

**BIOHIT HealthCare**

Innovating for Health

# BIOHIT TOTAL 25OH VITAMIN D

**ELISA-testipakkaus** 25-hydroksiviamiini-D2:n ja -D3:n määrittämiseen plasmasta ja seerumista

KÄYTTÖOHJEET




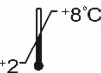




602 310.02



For *in vitro* diagnostic use  
Store at 2-8 °C Upon Receipt

**Biohit Oyj** Laippatie 1, FI-00880 Helsinki, Finland  
Tel. +358 9 773 861, [info@biohit.fi](mailto:info@biohit.fi), [www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com)

|  |   |                           |                                 |
|--|---|---------------------------|---------------------------------|
| <b>IVD</b>   | <i>In vitro</i> -diagnostiseen käyttöön | <b>CAL</b>   <b>0</b>     | Kalibraattori 0                 |
| <b>REF</b>   | Kataloginnumero                         | <b>CAL</b>   <b>1-5</b>   | Kalibraattorit 1–5              |
| <b>LOT</b>   | Eränumero                               | <b>CONTROL</b>   <b>N</b> | Kontrollit                      |
|   | 96 testiä                               | <b>INC</b>   <b>BUF</b>   | Inkubaatiopuskuri               |
|   | Suojeltava auringonvalolta              | <b>CONJ</b>   <b>BUF</b>  | Konjugaattipuskuri              |
|   | Viimeinen käyttöpäivä                   | <b>CONJ</b>   <b>CONC</b> | Konsentroidu 25OHD-konjugaatti  |
|   | Säilytys +2...8 °C                      | <b>HRP</b>   <b>CONC</b>  | Konsentroidu SA-HRP             |
|   | Ei saa käyttää uudelleen                | <b>WASH</b>   <b>200x</b> | Pesupuskurikonsentraatti (200x) |
|  | Lue käyttöohjeet                        | <b>SUBS</b>               | Substraattiliuos                |
| <b>LYO</b>   | Lyofilisoitu                            | <b>STOP</b>               | Pysäytysliuos                   |

## KÄYTTÖOHJEET

Suomi

Huomautus: Muut kieliversiot saatavilla osoitteessa [www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com).

BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA -testipakkaus

Kat. nro 602 310.02

## SISÄLLYS

|   |              |    |
|---|--------------|----|
| <b>KÄYTTÖOHJEET</b>   | <b>Suomi</b> | 3  |
| 1. KÄYTTÖTARKOITUS  |              | 5  |
| 2. TAUSTA   |              | 5  |
| 3. TESTIN PERIAATE  |              | 5  |
| 4. VAROITUKSET JA VAROTOIMET                                |              | 6  |
| 5. ARVOJEN JÄLJITETTÄVYYS                                   |              | 6  |
| 6. TESTIPAKKAUKSEN SISÄLTÖ                                  |              | 6  |
| 6.1 Kuoppalevy  |              | 7  |
| 6.2 Kalibraattori 0   |              | 7  |
| 6.3 Kalibraattorit 1–5                                      |              | 7  |
| 6.4 Kontrollit  |              | 7  |
| 6.5 Inkubaatiopuskuriliuos                                  |              | 7  |
| 6.6 Pesupuskurikonsentraatti                                |              | 7  |
| 6.7 Konjugaattipuskuri                                      |              | 7  |
| 6.8 Konsentroidu 25OHD-konjugaatti                          |              | 8  |
| 6.9 Konsentroidu SA-HRP                                     |              | 8  |
| 6.10 Substraattiliuos                                       |              | 8  |
| 6.11 Pysäytysliuos  |              | 8  |
| 6.12 Käyttöohjeet   |              | 9  |
| 7. TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOTKA EIVÄT SISÄLLY PAKKAUKSEEN |              | 9  |
| 8. SÄILYTTÄMINEN JA STABIILIUUS                             |              | 9  |
| 9. NÄYTTEEN OTTAMINEN JA KÄSITTELEMINEN                     |              | 9  |
| 10. TESTIMENETELMÄ  |              | 10 |
| 10.1 Esivalmistelut   |              | 10 |
| 10.2 Testimenetelmä   |              | 10 |
| 10.3 Automaattimenetelmä                                    |              | 11 |
| 11. TULOKSET  |              | 11 |
| 11.1 Laadunvalvonnan arvot                                  |              | 11 |
| 11.2 Tulosten laskenta ja tyypilliset tiedot                |              | 11 |
| 11.3 Tulosten tulkinta ja biologiset viitearvovälit         |              | 13 |
| 12. MENETELMÄN RAJOITUKSET                                  |              | 13 |
| 13. ANALYYTTINEN SUORITUSKYKY                               |              | 13 |
| 13.1. Toteamis- ja määrittäysraja                           |              | 13 |
| 13.2 Mittausalue  |              | 14 |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 13.3 Täsmällisyys.....            | 14 |
| 13.4 Analyttinen spesifisyys..... | 14 |
| 13.5 Interferenssi.....           | 15 |
| 13.6 Löydös ja lineaarisuus ..... | 15 |
| 13.7 Menetelmien vertailu .....   | 16 |
| 14. KIRJALLISUUS.....             | 17 |
| 15. JULKAISUPÄIVÄ .....           | 18 |
| 16. TAKUU .....                   | 18 |
| 17. TILAUSTIEDOT .....            | 18 |
| 18. TESTIMENETELMÄ LYHYESTI ..... | 19 |

## 1. KÄYTTÖTARKOITUS

BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA on kvantitatiivinen immunoentsyymaattinen analyysi seerumin ja plasman 25-hydroksiviamiini-D2:n ja -D3:n (25OH-D2 ja 25OH-D3) in vitro -määritykseen D-vitamiinin puutoksen, riittämättömyyden tai myrkytyksen diagnosoinnin tueksi.

## 2. TAUSTA

D-vitamiini on yleisnimitys rasvaliukoisille steroidihormonien esiasteille, jotka ovat monella tavalla tärkeitä ihmisen terveydelle. Niiden kaksi ihmiselle tärkeintä muotoa ovat D2-vitamiini eli ergokalsiferoli ja D3-vitamiini eli kolekalsiferoli. D2- ja D3-vitamiinia esiintyy luontaisesti tietyissä elintarvikkeissa ja niitä lisätään moniin elintarvikkeisiin. D-vitamiinia suositellaan monissa maissa käytettäväksi ravintolisänä, etenkin raskauden aikana ja silloin, kun auringonvalon saanti on vähäistä joko ilmastollisista tai kulttuurisista. (1–3)

D3-vitamiinin tärkein elimistössä kiertävä muoto on 25-hydroksyloitu muoto (25OHD3, tunnetaan myös kalsidiolina). D3-vitamiini metaboloituu maksassa 25-hydroksiviamiini-D3:ksi. Hiljattain on havaittu, että 25OHD3-vitamiinia on myös joissakin eläinperäisissä elintarvikkeissa. 25OHD3 on muiden D-vitamiinin metaboliittien prekursori, ja myös sillä itsellään on jonkin verran aktiivisuutta. Munuaisissa 25OHD3 muuntuu 1,25-dihydroksiviamiini-D3:ksi, eli kalsitrioliksi, joka on aktiivisin D3-vitamiinin muoto. D2-vitamiini metaboloituu pääosin samaan tapaan kuin D3-vitamiini, ja molemmat muodot vaikuttavat henkilön D-vitamiinitilanteeseen. On erittäin tärkeää mitata sekä D-vitamiinin D2- että D3-muotoja, jotta D-vitamiinin puutos, riittämättömyys tai D-vitamiinimyrkytys voidaan diagnosoida oikein. Veren 25OHD-pitoisuus on luotettavin henkilön D-vitamiinitilanteen määrittäminen. 25OHD:n puoliintumisaika verenkierron aikana on melko pitkä: 15 päivää, ja 25OHD-taso heijastaa sekä elintarvikkeista ja lisäravinteista saadun että ihossa syntyneen D-vitamiinin määrää. (1–9)

25OHD-vitamiini stimuloi sekä kalsiumin että fosforin imeytymistä suolesta ja vaikuttaa luun resorptioon ja mineralisaatioon. D-vitamiinin puutos voi aiheuttaa luuston heikentymistä, ja se on merkittävä riisitautin, osteomalasian ja tyypin 2 osteoporoosin riskitekijä. 25OHD-vitamiinin D2- ja D3-muotojen mittaamista tarvitaan myös seerumin poikkeavien kalsiumpitoisuuksien syyn selvittämiseen. Liian suuret D-vitamiinipitoisuudet (D-vitamiinimyrkytys) voivat aiheuttaa munuais- ja kudonvaurioita. D-vitamiinilla on todettu olevan elimistössä myös monia muita tehtäviä, kuten solunkasvun sekä neuromuskulaaristen ja immuunitoimintojen säätely ja tulehduksen vähentäminen. Myös kognitiivisten häiriöiden, dementian ja D-vitamiinin puutoksen välinen yhteys on vahvistettu. Viimeaikaiset tutkimukset ovat tuoneet lisää näyttöä D-vitamiinin mahdollisista vaikutuksista syövän, diabeteksen ja raskauden lopputulosten kannalta. (1–6, 10–16)

## 3. TESTIN PERIAATE

BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA -testi on kompetitiivinen entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys, joka toteutetaan kuoppalevyillä. Ensin kuoppalevyn kuoppiin lisätään näyte, kontrollit ja kalibraattorit ja heti sen jälkeen inkubaatiopuskuri. Huoneenlämpötilassa tapahtuvan kahden tunnin inkubaatiovaiheen aikana 25OHD irtoaa seerumin/plasman proteiineista ja sitoutuu 25OHD-spesifiseen monoklonaaliseen vasta-aineeseen, jolla kuoppalevyn kuopat on päällystetty. Sitoutumaton materiaali pestään pois kuopista. Valmiiksi sekoitettu biotiinileimattu 25OHD-johdannaisen ja streptavidini-

leimatun piparjuuriperoksidaasin (HRP) liuos lisätään kuoppiin. Seuraavan inkubaation aikana vasta-aineeseen sidottu leimattu 25OHD kilpailee leimaamattoman 25OHD:n kanssa vasta-aineen sitoutumispaikoista. Kuopat pestään sitoutumattoman materiaalin poistamiseksi ja kromogeeninen substraatti (tetrametyylibentsidiini, TMB) lisätään. Inkuboidaan 15 minuutin ajan, reaktio pysäytetään lisäämällä pysäytysliuosta ja värimuutoksen intensiivisyys mitataan. Värin kanssa kääntäen verrannollinen 25OHD-pitoisuus voidaan laskea interpoloimalla kalibrointikäyrästä.

#### **4. VAROITUKSET JA VAROTOIMET**

##### ***In vitro* -diagnostiseen käyttöön.**

**VAROITUS:** Käsittele plasmanäytteitä mahdollisesti biologisesti vaarallisina materiaaleina. Kaikkia verinäytteitä on käsiteltävä kuin ne olisivat tartuntavaarallisia. Lue lisää laboratorion turvallisuuskäytännöistä Yhdysvaltain terveysministeriön (U.S. Department of Health and Human Services, Bethesda, MD., USA) julkaisusta Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 1999, 4. painos (CDC/NIH) sekä julkaisusta nro (CDC) 88-8395 tai muista paikallisista tai kansallisista säädöksistä.

Tämän testin reagensseissa on käytetty ihmisen veren komponentteja. Testin materiaalit on testattu B- ja C-hepatiitin sekä HIV:n vasta-aineiden varalta ja todettu negatiivisiksi. Millään testimenetelmällä ei kuitenkaan voida täysin sulkea pois näiden patogeenien mukana oloa, joten näytteiden käsittelyssä on noudatettava varovaisuutta.

Kaikki eläinperäiset tuotteet ja johdannaiset on otettu terveistä eläimistä. Nautaperäiset ainesosat ovat peräisin maista, joissa ei ole raportoitu BSE:tä. Kaikkia eläinperäisiä aineita sisältäviä komponentteja on kuitenkin käsiteltävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Käytä aina suojakäsineitä, kun käsittelet potilasnäytteitä. Käytä käyttäjälle turvallisia pipettejä kaikkiin pipetointeihin. Älä koskaan pipetoi suulla. Lue kaikki käyttöohjeet ennen määrityksen aloittamista. ProClin-säilöntäainetta sisältävät komponentit saattavat aiheuttaa allergisen ihoreaktion (katso käyttöturvallisuustiedote). Hävitä ProClinia sisältävät liukset paikallisten jätehuoltomääräysten mukaisesti. Pysäytysliuos sisältää suolahappoa (katso käyttöturvallisuustiedote). Jos sitä joutuu iholle, pese huolellisesti vedellä. Inkubaatioliuos sisältää PFOA:ta (perfluorioktaanihappoa). Jos sitä joutuu iholle, pese huolellisesti vedellä ja saippualla.

#### **5. ARVOJEN JÄLJITETTÄVYYS**

Testi on kalibroitu ID-LC/MS-MS-viitemittausmenettelyn (Ghentien menetelmä) (17–18) avulla, joka on hyväksytty National Institutes of Healthin (NIH) Office of Dietary Supplementsin (ODS) D-vitamiinin standardointiohjelmassa (VDSP).

#### **6. TESTIPAKKAUKSEN SISÄLTÖ**

Reagenssit riittävät 96 kuoppaan. Älä käytä reagensseja eri testipakkauksista, joissa on eri eränumero.

## 6.1 Kuoppalevy

**Sisältö:** Kehyksessä 12 x 8 liuskaa (irrotettavat kuopat), jotka on päällystetty 25OHD2- ja -D3-spesifeillä monoklonalisilla vasta-aineilla. Pakattu uudelleen suljettavaan pussiin yhdessä kuivausaineen kanssa.

**Valmistus:** Käyttövalmis. Kuoppalevyä tai yksittäisiä liuskoja ei pidä ottaa pois foliopussista ennen kuin niiden lämpötila on tasaantunut huoneenlämpöön (20–25 °C).

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti. Hävitä käytetyt liuskat. Käyttämättömät liuskat laitetaan takaisin foliopussiin, pussi suljetaan huolellisesti ja säilytetään jääkaapissa 2–8 °C:ssa.

## 6.2 Kalibraattori 0

**Sisältö:** 1 pullo lyofilisoitua biologista materiaalia, joka sisältää gentamysiiniä ja ProClinia säilöntäaineina. **Huomautus:** Käytä kalibraattoria 0 sellaisten näytteiden laimentamiseen, joiden arvot ylittävät suurimman kalibraattorin pitoisuuden.

**Valmistus:** Tee kalibraattori käyttövalmiiksi lisäämällä siihen 2 ml tislattua vettä.

**Säilyvyys:** Lyofilisaatti säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti. Kalibraattori 0 on käyttövalmiiksi saattamisen jälkeen stabiili 8 viikkoa 2–8 °C:n lämpötilassa. Pidempää säilytystä varten se on jaettava eriin ja säilytettävä –20 °C:n lämpötilassa enintään 4 kuukautta. Peräkkäisiä jäädytys- ja sulatuskertoja on vältettävä.

## 6.3 Kalibraattorit 1–5

**Sisältö:** 5 pulloa lyofilisoituja kalibraattoreita 1–5 (katso tarkat arvot pullon etiketistä) hevosen seerumissa; sisältävät gentamysiiniä ja ProClinia säilytysaineina. Kalibraattoreiden 25OHD-arvot ovat eräkohtaisia. Kalibraattorin tarkka 25OHD-pitoisuus on mainittu pullon etiketissä.

**Valmistus:** Tee kalibraattorit käyttövalmiiksi lisäämällä kuhunkin pulloon 1 ml tislattua vettä.

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti. Kalibraattorit ovat käyttövalmiiksi saattamisen jälkeen stabiileja 8 viikkoa 2–8 °C:n lämpötilassa. Pidempää säilytystä varten ne on jaettava eriin ja säilytettävä –20 °C:n lämpötilassa enintään 4 kuukautta. Peräkkäisiä jäädytys- ja sulatuskertoja on vältettävä.

## 6.4 Kontrollit

**Sisältö:** 2 pulloa lyofilisoituja kontrolleja (n = 2) ihmisen plasmassa; ProClin säilöntäaineena.

**Valmistus:** Tee käyttövalmiiksi lisäämällä kuhunkin pulloon 1 ml tislattua vettä.

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti. Kontrollit ovat käyttövalmiiksi saattamisen jälkeen stabiileja 8 viikkoa 2–8 °C:n lämpötilassa. Pidempää säilytystä varten ne on jaettava eriin ja säilytettävä –20 °C:n lämpötilassa enintään 4 kuukautta. Peräkkäisiä jäädytys- ja sulatuskertoja on vältettävä.

## 6.5 Inkubaatiopuskuriliuos

**Sisältö:** 1 pullo (20 ml) inkubaatiopuskuriliuosta, joka sisältää kaseiinia ja ProClinia säilöntäaineina.

**Valmistus:** Käyttövalmis.

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti.

## 6.6 Pesupuskurikonsentraatti

**Sisältö:** 1 pullo (10 ml) pesupuskurikonsentraattia (200x, TRIS-HCl).

**Valmistus:** Laimenna 1:200 tislattulla vedellä (esim. 5 ml pesupuskurikonsentraattia + 995 ml vettä). Sekoita magneettisekoittimessa. Käytä pesupuskurin valmistukseen puhdasta muoviasiaa. Mikrobien kasvun ehkäisemiseksi on suositeltavaa, että pesupuskurin käyttöliuos valmistetaan ja käytetään samana päivänä.

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti.

## 6.7 Konjugaattipuskuri

**Sisältö:** 1 pullo (30 ml) konjugaattipuskuriliuosta, joka sisältää kaseiinia ja ProClinia säilöntäaineina.

**Valmistus:** Käyttövalmis. Valmista konjugaatin käyttölaimeen lisäämällä konsentroitua 25OHD-konjugaattia ja SA-HRP-konsentraattia konjugaattipuskuriliuokseen alla olevan laimennustaulukon mukaisesti.

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti.

### 6.8 Konsentroidu 25OHD-konjugaatti

**Sisältö:** 1 pullo (0,3 ml) 25OHD-vitamiinin konsentroitua konjugaattia.

**Valmistus:** Valmista konjugaatin käyttöliuos laimentamalla 1:100 konjugaattipuskuriliuoksella alla olevan laimennustaulukon mukaisesti.

**Säilyvyys:** Konsentraatti säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti.

### 6.9 Konsentroidu SA-HRP

**Sisältö:** 1 pullo (0,2 ml) konsentroitua streptavidiini-HRP:tä.

**Valmistus:** Valmista konjugaatin käyttölaimeen laimentamalla 1: 200 konjugaattipuskuriliuoksella alla olevan laimennustaulukon mukaisesti.

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti.

Konjugaatin käyttölaimeen valmistus: Liuos on valmistettava vähintään 1 h 45 min ennen käyttöä! On suositeltavaa valmistaa konjugaatin käyttölaimeen alkuinkubaation aikana.

Valmista riittävä määrä konjugaatin käyttölaimeen sekoittamalla 3 reagenssia seuraavassa järjestyksessä: (1) konjugaattipuskuriliuos, (2) konsentroidu 25OHD-konjugaatti, (3) Vorteksoi, (4) konsentroidu SA-HRP, (5) Vorteksoi. **On äärimmäisen tärkeää, että nämä kolme reagenssia lisätään tässä järjestyksessä toistettavien optisten tiheyksien saamiseksi.** Pidä konjugaatin käyttölaimeen huoneenlämpötilassa käyttöön saakka. Vältä suoraa auringonvaloa. Valmistettu käyttöliuos ei ole pitkään stabiilia, ja se on hävitettävä, jos sitä ei käytetä saman työpäivän aikana.

Laimennustaulukko

| Liuskat | Konjugaatti-puskuriliuos (ml) | Konsentroidu 25OHD-konjugaatti (µl) | Konsentroidu SA-HRP (µl) | Yhteismäärä (ml) |
|---------|-------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|------------------|
|         | CONJ   BUF                    | CONJ   CONC                         | HRP   CONC               |                  |
| 1       | 3                             | 30                                  | 15                       | 3,045            |
| 2       | 5                             | 50                                  | 25                       | 5,075            |
| 3       | 6                             | 60                                  | 30                       | 6,090            |
| 4       | 8                             | 80                                  | 40                       | 8,120            |
| 5       | 9                             | 90                                  | 45                       | 9,135            |
| 6       | 10                            | 100                                 | 50                       | 10,150           |
| 7       | 12                            | 120                                 | 60                       | 12,180           |
| 8       | 14                            | 140                                 | 70                       | 14,210           |
| 9       | 16                            | 160                                 | 80                       | 16,240           |
| 10      | 18                            | 180                                 | 90                       | 18,270           |
| 11      | 20                            | 200                                 | 100                      | 20,300           |
| 12      | 22                            | 220                                 | 110                      | 22,330           |

\* 200 µl kuoppaa kohti

### 6.10 Substraattiliuos

**Sisältö:** 1 pullo (13 ml) tetrametyylibentsidiiniä (TMB) vesiliuoksena.

**Valmistus:** Käyttövalmis.

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti. Vältä suoraa valoaltistusta.

### 6.11 Pysäytysliuos

**Sisältö:** 1 pullo (13 ml) 1M HCl.



**Valmistus:** Käyttövalmis. Pysäytysliuos sisältää suolahappoa (katso käyttöturvallisuustiedote). Jos sitä joutuu iholle, pese huolellisesti vedellä.

**Säilyvyys:** Säilyy viimeiseen käyttöpäivään asti.

## 6.12 Käyttöohjeet

Pakkauksessa on englanninkieliset käyttöohjeet.

Muut kieliversiot saatavilla osoitteessa [www.biohithealthcare.com](http://www.biohithealthcare.com).

## 7. TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOTKA EIVÄT SISÄLLY PAKKAUKSEEN

Tislattua tai deionisoitua vettä, mikropipettejä ja kertakäyttökärkiä 50–1000 µl, pipettejä 1–10 ml, 8-kanavainen pipetti 100 µl ja 200 µl, koeputkisekoitin (esim. 1000 ml), magneettisekoitin, vortex-sekoitin, levyravistelijä, kuoppalevypesuri, kello, vertikaalimittaukseen perustuva kuoppalevylukija – mittauksen aallonpituus 450 nm (vs. 630 tai 650 nm, bikromaattinen luenta suositeltava), muovisia seerumi- tai EDTA-plasmaputkia, jäävesihaude.

## 8. SÄILYTTÄMINEN JA STABIILIUUS

Säilytä BIOHIT 25OH Vitamin D -testipakkaus jääkaapissa (2–8°C). Kun pakkausta säilytetään tässä lämpötilassa, se säilyy pakkaukseen ja osien etiketteihin painettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka. Älä jäädytä tai altista testipakkausta korkeille lämpötiloille äläkä säilytä sitä yli 8 °C:ssa, kun sitä ei käytetä.

Älä käytä reagensseja etiketteihin merkityn säilyvyysajan jälkeen. Älä käytä reagensseja eri testipakkauksista, joissa on eri eränumero, äläkä käytä muiden valmistajien reagensseja. Käytä vain tislattua tai deionisoitua vettä. Testipakkauksen komponenteissa on mainittu tarkat pitoisuudet. Jatkolaimennokset tai reagenssien muut muutokset voivat aiheuttaa vääriä tuloksia. Lisätietoja pakkauksen osien stabiiliudesta käyttövalmiiksi saattamisen jälkeen on kohdassa 6.

Pakkauksen reagenssien fyysisen olomuodon muutokset voivat viitata epästabiiliuteen tai pilaantumiseen. Substraattiliuoksen tulisi olla väritön tai hennon sinertävä. Mikä tahansa muu väri substraattiliuoksessa ilmaisee sen pilaantuneen.

## 9. NÄYTTEEN OTTAMINEN JA KÄSITTELEMINEN

BIOHIT Total 25OH Vitamin D -testi soveltuu käytettäväksi seeruminäytteille tai EDTA-plasmanäytteille.

Plasmanäytteen valmisteleminen:

Kun verinäyte on otettu lisäaineettomaan EDTA-putkeen, putket sekoitetaan heti kääntelemällä 5–6 kertaa ylösalaisin. Plasma erotetaan viimeistään kahden tunnin kuluttua sentrifugoimalla (esim. StatSpin® Express 2, 4440 g kahden minuutin ajan; katso valmistajan antamat plasman erotusohjeet). Siirrä plasma puhtaaseen muoviputkeen.

Seeruminäytteen valmisteleminen:

Kun verinäyte on otettu lisäaineettomaan seerumiputkeen, näytteen annetaan hyytyä 30 minuutin ajan huoneenlämmössä koskematta, putkitelineessä pystysuorassa. Poista hyytymä sentrifugoimalla (esim. StatSpin 180s, 10 min, 2000 g, katso putken ja sentrifugin

valmistajan antamat seerumin erotusohjeet). Sentrifugointi tulee tehdä tunnin sisällä näytteenotosta. Seerumi siirretään puhtaaseen muoviputkeen.

Näytteen säilyttäminen:

Seerumin/plasman erottamisen jälkeen näytettä voi säilyttää 4 päivää jääkaapissa 2–8 °C:n lämpötilassa ja tilapäisesti (< 24 h) huoneenlämmössä. Jos näytettä ei käytetä neljän päivän kuluessa, sitä suositellaan säilytettäväksi –20 °C:n lämpötilassa. Pidempää säilytystä varten näyte on säilytettävä –70 °C:n lämpötilassa. Sekoita näytteet huolellisesti sulatuksen jälkeen. Vältä näytteiden toistuvaa pakastusta ja sulatusta. Voimakkaasti hemolysoituneita, lipeemisiä tai sameita näytteitä ei tule käyttää.

Jos näytteen pitoisuuden epäillään ylittävän ylimmän kalibraattorin pitoisuuden, näyte on laimennettava testiä varten kalibraattorilla 0.

## 10. TESTIMENETELMÄ

### 10.1 Esivalmistelut

Anna kaikkien reagenssien ja kuoppalevyn tasaantua huoneenlämpöön (20–25 °C). Valmista lyofilisoidut kalibraattorit ja kontrollit käyttövalmiiksi tislattulla vedellä kohdassa 6 esitetyllä tavalla. Laimenna pesupuskurikonsentraatti 1:200 (esim. 5 ml + 995 ml) tislattuun tai deionisoituun veteen. Valitse ajoa varten tarvittava määrä kuoppalevyn liuskoja. Käyttämättömät liuskat on suljettava uudelleen pussiin kuivausaineen kanssa ja säilytettävä 2–8 °C lämpötilassa. Kiinnitä liuskat kehykseen.

Pakastetut näytteet tulee sulattaa nopeasti huoneenlämpöisessä vesihauteessa ja ajoittaen sekoittaen. Kun näytteet ovat lähes sulaneet, laita ne jäämurskahauteeseen. **Lue koko käyttöohje ennen määrittämistä. On suositeltavaa, että kalibraattorit ja kontrolli pipetoidaan levylle kaksoismäärittäjinä. On tärkeää käyttää kalibraattoreita ja kontrollia jokaisessa määrittäksessä.**

**Sekoita kaikki reagenssit ja näytteet huolellisesti ennen käyttöä ravistelemalla tai pyörittämällä niitä varovasti.** Huomautus: Inkubointi voidaan tehdä 20–30 °C:ssa (huoneenlämmössä). Älä ylitä määritettyä lämpötilaa.

### 10.2 Testimenetelmä

VAIHE 1: NÄYTE

Pipetoi kuoppalevyn kuoppiin 50 µl kalibraattoria, kontrollia ja näytettä.

Huomautus 1: Jos näytteiden 25OHD-pitoisuuden odotetaan ylittävän ylimmän kalibraattorin pitoisuuden, näytteet on laimennettava kalibraattorilla 0.

Huomautus 2: Jotta pipetointiviive ei vaikuttaisi tuloksiin, tulisi ensimmäisen kalibraattorin ja viimeisen näytteen pipetoinnin välisen ajan olla enintään 20 min.

VAIHE 2: INKUBAATIOPUSKURI

Pipetoi kuoppiin 150 µl inkubaatiopuskuriliuosta. Inkuboi levyravistelijassa huoneenlämmössä (300–700 rpm) 2 tunnin ajan.

Huomautus: Valmista konjugaatin käyttölaimennos inkuboinnin aikana ja vähintään 1 h 45 minuuttia ennen käyttöä.

#### VAIHE 3: PESU

Pese kuoppalevyt 3 kertaa annostelemalla kuhunkin kuoppaan 350 µl pesupuskuria ja aspiroimalla kunkin kuopan sisältö.

#### VAIHE 4: KONJUGAATIN KÄYTTÖLAIMENNOS

Pipetoi kuhunkin kuoppaan 200 µl konjugaatin käyttölaimennosta. Inkuboi kuoppalevyä levyravistelijassa huoneenlämmössä (300–700 rpm) 30 minuutin ajan.

#### VAIHE 5: PESU

Pese kuoppalevyt 3 kertaa annostelemalla kuhunkin kuoppaan 350 µl pesupuskuria ja aspiroimalla kunkin kuopan sisältö.

#### VAIHE 6: SUBSTRAATTI

Pipetoi kuhunkin kuoppaan 100 µl substraattiliuosta (TMB). Inkuboi kuoppalevyä levyravistelijassa huoneenlämmössä (300–700 rpm) 15 minuutin ajan. Vältä suoraa auringonvaloa. Annostelee substraattiliuos 15 minuutin kuluessa kuoppalevyn pesemisestä.

#### VAIHE 7: REAKTION PYSÄYTTÄMINEN

Pipetoi kuoppiin 100 µl pysäytysliuosta 8-kanavaisella pipetillä.

#### VAIHE 8: TULOSTEN MITTAUS VERTIKAALIMITTAUSPERIAATTEELLA

Mittaa kuoppalevyn kuoppien absorbanssi 450 nm:ssä (referenssisuodatin 630 nm tai 650 nm) 1 tunnin kuluessa ja laske tulokset kohdassa 11 esitetyllä tavalla.

### 10.3 Automaattimenetelmä

BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA on suunniteltu erityisesti automaatiota silmälläpitäen. Kun testikohtaiset protokollat on luotu ja validoitu käyttöön, BIOHIT Total 25OHD -määritykset voi tehdä vaivattomasti avoimella ELISA-automaatilla. Automaatti säästää resursseja ja on helppokäyttöinen, ja sillä voidaan välttää pipetoinnin aiheuttamat ongelmat, kuten rasitusvammat.

## 11. TULOKSET

### 11.1 Laadunvalvonnan arvot

Hyvät laboratoriokäytännöt edellyttävät kontrollien käyttöä sen varmistamiseksi, että reagenssit ja työohjeet toimivat tarkoitetulla tavalla. Biohit Total 25OH Vitamin D -testipakkaus sisältää kaksi eräkohtaista kontrollia. Kontrollinäytteille mitattuja arvoja tulisi seurata eräkohtaisen laadunvalvontakaavion avulla. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää soveltuvia tilastollisia menetelmiä laboratorion omien kontrolliarvojen analysoimiseksi. Arvojen tulee olla laboratorion käyttämien asianmukaisten luottamusvälien rajoissa. Jotta tulokset olisivat hyväksyttäviä, odotettu kontrollitulos on saavutettava. Hyvään käytäntöön kuuluu tietokoneen valitseman käyrän sovituksen tarkistaminen silmämääräisesti.

### 11.2 Tulosten laskenta ja tyypilliset tiedot

#### TYYPILLISET TIEDOT:

Seuraavassa taulukossa on esitetty kalibraattoreilla saadut tyypilliset arvot. Arvot on tarkoitettu vain esimerkeiksi, eikä niitä tule käyttää ajon aikana saatujen reaaliaikaisten tietojen asemesta.

| 25OH Vitamin D ELISA     |            | OD (450 nm) |
|--------------------------|------------|-------------|
| Kalibraattorin pitoisuus | 0 ng/ml    | 2,96        |
|                          | 6,0 ng/ml  | 2,56        |
|                          | 13,0 ng/ml | 2,03        |
|                          | 33,0 ng/ml | 1,29        |
|                          | 69,0 ng/ml | 0,68        |
|                          | 138 ng/ml  | 0,23        |

Huomautus: 1 ng/ml = 2,5 pmol/ml

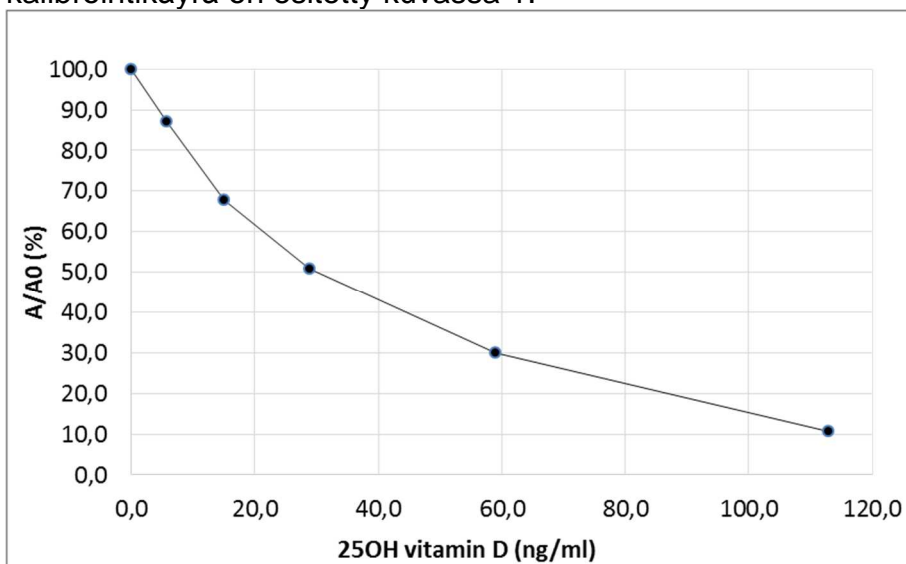
#### TULOSTEN LASKENTA:

Laadi kalibrointikäyrä jokaiselle ajolle erikseen. Älä käytä aiempien ajojen tietoja.

Laske rinnakkaisten määritysten OD-keskiarvot. Laske jokaiselle kalibraattorille, kontrollille ja näytteelle suhteellinen signaali (%) jakamalla signaali (A) 0-kalibraattorilla saadulla signaalilla (A0) ja kertomalla 100:lla.

$$\frac{A}{A_0} (\%) = \frac{OD (\text{kalibraattori, kontrolli tai näyte})}{OD (\text{kalibraattori } 0)} \times 100$$

Piirrä kalibraattoreiden keskimääräinen suhteellinen signaali (A/A0, %) suhteessa niiden pitoisuuksiin (mainittu pulloissa). Absorbanssiarvot muunnetaan 25OHD-pitoisuuksiksi interpoloimalla kalibraattorien sovituskäyrältä tuntemattomat pitoisuudet. On suositeltavaa käyttää tietokonepohjaista menetelmää, jossa käytetään 4P-logistista sovituskaavaa. Tyypillinen kalibrointikäyrä on esitetty kuvassa 1.



**Kuva 1.** Esimerkki tyypillisestä kalibrointikäyrästä.

### 11.3 Tulosten tulkinta ja biologiset viitearvovälit

Endocrine Societyn Clinical Practice -ohjeessa (Clinical Practice Guideline) määritellään D-vitamiinin puutokseksi 25OHD-taso, joka on alle 20 ng/ml, ja D-vitamiinin riittämättömäksi tasoksi 25OHD-taso, joka on 21–29 ng/ml (2). Yli 150 tai 200 ng/ml:n seerumin pitoisuuksia pidetään mahdollisesti toksisina (1, 10, 20), minkä perusteella laajemmaksi turvarajaksi on ehdotettu 100 ng/ml (20). Haitallisia vaikutuksia terveyteen on yhdistetty mahdollisesti myös paljon alhaisempiin 25OHD-pitoisuuksiin, ja on esitetty, että yli 50–60 ng/ml pitoisuuksia tulisi välttää (2). Esimerkiksi saannin ravinnosta, demografisten seikkojen ja vuodenajan tiedetään vaikuttavan 25OH-D-vitamiinin normaaliin tasoon (1, 6, 21). Kunkin laboratorion tulisi määrittää oma vaihteluvälinsä paikallisen populaation ja kansallisten terveystieteiden mahdollisesti antamien suositusten perusteella.

Seerumin optimaalisesta D-vitamiinitasosta käydään yhä jonkin verran keskustelua (1–2, 4, 6, 21). Seuraavassa esitetty suositus perustuu Endocrine Societyn ohjeeseen (2) ja viimeaikaiseen kirjallisuuteen (21–23), joissa käsitellään seerumin 25OH D-vitamiinitasojen määrittelyä.

| Taso          | ng/ml       |
|---------------|-------------|
| Puutos        | < 20 ng/ml  |
| Riittämätön   | 21–29 ng/ml |
| Riittävä      | > 30 ng/l   |
| Mahdollisesti | > 100 ng/ml |

Huomautus: 1 ng/ml = 2,5 nmol/l

## 12. MENETELMÄN RAJOITUKSET

Kuten kaikkia diagnostisten testien tuloksia, myös Biohit 25OH Vitamin D -testin tuloksia on tulkittava yhdessä potilaan kliinisen tilanteen ja muiden lääkärin saatavilla olevien tietojen kanssa.

## 13. ANALYYTTINEN SUORITUSKYKY

Kaikki suorituskykytestit tehtiin huoneenlämmössä (20–25 °C). Kaikki näytteet analysoitiin käyttämällä kuoppalevyjen kaksoismäärittystä.

### 13.1. Toteamis- ja määrittämissrajat

Taustan (nolla-arvon) raja (LoB), toteamisraja (LoD) ja määrittämissraja (LoQ) määritettiin CLSI-ohjeen EP17-A mukaisesti. Väärien positiivisten ( $\alpha$ ) osuudeksi saatiin alle 5 % ja väärien negatiivisten ( $\beta$ ) osuudeksi alle 5 % (14). LoB-rajaksi saatiin 1,7 ng/ml ja LoD-rajaksi 2,8 ng/ml.

LoQ määritettiin testaamalla 5 alhaisen pitoisuuden näytettä 14 kertaa eri testeissä. LoQ:n arvoksi saatiin 4,4 ng/ml mittausten välisen CV%:n ollessa  $\leq 20,0$ .

LoD määritettiin myös toisella menetelmällä käyttämällä 20:tä nollakalibraattoria ja toista kalibraattorisarjaa. Toteamisrajaksi (kahden keskihajonnan näennäinen pitoisuus, joka alittaa nollanäytteen keskimääräisen OD:n), saatiin 1,5 ng/ml.

### 13.2 Mittausalue

Biohit 25OH Vitamin D -testin mittausalue on 4,4–123 ng/ml.

### 13.3 Täsmällisyys

Testin täsmällisyys määritettiin testaamalla näytteitä vähintään 20 ajossa (vähintään 20 päivän aikana) käyttäen kolmea eri testierää.

Mittauksen (testin sisäisessä) toistettavuudessa keskiarvot olivat 5,5–81,2 ng/ml, keskihajonnat 0,4–2 ng/ml ja CV%:t 2,5–7,8 %.

Laboratorion sisäisen (testien välisen) täsmällisyyden määrittämisessä keskihajonnat olivat 1,2–7,8 ng/ml ja CV%:t 4,7–9,2 %.

| Toistettavuus |    |                  |        | Laboratorion sisäinen täsmällisyys |    |                  |        |
|---------------|----|------------------|--------|------------------------------------|----|------------------|--------|
| Näyte         | N  | [X] ± SD (ng/ml) | CV (%) | Näyte                              | N  | [X] ± SD (ng/ml) | CV (%) |
| N1            | 24 | 5,5 ± 0,4        | 7,8    | N4                                 | 39 | 17,7 ± 1,3       | 7,4    |
| N2            | 35 | 27,4 ± 1,6       | 5,7    | N5                                 | 10 | 26,3 ± 1,2       | 4,7    |
| N3            | 24 | 81,2 ± 2,0       | 2,5    | N6                                 | 21 | 85,4 ± 7,8       | 9,2    |

SD: keskihajonta, CV: variaatiokerroin

### 13.4 Analyttinen spesifisyys

BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA -testin ristireagointi määritettiin testaamalla seerumeita, joissa oli puhdistettuja ja puhdistamattomia ristireaktantteja. Seuraavassa taulukossa on yhteenveto aineiden ristireagoinnista, jota arvioitiin vertaamalla pitoisuuteen, joka tuotti 50 prosentin inhibition.

25OHD-vitamiinitestin ristireagointi D-vitamiinin muihin muotoihin arvioitiin. BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA -testin ristireagointi määritettiin testaamalla seerumeita, joihin oli lisätty puhdistettuja ristireaktantteja. Seuraavassa taulukossa on yhteenveto ristireagoinnista, jota arvioitiin vertaamalla pitoisuuteen, joka tuotti 50 prosentin inhibition.

| Aine ja pitoisuus                    | % ristireaktio |
|--------------------------------------|----------------|
| 25OHD3-vitamiini                     | 100            |
| 25OHD2-vitamiini                     | 84             |
| D3-vitamiini                         | < 0,2          |
| D2-vitamiini                         | < 0,2          |
| 1,25(OH) <sub>2</sub> -D3-vitamiini  | 50             |
| 1,25(OH) <sub>2</sub> -D2-vitamiini  | < 0,2          |
| 24,25(OH) <sub>2</sub> -D3-vitamiini | > 100          |
| 25,26(OH) <sub>2</sub> -D3-vitamiini | > 100          |
| 3-epi-25OH-D3-vitamiini              | < 0,2          |

### 13.5 Interferenssi

Biohit 25OH Vitamin D -testin interferenssiä arvioitiin seerumin kolmella 25OHD-pitoisuudella (25OHD 6–43 ng/ml). Hemoglobiinin (5 mg/ml), konjugoimattoman bilirubiinin (0,5 mg/ml) ja triglyseridien (5 mg/ml) häiritsevien pitoisuuksien aiheuttaman poikkeaman todettiin olevan alle 10 %. Tätä ei pidetty tilastollisesti merkitsevänä interferenssinä. Voimakkaasti hemolysoituneita, lipeemisiä tai sameita näytteitä tulee välttää.

Testatun askorbiinihapon (C-vitamiinin, 1 mg/ml), bilirubiinikonjugaatin (1 mg/ml) ja biotiinin (40 µg/ml) interferenssin todettiin olevan alle 10 %. Zemplarin (50 ng/ml) aiheuttamaa inhibitiota testattiin 25OHD-pitoisuuksilla 18 ng/ml ja 34 ng/ml, ja myös sen todettiin olevan alle 10 %, jota ei pidetty tilastollisesti merkitsevänä interferenssinä.

### 13.6 Löydös ja lineaarisuus

Löydöksiä arvioitiin lisäämällä matalan pitoisuuden 25OHD-näytteeseen (8,2 ng/ml) erilaisia 25OHD2- tai -D3-vitamiinitasoja. Seuraavassa taulukossa on esitetty tulosten yhteenveto:

| LÖYDÖSTESTI                      |            |
|----------------------------------|------------|
| Lisätty 25OHD3-vitamiini (ng/ml) | Löydös (%) |
| 0                                | 100        |
| 31,3                             | 96         |
| 53,9                             | 92         |
| Lisätty 25OHD2-vitamiini (ng/ml) | Löydös (%) |
| 0                                | 100        |
| 22,9                             | 105        |
| 38,4                             | 95         |

Kolme näytettä, joiden pitoisuudet jakautuivat koko mittausalueelle, testattiin tasavälein tehdyillä laimennuksilla laimennosten lineaarisuuden määrittämiseksi. Seuraavissa taulukoissa on esitetty tulosten yhteenveto:

#### Näyte 1

| Näytteen laimennus | Mitattu pitoisuus (ng/ml) | Löydös (%) |
|--------------------|---------------------------|------------|
| –                  | 66,2                      | 100        |
| 1/2                | 34,5                      | 104        |
| 1/4                | 15,5                      | 94         |
| 1/8                | 8,2                       | 99         |
| 1/16               | 4,4                       | 106        |

#### Näyte 2

| Näytteen laimennus | Mitattu pitoisuus (ng/ml) | Löydös (%) |
|--------------------|---------------------------|------------|
| –                  | 99,2                      | 100        |
| 1/2                | 53,9                      | 109        |
| 1/4                | 24,6                      | 99         |
| 1/8                | 11,8                      | 95         |
| 1/16               | 6,5                       | 105        |

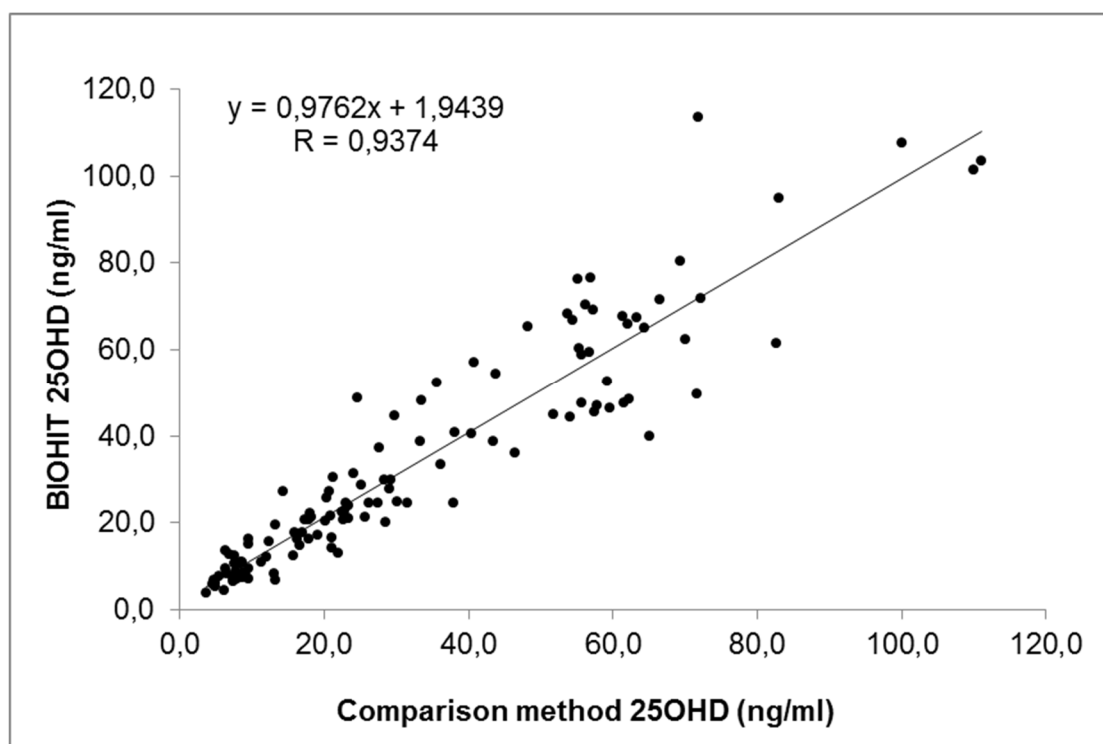
### Näyte 3

| Näytteen laimennus | Mitattu pitoisuus (ng/ml) | Löydös (%) |
|--------------------|---------------------------|------------|
| –                  | 123                       | 100        |
| 1/2                | 64,5                      | 105        |
| 1/4                | 31,5                      | 103        |
| 1/8                | 15,0                      | 98         |
| 1/16               | 7,6                       | 99         |

Testi osoitti, että laimennussarjat ovat lineaarisia alueella 7,6–123 ng/ml (16-kertainen laimennus). Mittausalueeksi, jolla tarkoitetaan aluetta määritysrajasta (LoQ) korkeimpaan mitattuun lineaariseen pitoisuuteen, määritettiin 4,4–123 ng/ml.

### 13.7 Menetelmien vertailu

BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA -testin suorituskyky määritettiin tekemällä korrelaatiotutkimus yhteensä 127 näytteellä. Näytteet testattiin sekä BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA -testillä että kaupallisesti saatavana olevalla 25OH Vitamin D CLIA (chemiluminescent immunoassay) -kemiluminesenssitestillä. Menetelmien välinen korrelaatiokerroin oli 0,94, kulmakerroin 0,976 ja Y-akselin leikkauspiste 1,94. Tulokset on esitetty kuvassa 2.



**Kuva 2.** Biohit 25OH Vitamin D -testin ja kaupallisesti saatavana olevan CLIA-perustaisen testin korrelaatio.



## 14. KIRJALLISUUS

1. HOLICK MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357:266-281.
2. HOLICK MF, BINKLEY NC, BISCHOFF-FERRARI HA, GORDON CM, HANLEY DA, HEANEY RP, MURAD MH, WEAVER CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 6(7):1911-30.
3. WHO. Guideline: Vitamin D supplementation in pregnant women. Geneva, World Health Organization, 2012.
4. ROSS AC, TAYLOR CL, YAKTINE AL, DEL VALLE HB, eds. Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium, Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: National Academy Press (2010).
5. HOLICK MF. Vitamin D Status: Measurement, Interpretation, and Clinical Application. *Ann Epidemiol* 2009; 19:73-78.
6. GRÖBER U, SPITZ J, REICHRATH J, KISTERS K, HOLICK MF. Vitamin D Update 2013: From rickets prophylaxis to general preventive healthcare. *Dermatoendocrinol* 2013; 5(3): 331–347.
7. ZERWEKH JE. Blood biomarkers of Vitamin D status. *Am J Clin Nutr* 2008; 87(suppl):1087S-91S.
8. TAYLOR CL, PATTERSON KY, ROSELAND JM, WISE SA, MERKEL JM, PEHRSSON PR, YETLEY EA. Including food 25-hydroxyvitamin D in intake estimates may reduce the discrepancy between dietary and serum measures of vitamin D status. *J Nutr* 2014; 144:654-9.
9. HEANEY RP, ARMAS LA, FRENCH C. All-source basal vitamin D inputs are greater than previously thought and cutaneous inputs are smaller. *J Nutr* 2013; 143:571-5.
10. HOLICK MF. Resurrection of Vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006; 116:2062-2072.
11. CHRISTAKOS S, HEWISON M, GARDNER DG, WAGNER CL, SERGEEV IN, RUTTEN E, PITTAS AG, BOLAND R, FERRUCCI L, BIKLE DD. Vitamin D: beyond bone. *Ann NY Acad Sci* 2013; 1287: 45-58.
12. SCHLÖGL M, HOLICK MF. Vitamin D and neurocognitive function. *Clin Interv Aging* 2014; 9: 559-568.
13. JACOBS ET, KOHLER LN, KUNIHICO AG, JURUTKA PW. Vitamin D and Colorectal, Breast, and Prostate Cancers: A Review of the Epidemiological Evidence. *J. Cancer* 2016; 7(3):232-240.
14. NAKASHIMA A, YOKOYAMA K, YOKOO T, URASHIMA M. Role of vitamin D in diabetes mellitus and chronic kidney disease. *World J Diabetes* 2016; 7(5):89-100.
15. ANIC GM, ALBANES D, ROHRMANN S, KANAREK N, NELSON WG, BRADWIN G, RIFAI N, MCGLYNN KA, PLATZ EA, MONDUL AM. Association between serum 25-hydroxyvitamin D and serum sex steroid hormones among men in NHANES. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016; Epub ahead of print: doi:10.1111/cen.13062.
16. DE-REGIL LM, PALACIOS C, LOMBARDO LK, PEÑA-ROSAS JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016 14;1
17. STEPMAN HC, VANDERROOST A, VAN UYTFANGHE K, THIENPONT LM. Candidate Reference Measurement Procedures for Serum 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 25-Hydroxyvitamin D<sub>2</sub> by Using Isotope-Dilution Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (ID-LC/ MS-MS). *Clin Chem* 2011; 57(3): 441–44.
18. THIENPONT LM, STEPMAN HCM, VESPER HW. Standardization of measurements of 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and D<sub>2</sub>. *Scand. J Clin Lab Inves* 2012; 72(Suppl. 243):41-49.
19. DANIEL W, THOLEN MS. Clinical and laboratory standards Institute (CLSI) (2004). Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI document EP17-A.
20. JONES G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr* 2008; 88:582S-6S.
21. HEANEY RP. Health is better at serum 25(OH) D above 30 ng/mL. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013; 136:224-8.
22. VIETH R. Why the minimum desirable serum 25-hydroxyvitamin D level should be 75 nmol/L (30 ng/ml). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25(4):681-91.
23. DAWSON-HUGHES B, HEANEY RP, HOLICK MF, LIPS P, MEUNIER PJ, VIETH R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005; 16(7):713-6.

## **15. JULKAISUPÄIVÄ**

BIOHIT Total 25OH Vitamin D -käyttöohje.  
Versio 4.0, elokuu 2017.

## **16. TAKUU**

Valmistaja lupaa korvata kaikki sen tuotteissa löydetyt viat ("Viallinen tuote"), jotka johtuvat epäsovivista materiaaleista tai huolimattomasta valmistustyöstä, mikä estää tuotteen mekaanisen toiminnan tai tarkoitetun käytön, mukaan lukien, muttei rajoitettuna vain, toiminnot, jotka on lueteltu valmistajan antamassa tuoteselostuksessa. TAKUUN KATSOTAAN KUITENKIN RAUENNEEN, JOS VIAN HUOMATAAN AIHEUTUNEEN VIRHEELLISESTÄ KÄSITTELYSTÄ, VÄÄRINKÄYTÖSTÄ, TAHATTOMASTA VAHINGOITTAMISESTA, VÄÄRÄSTÄ SÄILYTYKSESTÄ, TAI TUOTTEIDEN KÄYTÖSTÄ NIILLE ANNETTUJEN SPESIFIKAATIOIDEN TAI RAJOITUSTEN ULKOPUOLELLA TAI KÄYTTÖOHJEEN VASTAISESTI.

Tämän jakelijalle myönnetyn takuun kesto on määritetty Tuotteen käyttöoppaassa, ja se alkaa siitä päivästä, kun Valmistaja lähettää kyseisen Tuotteen. Tulkintaa koskevissa ristiriitatilanteissa englanninkielinen versio on määräävä.

Tämä Biohitin diagnostinen testi on valmistettu standardien ISO 9001 / ISO 13485 laadunhallintajärjestelmän mukaisesti ja se on läpäissyt kaikki tuotteeseen liittyvät laadunvarmistustoimenpiteet.

## **17. TILAUSTIEDOT**

BIOHIT Total 25OH Vitamin D ELISA -testipakkaus  
Kat. nro 602 310.02

Pääkonttori  
Biohit Oyj  
Laippatie 1  
00880 Helsinki, Suomi  
Puh: +358 9 773 861  
Faksi: +358 9 773 2867  
Sähköposti: info@biohit.fi  
www.biohithealthcare.com

## 18. TESTIMENETELMÄ LYHYESTI

Anna reagenssien tasaantua huoneenlämpöön.

Muista sekoittaa hyvin kaikki reagenssit ja näytteet juuri ennen pipetointia.

\*

Pipetoi sekoittamisen jälkeen kuoppiin 50 µl potilasnäytteitä, kalibraattoreita ja kontrolleja.

\*

Lisää 150 µl inkubaatiopuskuria.

\*

Inkuboi 2 tuntia huoneenlämmössä ravistimessa.

Valmista konjugaatin käyttölaimennos inkubaation aikana (vähintään 1 h 45 min ennen käyttöä).

\*

Pese kuopat kolme kertaa käyttämällä 350 µl laimennettua pesupuskuria.

\*

Pipetoi kuoppiin 200 µl konjugaatin käyttölaimennosta.

\*

Inkuboi 30 min huoneenlämmössä ravistimessa.

\*

Pese kuopat kolme kertaa käyttämällä 350 µl pesupuskuria.

\*

Pipetoi kuoppiin 100 µl sekoitettua substraattiliuosta.

\*

Inkuboi 15 min huoneenlämmössä ravistimessa.

\*

Pipetoi kuoppiin 100 µl sekoitettua pysäytysliuosta.

\*

Mittaa absorbanssi **450 nm:n aallonpituudella** (vs. 630 tai 650 nm).