітамін D стан	25-ОН вітамін D (нг/мл)	25-ОН вітамін D (нмоль/л)
дефіцит	< 10	< 25
недостатність	10-29	25-72,5
достатність	30-100	75-250
токсичність	> 100	> 250

## 8. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ.

Належна лабораторна практика вимагає, щоб контролю провонялися з кожною стандартною кривою. Статистично істотну кількість контролів слід аналізувати, щоб встановити середні значення і допустимі діапазони для забезпечення належних характеристик виконання.

Рекомендується використовувати контрольні зразки відповідно до державних і федеральних нормативів. Використання контрольних зразків рекомендується для забезпечення повсякденної достовірності результатів. Використовуйте контролю як нормального, так і патологічного рівнів. Контроль і відповідні результати лабораторії КК вказані в сертифікаті

КК доданим в наборі. Значення і діапазони, зазначені на аркуші КК завжди відносяться до поточного лоту набору і повинні використовуватися для прямого порівняння результатів. Також рекомендується використовувати національні та міжнародні програми оцінки якості, як схема оцінки якості D - вітаміну (DEQAS) з метою забезпечення точності результатів. Використовуйте відповідні статистичні методи для аналізу контрольних значень і тенденцій. Якщо результати аналізу не відповідають встановленим допустимим діапазонам контрольних матеріалів, результати пацієнта слід розглядати невірними. В цьому випадку, будь ласка, перевірте наступні технічні аспекти: прилади для прокапування; фотометр, термін придатності реагентів, умови зберігання і інкубації, методи аспірації і промивання. Після перевірки вищезазначених пунктів, не знаходячи будь-які помилки зверніться до дистриб'ютора або напряму до виробника.

## **9 ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ**

### **9.1 Аналіз динамічного діапазону**

Діапазон аналізу становить від 3,5 - 130 нг / мл.

### **9.2 Специфічність антитіл (перехресна реактивність)**

Наступні речовини були перевірені на перехресну реактивність тесту:

25-ОН вітаміну D3: 102,4%

25-ОН вітамін D2: 69,5%

1,25 (ОН) 2 вітамін D3: <0,1%

1,25 (ОН) 2 Вітамін D2: <0,1%

3-епі-25-ОН-вітаміну D3: 66,3%

Вітамін D3: 3,8%

вітаміну D2: 3,2%

### **9.3 Чутливість**

Аналітична чутливість 25-ОН вітаміну D ELISA була розрахована відповідно до CLSI EP17-A відніманням 1.645 стандартних відхилень від середнього значення 60 повторів аналізу стандарту А (S0) і було встановлено, що <2,5 нг / мл. Функціональна чутливість 25-ОН вітаміну D ELISA була оцінена відповідно до CLSI EP17-A, визначається як концентрація вітаміну D, який апроксимує CV 20% і було встановлено, що <3,5 нг / мл.

### **9.4 Відтворюваність**

Відтворюваність 25-ОН вітаміну D ELISA оцінювали відповідно до CLSI EP5-A. Шість зразків, включаючих різну концентрацію аналізованої речовини, було проаналізовано в дублікатах в двох аналізах в день протягом 20 робочих днів для визначення внутрішньої групової і між аналізами варіабельності.

#### **9.4.1 Intra аналіз**

В межах аналізу варіабельність наведена нижче:

<b>зразок</b>	<b>кількість</b>	<b>Середнє (нг/мл)</b>	<b>CV (%)</b>
1	80	6.0	4.4
2	80	10.9	3.3
3	80	22.5	1.7
4	80	29.2	1.6
5	80	57.3	1.6
6	80	88.9	1.4

#### **9.4.3 Inter-лот**

Inter аналіз (між-лотів) варіації (зміни) визначали за допомогою повторних вимірів 6 зразків в 3 різних лотах набору.

зразок	кількість	Середнє Значення (нг/мл) лот 1	Середнє Значення (нг/мл) лот 2	Середнє Значення (нг/мл) лот 3	CV (%)
1	18	7.3	7.6	6.4	8.7
2	18	16.8	15.7	14.9	6.2
3	18	33.0	30.7	29.4	5.9
4	18	52.7	50.1	47.1	5.6
5	18	80.9	74.3	74.1	5.1
6	18	108.8	105.7	102.3	3.1

### 9.5 Відновлення

Зразки були збагачені додаванням 4 розчинів з відомою концентрацією в 1 : 1 співвідношенні. % відновлення був розрахований шляхом множення коефіцієнта вимірювань і очікуваних значень з 100 (очікуваний значення = (ендогенне значення + додана вартість) / 2; через 1: 2 розведення сироватки з збагаченим матеріалом) .

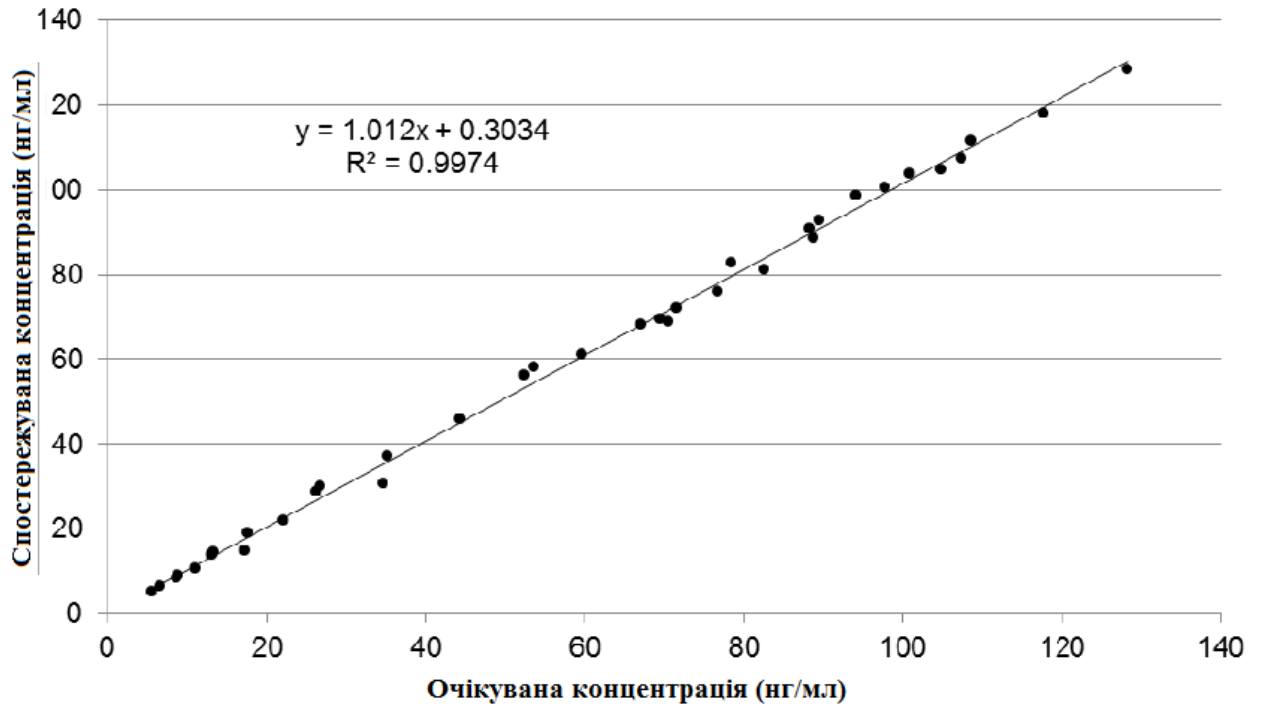
	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4	Зразок 5
Концентрація (нг/мл)	9.0	17.4	36.4	60.5	82.6
Середнє відновлення	94.7	93.9	104.1	105.2	92.5
Діапазон від відновлення до	91.4	92.3	92.9	96.9	88.2
	99.7	96.7	112.4	111.3	94.1

### 9.6 Лінійність

Згідно CLSI EP6-A були розбавлені Стандартом А (S0). Отримані результати були проаналізовані як лінійна регресія очікуваних навпроти спостережуваних значень. Отримане рівняння регресії: ФАКТ = очікуване  $1,01 + 0,30$ ;  $R^2 = 0,997$

	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4	Зразок 5
Концентрація (нг/мл)	69.4	88.7	104.8	107.4	128.3
Середнє відновлення	90.8	98.4	107.5	103.2	102.7
Діапазон від відновлення (%) до	85.8	94.7	105.7	97.9	97.5
	97.8	103.3	109.2	108.5	107.8

### Лінійність



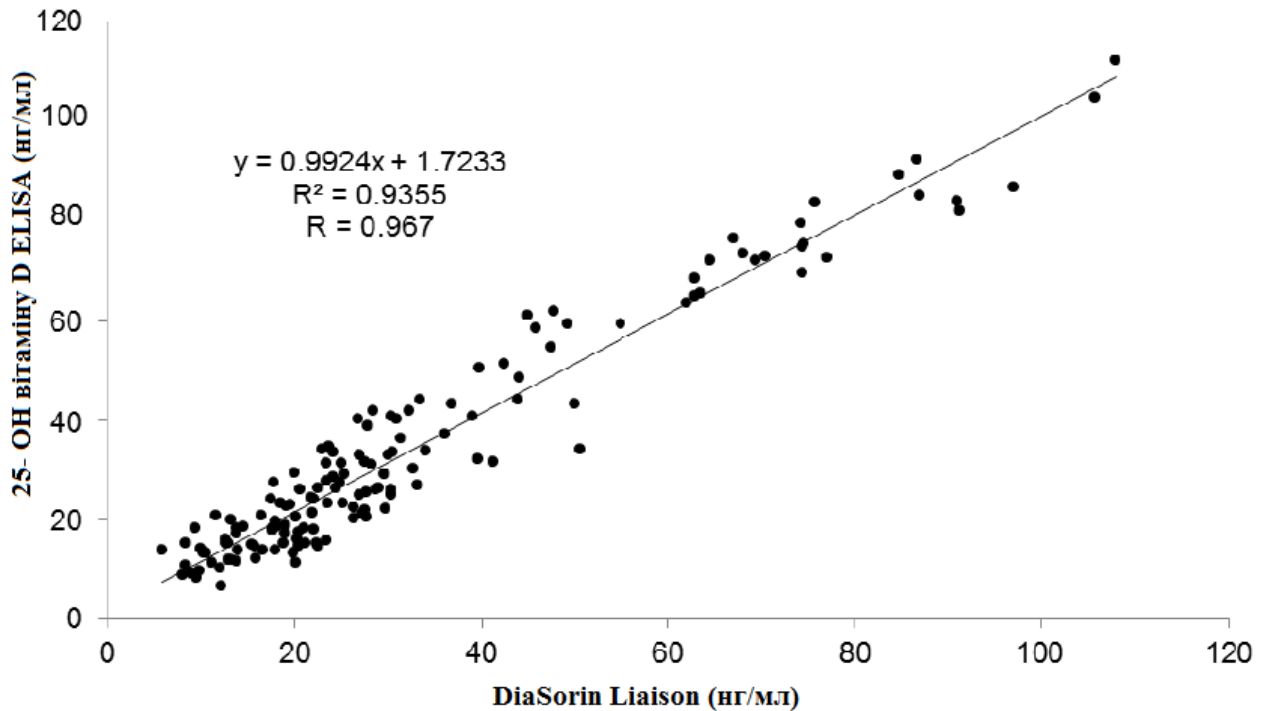
### 9,7 Порівняння досліджень

Для метод порівняння відповідно до CLSI EP09-A2-IR, 145 зразків, що перекривають діапазон аналізу були протестовані 25- ОН вітаміну D ELISA і за допомогою DiaSorin LIAISON® 25-ОН вітаміну D TOTAL Assay.

Результати рівняння регресії було:

25-ОН вітаміну D ELISA = DiaSorin  $0,99 + 1,72$ ;  $R = 0.967$ .

### Порівняння методів



### 10 ОБМЕЖЕННЯ використання.

Надійні і відтворювані результати будуть отримані, коли процедура аналізу виконується з розумінням інструкції, вкладеної пакет набору і з дотриманням належної лабораторної практики. Любе неправильне обертання зразків або модифікація даного тесту може вплинути на результати.

### **10.1 Впливаючі речовини**

Гемоглобін (до 4 мг / мл), білірубін (до 0,5 мг / мл), тригліцериди (до 7,5 мг / мл), холестерину (до 202,8 мг / мл), Альбумін (до 75 мг / мл) і ревматоїдний фактор (до 100 Од / мл) не роблять ніякого впливу на результати аналізу.

### **10.2 Вплив ліків.**

До сьогодні речовини (ліки) невідомі нам, які впливають на вимірювання 25-ОН вітаміну D в зразках.

### **10.3 Високі дози-Хук ефект.**

Хук ефект не спостерігався в цьому аналізі.

## **11 ЮРИДИЧНІ АСПЕКТИ**

Тільки для країн, де декларацію Європейського відповідності (CE знак) можна застосовувати.

### **11.1 Надійність результатів**

Аналіз повинен бути виконаний точно відповідно до інструкцій виробника щодо застосування. Крім того, користувач повинен строго дотримуватися правил GLP (належної лабораторної практики) або інших застосованих національних стандартів і / або законів. Це особливо актуально для використання контрольних реагентів. Важливо завжди включати в процедуру аналізу, достатню кількість контролів для оцінки достовірності і точності результатів випробувань. Результати аналізу дійсні тільки тоді, коли всі контролі знаходяться в межах зазначених діапазонів, і якщо всі інші параметри випробування також в межах даної специфікації аналізу. У разі виникнення будь-яких сумнівів або занепокоєння, будь ласка, зв'яжіться з виробником.

### **11.2.Терапевтичні наслідки**

Терапевтичні наслідки ніколи не повинні ґрунтуватися тільки на результатах лабораторних досліджень, навіть якщо всі результати випробувань є в згоді з деталями, як зазначено в пункті 11.1. Будь-який результат лабораторного дослідження є лише частиною загальної клінічної картини пацієнта. Тільки в тих випадках, коли лабораторні результати знаходяться в прийнятній згоді із загальною клінічною картиною пацієнта повинні бути надані терапевтичні наслідки. Результат тесту сам ніколи не повинен бути єдиним фактором, що визначає для виведення терапевтичних наслідків.

### **11.3 Відповідальність**

Будь-яка модифікація тестового набору і / або обміну або суміші будь-яких компонентів різних партій з одного набору на інший може негативно вплинути на очікувані результати і правильність загального тесту. Така модифікація і / або обміни є недійсними для будь-яких претензій на заміну.

Претензії, подані у зв'язку з неправильною інтерпретацією клієнтами результатів лабораторних досліджень, які підлягають до пункту 11.2. є також недійсними.

Незважаючи на це, в разі будь-яких претензій, відповідальність виробника не повинна перевищувати цінового значення випробувального набору. Будь-який збиток, заподіяний випробувальному набору при транспортуванні не підлягає відповідальності виробника.

## **12. ЛІТЕРАТУРА**

### **12 REFERENCES / LITERATURE**

1. Armas LAG., Hollis M., Heaney RP. Vitamin D<sub>2</sub> is much less effective than vitamin D<sub>3</sub> in humans.

- J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004; 89(11) 5387-91.
2. Houghton LA., Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D<sub>2</sub>) as a vitamin supplement. Am. J. Nutr. 2006; 84, 694-97.
3. Holick M. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes 2002; 9(1) 87-98.
4. Pilz S. et al. Vitamin D: clinical implications beyond musculoskeletal diseases. J. Lab. Med. 2011; 35(4) 211-16.
5. Visser M. et al. Low serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D in older persons and the risk of nursing home admission. Am. J. Clin. Nutr. 2006; 84(3) 616-22.
6. Souberbielle JC. Et al. Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice. Autoimmun Rev. 2010; 9 709-15

**Умовні позначення:**

 <p>Температура зберігання</p>	 <p>виробник</p>	 <p>Містить достатньо для &lt;N&gt; випробувань</p>
 <p>Дата закінчення терміну придатності</p>	<p><b>LOT</b> Код партії</p>	<p><b>IVD</b> Тільки для діагностики в лабораторних умовах!</p>
 <p>зверніться до інструкції з використання</p>	<p><b>CONT</b> зміст</p>	<p><b>CE</b> Маркування</p>