

Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Dimension® EXL™ 200, Dimension® EXL™ with LM Systems

Flex® reagent cartridge

VITD

Issue Date 2020-08

See shaded sections: Updated information from 2019-04 version.

LOCI Vitamin D Total Assay

Intended Use: The LOCI Vitamin D Total assay is an *in vitro* diagnostic test for the quantitative measurement of total 25(OH)vitamin D in human serum and plasma on the Dimension® EXL™ integrated chemistry system with LOCI® Module. Measurements of vitamin D are used in the assessment of vitamin D sufficiency.

Summary: Vitamin D is a steroid hormone involved in the intestinal absorption of calcium and the regulation of calcium homeostasis. Vitamin D is essential for the formation and maintenance of strong, healthy bones. Vitamin D deficiency can result from inadequate exposure to the sun, inadequate alimentary intake, decreased absorption, abnormal metabolism, or vitamin D resistance.¹

While there are many metabolites of vitamin D, the total 25(OH)vitamin D, that is, the sum of 25(OH)vitamin D₂ and 25(OH)vitamin D₃, is the most reliable indicator of vitamin D status.^{2,3} Vitamin D₂ is derived from plant sources, whereas vitamin D₃ is derived primarily from the conversion of 7-dehydrocholesterol in the skin by UV-B radiation from sunlight and secondarily from animal sources.² Whether consumed or produced, both forms of vitamin D (D₂ and D₃) are metabolized by the liver to 25(OH)vitamin D, and then converted in the liver or kidney into the active metabolites 1,25(OH)₂vitamin D₂ and 1,25(OH)₂vitamin D₃.^{2,4}

Vitamin D metabolites are bound to a carrier protein in the plasma and distributed throughout the body. The most reliable clinical indicator of vitamin D status is 25(OH)vitamin D because serum and plasma 25(OH)vitamin D levels reflect the body's storage levels of vitamin D, and 25(OH)vitamin D correlates with the clinical symptoms of vitamin D deficiency.⁵

Principles of Procedure: The LOCI Vitamin D Total assay is a homogeneous competitive chemiluminescent immunoassay based on LOCI® technology. The assay measures the total 25(OH)vitamin D concentration [comprising both 25(OH)vitamin D₂ and 25(OH)vitamin D₃] in both serum and plasma. LOCI Vitamin D Total reagents include a releasing reagent, biotinylated monoclonal antibody, and two synthetic bead reagents. Patient sample is incubated with the releasing reagent to release 25(OH)vitamin D molecules from the vitamin D-binding proteins. The reaction mixture is then incubated with biotinylated antibody to form a 25(OH)vitamin D/biotinylated antibody complex.

Chemibeads containing 25(OH)vitamin D₃ analog and chemiluminescent dye are added to remove the excess free biotinylated antibody. Streptavidin-coated Sensibeads containing a photosensitive dye are added to bind the biotinylated antibody. Aggregates of the Chemibead analog/biotinylated antibody/streptavidin Sensibeads are formed as a result. Illumination of the reaction mixture by light at 680 nm generates singlet oxygen from the Sensibeads, which diffuses into the Chemibeads and triggers a chemiluminescent reaction. The resulting chemiluminescent signal is measured at 612 nm and is inversely proportional to the concentration of total 25(OH)vitamin D in the sample.

Reagents

Wells ^{a,b}	Form	Ingredient	Concentration ^c	Source
1 – 2 (Reagent 4)	Liquid	Releasing Reagent		
3 – 4 (Reagent 1)	Liquid	Biotinylated antibody	0.75 µg/mL	Sheep monoclonal
5 – 6 (Reagent 2)	Liquid	Chemibeads	200 µg/mL	Sheep monoclonal
7 – 8 (Reagent 3)	Liquid	Sensibeads	500 µg/mL	

a. Wells are numbered consecutively from the wide end of the cartridge.

b. Contain buffers, stabilizers and preservatives.

c. Nominal value per well in a cartridge.

Risk and Safety:



H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P363, P501

Warning!

May cause an allergic skin reaction.

Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace. IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. Wash contaminated clothing before reuse. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.

Contains: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone.

Safety data sheets (MSDS/SDS) available on [siemens.com/healthcare](https://www.siemens.com/healthcare)

Precautions:

Caution: This device contains material of animal origin and should be handled as a potential carrier and transmitter of disease.

Used cuvettes and/or reaction vessels contain human body fluids; handle with appropriate care to avoid skin contact or ingestion.

Caution: Federal (USA) law restricts this device to sale by or on the order of a licensed healthcare professional.

For *in vitro* diagnostic use.

Reagent Preparation: All reagents are liquid and ready to use.

Store at: 2 – 8 °C.

Expiration: Refer to carton for expiration date of individual unopened reagent cartridges. Sealed wells on the instrument are stable for 30 days.

Open Well Stability: 7 days for wells 1 – 8

Specimen Collection and Handling:

Recommended specimen types: serum, lithium heparin plasma, and EDTA plasma.

Samples and controls stabilized with sodium azide cannot be used.

Collect serum and plasma specimens using recommended procedures for collection of diagnostic blood specimens by venipuncture.⁶ Processed samples may be refrigerated at 2 – 8 °C for 7 days if not tested within 24 hours. For longer storage, samples may be frozen at -20 °C for three months. Samples may be frozen up to 3 times. Thawed samples should be mixed thoroughly before analysis.

Specimens must be free of particulate matter. To prevent the appearance of fibrin in serum samples, complete clot formation should take place before centrifugation. If clotting time is increased due to thrombolytic or anticoagulant therapy, the use of plasma specimens will allow for faster sample processing and reduce the risk of particulate matter.⁷

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.⁸ The purpose of specimen storage information is to provide guidance to users; however, users may validate their own procedures for storing patient samples.

Procedure

Materials Provided

VITD Flex® reagent cartridge, Cat. No. RF634

Materials Required But Not Provided

VITD CAL, Cat. No. RC634

Reaction Vessels, Cat. No. RXV1A

Quality Control Materials

Test Steps

Sampling, reagent delivery, mixing, and processing are automatically performed by the Dimension® EXL™. For details of this processing, refer to your Dimension® EXL™ Operator's Guide.

The sample container must contain sufficient quantity to accommodate the sample volume plus dead volume. Precise container filling is not required.

Test Conditions

Sample Volume (delivered to the reaction vessel)	8 µL
Reagent 4 Releasing Reagent Volume	18 µL
Reagent 1 Biotinylated Antibody Reagent Volume	24 µL
Reagent 2 Chemibeads Reagent Volume	24 µL
Reagent 3 Sensibeads Reagent Volume	84 µL
Temperature	37 °C
Reaction time	31.0 minutes
Wavelength	Illumination (680 nm), Emission (612 nm)
Type of Measurement	Chemiluminescence

Calibration

Assay Range 5.0 – 150.0 ng/mL [12.5 – 375.0 nmol/L]^d

Calibration Material VITD Calibrator, Cat. No. RC634

Calibration Scheme 5 levels, n = 3

Units ng/mL [nmol/L]
(ng/mL x 2.5) = [nmol/L]

Typical Calibration or Verification Levels
Level 1: 0.0 ng/mL [0.0 nmol/L]
Level 2: 12.0 ng/mL [30.0 nmol/L]
Level 3: 30.0 ng/mL [75.0 nmol/L]
Level 4: 75.0 ng/mL [187.5 nmol/L]
Level 5: 165.0 ng/mL [412.5 nmol/L]

Calibration Frequency Every 7 days for any one lot

A new calibration is required:

- For each new lot of Flex® reagent cartridges
- After major maintenance or service, if indicated by quality control results
- As indicated in laboratory quality control procedures
- When required by government regulations

Assigned Coefficients
C₀: 809.0
C₁: -811.0
C₂: -1.46
C₃: 2.48
C₄: 0.5

d. Système International d'Unités [SI Units] are in brackets.

Standardization

The LOCI Vitamin D Total assay is standardized using internal standards which are traceable to the ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamin D Reference Method Procedure (RMP). The ID-LC-MS/MS is traceable to the National Institute of Standards and Technology (NIST) Standard Reference Material (SRM) 2972.

For 40 samples in the range of 7.9 ng/mL [19.8 nmol/L] to 141.9 ng/mL [354.8 nmol/L] the relationship between the LOCI Vitamin D Total assay(y) and the ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamin D RMP(x) is described using the Deming regression:

$$\text{LOCI Vitamin D Total assay} = 0.99 (\text{ID-LC-MS/MS}) + 4.6 \text{ ng/mL [11.5 nmol/L]}, r = 1.000$$

Quality Control

Follow government regulations or accreditation requirements for quality control frequency. At least once each day of use, analyze two levels of a Quality Control (QC) material with known vitamin D concentrations. Follow your laboratory internal QC procedures if the results obtained are outside acceptable limits.

Results: The instrument calculates the concentration of total vitamin D in ng/mL [nmol/L] using the calculation scheme described in your Dimension® EXL™ Operator’s Guide.

Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical history, clinical presentation and other findings.

Analytical Measurement Range (AMR): 5.0 – 150.0 ng/mL [12.5 – 375.0 nmol/L]

This is the range of analyte values that can be measured directly from the specimen without any dilution or pretreatment that is not part of the usual analytical process and is equivalent to the assay range.

- Samples with results in excess of 150.0 ng/mL [375.0 nmol/L] are reported as “Above Assay Range”. Manual dilution is not required. There is no autodilute feature for VITD.
- Samples with results less than 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L] should be reported as “less than 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L]”.

Limitations of Procedure

The instrument reporting system contains flags and comments to provide the user with information regarding instrument processing errors, instrument status information and potential errors in VITD results. Refer to your Dimension® EXL™ Operator’s Guide for the meaning of report flags and comments. Any result containing flags and/or comments should be addressed according to your laboratory’s procedure manual and not reported.

Do not use hemolyzed samples. Hemoglobin at 500 mg/dL causes an increase in the vitamin D concentration by 11% at 15 ng/mL [37.5 nmol/L], 19% at 31.7 ng/mL [79.2 nmol/L] and 13% at 75.1 ng/mL [187.7 nmol/L].

Do not use lipemic samples. Lipemia (Intralipid) at 500 mg/dL causes a decrease in vitamin D concentration by 10% at 14.9 ng/mL [37.2 nmol/L], 11% at 32.3 ng/mL [80.8 nmol/L] and 8% at 75.9 ng/mL [189.8 nmol/L].

Paricalcitol (Zemlar) at 24 ng/mL has shown a 93.8% cross-reactivity at 28.8 ng/mL [72.0 nmol/L] of vitamin D and 70.8% cross-reactivity at 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L] of vitamin D.

Interfering Substances

The VITD assay was evaluated for interference according to CLSI EP07-A2.⁹ Bias is the difference in the results between the control sample (without the interferent) and the test sample (contains the interferent) expressed in percent. *Bias exceeding 10% is considered interference.

- Total Protein at 19 g/dL causes a decrease in the vitamin D concentration by 6% at 14.3 ng/mL [35.8 nmol/L], 11% at 30.9 ng/mL [77.3 nmol/L] and 12% at 77.3 ng/mL [193.3 nmol/L].
- Unconjugated bilirubin at 80 mg/dL causes an increase in the vitamin D concentration by 13% at 13.5 ng/mL [33.7 nmol/L], 12% at 27.3 ng/mL [68.2 nmol/L] and 6% at 66.7 ng/mL [166 nmol/L].
- Conjugated bilirubin at 40 mg/dL causes an increase in vitamin D concentration by 17% at 14.9 ng/mL [37.2 nmol/L], 12% at 31.7 ng/mL [79.2 nmol/L] and 11% at 75.3 ng/mL [188.2 nmol/L].
- Cholesterol at 350 mg/dL causes a decrease in vitamin D concentration by 10% at 25.2 ng/mL [63.0 nmol/L] and 12% at 64.0 ng/mL [160.0 nmol/L].
- HAMA Anti-Mouse Antibodies (HAMA): Patient samples may contain heterophilic antibodies, of which human anti-mouse antibodies (HAMA) are the most commonly encountered. Heterophilic antibodies such as HAMA may cause falsely decreased or elevated results in immunoassay tests. A test result that is inconsistent with the patient’s clinical presentation and history should be interpreted with caution.

Siemens characterized the impact of HAMA in accordance with CLSI EP07-A2.⁹ A total of 20 samples containing vitamin D at 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L] to 87.5 ng/mL [218.7 nmol/L] with varying concentrations of HAMA, from 8 ng/mL to 161,000 ng/mL were tested for HAMA interference. Mean (n=5) percent bias of 2.8% was observed on a sample with a vitamin D concentration of 28.3 ng/mL [70.7 nmol/L] containing 161,000 ng/mL of HAMA. Maximum mean (n=5) percent bias of 10% was observed on a sample with a vitamin D concentration of 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L] containing 106 ng/mL of HAMA.

***Analyte results should not be corrected based on observed bias.**
See additional Hemolysis, Icterus, Lipemia (HIL) results under Specificity section.

Analyte Concentration	Biotin Test Level (ng/mL)			
	100	250	500	1200
	% Bias			
15 ng/mL	4.5	6.1	12.1	56.1
30 ng/mL	0.7	1.3	8.8	36.2
75 ng/mL	0.8	2.2	5.5	26.4

- Specimens that contain biotin at a concentration of 250 ng/mL demonstrate a less than or equal to 10% change in results. Biotin concentrations greater than this may lead to falsely elevated results for patient samples.
- The recommended adult daily dietary intake for biotin is 30 µg/day. Over the counter dietary supplements promoted for use in hair, skin and nail health may contain 5–100 mg of biotin, with recommendations to take multiple pills per day. Pharmacokinetic studies in healthy adults have shown that, in subjects ingesting 5 mg, 10 mg, and 20 mg of biotin, serum concentrations of biotin can reach up to 73 ng/mL, 141 ng/mL, and 355 ng/mL, respectively.¹⁰ Subjects who take up to 300 mg of biotin per day may have plasma biotin levels as high as 1160 ng/mL.¹¹

Health Based Reference Values:

Health-based reference values based on the Clinical Guidelines Subcommittee of the Endocrine Society Task Force are recommended to replace population based reference values. A review of the available literature¹²⁻¹⁸ suggests that the recommendations for 25(OH)vitamin D levels are summarized in the table below. Consult the listed references for discussion of vitamin D toxicity levels.^{19, 20}

Vitamin D Status	Range, Adult ¹²⁻¹⁵ 25(OH)vitamin D ng/mL [nmol/L]
Deficient	< 20 [< 50]
Insufficient	20 – < 30 [50 – < 75]
Sufficient	30 – 100 [75 – 250]

Observed Values in an Apparently Healthy Population:

Data using the LOCI Vitamin D Total assay were obtained on serum samples collected from 252 adults: 246 adults not taking supplements containing vitamin D, and 6 adults taking supplements containing vitamin D. To represent a broad spectrum of UV light exposure in intended use population, the blood samples tested were collected during different seasons and from subjects residing in diverse U.S. geographical locations. Samples with abnormal values for PTH, calcium, magnesium, phosphorus, and TSH were excluded from this study.

Based on the 95% confidence interval, the following values were established following CLSI guideline EP28-A3c.²¹

To assure proper representation of specific populations, each laboratory should establish its own reference intervals.

The following 25(OH)vitamin D values were obtained:

Median	28.3 ng/mL [70.8 nmol/L]
Observed 95% interval	13.9 – 61.0 ng/mL
(2.5 th and 97.5 th percentiles)	[34.8 – 152.5 nmol/L]

A system malfunction may exist if the maximum 5-test SD precision is exceeded.

Concentration	Maximum 5-test SD
12.0 ng/mL [30.0 nmol/L]	1.5 ng/mL [3.8 nmol/L]
30.0 ng/mL [75.0 nmol/L]	2.0 ng/mL [5.0 nmol/L]

Specific Performance Characteristics

The following data represent typical performance for the VITD assay on the Dimension® EXL™.

Material	Mean ng/mL [nmol/L]	Precision ^{22,a}		Within-Lab Precision	
		Repeatability SD	%CV	SD	%CV
	ng/mL [nmol/L]	ng/mL [nmol/L]		ng/mL [nmol/L]	%CV
Tri-Level Vitamin D Plus ^f					
QC (Low)	18.9 [47.3]	0.58 [1.45]	3.1	1.01 [2.53]	5.4
QC (Level 1)	38.7 [96.8]	1.02 [2.55]	2.6	2.02 [5.05]	5.2
QC (Level 2)	89.6 [224.0]	1.72 [4.29]	1.9	3.67 [9.17]	4.1
Serum 1	8.2 [20.5]	0.46 [1.15]	5.6	0.71 [1.79]	8.7
Serum 2	29.4 [73.5]	0.76 [1.90]	2.6	1.46 [3.65]	5.0
Serum 3	76.5 [191.3]	1.63 [4.08]	2.1	3.11 [7.78]	4.1
Plasma	25.2 [63.0]	0.44 [1.11]	1.8	0.78 [1.96]	3.1

- e. CLSI EP05-A2 was used. During each day of testing, two separate runs, with two test samples, for each test material, were analyzed for 20 days for a total of 80 replicates.
- f. UTAK Tri-Level Vitamin D Plus Serum Control is a product of UTAK Laboratories, Valencia, CA 91355.

Method Comparison²³

Method comparison study based on CLSI EP09-A3 between the LOCI Vitamin D Total Assay and an ID-LC-MS/MS reference measurement procedure (RMP) developed by University of Ghent generated the following results using Passing-Bablok regression and Pearson correlation. The number and range of vitamin D values on these samples are indicated below.

Comparative Method	Slope ^a	Regression Statistics		Correlation Coefficient	n ^b
		Intercept ^a ng/mL [nmol/L]			
ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamin D	1.06	0.4 [1.1]		0.977	163

- g. Slope and intercept were derived using Passing-Bablok analysis:
y = LOCI Vitamin D Total assay; x = ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamin D
- h. Vitamin D values ranged from 5.2 – 126.1 ng/mL [13.0 – 315.3 nmol/L] derived from 163 samples, 154 native and 9 contrived samples.

Serum and Plasma Equivalency

No clinically significant difference was observed between serum (x) and plasma (y) as shown in the following ordinary least squares regression.

Sample Comparison	Slope	Intercept ng/mL [nmol/L]	Correlation Coefficient	n	Min ng/mL [nmol/L]	Max ng/mL [nmol/L]
Lithium heparin plasma vs serum (red top)	0.99	0.1 [0.3]	0.992	70	11.5 [28.7]	146.4 [366.0]
EDTA plasma vs serum (red top)	0.98	1.4 [3.4]	0.997	70	11.6 [29.0]	142.5 [356.2]
Serum SST vs serum (red top)	0.99	0.5 [1.2]	0.997	70	11.4 [28.5]	148.6 [371.5]

Specificity

Hemolysis, Icterus, Lipemia (HIL) Interference

The VITD assay was evaluated for interference according to CLSI EP07-A2.⁹ Bias is the difference in the results between the control sample (without the interferent) and the test sample (contains the interferent) expressed in percent. Bias exceeding 10% is considered interference.

Substance Tested	Substance Concentration	Vitamin D ng/mL [nmol/L]	Bias* %
Hemoglobin (hemolysate)	Hemoglobin (monomer) 250 mg/dL [0.155 mmol/L]	15.0 [37.5]	5
		31.7 [79.2]	9
		75.1 [187.7]	8
		15.0 [37.5]	11
		31.7 [79.2]	19
Bilirubin (unconjugated)	500 mg/dL [0.31 mmol/L]	75.3 [188.7]	13
		13.5 [33.7]	7
		27.3 [68.2]	7
		66.7 [166.7]	8
		13.5 [33.7]	13
Bilirubin (conjugated)	40 mg/dL [684.5 µmol/L]	31.7 [79.2]	12
		66.7 [166.7]	6
		14.9 [37.2]	7
		31.7 [79.2]	4
		75.3 [188.2]	3
Lipemia	20 mg/dL [342 µmol/L]	14.9 [37.2]	17
		31.7 [79.2]	12
		75.3 [188.2]	11
		14.9 [37.2]	-5
		32.3 [80.8]	-6
	40 mg/dL [684 µmol/L]	75.9 [189.8]	-5
		14.9 [37.2]	-10
		32.3 [80.8]	-11
		75.9 [189.8]	-8

* Analyte results should not be corrected based on this bias.

Non-Interfering Substances

The following substances were evaluated for interference using CLSI EP07-A29 and found not to interfere with the VITD assay when present in serum at the concentrations indicated. Inaccuracies (biases) due to these substances do not exceed 10% at vitamin D concentrations of 13.9 – 16.9 ng/mL [34.8 – 42.3 nmol/L], 28.4 – 32.0 ng/mL [71.0 – 80.0 nmol/L] and 70.2 – 77.3 ng/mL [175.5 – 193.3 nmol/L].

Substance	Test Concentration	SI Units
Acetaminophen	20 mg/dL	1322 µmol/L
Ascorbic Acid	3 mg/dL	170 µmol/L
Bilirubin (unconjugated)	40 mg/dL	684.5 µmol/L
Bilirubin (conjugated)	20 mg/dL	342 µmol/L
Cholesterol	300 mg/dL	7.7 mmol/L
Dextran 40	6000 mg/dL	1.50 mmol/L
Hemoglobin	250 mg/dL	0.155 mmol/L
Heparin	3 U/mL	3000 U/L
Ibuprofen	30 mg/dL	1455 µmol/L
Lipemia (Intralipid)	300 mg/dL	3 g/L
Protein (Albumin)	5 g/dL	50 g/L
Protein (Total)	15.9 g/dL	159 g/L
Rheumatoid Factor	500 IU/mL	500 IU/mL
Salicylic Acid	65 mg/dL	4.7 mmol/L
Triglycerides	686 mg/dL	7.75 mmol/L
Uric Acid	20 mg/dL	1190 µmol/L

Cross Reactivity

Cross reactivity testing was performed to determine the effect of potential cross-reactants on the LOCI Vitamin D Total assay using CLSI EP07-A2.⁹

Percent cross-reactivity was calculated as follows:

$$\% \text{ Cross-reactivity} = \frac{[\text{measured vitamin D}] - [\text{control vitamin D}]}{[\text{cross-reactant}]} \times 100$$

The following substances were evaluated for cross-reactivity with the VITD assay when present in serum at the vitamin D concentrations listed in the following table.

Cross-reactant	Cross-reactant Concentration (ng/mL)	% Cross-reactivity @ Vitamin D Concentration	% Cross-reactivity @ Vitamin D Concentration
Vitamin D ₂ (ergocalciferol)	1000	0.1 @ 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	-0.1 @ 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
Vitamin D ₃ (cholecalciferol)	1000	-0.1 @ 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	0.1 @ 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
* 1,25(OH) ₂ vitamin D ₂	0.5	151.9 @ 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	1.3 @ 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
* 1,25(OH) ₂ vitamin D ₃	0.5	1.7 @ 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	-224.5 @ 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
3-epi-25(OH)vitamin D ₃	100	3.9 @ 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	2.5 @ 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
Paricalcitol/Zemplar	24	93.8 @ 28.8 ng/mL [72.0 nmol/L]	70.8 @ 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L]
1αOH Vitamin D ₃ (alfacalcidol)	3000	0.1 @ 26.5 ng/mL [66.3 nmol/L]	0.0 @ 51.6 ng/mL [129.0 nmol/L]
24, 25(OH) ₂ vitamin D ₃	60	2.5 @ 26.5 ng/mL [66.3 nmol/L]	1.2 @ 51.6 ng/mL [129.0 nmol/L]
25(OH)vitamin D ₂	30	95.1 @ 28.3 ng/mL [70.8 nmol/L]	94.1 @ 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L]
25(OH)vitamin D ₃	30	88.6 @ 28.3 ng/mL [70.8 nmol/L]	90.1 @ 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L]

* 1,25(OH)₂vitamin D₂ and 1,25(OH)₂vitamin D₃ were tested at supra-physiological concentrations.²⁴

Limit of Detection¹ and Limit of Blank^{25,j}

The Limit of Detection (LoD) for the VITD assay is 1.3 ng/mL [3.3 nmol/L], determined consistent with CLSI guideline EP17-A2 and with proportions of false positives (α) less than 5% and false negatives (β) less than 5%; based on 120 determinations, with 60 blank and 60 low level replicates. The Limit of Blank (LoB) is 0.8 ng/mL [2.0 nmol/L].

i. LoD is the lowest concentration of analyte that can be detected reliably. LoB is the highest concentration that is likely to be observed for a blank sample.

Limit of Quantitation^{25,j}

The limit of quantitation (LoQ) was determined consistent with the CLSI Guideline EP17-A2. The LoQ for the VITD assay is 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L] at a total precision of ≤ 20% CV.

j. LoQ is defined as the lowest concentration of 25(OH)vitamin D that can be detected at total precision CV of ≤ 20%.

Linearity²⁵

Linearity across the assay range, 5.0 – 150.0 ng/mL [12.5 – 375.0 nmol/L] was confirmed by testing a sample with a high concentration of vitamin D and serially diluting with a sample with low concentration of vitamin D. Each dilution was assayed in replicates of n=5. Linear regression of observed (y) vs. expected values (x) yielded a slope of 1.02, an intercept of 1.4 ng/mL and a correlation coefficient (r) of 0.998. Percent bias between observed and predicted values was within the allowable 10% deviation from the linear fit.

Recovery

Known amounts of 25(OH)vitamin D₂ (30 ng/mL [75.0 nmol/L]) and 25(OH)vitamin D₃ (30 ng/mL [75.0 nmol/L]) were added to separate serum samples containing vitamin D at 28.3 ng/mL [70.8 nmol/L] and 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L].

The calculated percent recoveries are listed below:

Vitamin D at 28.3 ng/mL [70.8 nmol/L]		
Added	Amount added ng/mL [nmol/L]	% Recovery
25(OH)vitamin D ₂	30.0 [75.0]	95
25(OH)vitamin D ₃	30.0 [75.0]	89
Vitamin D at 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L]		
Added	Amount added ng/mL [nmol/L]	% Recovery
25(OH)vitamin D ₂	30.0 [75.0]	94
25(OH)vitamin D ₃	30.0 [75.0]	90

Symbols Key: See adjacent panel.

Bibliography: See adjacent panel.

Dimension®, EXL™, LOCI® and Flex® are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

©2016 Siemens Healthcare Diagnostics

All rights reserved.



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA



Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

VITD

Siehe schraffierte Abschnitte: Aktualisierte Informationen gegenüber der Version 2019-04.

Ausgabedatum 2020-08

LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test

Verwendungszweck: Der LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test ist ein *In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Messung der Gesamtmenge an 25(OH)Vitamin D in Humanserum und -plasma auf dem integrierten chemischen System Dimension® EXL™ mit LOCI® Modul. Messungen des Vitamin D werden zur Beurteilung des Vitamin-D-Status durchgeführt.

Zusammenfassung: Vitamin D ist ein Steroidhormon, das für die Kalziumabsorption im Darm erforderlich ist und der Regulierung der Kalzium-Homöostase dient. Weiterhin ist Vitamin D bei der Entwicklung und Erhaltung von starken gesunden Knochen von essenzieller Bedeutung. Zu einem Vitamin-D-Mangel kann es bei unzureichendem Sonnenlicht, unzureichender Versorgung über die Nahrung, verminderter Absorption, abnormalem Stoffwechsel oder bei Vitamin-D-Resistenz kommen.¹

Während es viele Metaboliten des Vitamin D gibt, ist der Gesamtgehalt an 25(OH)Vitamin D, also die Summe von 25(OH)Vitamin D₂ und 25(OH)Vitamin D₃, der zuverlässigste Indikator für den Vitamin-D-Status.^{2,3} Vitamin D₂ wird aus pflanzlichen Quellen aufgenommen, während Vitamin D₃ primär durch die Wandlung von 7-Dehydrocholesterol in der Haut aufgrund von UVB-Strahlung des Sonnenlichts und sekundär aus tierischen Quellen stammt.²

Unabhängig davon, ob es mit der Nahrung aufgenommen oder produziert wird, werden beide Formen des Vitamin D (D₂ und D₃) in der Leber zu 25(OH)Vitamin D verstoffwechselt und dann in der Leber oder in den Nieren zu den aktiven Metaboliten 1,25(OH)₂Vitamin D₂ und 1,25(OH)₂Vitamin D₃ umgewandelt.^{2,4}

Vitamin-D-Metaboliten sind an ein Trägerprotein im Plasma gebunden und werden im gesamten Körper verteilt. Der aussagekräftigste klinische Indikator des Vitamin-D-Status ist 25(OH)Vitamin D, da die 25(OH)Vitamin-D-Werte im Serum und Plasma Rückschlüsse auf den Vitamin-D-Gehalt im Körper zulassen. 25(OH)Vitamin D korreliert mit den klinischen Symptomen eines Vitamin-D-Mangels.⁵

Grundlagen des Verfahrens: Der LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test ist ein homogener kompetitiver Chemilumineszenz-Immunoassay auf Basis der LOCI® Technologie. Der Test misst die Gesamtkonzentration von 25(OH)Vitamin D [bestehend aus 25(OH)Vitamin D₂ und 25(OH)Vitamin D₃] in Serum und Plasma. LOCI Gesamt-Vitamin-D-Reagenzien enthalten ein Freigabe-Reagenz, biotinylierte monoklonale Antikörper und zwei synthetische Bead-Reagenzien. Die Patientenprobe wird mit dem Freigabe-Reagenz inkubiert, um 25(OH)Vitamin D-Moleküle von den Vitamin D-bindenden Proteinen freizusetzen. Das Reaktionsgemisch wird dann mit einem biotinylierten Antikörper inkubiert, um einen 25(OH)Vitamin D/biotinylierten Antikörper-Komplex zu bilden.

Chemibeads mit 25(OH)Vitamin-D₃-Analog und chemilumineszentem Farbstoff werden hinzugefügt, um den überschüssigen freien biotinylierten Antikörper zu entfernen. Mit Streptavidin beschichtete Sensibeads, die einen photosensitiven Farbstoff beinhalten, werden hinzugefügt, um den biotinylierten Antikörper zu binden. Infolgedessen werden Aggregate des Chemibead-Analogs/des biotinylierten Antikörpers/der Streptavidin-Sensibeads gebildet. Bei einer Belichtung des Reaktionsgemischs mit 680 nm erzeugen die Sensibeads Singulett-Sauerstoff, der in die Chemibeads diffundiert und eine Chemilumineszenzreaktion auslöst. Das hierdurch erzeugte Chemilumineszenzsignal ist bei 612 nm messbar und zur Gesamt-25(OH)Vitamin-D-Konzentration in der Probe umgekehrt proportional.

Reagenzien

Zellen ^{a,b}	Form	Inhaltsstoff	Konzentration ^c	Ursprung
1 – 2 (Reagenz 4)	Flüssig	Freigabe-Reagenz		
3 – 4 (Reagenz 1)	Flüssig	Biotinylierter Antikörper	0.75 µg/ml	Schaf, monoklonal
5 – 6 (Reagenz 2)	Flüssig	Chemibeads	200 µg/ml	Schaf, monoklonal
7 – 8 (Reagenz 3)	Flüssig	Sensibeads	500 µg/ml	

a. Die Zellen sind vom breiten Ende der Kassette aus durchgehend nummeriert.

b. Enthalten Puffer, Stabilisatoren und Konservierungsstoffe.

c. Nennwert pro Zelle in einer Kassette.

Gefahrenhinweise und Sicherheitssätze:

H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P363, P501

Warnung!

Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Enthält: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone.

Sicherheitsdatenblätter (MSDS/SDS) verfügbar auf siemens.com/healthcare

Vorsichtsmaßnahmen:

Vorsicht: Dieses Produkt enthält Material tierischen Ursprungs und muss als potenziell infektiös behandelt werden.

Gebrauchte Reaktionsgefäße und/oder -küvetten enthalten menschliche Körperflüssigkeiten; mit entsprechender Vorsicht handhaben und Hautkontakt oder Verschlucken vermeiden.

Vorsicht: Das Bundesrecht der USA erlaubt den Verkauf dieses Medizinprodukts nur durch oder auf Anordnung einer staatlich anerkannten Fachkraft im Gesundheitswesen.

In-vitro-Diagnostikum.

Reagenzvorbereitung: Alle Reagenzien sind flüssig und gebrauchsfertig.

Aufbewahrung bei: 2 – 8 °C.

Verfalldatum: Verfalldatum einzelner ungeöffneter Reagenzkassetten siehe Umkarton. Verschlussene Zellen sind im Gerät 30 Tage lang stabil.

Stabilität geöffneter Zellen: 7 Tage für Zellen 1 – 8

Probenentnahme und -handhabung:

Empfohlene Probentypen: Serum, Lithiumheparin- und EDTA-Plasma.

Mit Natriumazid stabilisierte Proben und Kontrollen können nicht verwendet werden.

Entnehmen Sie Serum- und Plasmaproben unter Anwendung empfohlener Verfahren zur Entnahme diagnostischer Blutproben durch Venenpunktion.⁶ Vorbereitete Proben können bei 2 – 8 °C für 7 Tage aufbewahrt werden, wenn sie nicht innerhalb von 24 Stunden untersucht werden. Für eine längere Lagerung können Proben bei -20 °C für drei Monate eingefroren werden. Proben können bis zu 3-mal eingefroren werden. Aufgetaute Proben sollten vor der Analyse gründlich gemischt werden.

Die Proben müssen partikelfrei sein. Um das Auftreten von Fibrin in Serumproben zu vermeiden, sollte vor dem Zentrifugieren eine vollständige Gerinnung abgewartet werden. Wenn die Gerinnungszeit aufgrund von thrombolytischer oder gerinnungshemmender Therapie erhöht ist, kann durch die Verwendung von Plasmaproben eine schnellere Probenbearbeitung und ein geringeres Risiko der Partikelbildung erreicht werden.⁷

Beachten Sie die Anweisungen zur Verwendung der Probenentnahmeverrichtung und zur Probenverarbeitung.⁸ Die Angaben zur Aufbewahrung von Proben dienen als Hilfestellung. Jedes Labor kann eigene Verfahren zur Aufbewahrung von Patientenproben validieren.

Verfahren

Mitgelieferte Materialien

VITD Flex®-Reagenzkassette, Art.-Nr. RF634

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

VITD CAL, Art.-Nr. RC634

Reaktionsgefäße, Art.-Nr. RXV1A

Qualitätskontrollmaterialien

Testschritte

Probenentnahme, Reagenzzugabe, Mischung und Bearbeitung werden vom Dimension® EXL™ automatisch durchgeführt. Genaue Angaben zu diesen Vorgängen entnehmen Sie bitte dem Benutzerhandbuch des Dimension® EXL™.

Das Probengefäß muss genügend Material für Probe und Totvolumen enthalten. Exaktes Füllen ist nicht notwendig.

Testbedingungen

Probenvolumen (übertragen in Reaktionsgefäß)	8 µl
Reagenz 4: Volumen Freisetzungs-Reagenz	18 µl
Reagenz 1: Volumen biotinyliertes Antikörperreagenz	24 µl
Reagenz 2: Volumen Chemibeads-Reagenz	24 µl
Reagenz 3: Volumen Sensibeads-Reagenz	84 µl
Temperatur	37 °C
Reaktionszeit	31.0 Minuten
Wellenlänge	Belichtung (680 nm), Emission (612 nm)
Messverfahren	Chemilumineszenz

Kalibration

Messbereich
5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l]^d

Kalibrationsmaterial
VITD-Kalibrator, Art.-Nr. RC634

Kalibrierschema
5 Level, n = 3

Einheiten
ng/ml [nmol/l]

(ng/ml x 2.5) = [nmol/l]

Typische Kalibrations- oder Verifizierungslevel
Level 1: 0.0 ng/ml [0.0 nmol/l]

Level 2: 12.0 ng/ml [30.0 nmol/l]

Level 3: 30.0 ng/ml [75.0 nmol/l]

Level 4: 75.0 ng/ml [187.5 nmol/l]

Level 5: 165.0 ng/ml [412.5 nmol/l]

Alle 7 Tage mit derselben Charge

- Für jede neue Charge von Flex®-Reagenzkassetten
- Nach größeren Wartungs- oder Servicemaßnahmen, falls die Ergebnisse der Qualitätskontrolle dies nahelegen
- Nach Maßgabe der Qualitätskontrollverfahren des Labors
- Nach Maßgabe behördlicher Vorschriften

Ursprungs-Koeffizienten
C₀: 809.0
C₁: -811.0
C₂: -1.46
C₃: 2.48
C₄: 0.5

d. SI-Einheiten sind in Klammern angegeben.

Standardisierung

Der LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test wurde in Übereinstimmung mit internen Standards standardisiert, die auf das ID-LC-MS/MS 25(OH)Vitamin D Referenzmethodenverfahren (RMP) rückführbar sind. The ID-LC-MS/MS ist rückführbar auf das Standardreferenzmaterial (SRM) 2972 des National Institute of Standards and Technology (NIST).

Für 40 Proben im Bereich 7.9 ng/ml [19.8 nmol/l] bis 141.9 ng/ml [354.8 nmol/l] wird das Verhältnis des LOCI Gesamt-Vitamin-Tests (y) und des ID-LC/MS/MS 25(OH)Vitamin D RMP (x) durch die Deming-Regression beschrieben:

LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test = 0.99 (ID-LC-MS/MS) + 4.6 ng/ml [11.5 nmol/l], r = 1.000

Qualitätskontrolle

Halten Sie die behördlichen Vorschriften oder Akkreditierungsanforderungen für die Häufigkeit von Qualitätskontrollen ein. In der Praxis sollten mindestens einmal täglich zwei Konzentrationsstufen eines Qualitätskontroll(QK-)materials mit bekannten Vitamin-D-Konzentrationen analysiert werden. Bei Ergebnissen außerhalb der akzeptablen Grenzwerte nach laborinternen QK-Vorschriften vorgehen.

Ergebnisse: Das Gerät berechnet anhand des im Benutzerhandbuch Ihres Dimension® EXL™ dargestellten Berechnungsschemas automatisch die Gesamt-Vitamin-D-Konzentration in ng/ml [nmol/l].

Ergebnisse dieses Tests sollten stets in Verbindung mit der Vorgeschichte des Patienten, dem klinischen Bild und anderen Testergebnissen interpretiert werden.

Analytischer Messbereich: 5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l]

Dies ist der Bereich von Analysewerten, die ohne vorherige Verdünnung oder Vorbehandlung, die nicht Teil des üblichen Analysevorgangs ist, im Test direkt ermittelt werden können, und entspricht dem Messbereich.

- Für Proben mit Ergebnissen über 150.0 ng/ml [375.0 nmol/l] wird „Oberhalb des Messbereichs“ ausgegeben. Eine manuelle Verdünnung ist nicht erforderlich. Bei VITD erfolgt keine automatische Verdünnung.
- Für Proben mit Ergebnissen unter 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] sollten als „weniger als 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l]“ angegeben werden.

Grenzen des Verfahrens

Das integrierte Meldesystem des Geräts informiert den Benutzer durch Codes und Hinweise über Bearbeitungsfehler des Geräts, den Gerätestatus und mögliche Fehler bei den VITD-Ergebnissen. Informationen zur Bedeutung der Fehlercodes und Hinweise finden Sie im Benutzerhandbuch des Dimension® EXL™. Ergebnisse, die Fehlercodes und/oder Hinweise enthalten, sollten nicht weitergeleitet, sondern nach den im jeweiligen Labor geltenden Richtlinien korrigiert werden.

Keine hämolytierten Proben verwenden. Hämoglobin bei 500 mg/dl führt zu einem Anstieg der Vitamin-D-Konzentration um 11 % bei 15 ng/ml [37.5 nmol/l], um 19 % bei 31.7 ng/ml [79.2 nmol/l] und um 13 % bei 75.1 ng/ml [187.7 nmol/l].

Keine lipämischen Proben verwenden. Lipämie (Intralipid) bei 500 mg/dl führt zu einem Abfall der Vitamin-D-Konzentration um 10 % bei 14.9 ng/ml [37.2 nmol/l], um 11 % bei 32.3 ng/ml [80.8 nmol/l] und um 8 % bei 75.9 ng/ml [189.8 nmol/l].

Paricalcitol (Zemplar) bei 24 ng/ml zeigte eine Kreuzreaktivität von 93.8 % bei 28.8 ng/ml [72.0 nmol/l] Vitamin D und 70.8 % bei 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l] Vitamin D.

Störsubstanzen

Der VITD-Test wurde gemäß CLSI EP07-A2 auf mögliche Interferenz evaluiert.⁹ Die Abweichung berechnet sich aus dem Werteunterschied in Prozent zwischen der Kontrollprobe (ohne Störsubstanz) und der Testprobe (mit Störsubstanz). *Eine Abweichung von mehr als 10 % wird als Interferenz bezeichnet.

- Gesamtprotein bei 19 g/dl führt zu einem Abfall der Vitamin-D-Konzentration um 6 % bei 14.3 ng/ml [35.8 nmol/l], um 11 % bei 30.9 ng/ml [77.3 nmol/l] und um 12 % bei 77.3 ng/ml [193.3 nmol/l].
- Unkonjugiertes Bilirubin bei 80 mg/dl führt zu einem Anstieg der Vitamin-D-Konzentration um 13 % bei 13.5 ng/ml [33.7 nmol/l], um 12 % bei 27.3 ng/ml [68.2 nmol/l] und um 6 % bei 66.7 ng/ml [166 nmol/l].
- Konjugiertes Bilirubin bei 40 mg/dl führt zu einem Anstieg der Vitamin-D-Konzentration um 17 % bei 14.9 ng/ml [37.2 nmol/l], um 12 % bei 31.7 ng/ml [79.2 nmol/l] und um 11 % bei 75.3 ng/ml [188.2 nmol/l].
- Cholesterol bei 350 mg/dl führt zu einem Abfall der Vitamin-D-Konzentration um 10 % bei 25.2 ng/ml [63.0 nmol/l] und um 12 % bei 64.0 ng/ml [160.0 nmol/l].
- Humane Anti-Maus-Antikörper (HAMA): Patientenproben können heterophile Antikörper enthalten, unter denen humane Anti-Maus-Antikörper (HAMA) die häufigsten darstellen. Heterophile Antikörper wie HAMA können bei Immunoassay-Tests zu falsch erniedrigten oder erhöhten Ergebnissen führen. Ein vom klinischen Bild und der Vorgeschichte des Patienten abweichendes Testergebnis sollte deshalb mit Vorsicht interpretiert werden.

Siemens hat die Auswirkungen von HAMA gemäß CLSI EP07-A2 untersucht.⁹ Insgesamt wurden 20 Proben mit Vitamin D bei 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] bis 87.5 ng/ml [218.7 nmol/l] und verschiedenen HAMA-Konzentrationen von 8 ng/ml bis 161,000 ng/ml auf eine HAMA-Interferenz getestet. Es wurde eine mittlere (n=5) prozentuale Abweichung von 2.8 % bei einer Probe mit einer Vitamin-D-Konzentration von 28.3 ng/ml [70.7 nmol/l] und einer HAMA-Konzentration von 161,000 ng/ml beobachtet. Es wurde eine maximale mittlere (n=5) prozentuale Abweichung von 10 % bei einer Probe mit einer Vitamin-D-Konzentration von 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] und einer HAMA-Konzentration von 106 ng/ml beobachtet.

***Analysewerte dürfen nicht anhand dieser beobachteten Abweichung korrigiert werden. Siehe zusätzlich Hämolyse-, Ikterus- und Lipämie(HIL)-Ergebnisse im Abschnitt über Spezifität.**

Analyt-Konzentration	Biotin-Teststufe (ng/ml)			
	100	250	500	1200
	% Abweichung			
15 ng/ml	4.5	6.1	12.1	56.1
30 ng/ml	0.7	1.3	8.8	36.2
75 ng/ml	0.8	2.2	5.5	26.4

• Proben, die Biotin in einer Konzentration von 250 ng/ml enthalten, zeigen eine Veränderung der Ergebnisse von kleiner oder gleich 10 %. Höhere Biotinkonzentrationen können zu falsch erhöhten Ergebnissen für Patientenproben führen.

• Der empfohlene Referenzwert für die Aufnahme von Biotin für Erwachsene beträgt 30 µg/Tag. Rezeptfreie Nahrungsergänzungsmittel, die für gesunde Haare, Haut und Nägel vermarktet werden, können 5–100 mg Biotin enthalten, wobei eine Einnahmeempfehlung von mehreren Tabletten pro Tag besteht. Pharmakokinetische Studien mit gesunden Erwachsenen haben gezeigt, dass die Einnahme von 5 mg, 10 mg und 20 mg zu Biotin-Serumkonzentrationen von bis zu 73 ng/ml, 141 ng/ml und 355 ng/ml führen kann.¹⁰ Studienteilnehmer, die bis zu 300 mg Biotin pro Tag einnehmen, können einen Biotin-Plasmaspiegel von 1160 ng/ml erreichen.¹¹

Gesundheitsbasierte Referenzwerte:

Gesundheitsbasierte Referenzwerte auf Grundlage des Unterausschusses für klinische Leitlinien des Arbeitskreises der Gesellschaft für Endokrinologie werden als Ersatz für populationsbasierte Referenzwerte empfohlen. Eine Überprüfung der verfügbaren Literatur¹²⁻¹⁸ legt die in der Tabelle unten aufgeführten Empfehlungen für 25(OH)Vitamin-D-Konzentrationen nahe. Ziehen Sie die aufgeführten Referenzen bei einer Diskussion über Toxizitätskonzentrationen für Vitamin D zu Rate.^{19, 20}

Vitamin-D-Status	Bereich, Erwachsener ¹²⁻¹⁵ 25(OH)Vitamin D ng/ml [nmol/l]
Defizient	< 20 [< 50]
Insuffizient	20 – < 30 [50 – < 75]
Suffizient	30 – 100 [75 – 250]

An einer augenscheinlich gesunden Population beobachtete Werte:

Die Daten mit dem LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test wurden anhand von Serumproben von 252 Erwachsenen erhoben: 246 Erwachsene nahmen keine Vitamin-D-Präparate ein und 6 Erwachsene nahmen Vitamin-D-Präparate ein. Um ein möglichst breites Spektrum an UV-Lichtexposition für die Zielpopulation abzudecken, wurden die Blutproben zu verschiedenen Jahreszeiten von Studienteilnehmern aus unterschiedlichen geografischen Regionen der USA entnommen. Proben von Erwachsenen mit anormalen Werten an PTH, Kalzium, Magnesium, Phosphor und TSH wurden von der Studie ausgeschlossen.

Auf Grundlage eines 95 %-Konfidenzintervalls wurden die folgenden Werte entsprechend der CLSI-Richtlinie EP28-A3c aufgestellt.²¹

Um eine korrekte Darstellung bestimmter Populationen zu gewährleisten, sollte jedes Labor seine eigenen Referenzintervalle festlegen.

Es wurden die folgenden 25(OH)Vitamin-D-Werte ermittelt:

Median	28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]
Beobachtetes 95 %-Intervall (2.5. und 97.5. Perzentile)	13.9 – 61.0 ng/ml [34.8 – 152.5 nmol/l]

Bei Überschreiten der maximalen 5-Test-SA-Präzision kann es sich um eine Fehlfunktion des Systems handeln:

Konzentration	Maximale 5-Test-SA
12.0 ng/ml [30.0 nmol/l]	1.5 ng/ml [3.8 nmol/l]
30.0 ng/ml [75.0 nmol/l]	2.0 ng/ml [5.0 nmol/l]

Spezifische Leistungsdaten

Die nachstehenden Daten stellen die typische Leistung des VITD-Tests für das Dimension® EXL™ dar.

Material	Präzision ^{22,e}				
	Mittelwert	Wiederholbarkeit		Präzision innerhalb des Labors	
		SA	%CV	SA	%CV
	ng/ml [nmol/l]	ng/ml [nmol/l]		ng/ml [nmol/l]	%CV
Tri-Level Vitamin D Plus ^f					
QK (niedrig)	18.9 [47.3]	0.58 [1.45]	3.1	1.01 [2.53]	5.4
QK (Level 1)	38.7 [96.8]	1.02 [2.55]	2.6	2.02 [5.05]	5.2
QK (Level 2)	89.6 [224.0]	1.72 [4.29]	1.9	3.67 [9.17]	4.1
Serum 1	8.2 [20.5]	0.46 [1.15]	5.6	0.71 [1.79]	8.7
Serum 2	29.4 [73.5]	0.76 [1.90]	2.6	1.46 [3.65]	5.0
Serum 3	76.5 [191.3]	1.63 [4.08]	2.1	3.11 [7.78]	4.1
Plasma	25.2 [63.0]	0.44 [1.11]	1.8	0.78 [1.96]	3.1

- e. CLSI EP05-A2 wurde verwendet. 20 Tage lang wurden für insgesamt 80 Replikate an jedem Testtag zwei separate Durchläufe mit zwei Testproben für jedes Testmaterial analysiert.
- f. UTAK Tri-Level Vitamin D Plus Serum Control ist ein Produkt von UTAK Laboratories, Valencia, CA 91355.

Methodenvergleich²³

Im Rahmen einer Methodenvergleichsstudie gemäß CLSI EP09-A3 zwischen dem LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test und einem von der Universität Gent entwickelten ID-LC-MS/MS Referenzmessverfahren (RMP) wurden die nachstehenden Ergebnisse mittels Passing-Bablok-Regression und Pearson-Korrelation ermittelt. Die Anzahl und der Bereich der Vitamin-D-Werte dieser Proben sind nachfolgend aufgeführt.

Vergleichsmethode	Steigung ^a	Regressionsstatistik Achsanschnitt ^a ng/ml [nmol/l]	Korrelations- koeffizient	n ^b
ID-LC-MS/MS 25(OH)Vitamin D	1.06	0.4 [1.1]	0.977	163

- g. Steigung und Achsanschnitt wurden mittels Passing-Bablok-Analyse abgeleitet:
y = LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test; x = ID-LC-MS/MS 25(OH)Vitamin D
- h. Die Vitamin-D-Werte lagen bei 5.2 – 126.1 ng/ml [13.0 – 315.3 nmol/l], die aus 163 Proben, darunter 154 Nativproben und 9 artifizielle Proben, stammten.

Äquivalenz von Serum und Plasma

Wie die nachstehende Kleinst-Quadrat-Regression zeigt, wurde kein signifikanter Unterschied zwischen Serum- (x) und Plasmaproben (y) festgestellt.

Vergleich der Proben	Steigung	Achsabschnitt ng/ml [nmol/l]	Korrelations-koeffizient	n	Min ng/ml [nmol/l]	Max ng/ml [nmol/l]
Lithium Heparin-Plasma versus -Serum (rote Kappe)	0.99	0.1 [0.3]	0.992	70	11.5 [28.7]	146.4 [366.0]
EDTA-Plasma versus -Serum (rote Kappe)	0.98	1.4 [3.4]	0.997	70	11.6 [29.0]	142.5 [356.2]
Serum SST versus Serum (rote Kappe)	0.99	0.5 [1.2]	0.997	70	11.4 [28.5]	148.6 [371.5]

Spezifität

Interferenz durch Hämolyse, Ikterus und Lipämie (HIL)

Der VITD-Test wurde gemäß CLSI EP07-A2 auf mögliche Interferenz evaluiert.⁹ Die Abweichung berechnet sich aus dem Werteunterschied in Prozent zwischen der Kontrollprobe (ohne Störsubstanz) und der Testprobe (mit Störsubstanz). Eine Abweichung von mehr als 10 % wird als Interferenz bezeichnet.

Getestete Substanz	Substanzkonzentration	Vitamin D ng/ml [nmol/l]	Abweichung* in %
Hämoglobin (Hämolyse)	250 mg/dl [0.155 mmol/l]	15.0 [37.5]	5
		31.7 [79.2]	9
		75.1 [187.7]	8
	500 mg/dl [0.31 mmol/l]	15.0 [37.5]	11
		31.7 [79.2]	19
		75.1 [187.7]	13
Bilirubin (unkonjugiert)	40 mg/dl [684.5 µmol/l]	13.5 [33.7]	7
		27.3 [68.2]	7
	80 mg/dl [1368 µmol/l]	66.7 [166.7]	8
		13.5 [33.7]	13
Bilirubin (konjugiert)	20 mg/dl [342 µmol/l]	27.3 [68.2]	12
		66.7 [166.7]	6
	40 mg/dl [684 µmol/l]	14.9 [37.2]	7
		31.7 [79.2]	4
Lipämie	300 mg/dl [3 g/l]	75.3 [188.2]	3
		14.9 [37.2]	-5
		32.3 [80.8]	-6
	500 mg/dl [5 g/l]	75.9 [189.8]	-5
		14.9 [37.2]	-10
		32.3 [80.8]	-11
		75.9 [189.8]	-8

* Analysewerte dürfen nicht anhand dieser Abweichung korrigiert werden.

Nicht störende Substanzen

Die folgenden Substanzen wurden anhand CLSI EP07-A2⁹ auf Interferenz untersucht und in den genannten Konzentrationen im Serum als nicht störend für den VITD-Test befunden. Ungenauigkeiten (Abweichungen) aufgrund dieser Substanzen überschreiten 10 % bei Vitamin-D-Konzentrationen von 13.9 – 16.9 ng/ml [34.8 – 42.3 nmol/l], 28.4 – 32.0 ng/ml [71.0 – 80.0 nmol/l] und 70.2 – 77.3 ng/ml [175.5 – 193.3 nmol/l] nicht.

Substanz	Testkonzentration	SI-Einheiten
Acetaminophen	20 mg/dl	1322 µmol/l
Ascorbinsäure	3 mg/dl	170 µmol/l
Bilirubin (unkonjugiert)	40 mg/dl	684.5 µmol/l
Bilirubin (konjugiert)	20 mg/dl	342 µmol/l
Cholesterin	300 mg/dl	7.7 mmol/l
Dextran 40	6000 mg/dl	1.50 mmol/l
Hämoglobin	250 mg/dl	0.155 mmol/l
Heparin	3 U/ml	3000 U/l
Ibuprofen	30 mg/dl	1455 µmol/l
Lipämie (Intralipid)	300 mg/dl	3 g/l
Protein (Albumin)	5 g/dl	50 g/l
Protein (gesamt)	15.9 g/dl	159 g/l
Rheumafaktor	500 IU/ml	500 IU/ml
Salicylsäure	65 mg/dl	4.7 mmol/l
Triglyceride	686 mg/dl	7.75 mmol/l
Harnsäure	20 mg/dl	1190 µmol/l

Kreuzreaktivität

Es wurden Kreuzreaktivitätstests zur Bestimmung der Wirkung potenzieller Kreuzreagenzien auf den LOCI Gesamt-Vitamin-D-Test gemäß CLSI EP07-A2 durchgeführt.⁹

Die prozentuale Kreuzreaktivität wurde folgendermaßen ermittelt:

% Kreuzreaktivität = $\frac{\text{gemessenes Vitamin D]} - [\text{Kontroll-Vitamin D}]}{[\text{Kreuzreagenz}]}$ x 100

Die folgenden Substanzen wurden bei Vorhandensein in den in der nachfolgenden Tabelle aufgeführten Vitamin-D-Konzentrationen im Serum auf Kreuzreaktivität mit dem VITD-Test evaluiert.

Kreuzreagenz	Kreuzreagenz-Konzentration (ng/ml)	% Kreuzreaktivität bei Vitamin-D-Konzentration	% Kreuzreaktivität bei Vitamin-D-Konzentration
Vitamin D ₂ (Ergocalciferol)	1000	0.1 bei 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	-0.1 bei 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
Vitamin D ₃ (Cholecalciferol)	1000	-0.1 bei 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	0.1 bei 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
* 1,25(OH) ₂ Vitamin D ₂	0.5	151.9 bei 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	1.3 bei 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
* 1,25(OH) ₂ Vitamin D ₃	0.5	1.7 bei 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	-224.5 bei 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
3-epi-25(OH)Vitamin D ₃	100	3.9 bei 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	2.5 bei 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
Paricalcitol/Zemplar	24	93.8 bei 28.8 ng/ml [72.0 nmol/l]	70.8 bei 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]
1αOH Vitamin D ₃ (Alfacalcidol)	3000	0.1 bei 26.5 ng/ml [66.3 nmol/l]	0.0 bei 51.6 ng/ml [129.0 nmol/l]
24, 25(OH) ₂ Vitamin D ₃	60	2.5 bei 26.5 ng/ml [66.3 nmol/l]	1.2 bei 51.6 ng/ml [129.0 nmol/l]
25(OH)Vitamin D ₂	30	95.1 bei 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]	94.1 bei 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]
25(OH)Vitamin D ₃	30	88.6 bei 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]	90.1 bei 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]

* 1,25(OH)₂Vitamin D₂ und 1,25(OH)₂Vitamin D₃ wurden in supraphysiologischen Konzentrationen getestet.²⁴

Nachweisgrenze²⁵ und Leerwertgrenze^{25,i}

Die Nachweisgrenze (LoD) für den VITD-Test wurde anhand der CLSI-Richtlinie EP17-A2 ermittelt und beträgt 1.3 ng/ml [3.3 nmol/l] mit einem Anteil an falsch positiven Ergebnissen (α) unter 5 % und falsch negativen Ergebnissen (β) unter 5 %; basierend auf 120 Bestimmungen mit 60 Leerwertproben und 60 Replikaten niedriger Konzentration. Die Leerwertgrenze (LoB) liegt bei 0.8 ng/ml [2.0 nmol/l].

i. Die LoD ist die niedrigste Analytkonzentration, die zuverlässig ermittelt werden kann. Die LoB ist die höchste Konzentration, die in einer Leerwertprobe beobachtet werden kann.

Quantifizierungsgrenze^{25,j}

Die Quantifizierungsgrenze (LoQ) wurde anhand der CLSI-Richtlinie EP17-A2 ermittelt. Die LoQ für den VITD-Test beträgt 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] bei einem Gesamtpräzisions-VK von ≤ 20 %.

j. Die LoQ ist als die niedrigste 25(OH)Vitamin-D-Konzentration definiert, die bei einem Gesamtpräzisions-VK von ≤ 20 % nachgewiesen werden kann.

Linearität²⁶

Die Linearität im Messbereich, 5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l], wurde durch den Test einer Probe mit einer hohen Vitamin-D-Konzentration und in serieller Verdünnung mit niedriger Vitamin-D-Konzentration bestätigt. Jede Verdünnung wurde mit einer Wiederholungsrate von n = 5 durchgeführt. Die lineare Regression von Beobachtungs- (y) versus erwarteten Werten (x) ergab eine Steigung von 1.02, einen Achsabschnitt von 1.4 ng/ml und einen Korrelationskoeffizienten (r) von 0.998. Die prozentuale Abweichung zwischen gemessenen und erwarteten Werten lag innerhalb der erlaubten Abweichung von 10 % vom linearen Ausgleich.

Wiederfindung

Definierte Mengen von 25(OH)Vitamin D₂ (30 ng/ml [75.0 nmol/l]) und 25(OH)Vitamin D₃ (30 ng/ml [75.0 nmol/l]) wurden zu den separaten Serumproben mit Vitamin D bei 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l] und 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l].

Die berechneten Wiederfindungsraten sind unten aufgeführt:

Vitamin D bei 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]		
Hinzugefügt	Hinzugefügte Menge ng/ml (nmol/l)	% Wiederfindung
25(OH)Vitamin D ₂	30.0 [75.0]	95
25(OH)Vitamin D ₃	30.0 [75.0]	89
Vitamin D bei 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]		
Hinzugefügt	Hinzugefügte Menge ng/ml (nmol/l)	% Wiederfindung
25(OH)Vitamin D ₂	30.0 [75.0]	94
25(OH)Vitamin D ₃	30.0 [75.0]	90

Symbolschlüssel: Siehe Verzeichnis im Anhang.

Literatur: Siehe Verzeichnis im Anhang.

Dimension®, EXL™, LOCI® und Flex® sind Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics.

©2016 Siemens Healthcare Diagnostics

Alle Rechte vorbehalten.



Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

VITD

Date d'édition 2020-04

Voir les sections ombrées : Informations mises à jour à partir de la version de 2019-04.

Dosage LOCI Vitamine D totale

Utilisation : Le dosage LOCI Vitamine D totale est un test de diagnostic *in vitro* pour la mesure quantitative de la 25(OH)vitamine D totale dans le sérum et le plasma humains sur l'analyseur de chimie intégré Dimension® EXL™ avec module LOCI®. Des mesures de la vitamine D sont utilisées dans l'évaluation de la suffisance de la vitamine D.

Résumé : La vitamine D est une hormone stéroïdienne impliquée dans l'absorption intestinale du calcium et la régulation de l'homéostasie calcique. La vitamine D est essentielle à la formation et au maintien d'os solides et en bonne santé. Une carence en vitamine D peut être due à une exposition inadéquate au soleil, à une consommation alimentaire inappropriée, à une diminution de l'absorption, à un métabolisme anormal ou à une résistance à la vitamine D.¹

Même s'il existe de nombreux métabolites de la vitamine D, la 25(OH)vitamine D totale, c'est-à-dire la somme de la 25(OH)vitamine D₂ et de la 25(OH)vitamine D₃, est l'indicateur le plus fiable du taux de vitamine D.^{2,3} La vitamine D₂ est dérivée de sources végétales, alors que la vitamine D₃ est principalement dérivée de la conversion du 7-déshydrocholestérol présent dans la peau par les rayons UV-B du soleil, et accessoirement de sources animales.²

Qu'elles soient consommées ou produites, les deux formes de vitamine D (D₂ et D₃) sont métabolisées par le foie en 25(OH)vitamine D, puis converties dans le foie ou le rein en métabolites actifs de la 1,25(OH)₂vitamine D₂ et de la 1,25(OH)₂vitamine D₃.^{2,4}

Les métabolites de la vitamine D sont liés à une protéine porteuse présente dans le plasma et sont distribués dans tout l'organisme. L'indicateur clinique le plus fiable du taux de vitamine D est la 25(OH)vitamine D, car les concentrations sériques et plasmatiques de 25(OH)vitamine D reflètent les niveaux de stockage de l'organisme de la vitamine D, et il existe une corrélation entre la 25(OH)vitamine D et les symptômes cliniques de la carence en vitamine D.⁵

Principes de la méthode : Le dosage LOCI Vitamine D totale est un immunodosage homogène, chimiluminescent compétitif, basé sur la technologie LOCI®. Ce dosage mesure la concentration en 25(OH)vitamine D totale [comprenant à la fois la 25(OH)vitamine D₂ et la 25(OH)vitamine D₃] tant dans le sérum que dans le plasma. Les réactifs du dosage LOCI Vitamine D totale comprennent un agent de libération, un anticorps monoclonal biotinylé et deux réactifs synthétiques. L'échantillon du patient est incubé avec l'agent de libération afin de libérer des molécules de 25(OH)vitamine D des protéines se liant à la vitamine D. Le mélange de réaction est ensuite incubé avec un anticorps biotinylé afin de former un complexe 25(OH)vitamine D/anticorps biotinylé.

Des Chemibeads contenant de la 25(OH)vitamine D₃ et un colorant chimiluminescent sont ajoutés afin d'éliminer l'excès d'anticorps biotinylé libres. Des Sensibeads revêtus de streptavidine, contenant un colorant photosensible, sont ajoutés pour se lier à l'anticorps biotinylé. Cela entraîne la formation d'agrégats d'analogues du Chemibead/anticorps biotinylé/Sensibeads avec streptavidine. L'illumination du mélange de réaction par une lumière à 680 nm génère de l'oxygène singulet à partir des Sensibeads, qui se diffuse dans les Chemibeads et déclenche une réaction de chimiluminescence. Le signal chimiluminescent obtenu, mesuré à 612 nm, est inversement proportionnel à la concentration de 25(OH)vitamine D totale dans l'échantillon.

Réactifs

Puits ^{a,b}	Forme	Composant	Concentration ^c	Origine
1 – 2 (Réactif 4)	Liquide	Agent de libération		
3 – 4 (Réactif 1)	Liquide	Anticorps biotinylé	0.75 µg/ml	Monoclonal de mouton
5 – 6 (Réactif 2)	Liquide	Chemibeads	200 µg/ml	Monoclonal de mouton
7 – 8 (Réactif 3)	Liquide	Sensibeads	500 µg/ml	

- Les puits sont numérotés consécutivement, depuis l'extrémité la plus large de la cartouche.
- Contient des tampons, des stabilisateurs et des conservateurs.
- Valeur nominale par puits dans une cartouche.

Risque et sécurité :



H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P363, P501

Avertissement
Peut provoquer une allergie cutanée.

Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. Éliminer les contenues et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales.

Contient : 5-chloro-2-méthyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-méthyl-3(2h)-isothiazolone.

Les fiches de sécurité sont disponibles sur [siemens.com/healthcare](https://www.siemens.com/healthcare)

Précautions :

Attention : ce dispositif contient des matières d'origine animale et doit être traité comme un porteur et transmetteur potentiel de maladie.

Les cuvettes et/ou les récipients de réaction utilisés contiennent des liquides biologiques humains. Les manipuler avec soin pour éviter tout risque de contact avec la peau ou d'ingestion.

Attention : Aux Etats-Unis, la loi fédérale n'autorise la vente de ce dispositif que sur ordre ou par un professionnel de la santé agréé.

Pour diagnostic *in vitro*.

Préparation des réactifs : Tous les réactifs sont liquides et prêts à l'emploi.

Conserver entre : 2 – 8 °C.

Expiration : voir la date d'expiration indiquée sur l'emballage de chaque cartouche de réactifs non ouverte. Les puits fermés sont stables sur l'instrument pendant 30 jours.

Stabilité des puits ouverts : 7 jours pour les puits 1 – 8

Prélèvement et manipulation des échantillons :

Types d'échantillons recommandés : sérum, plasma héparine-lithium et plasma EDTA.

Il n'est pas possible d'utiliser des échantillons et des contrôles stabilisés à l'aide d'azide de sodium.

Prélever des échantillons de sérum et de plasma à l'aide des procédures recommandées pour le prélèvement d'échantillons sanguins de diagnostic par ponction veineuse.⁶ Les échantillons traités peuvent être réfrigérés à 2 – 8 °C pendant 7 jours s'ils ne sont pas testés dans les 24 heures. Pour un stockage plus long, jusqu'à trois mois, les échantillons peuvent être congelés à -20 °C. Les échantillons peuvent être congelés jusqu'à 3 fois. Les échantillons décongelés doivent être intégralement mélangés avant l'analyse.

Les échantillons doivent être dépourvus de particules. Afin d'éviter l'apparition de fibrine dans les échantillons de sérum, il doit se produire une coagulation totale avant centrifugation. En cas d'augmentation du temps de coagulation due à un traitement thrombolytique ou anticoagulant, l'utilisation d'échantillons de plasma permet un traitement plus rapide des échantillons et réduit le risque lié aux particules.⁷

Suivre les instructions d'utilisation et de traitement fournies avec le dispositif de collecte des échantillons.⁸ L'objectif des informations sur le stockage des échantillons est de fournir des orientations aux utilisateurs. Cependant, ceux-ci peuvent valider leurs propres procédures de stockage des échantillons de patients.

Procédure

Matériel fourni

Cartouche de réactifs VITD Flex®, Réf. catalogue RF634

Matériel requis mais non fourni

VITD CAL, Réf. catalogue RC634

Récipients de réaction, Réf. catalogue RXV1A

Matériel de contrôle de qualité

Étapes du test

L'échantillonnage, la distribution des réactifs, le mélange et le traitement sont automatiquement réalisés par le système Dimension® EXL™. Pour les détails du traitement, voir le guide de l'opérateur du système Dimension® EXL™.

Le conteneur d'échantillons doit contenir une quantité suffisante pour prendre en charge le volume d'échantillon plus le volume mort. Il n'est pas nécessaire de remplir le conteneur avec précision.

Conditions du test

Volume d'échantillon (distribué dans le récipient de réaction)	8 µl
Réactif 4 Volume de l'agent de libération	18 µl
Réactif 1 Volume du réactif d'anticorps biotinylé	24 µl
Réactif 2 Volume de réactif Chemibeads	24 µl
Réactif 3 Volume de réactif Sensibeads	84 µl
Température	37 °C
Temps de réaction	31.0 minutes
Longueur d'onde	Illumination 680 nm, Émission 612 nm
Type de mesure	Chimiluminescence

Calibration

Domaine de mesure 5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l]^d

Matériel de calibration Calibrateur VITD, Réf. catalogue RC634

Schéma de calibration 5 niveaux, n = 3

Unités ng/ml [nmol/l]
(ng/ml x 2.5) = [nmol/l]

Niveaux de calibration ou de vérification types Niveau 1 : 0.0 ng/ml [0.0 nmol/l]
Niveau 2 : 12.0 ng/ml [30.0 nmol/l]
Niveau 3 : 30.0 ng/ml [75.0 nmol/l]
Niveau 4 : 75.0 ng/ml [187.5 nmol/l]
Niveau 5 : 165.0 ng/ml [412.5 nmol/l]

Fréquence de calibration

Une nouvelle calibration est requise :

Tous les 7 jours pour chaque lot

- Pour chaque nouveau lot de cartouches de réactifs Flex®
- Après une maintenance ou une réparation majeure, en fonction des résultats du contrôle de qualité
- Comme indiqué dans les procédures de contrôle de qualité du laboratoire
- Selon les réglementations nationales en vigueur

Coefficients attribués

C₀ : 809.0
C₁ : -811.0
C₂ : -1.46
C₃ : 2.48
C₄ : 0.5

d. Les unités SI [Système International d'Unités] sont indiquées entre crochets.

Standardisation

Le dosage LOCI Vitamine D totale est standardisé d’après des normes internes qui suivent la procédure de la méthode de référence (RMP) ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamine D. La ID-LC-MS/MS suit le matériel de référence standard (SRM) 2972 du National Institute of Standards and Technology (NIST).

Pour 40 échantillons dans le domaine de 7.9 ng/ml [19.8 nmol/l] à 141.9 ng/ml [354.8 nmol/l], la relation entre le dosage LOCI Vitamine D totale(y) et la RMP ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamine D(x) est décrite au moyen de l’analyse de régression Deming :

Dosage LOCI Vitamine D totale = 0.99 (ID-LC-MS/MS) + 4.6 ng/ml [11.5 nmol/l], r = 1.000

Contrôle de qualité

Se conformer aux réglementations ou exigences d’accréditation réglementaires pour la fréquence de passage du contrôle de qualité. Analyser au moins une fois par jour d’utilisation, deux niveaux d’un matériel de contrôle de qualité (QC), aux concentrations connues de vitamine D. Si les résultats obtenus ne sont pas compris dans les limites acceptables, suivre les procédures de contrôle de qualité internes du laboratoire.

Résultats : L'instrument calcule la concentration de vitamine D totale en ng/ml [nmol/l] suivant le schéma de calcul décrit dans le guide de l’opérateur du système Dimension® EXL™.

Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en rapport avec les antécédents médicaux du patient, les signes cliniques et autres constatations.

Domaine de mesure analytique (AMR) : 5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l]

Il s’agit du domaine des valeurs d’analyte pouvant être mesurées directement dans l’échantillon sans dilution ni traitement préalable, qui ne fasse pas partie de la méthode d’analyse usuelle. Ce domaine est équivalent à un domaine de mesure.

- Les échantillons dont les résultats dépassent 150.0 ng/ml [375.0 nmol/l] sont signalés comme « Supérieur au domaine de mesure ». La dilution manuelle n’est pas recommandée. Aucune dilution automatique n’est validée pour la VITD.
- Les échantillons renvoyant des résultats inférieurs à 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] sont signalés comme « Inférieur à 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] ».

Limites de la procédure

Le système de rapport de l’instrument renvoie des indicateurs et des commentaires qui fournissent à l’opérateur des informations concernant les erreurs de traitement, des informations d’état de l’instrument et les erreurs potentielles dans les résultats du VITD. Pour connaître la signification de ces indicateurs et commentaires, voir le manuel de l’opérateur du système Dimension® EXL™. Tout résultat contenant des indicateurs et/ou des commentaires doit être traité conformément au guide des procédures du laboratoire et non communiqués.

Ne pas utiliser d’échantillons hémolysés. L’hémoglobine à 500 mg/dl entraîne une augmentation de la concentration en vitamine D de 11 % à 15 ng/ml [37.5 nmol/l], 19 % à 31.7 ng/ml [79.2 nmol/l] et 13 % à 75.1 ng/ml [187.7 nmol/l].

Ne pas utiliser d’échantillons lipémiques. La lipémie (Intralipid) à 500 mg/dl entraîne une diminution de la concentration en vitamine D de 10 % à 14.9 ng/ml [37.2 nmol/l], 11 % à 32.3 ng/ml [80.8 nmol/l] et 8 % à 75.9 ng/ml [189.8 nmol/l].

Le paricalcitol (Zemplar) à 24 ng/ml a démontré une réactivité croisée de 93.8 % à 28.8 ng/ml [72.0 nmol/l] de vitamine D et une réactivité croisée de 70.8 % à 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l] de vitamine D.

Substances interférentes

Les interférences générées par le dosage VITD ont été évaluées d’après le document EP07-A2 du CLSI.⁹ Le biais est la différence de résultats entre l’échantillon de contrôle (sans la substance interférente) et l’échantillon de test (avec la substance interférente) exprimée en pourcentage. *Un biais supérieur à 10 % est considéré comme une interférence.

- Les protéines totales à 19 g/dl entraînent une diminution de la concentration en vitamine D de 6 % à 14.3 ng/ml [35.8 nmol/l], 11 % à 30.9 ng/ml [77.3 nmol/l] et 12 % à 77.3 ng/ml [193.3 nmol/l].
- La bilirubine non conjuguée à 80 mg/dl entraîne une augmentation de la concentration en vitamine D de 13 % à 13.5 ng/ml [33.7 nmol/l], 12 % à 27.3 ng/ml [68.2 nmol/l] et 6 % à 66.7 ng/ml [166 nmol/l].
- La bilirubine conjuguée à 40 mg/dl entraîne une augmentation de la concentration en vitamine D de 17 % à 14.9 ng/ml [37.2 nmol/l], 12 % à 31.7 ng/ml [79.2 nmol/l] et 11 % à 75.3 ng/ml [188.2 nmol/l].
- Le cholestérol à 350 mg/dl entraîne une diminution de la concentration en vitamine D de 10 % à 25.2 ng/ml [63.0 nmol/l]et de 12 % à 64.0 ng/ml [160.0 nmol/l].
- Anticorps anti-souris humains (HAMA) : Les échantillons de patients peuvent contenir des anticorps hétérophiles, notamment les plus courants, à savoir les anticorps anti-souris humains (HAMA). Dans le cadre de tests de dosage immunologique, les anticorps hétérophiles tels que les HAMA peuvent générer des résultats faussement réduits ou élevés. Un résultat de test qui n’est pas cohérent avec le tableau clinique et les antécédents du patient doit être interprété avec prudence.

Siemens a évalué l’influence des HAMA conformément à la directive EP07-A2 du CLSI.⁹ Les interférences HAMA de 20 échantillons contenant de la vitamine D à un taux compris entre 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] à 87.5 ng/ml [218.7 nmol/l] avec des concentrations variables de HAMA, de 8 ng/ml à 161,000 ng/ml ont été testées. Un biais en pourcentage moyen (n=5) de 2.8 % a été observé sur un échantillon doté d'une concentration en vitamine D de 28.3 ng/ml [70.7 nmol/l] contenant 161,000 ng/ml de HAMA. Un biais en pourcentage moyen maximum (n=5) de 10 % a été observé sur un échantillon doté d'une concentration en vitamine D de 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] contenant 106 ng/ml de HAMA.

*** Les résultats de l'analyte ne doivent pas être corrigés en fonction du biais observé. Voir les résultats HIL (hémolyse, ictère, lipémie) supplémentaires à la section Spécificité.**

Concentration d'analyte	Niveau de test de biotine (ng/ml)			
	100	250	500	1200
	% Biais			
15 ng/ml	4.5	6.1	12.1	56.1
30 ng/ml	0.7	1.3	8.8	36.2
75 ng/ml	0.8	2.2	5.5	26.4

• Les échantillons qui contiennent de la biotine à une concentration de 250 ng/ml démontrent une variation des résultats inférieure ou égale à 10 %. Les concentrations de biotine supérieures peuvent provoquer des résultats faussement élevés sur les échantillons de patients.

• La consommation de biotine alimentaire quotidienne recommandée chez l’adulte est de 30 µg/jour. Les suppléments alimentaires en vente libre conseillés pour améliorer la santé des cheveux, de la peau et des ongles peuvent contenir 5 à 100 mg de biotine, et il est recommandé de prendre plusieurs comprimés par jour. Des études pharmacocinétiques réalisées sur des adultes en bonne santé ont démontré que, chez les sujets qui ingèrent des doses de 5 mg, 10 mg et 20 mg de biotine, les concentrations de biotine sérique peuvent atteindre 73 ng/ml, 141 ng/ml et 355 ng/ml, respectivement.¹⁰ Chez les sujets qui prennent jusqu’à 300 mg de biotine par jour, les niveaux de biotine plasmatique peuvent atteindre 1160 ng/ml.¹¹

Valeurs de référence fondées sur des critères de santé :

Les valeurs de référence fondées sur des critères de santé, basées sur le groupe de travail du Clinical Guidelines Subcommittee de l’Endocrine Society, sont recommandées pour remplacer les valeurs de référence basées sur la population. L’analyse de la documentation existante¹²⁻¹⁸ indique que les recommandations en matière de niveaux de 25(OH)vitamine D sont récapitulées dans le tableau suivant. Consulter les références répertoriées afin de débattre des niveaux de toxicité de la vitamine D.^{19, 20}

Taux de vitamine D	Plage, adulte ¹²⁻¹⁵ 25(OH)vitamine D ng/ml [nmol/l]
Déficient	< 20 [< 50]
Insuffisant	20 – < 30 [50 – < 75]
Suffisant	30 – 100 [75 – 250]

Valeurs observées dans une population d'adultes apparemment en bonne santé :

Les données utilisant le dosage LOCI Vitamine D totale ont été obtenues sur des échantillons de sérum prélevés chez 252 adultes : 246 adultes ne prenant pas de suppléments contenant de la vitamine D, et 6 adultes prenant des suppléments contenant de la vitamine D. Afin de représenter un large spectre d’exposition à la lumière UV dans la population utilisée, les échantillons sanguins testés ont été prélevés à différentes saisons et auprès de sujets résidant dans différentes régions géographiques des États-Unis. Les échantillons présentant des valeurs anormales de PTH, de calcium, de magnésium, de phosphore et de TSH ont été exclus de cette étude.

Sur la base de l’intervalle de confiance de 95 %, les valeurs suivantes ont été établies conformément à la directive EP28-A3c du CLSI.²¹

Afin de garantir une représentation correcte de populations spécifiques, chaque laboratoire devrait établir ses propres intervalles de référence.

Les valeurs de 25(OH)vitamine D suivantes ont été obtenues :

Médiane	28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]
Intervalle de 95 % observé (percentiles 2.5 et 97.5)	13.9 – 61.0 ng/ml [34.8 – 152.5 nmol/l]

Un dysfonctionnement du système peut se manifester si la précision de l’écart type maximum est excédée lors de 5 tests consécutifs :

Concentration	Écart type maximum lors de 5 tests consécutifs
12.0 ng/ml [30.0 nmol/l]	1.5 ng/ml [3.8 nmol/l]
30.0 ng/ml [75.0 nmol/l]	2.0 ng/ml [5.0 nmol/l]

Caractéristiques spécifiques de performance

Les données suivantes représentent les performances types du dosage VITD sur le système Dimension® EXL™.

Matériel	Précision ^{22,a}				
	Moyenne	Répétabilité ET	Précision intra-laboratoire ET		
	ng/ml [nmol/l]	ng/ml [nmol/l]	%CV	ng/ml [nmol/l]	%CV
Tri-Level Vitamin D Plus ^d					
QC (faible)	18.9 [47.3]	0.58 [1.45]	3.1	1.01 [2.53]	5.4
QC (niveau 1)	38.7 [96.8]	1.02 [2.55]	2.6	2.02 [5.05]	5.2
QC (niveau 2)	89.6 [224.0]	1.72 [4.29]	1.9	3.67 [9.17]	4.1
Sérum 1	8.2 [20.5]	0.46 [1.15]	5.6	0.71 [1.79]	8.7
Sérum 2	29.4 [73.5]	0.76 [1.90]	2.6	1.46 [3.65]	5.0
Sérum 3	76.5 [191.3]	1.63 [4.08]	2.1	3.11 [7.78]	4.1
Plasma	25.2 [63.0]	0.44 [1.11]	1.8	0.78 [1.96]	3.1

- e. Le document EP05-A2 du CLSI a été utilisé. Chaque jour de test, deux séries distinctes, avec deux échantillons pour chaque matériel de test, ont été analysées pendant 20 jours pour un total de 80 réplicas.
- f. UTAK Tri-Level Vitamin D Plus Serum Control est un produit de UTAK Laboratories, Valencia, CA 91355.

Comparaison de méthode²³

Une étude de la comparaison de méthode basée sur la directive EP09-A3 du CLSI entre le dosage LOCI Vitamine D totale et une procédure de mesure de référence (RMP) ID-LC-MS/MS développée par l’université de Gand a généré les résultats suivants en utilisant la méthode de Passing-Bablok et le coefficient de corrélation de Pearson. Le nombre et le domaine de valeurs de la vitamine D sur ces échantillons sont indiqués ci-dessous.

Statistiques de régression Ordonnée à l’origine ^a			
Méthode comparative	Pente ^a	Coefficient de corrélation	n ^b
ID-LC-MS/MS			
25(OH)vitamine D	1.06	0.4 [1.1]	0.977 163

- g. La pente et l’ordonnée à l’origine ont été dérivées à l’aide de l’analyse Passing-Bablok :
y = Dosage LOCI Vitamine D ; x = ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamine D
- h. Les valeurs de vitamine D étaient comprises entre 5.2 – 126.1 ng/ml [13.0 – 315.3 nmol/l] dérivées de 163 échantillons, 154 natifs et 9 artificiels.

Équivalence sérum et plasma

Aucune différence significative sur le plan clinique n'a été observée entre le sérum (x) et le plasma (y) d'après la méthode standard d'analyse de régression des moindres carrés (voir ci-dessous).

Comparaison d'échantillons	Pente	Ordonnée à l'origine ng/ml [nmol/l]	Coefficient de corrélation	n	Min. ng/ml [nmol/l]	Max. ng/ml [nmol/l]
Plasma lithium-héparine contre sérum (bouchon rouge)	0.99	0.1 [0.3]	0.992	70	11.5 [28.7]	146.4 [366.0]
Plasma EDTA contre sérum (bouchon rouge)	0.98	1.4 [3.4]	0.997	70	11.6 [29.0]	142.5 [356.2]
Sérum SST contre sérum (bouchon rouge)	0.99	0.5 [1.2]	0.997	70	11.4 [28.5]	148.6 [371.5]

Spécificité

Interférence HIL (hémolyse, ictère, lipémie)

Les interférences générées par le dosage VITD ont été évaluées d'après le document EP07-A2 du CLSI.⁹ Le biais est la différence de résultats entre l'échantillon de contrôle (sans la substance interférente) et l'échantillon de test (avec la substance interférente) exprimée en pourcentage. Un biais supérieur à 10 % est considéré comme une interférence.

Substance testée	Concentration des substances	Vitamine D ng/ml [nmol/l]	Biais* %
Hémoglobine (hémolysat)	Hémoglobine (monomère) 250 mg/dl (0.155 mmol/l)	15.0 [37.5]	5
		31.7 [79.2]	9
		75.1 [187.7]	8
	500 mg/dl [0.31 mmol/l]	15.0 [37.5]	11
		31.7 [79.2]	19
		75.1 [187.7]	13
Bilirubine (non conjuguée)	40 mg/dl [684.5 µmol/l]	13.5 [33.7]	7
		27.3 [68.2]	7
		66.7 [166.7]	8
	80 mg/dl [1368 µmol/l]	13.5 [33.7]	13
		27.3 [68.2]	12
		66.7 [166.7]	6
Bilirubine (conjuguée)	20 mg/dl [342 µmol/l]	14.9 [37.2]	7
		31.7 [79.2]	4
		75.3 [188.2]	3
	40 mg/dl [684 µmol/l]	14.9 [37.2]	17
		31.7 [79.2]	12
		75.3 [188.2]	11
Lipémie	300 mg/dl [3 g/l]	14.9 [37.2]	-5
		32.3 [80.8]	-6
		75.9 [189.8]	-5
	500 mg/dl [5 g/l]	14.9 [37.2]	-10
		32.3 [80.8]	-11
		75.9 [189.8]	-8

* Les résultats de l'analyte ne doivent pas être corrigés en fonction du biais.

Substances non interférentes

Les interférences générées par les substances suivantes ont été évaluées à l'aide du document EP07-A2 du CLSI⁹ et se sont révélées ne pas interférer avec le dosage VITD en cas de présence dans le sérum aux concentrations indiquées. Les imprécisions (biais) dues à ces substances ne dépassent pas 10 % à des concentrations en vitamine D de 13.9 – 16.9 ng/ml [34.8 – 42.3 nmol/l], 28.4 – 32.0 ng/ml [71.0 – 80.0 nmol/l] et 70.2 – 77.3 ng/ml [175.5 – 193.3 nmol/l].

Substance	Concentration du test	Unités SI
Acétaminophène	20 mg/dl	1322 µmol/l
Acide ascorbique	3 mg/dl	170 µmol/l
Bilirubine (non conjuguée)	40 mg/dl	684.5 µmol/l
Bilirubine (conjuguée)	20 mg/dl	342 µmol/l
Cholestérol	300 mg/dl	7.7 mmol/l
Dextran 40	6000 mg/dl	1.50 mmol/l
Hémoglobine	250 mg/dl	0.155 mmol/l
Héparine	3 U/ml	3000 U/l
Ibuprofène	30 mg/dl	1455 µmol/l
Lipémie (Intralipid)	300 mg/dl	3 g/l
Protéine (albumine)	5 g/dl	50 g/l
Protéine (totale)	15.9 g/dl	159 g/l
Facteur rhumatoïde	500 IU/ml	500 IU/ml
Acide salicylique	65 mg/dl	4.7 mmol/l
Triglycérides	686 mg/dl	7.75 mmol/l
Acide urique	20 mg/dl	1190 µmol/l

Réactivité croisée

Un test de la réactivité croisée a été effectué pour déterminer l'effet d'agents de réaction croisée potentiels sur le dosage LOCI Vitamine D totale à l'aide du document EP07-A2 du CLSI.⁹

Le pourcentage d'une réactivité croisée a été calculé comme suit :

% de réactivité croisée =
$$\frac{[\text{vitamine D mesurée}] - [\text{vitamine D de contrôle}]}{[\text{agent de réaction croisée}]}$$
 x 100

La réactivité croisée des substances suivantes a été évaluée avec le dosage VITD lorsqu'elles sont présentes dans le sérum aux concentrations en vitamine D indiquées dans le tableau suivant.

Agent de réaction croisée	Concentration de l'agent de réaction croisée (ng/ml)	% Réactivité croisée selon concentration en vitamine D	% Réactivité croisée selon concentration en vitamine D
Vitamine D ₂ (ergocalciférol)	1000	0.1 à 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	-0.1 à 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
Vitamine D ₃ (cholécalficérol)	1000	-0.1 à 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	0.1 à 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
* 1,25(OH) ₂ vitamine D ₂	0.5	151.9 à 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	1.3 à 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
* 1,25(OH) ₂ vitamine D ₃	0.5	1.7 à 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	-224.5 à 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
3-epi-25(OH)vitamine D ₃	100	3.9 à 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	2.5 à 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
Paricalcitol/Zemplar	24	93.8 à 28.8 ng/ml [72.0 nmol/l]	70.8 à 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]
1αOH Vitamine D ₃ (alfacalcidol)	3000	0.1 à 26.5 ng/ml [66.3 nmol/l]	0.0 à 51.6 ng/ml [129.0 nmol/l]
24, 25(OH) ₂ vitamine D ₃	60	2.5 à 26.5 ng/ml [66.3 nmol/l]	1.2 à 51.6 ng/ml [129.0 nmol/l]
25(OH)vitamine D ₂	30	95.1 à 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]	94.1 à 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]
25(OH)vitamine D ₃	30	88.6 à 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]	90.1 à 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]

* Des tests ont été réalisés sur des échantillons de 1,25(OH)₂vitamine D₂ et 1,25(OH)₂vitamine D₃ à des concentrations supra-physiologique.²⁴

Limite de détection¹ et limite du blanc^{25,j}

La limite de détection (LdD) pour le dosage VITD est de 1.3 ng/ml [3.3 nmol/l], déterminée conformément au document EP17-A2 du CLSI et avec une proportion de faux positifs (α) inférieure à 5 % et de faux négatifs (β) inférieure à 5 % ; sur la base de 120 déterminations, avec 60 répliques blancs et 60 répliques bas. La limite du blanc (LdB) est de 0.8 ng/ml [2.0 nmol/l].

i. La LdD est la plus faible concentration d'analyte pouvant être détectée de façon fiable. La LdB est la concentration la plus élevée susceptible d'être observée dans un échantillon blanc.

Limite de quantification^{25,j}

La limite de quantification (LdQ) a été déterminée conformément à la directive EP17-A2 du CLSI. La LdQ pour le dosage VITD est de 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] à une précision totale ≤ 20 % CV.

j. La LdQ est définie comme la plus faible concentration de 25(OH)vitamine D pouvant être détectée à un CV de précision total ≤ 20 %.

Linéarité²⁶

La linéarité sur tout le domaine de mesure, 5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l] a été confirmée en testant un échantillon doté d'une concentration élevée de vitamine D et en le diluant en série avec un échantillon possédant une faible concentration de vitamine D. Chaque dilution a été testée dans des répliques de n = 5. La régression linéaire des valeurs observées (y) et attendues (x) a donné une pente de 1.02, une ordonnée à l'origine de 1.4 ng/ml et un coefficient de corrélation (r) de 0.998. Le biais en pourcentage entre les valeurs observées et prévues se situait dans l'écart de 10 % acceptable par rapport à l'ajustement linéaire.

Récupération

Des quantités connues de 25(OH)vitamine D₂ (30 ng/ml [75.0 nmol/l]) et de 25(OH)vitamine D₃ (30 ng/ml [75.0 nmol/l]) ont été ajoutées afin de séparer les échantillons de sérum contenant de la vitamine D à 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l] et à 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l].

Les récupérations calculées en pourcentage sont répertoriées ci-dessous :

Vitamine D à 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]		
Ajout	Quantité ajoutée en ng/ml [nmol/l]	% de récupération
25(OH)vitamine D ₂	30.0 [75.0]	95
25(OH)vitamine D ₃	30.0 [75.0]	89
Vitamine D à 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]		
Ajout	Quantité ajoutée en ng/ml [nmol/l]	% de récupération
25(OH)vitamine D ₂	30.0 [75.0]	94
25(OH)vitamine D ₃	30.0 [75.0]	90

Explication des symboles : Voir le tableau ci-contre.

Bibliographie : Voir le tableau ci-contre.

Dimension®, EXL™, LOCI® et Flex® sont des marques commerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

©2016 Siemens Healthcare Diagnostics

Tous droits réservés.



Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

VITD

Data di edizione 2020-08

Vedere le sezioni ombreggiate: informazioni aggiornate dalla versione 2019-04.

Dosaggio totale Vitamina D LOCI

Uso previsto: Il dosaggio totale Vitamina D LOCI è un test diagnostico *in vitro* per la misurazione quantitativa di 25(OH)vitamina D totale nel siero e nel plasma umani sul sistema di chimica integrato Dimension® EXL™ con modulo LOCI®. Le misurazioni della vitamina D vengono utilizzate nella valutazione dell'eventuale carenza di vitamina D.

Riassunto: la vitamina D è un ormone steroideo implicato nell'assorbimento intestinale del calcio e nella regolazione dell'omeostasi del calcio. La vitamina D è essenziale per la formazione e il mantenimento di ossa forti e in salute. La carenza di vitamina D può derivare da esposizione inadeguata al sole, alimentazione non appropriata, assorbimento ridotto, metabolismo anomalo o resistenza alla vitamina D.¹ Sebbene vi siano molti metaboliti della vitamina D, la 25(OH)vitamina D totale, ovvero la somma di 25(OH)vitamina D₂ e 25(OH)vitamina D₃, è l'indicatore più affidabile dello stato della vitamina D.^{2,3} La vitamina D₂ deriva da fonti vegetali, mentre la vitamina D₃ deriva principalmente dalla conversione di 7-deidrocolesterolo nella pelle ad opera delle radiazioni UV-B dalla luce solare e, in secondo luogo, da fonti animali.²

Consumate o prodotte, entrambe le forme di vitamina D (D₂ e D₃) sono metabolizzate dal fegato a 25(OH)vitamina D e quindi convertite nel fegato o nel rene nei metaboliti attivi 1,25(OH)₂ vitamina D₂ e 1,25(OH)₂ vitamina D₃.^{2,4}

I metaboliti della vitamina D sono legati a una proteina di trasporto nel plasma e distribuiti in tutto il corpo. L'indicatore clinico più affidabile dello stato della vitamina D è la 25(OH)vitamina D, poiché i livelli di 25(OH)vitamina D in siero e plasma riflettono i livelli di conservazione nel corpo della vitamina D e lo stesso 25(OH)vitamina D è correlato ai sintomi clinici della carenza di vitamina D.⁵

Principi del metodo: Il metodo del dosaggio totale Vitamina D LOCI immunoenzimatico omogeneo, chemiluminescente competitivo basato su tecnologia LOCI®. Il dosaggio misura la concentrazione di 25(OH)vitamina D totale [comprendente 25(OH)vitamina D₂ e 25(OH)vitamina D₃] in siero e plasma. I reagenti del dosaggio totale Vitamina D LOCI comprendono un agente di rilascio, un anticorpo monoclonale biotinilato e due reagenti sintetici in microsfere. Il campione del paziente viene incubato con l'agente di rilascio per rilasciare molecole di 25(OH)vitamina D dalle proteine leganti la vitamina D. La miscela di reazione viene quindi incubata con anticorpo biotinilato per formare un complesso 25(OH)vitamina D/anticorpo biotinilato.

Le Chemibead contenenti analogo del 25(OH)vitamina D₃ e colorante chemiluminescente vengono aggiunte per rimuovere l'anticorpo biotinilato libero in eccesso. Le Sensibead rivestite di streptavidina contenenti un colorante fotosensibile vengono aggiunte per legare l'anticorpo biotinilato. Di conseguenza si formano aggregati di analogo Chemibead/anticorpo biotinilato/Sensibead rivestite di streptavidina. L'illuminazione della miscela di reazione mediante luce a 680 nm genera ossigeno singoletto dalle Sensibead che si diffonde nelle Chemibead attivando una reazione chemiluminescente. Il segnale chemiluminescente che ne deriva viene misurato a 612 nm ed è inversamente proporzionale alla concentrazione di 25(OH)vitamina D totale nel campione.

Reagenti

Pozzetti ^{a,b}	Forma	Componente	Concentrazione ^c	Origine
1 – 2 (Reagente 4)	Liquida	Reagente di rilascio		
3 – 4 (Reagente 1)	Liquida	Anticorpo biotinilato	0.75 µg/ml	Ovina, monoclonale
5 – 6 (Reagente 2)	Liquida	Chemibead	200 µg/ml	Ovina, monoclonale
7 – 8 (Reagente 3)	Liquida	Sensibead	500 µg/ml	

- a. I pozzetti sono numerati in sequenza a partire dall'estremità larga della cartuccia.
b. Contengono tamponi, stabilizzanti e conservanti.
c. Valore nominale per pozzetto in una cartuccia.

Rischio e sicurezza:



H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P363, P501

Avvertenza!
Può provocare una reazione allergica cutanea.

Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.

Contiene: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone.

Le schede di sicurezza sono disponibili sul sito [siemens.com/healthcare](https://www.siemens.com/healthcare)

Precauzioni:

Attenzione: Questo dispositivo contiene materiale di origine animale e deve essere trattato come potenziale portatore e trasmettitore di malattie.

Le provette di reazione e/o le cuvette usate contengono fluidi di origine umana; maneggiare con cura per evitarne il contatto con la pelle o l'ingestione.

Attenzione: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo solo su ordine di operatori sanitari abilitati.

Per uso diagnostico *in vitro*.

Preparazione del reagente: Tutti i reagenti sono liquidi e pronti per l'uso.

Conservare a: 2 – 8 °C.

Scadenza: Per la data di scadenza delle singole cartucce reagenti ancora chiuse, fare riferimento alla confezione. I pozzetti sigillati sullo strumento sono stabili per 30 giorni.

Stabilità pozzetto aperto: 7 giorni per i pozzetti 1 – 8

Raccolta e manipolazione dei campioni:

Tipi di campioni consigliati: siero, plasma da litio eparina e plasma EDTA.

Non è possibile utilizzare campioni e controlli stabilizzati con azoturo di sodio.

Prelevare siero e plasma utilizzando le procedure raccomandate per il prelievo di campioni di sangue per diagnostica mediante venipuntura.⁶ Se non vengono analizzati entro 24 ore, i campioni possono essere conservati per 7 giorni. Per una conservazione più prolungata è possibile congelare i campioni di siero a -20 °C per tre mesi. I campioni possono essere congelati fino a 3 volte. I campioni scongelati devono essere miscelati accuratamente prima dell'analisi.

I campioni devono essere privi di materiale corpuscolato. Per evitare la comparsa di fibrina nei campioni di siero, la formazione completa del coagulo deve avvenire prima della centrifugazione. Se il tempo di coagulazione aumenta a causa di una terapia anticoagulante o trombolitica, l'uso di campioni di plasma consentirà un'analisi più rapida riducendo il rischio di materiale corpuscolato.⁷

Per l'uso del dispositivo di raccolta dei campioni e l'analisi, seguire le istruzioni fornite con il dispositivo.⁸ Le informazioni di conservazione dei campioni vengono fornite a scopo di guida per l'utente; tuttavia, l'utente può validare le proprie procedure di conservazione dei campioni dei pazienti.

Procedura

Materiale fornito

Cartuccia reagente VITD Flex®, Num. cat. RF634

Materiale necessario ma non fornito

VITD CAL, Num. cat. RC634

Provette di reazione, Num. cat. RXV1A

Materiale di controllo qualità

Fasi del test

Il sistema Dimension® EXL™ effettua automaticamente il campionamento, l'erogazione del reagente, la miscelazione e il processo di analisi. Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Guida per l'operatore del sistema Dimension® EXL™.

Il contenitore del campione deve avere una capacità sufficiente a contenere il volume del campione più un volume residuo. Non è necessario il riempimento preciso del contenitore.

Condizioni del test

Volume di campione (erogato nella provetta di reazione)	8 µl
Volume reagente di rilascio Reagente 4	18 µl
Volume reagente anticorpo biotinilato Reagente 1	24 µl
Volume reagente Chemibead Reagente 2	24 µl
Volume reagente Sensibead Reagente 3	84 µl
Temperatura	37 °C
Tempo di reazione	31.0 minuti
Lunghezza d'onda	Illuminazione (680 nm), Emissione (612 nm)
Tipo di misurazione	Chemiluminescenza

Calibrazione

Intervallo di misura 5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l]^d

Materiale di calibrazione Calibratore VITD, Num. cat. RC634

Schema di calibrazione 5 livelli, n = 3

Unità ng/ml [nmol/l]
(ng/ml x 2.5) = [nmol/l]

Livelli di calibrazione tipici o di verifica

Livello 1: 0.0 ng/ml [0.0 nmol/l]
Livello 2: 12.0 ng/ml [30.0 nmol/l]
Livello 3: 30.0 ng/ml [75.0 nmol/l]
Livello 4: 75.0 ng/ml [187.5 nmol/l]
Livello 5: 165.0 ng/ml [412.5 nmol/l]

Frequenza di calibrazione: Ogni 7 giorni per ciascun lotto

- Occorre effettuare una nuova calibrazione:
- Per ogni nuovo lotto di cartucce reagenti Flex®
 - In seguito a manutenzione o riparazione importante, se indicato dai risultati del controllo qualità
 - Se indicato nelle procedure del controllo qualità del laboratorio
 - Quando richiesto in base alle normative in vigore

Coefficienti assegnati

C₀: 809.0
C₁: -811.0
C₂: -1.46
C₃: 2.48
C₄: 0.5

d. Le unità SI [Système International d'Unités] sono tra parentesi.

Standardizzazione

Il Dosaggio totale Vitamina D LOCI è standardizzato mediante standard interni tracciabili nella Procedura del metodo di riferimento (RMP) ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamina D. LID-LC-MS/MS è tracciabile nel National Institute of Standards and Technology (NIST), Standard Reference Material (SRM) 2972.

Per 40 campioni nel range compreso tra 7.9 ng/ml [19.8 nmol/l] e 141.9 ng/ml [354.8 nmol/l], la relazione tra il Dosaggio totale Vitamina D LOCI (y) e la RMP ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamina D (x) è descritto utilizzando la regressione di Deming:

Dosaggio totale Vitamina D LOCI = 0.99 (ID-LC-MS/MS) + 4.6 ng/ml [11.5 nmol/l], r = 1.000

Controllo qualità

Per la frequenza dei controlli qualità seguire le normative in vigore o i requisiti di accreditamento. Almeno una volta per ogni giorno di utilizzo, analizzare due livelli di un materiale di controllo qualità con concentrazioni note di vitamina D. Seguire le procedure di controllo qualità interne del laboratorio se i risultati ottenuti non rientrano nei limiti accettabili.

Risultati: Lo strumento calcola la concentrazione di vitamina D totale espressa in ng/ml [nmol/l], utilizzando lo schema di calcolo illustrato nella Guida per l'operatore del sistema Dimension® EXL™.

I risultati di questo test devono essere sempre interpretati alla luce dell'anamnesi del paziente, della presentazione clinica e valutando contestualmente l'esito di altri accertamenti.

Intervallo di misura analitica (AMR): 5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l]

È l'intervallo dei valori di analita che è possibile misurare direttamente dal campione senza alcuna diluizione o pretrattamento che non sia parte integrante del processo di analisi abituale ed è equivalente all'intervallo di misura.

- I campioni con risultati superiori a 150.0 ng/ml [375.0 nmol/l] vengono referatati come "superiori all'intervallo di misura". Diluizione manuale non necessaria. Per la Vitamina D totale non è disponibile alcuna funzione di diluizione automatica.
- I campioni con risultati inferiori a 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] saranno referatati dallo strumento come "inferiore a 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l]".

Limiti della procedura

Il sistema di referatazione dello strumento contiene avvisi e commenti per fornire all'utente informazioni sugli errori di analisi dello strumento, informazioni sullo stato dello strumento e i potenziali errori nei risultati del metodo della Vitamina D totale. Per il significato di avvisi e commenti nei referti fare riferimento alla Guida per l'operatore di Dimension® EXL™. I risultati contenenti avvisi e/o commenti devono essere trattati secondo il manuale di procedura del proprio laboratorio e non vanno referatati.

Non utilizzare campioni emolizzati. Emoglobina a 500 mg/dl causa un aumento della concentrazione di vitamina D dell'11% a 15 ng/ml [37.5 nmol/l], del 19% a 31.7 ng/ml [79.2 nmol/l] e del 13% a 75.1 ng/ml [187.7 nmol/l].

Non utilizzare campioni lipemici. Lipemia (Intralipid) a 500 mg/dl causa una riduzione della concentrazione di vitamina D del 10% a 14.9 ng/ml [37.2 nmol/l], dell'11% a 32.3 ng/ml [80.8 nmol/l] e dell'8% a 75.9 ng/ml [189.8 nmol/l].

Il paricalcitol (Zemlar) a 24 ng/ml ha mostrato una cross-reattività di vitamina D del 93.8% a 28.8 ng/ml [72.0 nmol/l] e una cross-reattività del 70.8% a 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l] della stessa vitamina.

- Sostanze interferenti**
- L'interferenza del dosaggio totale Vitamina D è stata valutata in base al documento CLSI EP07-A2.⁹ Il bias è la differenza tra il campione di controllo (senza sostanza interferente) e il campione di test (con sostanza interferente), espressa in percentuale. *Un bias superiore al 10% è considerato un'interferenza.
- Proteine totali a 19 g/dl causano una diminuzione della concentrazione di vitamina D del 6% a 14.3 ng/ml [35.8 nmol/l], dell'11% a 30.9 ng/ml [77.3 nmol/l] e del 12% a 77.3 ng/ml [193.3 nmol/l].
 - Bilirubine non coniugate a 80 mg/dl causano un aumento della concentrazione di vitamina D del 13% a 13.5 ng/ml [33.7 nmol/l], del 12% a 27.3 ng/ml [68.2 nmol/l] e del 6% a 66.7 ng/ml [166 nmol/l].
 - Bilirubine coniugate a 40 mg/dl causano un aumento della concentrazione di vitamina D del 17% a 14.9 ng/ml [37.2 nmol/l], del 12% a 31.7 ng/ml [79.2 nmol/l] e dell'11% a 75.3 ng/ml [188.2 nmol/l].
 - Colesterolo a 350 mg/dl causa una diminuzione della concentrazione di vitamina D del 10% a 25.2 ng/ml [63.0 nmol/l], del 12% a 64.0 ng/ml [160.0 nmol/l].
 - Anticorpi anti-topo umani (HAMA): i campioni dei pazienti potrebbero contenere anticorpi eterofili, tra i quali gli anticorpi anti-topo umani (HAMA) sono quelli più comunemente riscontrati. Gli anticorpi eterofili come quelli HAMA possono determinare risultati falsamente diminuiti o aumentati nei test immunologici. Il risultato di un test in contrasto con la presentazione clinica e l'anamnesi del paziente deve essere interpretato con cautela.
- Siemens ha caratterizzato l'impatto di HAMA secondo CLSI EP07-A2.⁹ Un totale di 20 campioni contenenti vitamina D a 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] a 87.5 ng/ml [218.7 nmol/l] con concentrazioni variabili di HAMA, da 8 ng/ml a 161,000 ng/ml sono stati testati per interferenza HAMA. Si è osservato un bias percentuale medio (n = 5) del 2.8% su un campione con una concentrazione di vitamina D di 28.3 ng/ml [70.7 nmol/l] contenente 161,000 ng/ml di HAMA. Si è osservato un bias percentuale massimo (n = 5) del 10% su un campione con una concentrazione di vitamina D di 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] contenente 106 ng/ml di HAMA.

***I risultati dell'analisi non devono essere corretti in base al bias osservato.**
Consultare risultati HIL aggiuntivi nella sezione Specificità.

Concentrazione di analita	Livello di test biotina (ng/ml)			
	100	250	500	1200
	Bias %			
15 ng/ml	4.5	6.1	12.1	56.1
30 ng/ml	0.7	1.3	8.8	36.2
75 ng/ml	0.8	2.2	5.5	26.4

- I campioni che contengono biotina a una concentrazione di 250 ng/ml dimostrano una variazione nei risultati inferiore o pari al 10%. Concentrazioni di biotina superiori a questa potrebbero portare a risultati falsamente elevati nei campioni dei pazienti.
- L'assunzione giornaliera raccomandata di un adulto di biotina è 30 µg/die. Gli integratori alimentari da banco promossi per la salute dei capelli, della pelle e delle unghie possono contenere 5–100 mg di biotina, con raccomandazioni relative all'assunzione di più compresse al giorno. Studi di farmacocinetica su adulti sani hanno dimostrato che, nei soggetti che assumono 5 mg, 10 mg e 20 mg di biotina, le concentrazioni sieriche di biotina possono raggiungere rispettivamente fino a 73 ng/ml, 141 ng/ml e 355 ng/ml.¹⁰ I soggetti che assumono fino a 300 mg di biotina al giorno possono presentare livelli plasmatici di biotina fino a 1160 ng/ml.¹¹

Valori di riferimento sanitari:

Per sostituire i valori di riferimento basati sulla popolazione, sono raccomandati valori di riferimento sanitari basati sul sottocomitato per le linee guida cliniche della Endocrine Society Task Force. Da una revisione della letteratura disponibile,¹²⁻¹⁸ le raccomandazioni per i livelli di 25(OH)vitamina D sono riepilogate nella seguente tabella. Consultare i riferimenti elencati per una discussione sui livelli di tossicità della vitamina D.^{19, 20}

Stato vitamina D	Intervallo, adulti ¹²⁻¹⁵ 25(OH)vitamina D ng/ml [nmol/l]
Carente	< 20 [< 50]
Insufficiente	20 – < 30 [50 – < 75]
Sufficiente	30 – 100 [75 – 250]

Valori osservati in una popolazione apparentemente sana:

Utilizzando il Dosaggio totale Vitamina D LOCI, sono stati ottenuti dati su campioni di siero prelevati da 252 adulti: 246 adulti che non assumono integratori che contengono vitamina D e 6 adulti che assumono integratori contenenti vitamina D. Per rappresentare un ampio spettro di esposizione alla luce UV nella popolazione di uso prevista, i campioni di sangue testati sono stati raccolti in diverse stagioni e da soggetti residenti in diverse località geografiche statunitensi. I campioni con valori anomali per PTH, calcio, magnesio, fosforo e TSH sono stati esclusi da questo studio.

In base all'intervallo di confidenza del 95%, sono stati stabiliti i seguenti valori seguendo le linee guida CLSI EP28-A3c.²¹

Per assicurare un'appropriata rappresentazione delle popolazioni specifiche, ogni laboratorio deve stabilire i propri intervalli di riferimento.

Sono stati ottenuti i seguenti valori di 25(OH)vitamina D:

Mediana	28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]
Intervallo 95% osservato	13.9 – 61.0 ng/ml
(percentili 2.5° e 97.5°)	[34.8 – 152.5 nmol/l]

La seguente precisione con SD con 5 test indica la possibilità di un cattivo funzionamento del sistema:

Concentrazione	SD massima con 5 test
12.0 ng/ml [30.0 nmol/l]	1.5 ng/ml [3.8 nmol/l]
30.0 ng/ml [75.0 nmol/l]	2.0 ng/ml [5.0 nmol/l]

Caratteristiche specifiche di prestazione

I seguenti dati rappresentano le prestazioni tipiche del dosaggio totale Vitamina D sul sistema Dimension® EXL™.

Materiale	Precisione ^{22,a}				
	Media	Ripetibilità SD	%CV	Precisione intra-laboratorio SD	%CV
	ng/ml [nmol/l]	ng/ml [nmol/l]		ng/ml [nmol/l]	
Tri-Level Vitamin D Plus ^f					
QC (basso)	18.9 [47.3]	0.58 [1.45]	3.1	1.01 [2.53]	5.4
QC (livello 1)	38.7 [96.8]	1.02 [2.55]	2.6	2.02 [5.05]	5.2
QC (livello 2)	89.6 [224.0]	1.72 [4.29]	1.9	3.67 [9.17]	4.1
Siero 1	8.2 [20.5]	0.46 [1.15]	5.6	0.71 [1.79]	8.7
Siero 2	29.4 [73.5]	0.76 [1.90]	2.6	1.46 [3.65]	5.0
Siero 3	76.5 [191.3]	1.63 [4.08]	2.1	3.11 [7.78]	4.1
Plasma	25.2 [63.0]	0.44 [1.11]	1.8	0.78 [1.96]	3.1

- e. Sono state utilizzate le linee guida del CLSI EP05-A2. Durante ogni giorno di esecuzione del test, per 20 giorni sono state eseguite due analisi separate, con due campioni di test, per ogni materiale analizzato per un totale di 80 replicati.
- f. Il controllo UTAK Tri-Level Vitamin D Plus Serum Control è un prodotto di UTAK Laboratories, Valencia, CA 91355.

Confronto dei metodi²³

Lo studio di confronto di metodo basato su CLSI EP09-A3 tra il Dosaggio totale Vitamina D LOCI e una procedura di misurazione di riferimento ID-LC-MS/MS sviluppato dall'Università di Ghent ha generato i seguenti risultati utilizzando la regressione Passing-Bablok e la correlazione di Pearson. Il numero e il range dei valori di vitamina D su questi campioni sono riportati di seguito.

Metodo comparativo	Pendenza ^a	Statistiche di regressione Intercetta ^a ng/ml [nmol/l]	Coefficiente di correlazione	n ^b
ID-LC-MS/MS				
25(OH)vitamina D	1.06	0.4 [1.1]	0.977	163

- g. Pendenza e intercetta sono state derivate mediante l'analisi Passing-Bablok:
y = Dosaggio totale Vitamina D LOCI; x = ID-LC/MS/MS 25(OH)vitamina D
- h. I valori di vitamina D erano compresi nell'intervallo 5.2 – 126.1 ng/ml [13.0 – 315.3 nmol/l] derivato da 163 campioni, 154 nativi e 9 artificiali.

Equivalenza di siero e plasma

Non è stata osservata alcuna differenza clinicamente significativa tra i campioni di siero (x) e di plasma (y) come illustrato nelle seguenti analisi di regressione dei minimi quadrati ordinari.

Confronto campioni	Pendenza	Intercetta ng/ml [nmol/l]	Coefficiente di correlazione	n	Min ng/ml [nmol/l]	Max ng/ml [nmol/l]
Plasma litio eparina vs. siero (tappo rosso)	0.99	0.1 [0.3]	0.992	70	11.5 [28.7]	146.4 [366.0]
Plasma EDTA vs. siero (tappo rosso)	0.98	1.4 [3.4]	0.997	70	11.6 [29.0]	142.5 [356.2]
SST siero vs. siero (tappo rosso)	0.99	0.5 [1.2]	0.997	70	11.4 [28.5]	148.6 [371.5]

Specificità

Interferenza da emolisi, ittero, lipemia (HIL)

L'interferenza del dosaggio totale Vitamina D è stata valutata in base al documento CLSI EP07-A2.⁹ Il bias è la differenza tra il campione di controllo (senza sostanza interferente) e il campione di test (con sostanza interferente), espressa in percentuale. Un bias superiore al 10% è considerato un'interferenza.

Sostanza analizzata	Concentrazione della sostanza	Vitamina D ng/ml [nmol/l]	% bias*
Emoglobina (emolisato)	Emoglobina (monomero) 250 mg/dl [0.155 mmol/l]	15.0 [37.5]	5
		31.7 [79.2]	9
		75.1 [187.7]	8
Bilirubina (non coniugata)	500 mg/dl [0.31 mmol/l]	15.0 [37.5]	11
		31.7 [79.2]	19
		75.1 [187.7]	13
		13.5 [33.7]	7
Bilirubina (coniugata)	40 mg/dl [684.5 µmol/l]	27.3 [68.2]	7
		66.7 [166.7]	8
		13.5 [33.7]	13
		27.3 [68.2]	12
Lipemia	80 mg/dl [1368 µmol/l]	66.7 [166.7]	6
		14.9 [37.2]	7
		31.7 [79.2]	4
		75.3 [188.2]	3
Bilirubina (coniugata)	20 mg/dl [342 µmol/l]	14.9 [37.2]	17
		31.7 [79.2]	12
		75.3 [188.2]	11
		14.9 [37.2]	-5
Lipemia	300 mg/dl [3 g/l]	32.3 [80.8]	-6
		75.9 [189.8]	-5
		14.9 [37.2]	-10
		32.3 [80.8]	-11
Lipemia	500 mg/dl [5 g/l]	75.9 [189.8]	-8

* I risultati dell'analisi non devono essere corretti in base a questo bias.

Sostanze non interferenti

Le seguenti sostanze sono state valutate per verificarne l'interferenza utilizzando CLSI EP07-A2⁹ ed è stato riscontrato che non interferiscono con il dosaggio totale Vitamina D se presenti nel siero alle concentrazioni indicate. Imprecisioni (bias) dovute a queste sostanze non superano il 10% a concentrazioni di vitamina D pari a 13.9 – 16.9 ng/ml [34.8 – 42.3 nmol/l], 28.4 – 32.0 ng/ml [71.0 – 80.0 nmol/l] e 70.2 – 77.3 ng/ml [175.5 – 193.3 nmol/l].

Sostanza	Concentrazione del test	Unità SI
Acetaminofene	20 mg/dl	1322 µmol/l
Acido ascorbico	3 mg/dl	170 µmol/l
Bilirubina (non coniugata)	40 mg/dl	684.5 µmol/l
Bilirubina (coniugata)	20 mg/dl	342 µmol/l
Colesterolo	300 mg/dl	7.7 mmol/l
Dextran 40	6000 mg/dl	1.50 mmol/l
Emoglobina	250 mg/dl	0.155 mmol/l
Eparina	3 U/ml	3000 U/l
Ibuprofene	30 mg/dl	1455 µmol/l
Lipemia (Intralipid)	300 mg/dl	3 g/l
Proteine (Albumina)	5 g/dl	50 g/l
Proteine (Totali)	15.9 g/dl	159 g/l
Fattore reumatoide	500 IU/ml	500 IU/ml
Acido salicilico	65 mg/dl	4.7 mmol/l
Trigliceridi	686 mg/dl	7.75 mmol/l
Acido urico	20 mg/dl	1190 µmol/l

Cross-reattività

È stato eseguito un test di cross-reattività per determinare l'effetto delle potenziali sostanze che provocano una reazione crociata sul Dosaggio totale Vitamina D LOCI utilizzando il CLSI EP07-A2.⁹

La percentuale di cross-reattività è stata calcolata come segue:

% di cross-reattività = [vitamina D misurata] – [vitamina D di controllo] x 100
[sostanza che provoca una reazione crociata]

Per le seguenti sostanze è stata valutata la cross-reattività con il dosaggio totale Vitamina D, laddove presenti nel siero alle concentrazioni di vitamina D indicate nella seguente tabella.

Sostanza che provoca una reazione crociata	Concentrazione della sostanza che provoca una reazione crociata (ng/ml)	% Cross-reattività a concentrazione di vitamina D	% Cross-reattività a concentrazione di vitamina D
Vitamina D ₂ (ergocalciferolo)	1000	0.1 a 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	-0.1 a 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
Vitamina D ₃ (colecalfiferolo)	1000	-0.1 a 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	0.1 a 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
* 1,25(OH) ₂ vitamina D ₂	0.5	151.9 a 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	1.3 a 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
* 1,25(OH) ₂ vitamina D ₃	0.5	1.7 a 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	-224.5 a 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
3-epi-25(OH)vitamina D ₃	100	3.9 a 27.5 ng/ml [68.8 nmol/l]	2.5 a 52.0 ng/ml [130.0 nmol/l]
Paricalcitol/Zemplar	24	93.8 a 28.8 ng/ml [72.0 nmol/l]	70.8 a 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]
1αOH Vitamina D ₃ (alfacalcidol)	3000	0.1 a 26.5 ng/ml [66.3 nmol/l]	0.0 a 51.6 ng/ml [129.0 nmol/l]
24, 25(OH) ₂ vitamina D ₃	60	2.5 a 26.5 ng/ml [66.3 nmol/l]	1.2 a 51.6 ng/ml [129.0 nmol/l]
25(OH)vitamina D ₂	30	95.1 a 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]	94.1 a 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]
25(OH)vitamina D ₃	30	88.6 a 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]	90.1 a 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]

* 1,25(OH)₂vitamina D₂ e 1,25(OH)₂vitamina D₃ sono stati testati a concentrazioni sovrafisiologiche.²⁴

Limite di rilevazione^{25,i} e limite del bianco^{25,j}

Il limite di rilevazione (LoD) per il dosaggio totale Vitamina D è di 1.3 ng/ml [3.3 nmol/l], determinato conformemente alle linee guida CLSI EP17-A2 con proporzioni di falsi positivi (α) inferiori al 5% e falsi negativi (β) inferiori al 5%, basato su 120 determinazioni, con 60 campioni di bianco e 60 replicati con livelli bassi. Il limite del bianco (LoB) è di 0.8 ng/ml [2.0 nmol/l].

i. Il LoD è la concentrazione più bassa di analita che è possibile rilevare in modo affidabile. Il LoB è la concentrazione massima che è possibile osservare per un bianco campione.

Limite di quantificazione^{25,k}

Il limite di quantificazione (LoQ) è stato determinato seguendo le linee guida CLSI EP17-A2. Il LoQ per il dosaggio totale Vitamina D è 5.0 ng/ml [12.5 nmol/l] con un coefficiente di variazione (CV) di precisione totale ≤ 20%.

j. Il LoQ è definito come la concentrazione più bassa di 25(OH)vitamina D che può essere rilevata a un CV di precisione totale del ≤ 20%.

Linearietà²⁵

La linearità nell'intervallo di misura, 5.0 – 150.0 ng/ml [12.5 – 375.0 nmol/l], è stata confermata analizzando un campione una concentrazione elevata di vitamina D e diluendolo in serie con un campione di vitamina D a bassa concentrazione. Ogni diluizione è stata analizzata in replicati n = 5. La regressione lineare dei valori osservati (y) rispetto ai valori attesi (x) ha restituito una pendenza di 1.02, un'intercetta di 1.4 ng/ml e un coefficiente di correlazione (r) di 0.998. Il bias percentuale tra i valori osservati e previsti rientrava nella deviazione consentita del 10% dalla regressione lineare.

Recupero

Sono stati aggiunti quantitativi noti di 25(OH)vitamina D₂ (30 ng/ml [75.0 nmol/l]) e 25(OH)vitamina D₃ (30 ng/ml [75.0 nmol/l]) a campioni di siero separato contenenti vitamina D a 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l] e 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l].

Di seguito sono elencati i recuperi percentuali calcolati:

Vitamina D a 28.3 ng/ml [70.8 nmol/l]		
Aggiunta	Quantità aggiunta ng/ml [nmol/l]	% recupero
25(OH)vitamina D ₂	30.0 [75.0]	95
25(OH)vitamina D ₃	30.0 [75.0]	89
Vitamina D a 54.7 ng/ml [136.8 nmol/l]		
Aggiunta	Quantità aggiunta ng/ml [nmol/l]	% recupero
25(OH)vitamina D ₂	30.0 [75.0]	94
25(OH)vitamina D ₃	30.0 [75.0]	90

Interpretazione simboli: vedere la sezione aggiunta.

Bibliografia: vedere la sezione aggiunta.

Dimension®, EXL™, LOCI® e Flex® sono marchi di Siemens Healthcare Diagnostics.

©2016 Siemens Healthcare Diagnostics

Tutti i diritti riservati.



Dimension® EXL™ integrated chemistry system LOCI® Module

Flex® reagent cartridge

VITD

Consulte las secciones sombreadas: Información actualizada desde la versión 2019-04.

Fecha de la edición 2020-08

Ensayo de la vitamina D total LOCI

Uso previsto: El ensayo de la vitamina D total LOCI es una prueba de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de la 25(OH)vitamina D total en plasma y suero humanos en el sistema químico integrado Dimension® EXL™ con un módulo LOCI®. Para evaluar la suficiencia de la vitamina D, se utilizan mediciones de dicha vitamina.

Resumen: La vitamina D es una hormona esteroide que influye en los procesos de absorción intestinal de calcio y regulación de la homeostasis del calcio. La vitamina D es fundamental para la formación y el mantenimiento de unos huesos fuertes y sanos. La carencia de vitamina D puede ser consecuencia de una exposición inadecuada al sol, una ingesta inapropiada de alimentos, la disminución de su absorción, anomalías en el metabolismo o la resistencia de la vitamina D.¹

Si bien existen muchos metabolitos de vitamina D, el total de la 25(OH)vitamina D, es decir, la suma de la 25(OH)vitamina D₂ y la 25(OH)vitamina D₃, es el indicador más fiable del estado de la vitamina D.^{2,3} La vitamina D₂ procede de fuentes vegetales, mientras que la vitamina D₃ procede principalmente de la conversión del 7-dehidrocolesterol en la piel producida por la radiación UV-B del sol y, de forma secundaria, de fuentes animales.²

Independientemente de que se consuman o se produzcan, estas dos formas de vitamina D (D₂ y D₃) se metabolizan en el hígado en 25(OH)vitamina D, para luego convertirse en el hígado o el riñón en los metabolitos activos 1,25(OH)₂vitamina D₂ y 1,25(OH)₂vitamina D₃.^{2,4}

Los metabolitos de vitamina D se ligan a una proteína transportadora en el plasma y se distribuyen por todo el cuerpo. El indicador clínico más fiable del estado de la vitamina D es el 25(OH)vitamina D, puesto que los niveles de este elemento en el suero y el plasma reflejan los niveles de almacenamiento de vitamina D en el cuerpo, y porque está correlacionado con los síntomas clínicos de carencia de vitamina D.⁵

Principios del procedimiento: El ensayo de la vitamina D total LOCI es un inmunoensayo quimioluminiscente competitivo y homogéneo basado en la tecnología de LOCI®. El ensayo mide la concentración total de la 25(OH)vitamina D (que comprende tanto la 25(OH)vitamina D₂ como la 25(OH)vitamina D₃) en el suero y el plasma. Entre los reactivos de vitamina D total LOCI se encuentran un reactivo de liberación, un anticuerpo monoclonal biotinilado y dos reactivos sintéticos de microesferas. La muestra del paciente se incuba con el reactivo de liberación para liberar las moléculas de 25(OH)vitamina D de las proteínas de enlace de la vitamina D. A continuación, la mezcla de reacción se incuba con anticuerpo biotinilado para formar un complejo de 25(OH)vitamina D/anticuerpo biotinilado. Se añaden Chemibeads recubiertas con un análogo de 25(OH)vitamina D₃ y tinte quimioluminiscente para eliminar el exceso de anticuerpo biotinilado libre. Se añaden Sensibeads recubiertas de estreptavidina y con un tinte fotosensible para ligar el anticuerpo biotinilado. Como resultado, se forman agregados del análogo de las Chemibeads/anticuerpo biotinilado/Sensibeads con estreptavidina. La iluminación de la mezcla de reacción con luz a 680 nm genera oxígeno singlete a partir de las Sensibeads, que se difunde a las Chemibeads y desencadena una reacción quimioluminiscente. La señal quimioluminiscente resultante se mide a 612 nm y es inversamente proporcional a la concentración de 25(OH)vitamina D total presente en la muestra.

Reactivos

Pocillos ^{a,b}	Forma	Ingrediente	Concentración ^c	Origen
1 – 2 (Reactivo 4)	Líquido	Reactivo de liberación		
3 – 4 (Reactivo 1)	Líquido	Anticuerpo biotinilado	0.75 µg/mL	Monoclonal de oveja
5 – 6 (Reactivo 2)	Líquido	Chemibeads	200 µg/mL	Monoclonal de oveja
7 – 8 (Reactivo 3)	Líquido	Sensibeads	500 µg/mL	

- Los pocillos están numerados consecutivamente desde el extremo ancho del cartucho.
- Contiene tampones, estabilizantes y agentes conservantes.
- Valor nominal por pocillo en un cartucho.

Riesgos y seguridad:

H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P363, P501
¡Advertencia!
Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.

Contiene: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone.

Las fichas de datos de seguridad (MSDS/SDS) están disponibles en [siemens.com/healthcare](https://www.siemens-healthcare.com)

Precauciones:

Precaución: Este dispositivo contiene material de origen animal y debe manipularse como posible portador y transmisor de enfermedades.

Las cubetas y/o los cubiletes de reacción usados contienen fluidos corporales de origen humano. Manipúelos con la precaución adecuada para evitar el contacto con la piel o la ingestión.

Precaución: La legislación federal de EE. UU. restringe la venta de este dispositivo a profesionales sanitarios o bajo orden de los mismos.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Preparación del reactivo: Todos los reactivos son líquidos y están listos para su uso.

Conservar a: 2 – 8 °C.

Caducidad: Consulte en el envase la fecha de caducidad de los cartuchos de reactivos individuales sin abrir. En el instrumento, los pocillos sellados son estables durante 30 días.

Estabilidad de los pocillos abiertos: 7 días para los pocillos 1 – 8

Recogida de muestras y manipulación:

Tipos de muestras recomendadas: suero, plasma con heparina de litio y EDTA.

No pueden utilizarse muestras y controles estabilizados con azida de sodio.

Recoja las muestras de suero y plasma siguiendo los procedimientos recomendados para la recogida de muestras sanguíneas para diagnóstico por venopunción.⁶ Las muestras procesadas pueden refrigerarse a 2 – 8 °C durante 7 días si no se analizan en 24 horas. Para un almacenamiento más prolongado, las muestras pueden congelarse a -20 °C durante tres meses. Las muestras pueden congelarse hasta 3 veces. Las muestras descongeladas deben mezclarse bien antes del análisis.

Las muestras deben estar libres de partículas. Con el fin de evitar la aparición de fibrina en las muestras de suero, debe producirse la formación completa del coágulo antes de la centrifugación. Si el tiempo de coagulación aumenta debido a un tratamiento trombolítico o anticoagulante, el uso de muestras de plasma permitirá un procesamiento más rápido de las muestras y reducirá el riesgo de que se formen partículas.⁷

Siga las instrucciones de uso y procesamiento suministradas con el dispositivo de recogida de muestras.⁸ La información sobre el almacenamiento de las muestras se proporciona con fines orientativos; sin embargo, los usuarios pueden validar sus propios procedimientos de almacenamiento de muestras de pacientes.

Procedimiento

Materiales suministrados

Cartucho de reactivos Flex® de VITD, ref. RF634

Materiales necesarios pero no suministrados

VITD CAL, ref. RC634
Cubiletes de reacción, ref. RXV1A
Materiales de control de calidad

Proceso del análisis

El sistema Dimension® EXL™ realiza de forma automática el muestreo, la dispensación de reactivos, la mezcla y el procesamiento. Para obtener más detalles sobre este proceso, consulte el Manual del usuario del sistema Dimension® EXL™.

El recipiente de muestras debe tener una capacidad suficiente para contener el volumen de la muestra más el volumen muerto. No se requiere el llenado exacto del recipiente.

Condiciones del análisis

Volumen de la muestra (dispensado en el cubilete de reacción)	8 µL
Volumen del reactivo de liberación (reactivo 4)	18 µL
Volumen del reactivo de anticuerpo biotinilado (reactivo 1)	24 µL
Volumen del reactivo de Chemibeads (reactivo 2)	24 µL
Volumen del reactivo de Sensibeads (reactivo 3)	84 µL
Temperatura	37 °C
Tiempo de reacción	31.0 minutos
Longitud de onda	Iluminación (680 nm), emisión (612 nm)
Tipo de medición	Quimioluminiscencia

Calibración

Intervalo del ensayo	5.0 – 150.0 ng/mL [12.5 – 375.0 nmol/L] ^d
Material de calibración	Calibrador VITD, ref. RC634
Esquema de calibración	5 niveles, n = 3
Unidades	ng/mL [nmol/L] (ng/mL x 2.5) = [nmol/L]
Niveles habituales de calibración o verificación	Nivel 1: 0.0 ng/mL [0.0 nmol/L] Nivel 2: 12.0 ng/mL [30.0 nmol/L] Nivel 3: 30.0 ng/mL [75.0 nmol/L] Nivel 4: 75.0 ng/mL [187.5 nmol/L] Nivel 5: 165.0 ng/mL [412.5 nmol/L]
Frecuencia de calibración	Cada 7 días para cualquier lote
Se requiere una nueva calibración:	- Para cada lote nuevo de cartuchos de reactivos Flex® - Después de la realización de las principales tareas de mantenimiento o servicio, si los resultados de control de calidad así lo indican - Tal como se indica en los procedimientos de control de calidad del laboratorio - Cuando es obligatorio según las reglamentaciones gubernamentales
Coefficientes asignados	C ₀ : 809.0 C ₁ : -811.0 C ₂ : -1.46 C ₃ : 2.48 C ₄ : 0.5

d. Las unidades del Sistema Internacional de Unidades [unidades SI] se indican entre corchetes.

Normalización

El ensayo de la vitamina D total LOCI se ha normalizado mediante normas internas de acuerdo con el procedimiento del método de referencia (RMP) ID-LC-MS/MS de la 25(OH)vitamina D. El ID-LC-MS/MS se ha normalizado de acuerdo con el material de referencia estándar (SRM) 2972 del National Institute of Standards and Technology (NIST).

Para 40 muestras en el rango de 7.9 ng/mL [19.8 nmol/L] a 141.9 ng/mL [354.8 nmol/L], la relación entre el ensayo de la vitamina D total LOCI(y) y el RMP ID-LC-MS/MS de la 25(OH)vitamina D(x) se describe mediante la regresión de Deming:

Ensayo de la vitamina D total LOCI = 0.99 (ID-LC-MS/MS) + 4.6 ng/mL [11.5 nmol/L], r = 1.000

Control de calidad

Siga las reglamentaciones gubernamentales o los requisitos de acreditación relativos a la frecuencia de control de calidad. Al menos una vez por día de uso, analice dos niveles de un material de control de calidad (CC) con concentraciones conocidas de vitamina D. Siga los procedimientos internos de CC de su laboratorio si los resultados obtenidos no se encuentran dentro de los límites aceptables.

Resultados: El instrumento calcula la concentración de vitamina D total en ng/mL [nmol/L] utilizando el esquema de cálculo descrito en el Manual del usuario del sistema Dimension® EXL™.

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

Rango de medición analítico (AMR): 5.0 – 150.0 ng/mL [12.5 – 375.0 nmol/L]

Se trata del intervalo de valores de analito que puede medirse directamente de la muestra sin requerir dilución ni tratamiento previo que no es parte del proceso analítico habitual; es equivalente al intervalo del ensayo.

- Las muestras con resultados que superen los 150.0 ng/mL [375.0 nmol/L] se registran como "Superior al intervalo del ensayo". No es necesario realizar una dilución manual. No está disponible la función de autodilución para el VITD.
- Las muestras con resultados inferiores a 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L] deben registrarse como "inferiores a 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L]".

Limitaciones del procedimiento

El sistema de generación de informes del instrumento incluye alarmas y comentarios que proporcionan al usuario información relativa a los errores de procesamiento del instrumento, información del estado de este y posibles errores en los resultados del VITD. Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension® EXL™ para conocer el significado de los alarmas y los comentarios de los informes. Cualquier resultado que contenga alarmas y/o comentarios se debe tratar siguiendo el manual de procedimiento de su laboratorio y no se debe informar sobre él.

No utilizar muestras hemolizadas. Un contenido de hemoglobina de 500 mg/dL causa un aumento de la concentración de vitamina D del 11% a 15 ng/mL [37.5 nmol/L], del 19% a 31.7 ng/mL [79.2 nmol/L] y del 13% a 75.1 ng/mL [187.7 nmol/L].

No utilizar muestras lipémicas. Un contenido de lipemia (Intralipid) de 500 mg/dL causa una reducción de la concentración de vitamina D del 10% a 14.9 ng/mL [37.2 nmol/L], del 11% a 32.3 ng/mL [80.8 nmol/L] y del 8% a 75.9 ng/mL [189.8 nmol/L].

Un contenido de paricalcitol (Zemplar) de 24 ng/mL ha demostrado una reactividad cruzada del 93.8% a 28.8 ng/mL [72.0 nmol/L] de vitamina D y una reactividad cruzada del 70.8% a 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L] de vitamina D.

Sustancias que causan interferencia

Se evaluó la presencia de sustancias interferentes en el ensayo de VITD según la directriz EP07-A2 del CLSI.⁹ La deriva es la diferencia de resultados entre la muestra de control (sin el interferente) y la muestra analizada (que contiene el interferente) expresada en porcentaje. *Se considera interferencia una deriva superior al 10%.

- Un contenido de proteínico total de 19 g/dL causa una reducción en la concentración de vitamina D del 6% a 14.3 ng/mL [35.8 nmol/L], del 11% a 30.9 ng/mL [77.3 nmol/L] y del 12% a 77.3 ng/mL [193.3 nmol/L].
- Un contenido de bilirrubina no conjugada de 80 mg/dL causa un aumento en la concentración de vitamina D del 13% a 13.5 ng/mL [33.7 nmol/L], del 12% a 27.3 ng/mL [68.2 nmol/L] y del 6% a 66.7 ng/mL [166 nmol/L].
- Un contenido de bilirrubina conjugada de 40 mg/dL causa un aumento en la concentración de vitamina D del 17% a 14.9 ng/mL [37.2 nmol/L], del 12% a 31.7 ng/mL [79.2 nmol/L] y del 11% a 75.3 ng/mL [188.2 nmol/L].
- Un contenido de colesterol de 350 mg/dL causa una reducción en la concentración de vitamina D del 10% a 25.2 ng/mL [63.0 nmol/L] y del 12% a 64.0 ng/mL [160.0 nmol/L].
- Anticuerpos humanos antirratón (HAMA): Las muestras de pacientes pueden contener anticuerpos heterófilos, de los cuales los anticuerpos humanos antirratón (HAMA) son los más frecuentes. Los anticuerpos heterófilos, como los HAMA, pueden hacer que los resultados de los análisis de inmunoensayos sean falsamente bajos o altos. Si el resultado de una prueba se contradice con la historia y la sintomatología clínica del paciente, deberá interpretarse con precaución.

Siemens ha caracterizado el impacto de HAMA de acuerdo con la directriz EP07-A2 del CLSI.⁹ Para evaluar la interferencia de los HAMA, se analizaron 20 muestras con concentraciones de vitamina D de entre 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L] y 87.5 ng/mL [218.7 nmol/L] y diversas concentraciones de HAMA, desde los 8 ng/mL a los 161,000 ng/mL. Se observó un porcentaje de deriva promedio (n = 5) del 2.8% en una muestra con una concentración de vitamina D de 28.3 ng/mL [70.7 nmol/L] con 161,000 ng/mL de HAMA. Se observó un porcentaje de deriva máxima (n = 5) del 10% en una muestra con una concentración de vitamina D de 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L] con 106 ng/mL de HAMA.

*** Los resultados del analito no deben corregirse en función de la deriva observada.**
En la sección Especificidad pueden encontrarse más resultados de hemólisis, ictericia y lipemia (HIL).

Concentración de analitos	Nivel de análisis de biotina (ng/mL)			
	100	250	500	1200
	% Deriva			
15 ng/mL	4.5	6.1	12.1	56.1
30 ng/mL	0.7	1.3	8.8	36.2
75 ng/mL	0.8	2.2	5.5	26.4

• Las muestras que contienen biotina en una concentración de 250 ng/mL han demostrado un cambio igual o inferior al 10% en los resultados. Las concentraciones de biotina superiores a esta pueden producir resultados falsamente elevados en las muestras de los pacientes.

• La ingesta alimenticia de biotina recomendada en adultos es de 30 µg/día. Los suplementos alimentarios sin receta que se anuncian para mejorar el estado del cabello, la piel y las uñas pueden contener 5–100 mg de biotina, y lo que se recomienda es tomar varias píldoras al día. En estudios farmacocinéticos en adultos sanos se ha observado que, en individuos que toman 5 mg, 10 mg y 20 mg de biotina, las concentraciones en suero de biotina pueden alcanzar hasta 73 ng/mL, 141 ng/mL y 355 ng/mL, respectivamente.¹⁰ Los individuos que toman hasta 300 mg de biotina al día pueden presentar unos niveles de biotina en plasma de hasta 1160 ng/mL.¹¹

Valores de referencia basados en la salud:

Se recomienda utilizar los valores de referencia basados en la salud del Subcomité de Directrices Clínicas del Grupo de Trabajo de Endocrine Society para sustituir los valores de referencia basados en la población. Según un examen de la documentación disponible,¹²⁻¹⁸ las recomendaciones relativas a los niveles de 25(OH)vitamina D se resumen en la siguiente tabla. Véanse las referencias indicadas para analizar los niveles de toxicidad de la vitamina D.^{19, 20}

Estado de vitamina D	Intervalo, adultos ¹²⁻¹⁵ 25(OH)vitamina D ng/mL [nmol/L]
Carencia	< 20 [< 50]
Insuficiencia	20 – < 30 [50 – < 75]
Suficiencia	30 – 100 [75 – 250]

Valores observados en población aparentemente sana:

Los datos obtenidos con el ensayo de la vitamina D total LOCI proceden de muestras de suero de 252 adultos: 246 de ellos no consumían complementos con vitamina D y 6 de ellos sí consumían complementos con vitamina D. Para representar un amplio espectro de exposición a la luz UV en la población prevista, se recogieron las muestras de sangre analizadas en estaciones diferentes y de sujetos procedentes de distintas regiones geográficas de Estados Unidos. Las muestras con valores anómalos de PTH, calcio, magnesio, fósforo y TSH se excluyeron del estudio.

Sobre la base del intervalo de confianza del 95%, se establecieron los siguientes valores de conformidad con la directriz EP28-A3c del CLSI.²¹

Para garantizar una representación adecuada de grupos de población específicos, cada laboratorio debe establecer sus propios intervalos de referencia.

Se obtuvieron los siguientes valores de 25(OH)vitamina D:

Mediana	28.3 ng/mL [70.8 nmol/L]
Intervalo del 95% observado (percentiles 2.5 y 97.5)	13.9 – 61.0 ng/mL [34.8 – 152.5 nmol/L]

Es posible que el sistema no funcione correctamente si se supera la precisión de la DE máxima en 5 pruebas.

Concentración	DE máxima en 5 pruebas
12.0 ng/mL [30.0 nmol/L]	1.5 ng/mL [3.8 nmol/L]
30.0 ng/mL [75.0 nmol/L]	2.0 ng/mL [5.0 nmol/L]

Características específicas de funcionamiento

Los siguientes datos representan el rendimiento habitual del ensayo de VITD en el sistema Dimension® EXL™.

Material	Precisión ^{22,a}			Precisión intralaboratorio	
	Media ng/mL [nmol/L]	Repetibilidad DE ng/mL [nmol/L]	%CV	Media ng/mL [nmol/L]	%CV
Vitamin D Plus en tres niveles ^f					
CC (bajo)	18.9 [47.3]	0.58 [1.45]	3.1	1.01 [2.53]	5.4
CC (nivel 1)	38.7 [96.8]	1.02 [2.55]	2.6	2.02 [5.05]	5.2
CC (nivel 2)	89.6 [224.0]	1.72 [4.29]	1.9	3.67 [9.17]	4.1
Suero 1	8.2 [20.5]	0.46 [1.15]	5.6	0.71 [1.79]	8.7
Suero 2	29.4 [73.5]	0.76 [1.90]	2.6	1.46 [3.65]	5.0
Suero 3	76.5 [191.3]	1.63 [4.08]	2.1	3.11 [7.78]	4.1
Plasma	25.2 [63.0]	0.44 [1.11]	1.8	0.78 [1.96]	3.1

e. Se empleó la directriz EP05-A2 del CLSI. Durante 20 días se analizaron diariamente dos ensayos separados, con dos muestras de análisis para cada material de análisis para un total de 80 réplicas.

f. El control de suero Vitamin D Plus de UTAK en tres niveles es un producto de UTAK Laboratories, Valencia, CA 91355 (Estados Unidos).

Comparación de métodos²³

El estudio de comparación de métodos basado en la directriz EP09-A3 del CLSI entre el ensayo de la vitamina D total LOCI y un procedimiento de medición de referencia (RMP) ID-LC-MS/MS desarrollado por la Universidad de Gante generó los siguientes resultados mediante la regresión de Passing-Bablok y la correlación de Pearson. El número y el rango de valores de vitamina D de estas muestras se indican a continuación.

Método comparativo	Estadística de Regresión		Coeficiente de correlación	n ^b
	Pendiente ^a	Intersección ^a ng/mL [nmol/L]		
ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamina D	1.06	0.4 [1.1]	0.977	163

- g. La pendiente y la intersección se obtuvieron mediante el análisis de Passing-Bablok:
y = ensayo de la vitamina D total LOCI; x = ID-LC-MS/MS 25(OH)vitamina D
- h. Los valores de vitamina D se situaron en el intervalo de 5.2 – 126.1 ng/mL [13.0 – 315.3 nmol/L] y se obtuvieron a partir de 163 muestras (154 naturales y 9 artificiales).

Equivalencia de suero y plasma

No se observaron diferencias clínicamente significativas entre el suero (x) y el plasma (y), como se muestra en la siguiente regresión por mínimos cuadrados ordinarios.

Comparación de muestras	Pendiente	Intersección ng/mL [nmol/L]	Coefficiente de correlación	n	Mín. ng/mL [nmol/L]	Máx. ng/mL [nmol/L]
Plasma con heparina de litio frente a suero (tapón rojo)	0.99	0.1 [0.3]	0.992	70	11.5 [28.7]	146.4 [366.0]
Plasma con EDTA frente a suero (tapón rojo)	0.98	1.4 [3.4]	0.997	70	11.6 [29.0]	142.5 [356.2]
Suero en tubo SST frente a suero (tapón rojo)	0.99	0.5 [1.2]	0.997	70	11.4 [28.5]	148.6 [371.5]

Especificidad

Interferencia de hemólisis, ictericia, lipemia (HIL)

Se evaluó la presencia de sustancias interferentes en el ensayo de VITD según la directriz EP07-A2 del CLSI.⁹ La deriva es la diferencia de resultados entre la muestra de control (sin el interferente) y la muestra analizada (que contiene el interferente) expresada en porcentaje. Se considera interferencia una deriva superior al 10%.

Sustancia analizada	Concentración de la sustancia	Vitamina D ng/mL [nmol/L]	Deriva* %
Hemoglobina (hemolizado)	Hemoglobina (monómero) 250 mg/dL [0.155 mmol/L]	15.0 [37.5]	5
		31.7 [79.2]	9
		75.1 [187.7]	8
		75.1 [187.7]	13
Bilirrubina (no conjugada)	500 mg/dL [0.31 mmol/L]	15.0 [37.5]	11
		31.7 [79.2]	19
		75.1 [187.7]	13
		75.1 [187.7]	13
Bilirrubina (conjugada)	40 mg/dL [684.5 µmol/L]	13.5 [33.7]	7
		27.3 [68.2]	7
		66.7 [166.7]	8
		66.7 [166.7]	12
Lipemia	80 mg/dL [1368 µmol/L]	13.5 [33.7]	13
		27.3 [68.2]	12
		66.7 [166.7]	6
		66.7 [166.7]	11
Bilirrubina (conjugada)	20 mg/dL [342 µmol/L]	14.9 [37.2]	7
		31.7 [79.2]	4
		75.3 [188.2]	3
		75.3 [188.2]	17
Lipemia	40 mg/dL [684 µmol/L]	14.9 [37.2]	12
		31.7 [79.2]	12
		75.3 [188.2]	11
		75.3 [188.2]	11
Lipemia	300 mg/dL [3 g/L]	14.9 [37.2]	-5
		32.3 [80.8]	-6
		75.9 [189.8]	-5
		75.9 [189.8]	-5
Lipemia	500 mg/dL [5 g/L]	14.9 [37.2]	-10
		32.3 [80.8]	-11
		75.9 [189.8]	-8
		75.9 [189.8]	-8

* Los resultados del analito no deben corregirse en función de esta deriva.

Sustancias que no causan interferencia

Se evaluó la interferencia de las siguientes sustancias según la directriz EP07-A2 del CLSI9 y los resultados señalaron que estas no causaban interferencias con el ensayo de VITD cuando estaban presentes en el suero en las concentraciones indicadas. Las inexactitudes (derivas) debidas a estas sustancias son inferiores al 10% para concentraciones de vitamina D de 13.9 – 16.9 ng/mL [34.8 – 42.3 nmol/L], 28.4 – 32.0 ng/mL [71.0 – 80.0 nmol/L] y 70.2 – 77.3 ng/mL [175.5 – 193.3 nmol/L].

Sustancia	Concentración de la muestra	Unidades (SI)
Acetaminofeno	20 mg/dL	1322 µmol/L
Ácido ascórbico	3 mg/dL	170 µmol/L
Bilirrubina (no conjugada)	40 mg/dL	684.5 µmol/L
Bilirrubina (conjugada)	20 mg/dL	342 µmol/L
Colesterol	300 mg/dL	7.7 mmol/L
Dextrano 40	6000 mg/dL	1.50 mmol/L
Hemoglobina	250 mg/dL	0.155 mmol/L
Heparina	3 U/mL	3000 U/L
Ibuprofeno	30 mg/dL	1455 µmol/L
Lipemia (Intralipid)	300 mg/dL	3 g/L
Proteína (albúmina)	5 g/dL	50 g/L
Proteína (total)	15.9 g/dL	159 g/L
Factor reumatoide	500 IU/mL	500 IU/mL
Ácido salicílico	65 mg/dL	4.7 mmol/L
Triglicéridos	686 mg/dL	7.75 mmol/L
Ácido úrico	20 mg/dL	1190 µmol/L

Reactividad cruzada

Se evaluó la reactividad cruzada para determinar el efecto de los posibles reactantes cruzados con el ensayo de la vitamina D total LOCI según la directriz EP07-A2 del CLSI.⁹

El porcentaje de reactividad cruzada se calculó de la forma siguiente:

% de reactividad cruzada =
$$\frac{[\text{vitamina D medida}] - [\text{vitamina D de control}]}{[\text{reactante cruzado}]}$$

Se evaluaron las siguientes sustancias en términos de reactividad cruzada con el ensayo de VITD cuando están presentes en el suero en las concentraciones de vitamina D indicadas en la tabla siguiente.

Reactante cruzado	Concentración de reactante cruzado (ng/mL)	% de reactividad cruzada con una concentración de vitamina D	% de reactividad cruzada con una concentración de vitamina D
Vitamina D ₂ (ergocalciferol)	1000	0.1 con 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	-0.1 con 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
Vitamina D ₃ (colecalfiferol)	1000	-0.1 con 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	0.1 con 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
* 1,25(OH) ₂ vitamina D ₂	0.5	151.9 con 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	1.3 con 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
* 1,25(OH) ₂ vitamina D ₃	0.5	1.7 con 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	-224.5 con 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
3-epi-25(OH)vitamina D ₃	100	3.9 con 27.5 ng/mL [68.8 nmol/L]	2.5 con 52.0 ng/mL [130.0 nmol/L]
Paricalcitol/Zemplar	24	93.8 con 28.8 ng/mL [72.0 nmol/L]	70.8 con 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L]
1αOH vitamina D ₃ (alfacalcidol)	3000	0.1 con 26.5 ng/mL [66.3 nmol/L]	0.0 con 51.6 ng/mL [129.0 nmol/L]
24, 25(OH) ₂ vitamina D ₃	60	2.5 con 26.5 ng/mL [66.3 nmol/L]	1.2 con 51.6 ng/mL [129.0 nmol/L]
25(OH)vitamina D ₂	30	95.1 con 28.3 ng/mL [70.8 nmol/L]	94.1 con 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L]
25(OH)vitamina D ₃	30	88.6 con 28.3 ng/mL [70.8 nmol/L]	90.1 con 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L]

* Las 1,25(OH)₂vitamina D₂ y 1,25(OH)₂vitamina D₃ se analizaron en concentraciones suprafisiológicas.²⁴

Límite de detección y límite del blanco^{25,i}

El límite de detección (LoD) del ensayo de VITD es de 1.3 ng/mL [3.3 nmol/L], determinado de acuerdo con la directriz EP17-A2 del CLSI y con proporciones de falsos positivos (α) inferiores al 5% y falsos negativos (β) inferiores al 5%; basado en 120 determinaciones, con 60 muestras en blanco y 60 réplicas de bajo nivel. El límite del blanco (LoB) es 0.8 ng/mL [2.0 nmol/L].

i. El LoD es la concentración mínima de analito que se puede detectar de manera fiable. El LoB es la concentración más alta que es probable que se observe para una muestra en blanco.

Límite de cuantificación^{25,j}

El límite de cuantificación (LoQ) se ha determinado de acuerdo con la directriz EP17-A2 del CLSI. El LoQ del ensayo de VITD es de 5.0 ng/mL [12.5 nmol/L] con una precisión total de ≤ 20% CV.

j. LoQ se define como la concentración mínima de 25(OH)vitamina D que se puede detectar con un CV de precisión total de ≤ 20%.

Linealidad²⁶

Se confirmó la linealidad en el intervalo del ensayo, 5.0 – 150.0 ng/mL [12.5 – 375.0 nmol/L] analizando una muestra con una concentración elevada de vitamina D y realizando una dilución en serie con una muestra con una concentración reducida de vitamina D. Cada dilución se sometió a análisis en réplicas de n = 5. La regresión lineal de los valores observados (y) frente a los valores previstos (x) dio lugar a una pendiente de 1.02, una intersección de 1.4 ng/mL y un coeficiente de correlación (r) de 0.998. El porcentaje de deriva entre los valores observados y previstos se situó dentro de la desviación aceptable del 10% del ajuste lineal.

Recuperación

Se añadieron cantidades conocidas de 25(OH)vitamina D₂ (30 ng/mL [75.0 nmol/L]) y 25(OH)vitamina D₃ (30 ng/mL [75.0 nmol/L]) a distintas muestras de suero con una concentración de vitamina D de 28.3 ng/mL [70.8 nmol/L] y 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L].

Los porcentajes de recuperación calculados se muestran a continuación:

Vitamina D en una concentración de 28.3 ng/mL [70.8 nmol/L]		
Elemento añadido	Cantidad añadida ng/mL [nmol/L]	% de recuperación
25(OH)vitamina D ₂	30.0 [75.0]	95
25(OH)vitamina D ₃	30.0 [75.0]	89
Vitamina D en una concentración de 54.7 ng/mL [136.8 nmol/L]		
Elemento añadido	Cantidad añadida ng/mL [nmol/L]	% de recuperación
25(OH)vitamina D ₂	30.0 [75.0]	94
25(OH)vitamina D ₃	30.0 [75.0]	90

Clave de los símbolos: Véase el panel adyacente.

Bibliografía: Véase el panel adyacente.

Dimension®, EXL™, LOCI® y Flex® son marcas comerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

©2016 Siemens Healthcare Diagnostics

Reservados todos los derechos.



Bibliography/Literatur/Bibliographie/Bibliografia/Bibliografía

- Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357: 266–81.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007 July 19; 357(3): 266–81.
- Lai JK, Lucas RM, Clements MS, Harrison SL, Banks E. Assessing vitamin D status: pitfalls for the unwary. *Mol Nutr Food Res* 2010 August; 54(8): 1062–71.
- Rollins G. Vitamin D testing—what's the right answer? Labs grapple with confusing analytics, evidence. *Clin Lab News* 2009 July; 35(7): 1–9.
- Hart GR. Medical Conditions Associated with Vitamin D Deficiency and the Clinical Consequences. Review Series Volume 1, Sept 2004; 1–8.
- CLSI. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard—Sixth Edition*. CLSI document GP-41-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
- CLSI. *Tubes and Additives for Venous and Capillary Blood Specimen Collection; Approved Standard—Sixth Edition*. CLSI document GP39-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- CLSI. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline—Fourth Edition*. CLSI document GP44-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
- CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- Grimsey P, Frey N, Bendig G, et al. Population pharmacokinetics of exogenous biotin and the relationship between biotin serum levels and *in vitro* immunoassay interference. *Int. J. Pharmacokinet*. 2017;2(4): 247–256.
- Piketty ML, Prie D, Sedel F, et al. High-dose biotin therapy leading to false biochemical endocrine profiles: validation of a simple method to overcome biotin interference. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(6):817–825
- Holick MF et al. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96 (7): 1911–1930.
- Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, et al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:18–28.
- Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol*. 2009; 19(2): 73–78.
- KDOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Children With Chronic Kidney Disease. http://www.kidney.org/PROFESSIONALS/kdoqi/guidelines_pedbone/guide8.htm
- Soubrierbielle JC, Body JJ, Lappe JM, et al. Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice. *Autoimmun Rev* 2010; 9: 709–715.
- Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int*. 2005; 16(7): 713–716.
- 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.
- Holick MF. The role of vitamin D for bone health and fracture prevention. *Curr Osteoporosis Rep*. 2006; 4(3): 96–102.
- Özkan B, Hatun, Ş, Bereket A. Vitamin D intoxication. *Turk J Pediatr*. 2012; 54: 93–98.
- CLSI. *Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Third Edition*. CLSI Document EP28-A3c Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- CLSI. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP05-A2. CLSI, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004.
- CLSI. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline—Third Edition*. CLSI document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
- Smith DC, Johnson CS, et al. A Phase I Trial of Calcitriol (1,25 dihydroxycholecalciferol) in patients with Advanced Malignancy. *Clin Cancer Res* June 1999; 5: 1339.
- CLSI. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- CLSI. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. CLSI document EP06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.

Symbols Key Symbolschlüssel Explication des Symboles Interpretazione simboli Clave de los Símbolos



Do not reuse / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Non riutilizzare / No reutilizar



Use By / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Utilizzare entro / Fecha de caducidad



Batch Code / Chargenbezeichnung / Code du lot / Codice del lotto / Código de lote



Catalogue Number / Bestellnummer / Référence du catalogue / Numero di catalogo / Número de catálogo



Caution, consult accompanying documents / Achtung, Begleitdokumente beachten / Attention voir notice d'instructions / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Atención, ver instrucciones de uso



Manufacturer / Hersteller / Fabricant / Fabbricante / Fabricante



Authorized Representative in the European Community / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Mandataire dans la Communauté européenne / Mandatario nella Comunità Europea / Representante autorizado en la Comunidad Europea



Contains sufficient for <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos



In Vitro Diagnostic Medical Device / In-Vitro-Diagnostikum / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Temperature Limitation / Temperaturbegrenzung / Limites de température / Limiti di temperatura / Límite de temperatura



Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso



Non-sterile / Nicht steril / Non stérile / Non sterile / No estéril



CE Mark / CE Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE



Contents / Inhalt / Contenu / Contenuto / Contenido



Reconstitution Volume / Rekonstitutionsvolumen / Volume de reconstitution / Volume di ricostituzione / Volumen de reconstitución



Level / Konzentration / Niveau / Livello / Nivel



Prescription Device (US Only) / Verschreibungspflichtiges Medizinprodukt (nur USA) / Dispositif soumis à prescription (États-Unis uniquement) / Dispositivo su prescrizione (solo USA) / Dispositivo de prescripción médica (solo EE. UU.)

2015-11_EFEGS



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA

Global Siemens
Headquarters
Siemens AG
Wittelsbacherplatz 2
80333 Muenchen
Germany

Global Siemens
Healthcare Headquarters
Siemens AG
Healthcare Sector
Henkestrasse 127
91052 Erlangen
Germany
Phone: +49 9131 84-0
siemens.com/healthcare

Global Division
Siemens Healthcare
Diagnostics Inc.
511 Benedict Avenue
Tarrytown, NY 10591
USA
siemens.com/healthcare

