

Instructions for use**25-OH Vitamin D (total) ELISA**

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

1. INTRODUCTION

1.1 Intended Use

The **25-OH Vitamin D (total) ELISA** is an enzyme immunoassay for the quantitative *in vitro diagnostic* measurement of total 25-OH Vitamin D (Vitamin D₂ / D₃) in serum or plasma (EDTA, lithium heparin or citrate plasma).

1.2 Summary and Explanation

Vitamin D is a steroid hormone involved in the intestinal absorption of calcium and the regulation of calcium homeostasis. The two major forms of Vitamin D, named Vitamin D₃ (cholecalciferol) and Vitamin D₂ (ergocalciferol), have isomeric structures, but D₂ is supposed to be less active than D₃ ¹.

Physiological Vitamin D₃ levels result not only from dietary uptake but can also be produced from a cholesterol precursor, 7-dehydrocholesterol, in the skin during sun exposure. D₂ is obtained from plant sources and only represents less than 5% of the total Vitamin D in the body ². In the liver, the Vitamin D is hydroxylated to 25-hydroxyvitamin D (25-OH D), the major circulating metabolite of Vitamin D. Vitamin D and 25-OH D enter the circulation bound to Vitamin D binding protein (VDBP). Upon request, a small portion of 25-OH D is further hydroxylated in the kidney to form the biologically active hormone 1,25 dihydroxyvitamin D (1,25-(OH)₂ D) ³. This process is tightly regulated by the concentration of 1,25-(OH)₂ D, parathyroid hormone, hypophosphatemia and ionized calcium levels. Concentrations of 1,25-(OH)₂ are about 1000-fold lower than that of 25-OH D ⁴. Although 1,25-(OH)₂ D portrays the biological active form of Vitamin D, it is widely accepted that the measurement of circulating 25-OH D provides better information with respect to patients Vitamin D status and allows its use in diagnosis of hypovitaminosis ⁵.

The concentration of 25-OH D decreases during winter time (reduced sun exposure), with dark skin colour and with age ^{6,7}.

Determination of 25-OH D in serum or plasma will support the diagnosis and therapy control of postmenopausal osteoporosis, rickets in children, osteomalacia, renal osteodystrophy, neonatal hypocalcemia and hyperparathyroidism. In addition, the effects of prevailing subclinical Vitamin D deficiency in different European countries is critically discussed ⁶.

Vitamin D intoxication mostly occurs during a large intake of pharmaceutical preparations of Vitamin D and may lead to hypercalcemia and nephrocalcinosis in susceptible infants.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

The 25-OH Vitamin D (total) ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) based on the **principle of competitive binding**.

The microtiter wells are coated with a monoclonal (mouse) antibody directed towards a unique antigenic site of the 25-OH Vitamin D (25-OH D) molecule.

The patient sample is incubated together with Release Reagent in the wells to dissociate endogenous 25-OH D from Vitamin D binding protein (VDBP). Released 25-OH D then binds to the coated antibody of the well.

After a washing step, biotin-labeled 25-OH D (*Enzyme Conjugate*) and peroxidase-labeled streptavidin (*Enzyme Complex*) are added.

Added Biotin-25-OH D competes with endogenous 25-OH D for the binding to the coated antibody. Bound Biotin - 25-OH Vitamin D is then detected by Streptavidin-HRP.

After incubation, unbound components are washed off.

The amount of bound biotin-streptavidin complex is inversely proportional to the concentration of 25-OH Vitamin D in the sample.

Subsequently substrate solution is added and the color development is stopped after a defined time.

The intensity of the color formed is inversely proportional to the 25-OH D concentration in the sample. The absorbance is measured at 450 nm with a microtiter plate reader.

3. WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
3. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of instructions for use provided with the kit. Be sure that everything is understood.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.

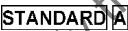
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (21 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the absorbance readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
17. Avoid contact with Stop Solution containing 0.5 M H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain Proclin 300, BND and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from manufacturer.

4. REAGENTS

4.1 Reagents provided

MS E-5831  **96 Microtiter wells**
 Contents: 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells;
 Wells coated with anti-25-OH D antibody (monoclonal).

Standards and Controls - ready to use

Cat. no.	Component	Standard	Concentration	Volume/Vial
MS E-5801	 STANDARD A	Standard A	0 ng/ml	1 ml
MS E-5802	 STANDARD B	Standard B	5 ng/ml	1 ml
MS E-5803	 STANDARD C	Standard C	15 ng/ml	1 ml
MS E-5804	 STANDARD D	Standard D	30 ng/ml	1 ml
MS E-5805	 STANDARD E	Standard E	60 ng/ml	1 ml
MS E-5806	 STANDARD F	Standard F	120 ng/ml	1 ml
MS E-5851	 CONTROL 1	Control 1 (Low)	For control values and ranges please refer to vial label or QC-Report.	1 ml
MS E-5852	 CONTROL 2	Control 2 (High)		1 ml

Conversion: 1 ng/ml = 2.5 nmol/l

Contents: Contain non-mercury preservative.

The standards are calibrated against the following reference material: DEQAS No. 548

MS E-5826 RELEASE REAG **Release Reagent** - ready to use

Contents: Contains non-mercury preservative.

Volume: 1 x 20 ml

Hazards
identification:



H317 May cause an allergic skin reaction.

MS E-5840 CONJUGATE **Enzyme Conjugate** - ready to use

Contents: 25-OH D antigen conjugated with biotin.

Volume: 1 x 7 ml

MS E-5841 COMPLEX **Enzyme Complex** - ready to use

Contents: Streptavidin-Peroxidase Conjugate; Contains non-mercury preservative.

Volume: 1 x 7 ml

FR E-0055 SUBSTRATE **Substrate Solution** - ready to use

Contents: Tetramethylbenzidine (TMB).

Volume: 1 x 14 ml

FR E-0080 STOP-SOLN **Stop Solution** - ready to use

Contents: contains 0.5 M H₂SO₄.

Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.

Volume: 1 x 14 ml

Hazards
identification:



H290 May be corrosive to metals.

H314 Causes severe skin burns and eye damage.

FR E-0030 WASH- CONC 40X **Wash Solution** 40X concentrated

Volume: 1 x 30 ml

see „Preparation of Reagents“.

Note: Additional *Standard A* for sample dilution is available upon request.

4.2 Materials required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450 ± 10 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Absorbent paper
- Distilled or deionized water
- Incubator 37 °C (98.6 °F)
- Timer
- Graph paper or software for data reduction

4.3 Storage Conditions

When stored at 2 °C - 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date.

Opened reagents must be stored at 2 °C - 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C - 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

Opened kits retain activity for 8 weeks if stored as described above.

4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature prior to use.

Wash Solution

Add deionized water to the 40X concentrated Wash Solution.

Dilute 30 ml of concentrated *Wash Solution* with 1170 ml deionized water to a final volume of 1200 ml.

The diluted Wash Solution is stable for 2 weeks at room temperature.

4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit must be made according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet, section 13.

4.6 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, the manufacturer has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

5. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum or plasma (EDTA, lithium heparin or citrate plasma) can be used in this assay.

Do not use haemolytic, icteric or lipaemic specimens.

Please note: Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

5.1 Specimen Collection

Serum:

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

Plasma:

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anti-coagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

5.2 Specimen Storage and Preparation

Specimens should be capped and may be stored for up to 7 days at 2 °C - 8 °C prior to assaying.

Specimens held for a longer time (up to 12 months) should be frozen only once at -20 °C prior to assay.

Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

5.3 Specimen Dilution

If in an initial assay, a specimen is found to contain more than the highest standard, the specimens can be diluted with *Standard A* and re-assayed as described in Assay Procedure.

For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

Example:

a) dilution 1:10: 10 µl sample + 90 µl *Standard A* (mix thoroughly)

b) dilution 1:100: 10 µl dilution a) 1:10 + 90 µl *Standard A* (mix thoroughly).

6. ASSAY PROCEDURE

6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination.
- Absorbance is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.

6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

1. Secure the desired number of microtiter wells in the frame holder.
2. Dispense 50 µl of each Standard , Control and sample <u>with new disposable tips</u> into appropriate wells.
3. Dispense 150 µl Release Reagent into each well. Thoroughly mix for 10 seconds. It is important to have a complete mixing in this step
4. Incubate for 60 minutes at 37 °C .
5. Briskly shake out the contents of the wells. Rinse the wells 4 times with 400 µl diluted <i>Wash Solution</i> per well, if a plate washer is used - or - rinse the wells 4 times with 300 µl diluted <i>Wash Solution</i> per well for manual washing. Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets. Important note: The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
6. Add 50 µl of Enzyme Conjugate to each well
7. Add 50 µl of Enzyme Complex to each well
8. Incubate for 30 minutes at 37 °C .
9. Briskly shake out the contents of the wells. Rinse the wells 4 times with 400 µl diluted <i>Wash Solution</i> per well, if a plate washer is used - or - rinse the wells 4 times with 300 µl diluted <i>Wash Solution</i> per well for manual washing. Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
10. Add 100 µl of Substrate Solution to each well.
11. Incubate for 15 minutes at room temperature.
12. Stop the enzymatic reaction by adding 100 µl of Stop Solution to each well.
13. Determine the absorbance (OD) of each well at 450 ± 10 nm with a microtiter plate reader. It is recommended that the wells be read within 10 minutes after adding the Stop Solution.

6.3 Calculation of Results

1. Calculate the average absorbance values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Using linear graph paper, construct a standard curve by plotting the mean absorbance obtained from each standard against its concentration with absorbance value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis.
3. Using the mean absorbance value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. Automated method: The results in the Instructions for Use have been calculated automatically using a 4-Parameter curve fit. (4 Parameter Rodbard or 4 Parameter Marquardt are the preferred methods.) Other data reduction functions may give slightly different results.
5. The concentration of the samples can be read directly from this standard curve. Samples with concentrations higher than that of the highest standard have to be further diluted or reported as that. For the calculation of the concentrations this dilution factor has to be taken into account.

6.3.1 Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Standard	Optical Units (450 nm)
Standard A 0 ng/ml	2.10
Standard B 5 ng/ml	1.86
Standard C 15 ng/ml	1.51
Standard D 30 ng/ml	1.10
Standard E 60 ng/ml	0.57
Standard F 120 ng/ml	0.09

7. EXPECTED NORMAL VALUES

It is strongly recommended that each laboratory should determine its own normal and abnormal values.

In a study conducted with apparently normal healthy adults (50 % white Americans, 20 % Hispanics and 30 % Afro-Americans), using the 25-OH Vitamin D (total) ELISA the following data were observed:

Population	n	Age (year)	Mean (ng/ml)	Median (ng/ml)	2.5 th - 97.5 th Percentile (ng/ml)	Range (min - max) (ng/ml)
Males	92	10 - 83	21.49	18.66	5.58 - 56.83	5.39 - 58.33
Females	102	15 - 80	22.78	19.56	3.99 - 54.23	3.23 - 65.10
Summer	52	24 - 76	22.20	18.21	5.96 - 57.84	3.74 - 58.33
Winter	60	21 - 66	15.13	13.82	3.71 - 33.45	3.23 - 41.24

It is important for each laboratory to establish its own reference range, representative of its typical population. Factors such as UV exposure, season, race, and dietary intake are all known to affect concentrations of 25-OH Vitamin D in humans. A high prevalence of subclinical 25 OH Vitamin D deficiency has been noted in many countries, particularly in winter months.

The results alone should not be the only reason for any therapeutic consequences. The results should be correlated to other clinical observations and diagnostic tests.

A review of the literature suggests the following ranges for the classification of 25-OH Vitamin D status ³:

Vitamin D status	25-OH Vitamin D (ng/ml)	25-OH Vitamin D (nmol/l)
Deficiency	< 10	< 25
Insufficiency	10 - 29	25 - 72.5
Sufficiency	30 - 100	75 - 250
Toxicity	> 100	> 250

8. QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls be run with each standard curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC-Report added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or the manufacturer directly.

9. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 3.22 – 120 ng/ml.

9.2 Specificity of Antibodies (Cross Reactivity)

The cross-reactivity is determined according to the Method of Abraham⁸.
The following substances were tested for cross-reactivity of the assay:

Substance	Added conc. (ng/ml)	Mean cross-reactivity (%)
25-OH Vitamin D ₃	15 - 120	99.50
25-OH Vitamin D ₂	1.56 - 12.50	97.43
1,25(OH) ₂ Vitamin D ₃	12 - 12000	0.98
1,25(OH) ₂ Vitamin D ₂	12 - 12000	0.16
Vitamin D ₃	12 - 12000	13.36
Vitamin D ₂	12 - 12000	0.96
3-Epi-25-OH Vitamin D ₃	12 - 12000	0.83

9.3 Sensitivity

The Limit of Blank (LoB) is 2.219 ng/ml.
The Limit of Detection (LoD) is 3.224 ng/ml.
The Limit of Quantification (LoQ) is 3.750 ng/ml.

9.4 Reproducibility

9.4.1 Intra Assay

The within assay variability was determined by measuring each sample 10 times per run (n = 10):

Sample	N	Mean (ng/ml)	CV (%)
1	10	15.92	6.3
2	10	30.91	4.0
3	10	80.90	3.1
4	10	106.94	1.5

9.4.2 Inter Assay

The between assay variability was determined by measuring each sample 10 times per run for 3 days (n = 30):

Sample	N	Mean (ng/ml)	CV (%)
1	30	16.87	10.2
2	30	31.26	7.7
3	30	81.49	8.4
4	30	108.83	2.2

9.5 Recovery

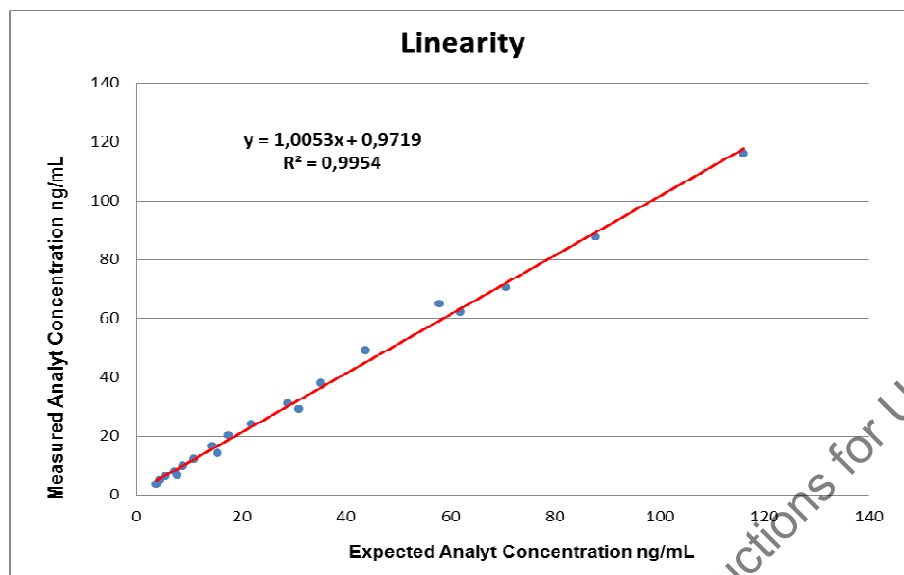
Samples have been spiked by adding 25-OH Vitamin D solutions with known concentrations.
The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of measured and expected values with 100.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Concentration (ng/ml)	13.30	22.00	40.30	60.00
Average Recovery (%)	98.6	101.6	97.3	106.7
Range of Recovery (%) from to	94.6 104.5	97.1 104.5	89.6 107.7	100.0 109.7

9.6 Linearity

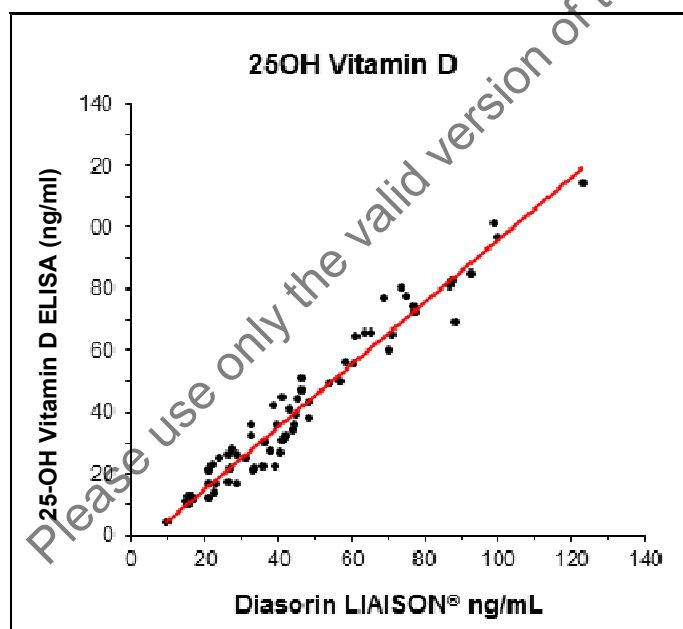
Samples were measured undiluted and in serial dilutions from 1:2 to 1:16 with Standard A. The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of expected and measured values with 100.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Concentration (ng/ml)	17.14	62.00	87.70	116.00
Average Recovery (%)	104.0	89.7	111.4	110.8
Range of Recovery (%) from to	85.2	85.2	109.5	106.9
	111.8	93.5	114.9	113.80



9.7 Comparison Studies

A comparison of 25-OH Vitamin D (total) ELISA (y) and the reference method LIAISON 25-OH Vitamin D total (Diasorin) (x) using clinical samples gave the following correlation:



10. **LIMITATIONS OF USE**

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice. Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

10.1 **Interfering Substances**

Serum, EDTA and citrate plasma:

Haemoglobin (up to 4 mg/ml), bilirubin (up to 0.5 mg/ml) and triglyceride (up to 7.5 mg/ml) have no influence on the assay results.

Li-heparin plasma:

Haemoglobin (up to 0.5 mg/ml), bilirubin (up to 0.5 mg/ml) and triglyceride (up to 7.5 mg/ml) have no influence on the assay results.

Note: Sample concentration will decrease by more than 20% at haemoglobin concentrations > 0.5 mg/ml.

A biotin concentration of up to 1200 ng/ml in a sample has no influence on the assay results.

10.2 **Drug Interferences**

Until today no substances (drugs) are known to us, which have an influence to the measurement of 25-OH Vitamin D in a sample.

10.3 **High-Dose-Hook Effect**

A High-Dose-Hook Effect is not known for competitive assays.

11. **LEGAL ASPECTS**

11.1 **Reliability of Results**

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact the manufacturer.

11.2 **Therapeutic Consequences**

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

11.3 **Liability**

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

12. REFERENCES / LITERATURE

1. Armas LAG., Hollis M., Heaney RP. Vitamin D₂ is much less effective than vitamin D₃ in humans. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004; 89(11) 5387-91.
2. Houghton LA., Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D₂) as a vitamin supplement. Am. J. Nutr. 2006; 84, 694-97.
3. Holick M. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes 2002; 9(1) 87-98.
4. Pilz S. et al. Vitamin D: clinical implications beyond musculoskeletal diseases. J. Lab. Med. 2011; 35(4) 211-16.
5. Visser M. et al. Low serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D in older persons and the risk of nursing home admission. Am. J. Clin. Nutr. 2006; 84(3) 616-22.
6. Souberbielle JC. Et al. Vitamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice. Autoimmun Rev. 2010; 9 709-15.
7. Soldin OP, et al. Pediatric reference intervals for aldosterone, 17alpha-hydroxyprogesterone, dehydroepiandrosterone, testosterone and 25-hydroxy vitamin D₃ using tandem mass spectrometry. Clin Biochem. 2009; 42(9):823-7.
8. Abraham GE. Solid-phase radioimmunoassays of estradiol-17 beta. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1969; 29(6) 877-70.
9. Heath AK et al. Vitamin D Status and Mortality: A systematic review of observational studies. Int J Environ Res Public Health. 2019; 29;16(3).
10. Kiely M and Cashman KD. Summary Outcomes of the ODIN Project on Food Fortification for Vitamin D Deficiency Prevention Int. J. Environ. Res. Public Health 2018; 15(11), 2342.

Symbols:

	Storage temperature		Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Expiry date		Batch code		For in-vitro diagnostic use only!
	Consult instructions for use		Content		CE labelled
	Caution		Catalogue number		

1. EINLEITUNG

Der **25-OH Vitamin D (total) ELISA** wird zur quantitativen Bestimmung der Gesamtkonzentration des 25-OH Vitamin D (Vitamin D₂ / D₃) in Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma) eingesetzt.

Nur für In-vitro Diagnostik.

2. TESTPRINZIP

Der 25-OH Vitamin D (total) ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf dem **Prinzip der kompetitiven Bindung** basiert.

Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des 25-OH Vitamin D (25-OH D)-Moleküls gerichtet ist.

Die Patientenprobe wird zusammen mit dem Freisetzungsreagenz in den Wells inkubiert, um endogenes 25-OH D vom Vitamin D-Bindungsprotein (VDBP) zu trennen. Freigesetztes 25-OH D bindet dann an den beschichteten Antikörper des Wells.

Nach einem Waschschrift werden Biotin-markiertes 25-OH D (Enzymkonjugat) und Peroxidase-markiertes Streptavidin (Enzymkomplex) zugegeben. Biotin - 25-OH D konkurriert mit endogenem 25-OH D um die Bindung an den beschichteten Antikörper.

Gebundenes Biotin - 25-OH Vitamin D wird dann von Streptavidin-HRP nachgewiesen. Nach der Inkubation werden ungebundene Komponenten abgewaschen.

Die Menge des gebundenen Biotin-Streptavidin-Komplexes ist umgekehrt proportional zur Konzentration von 25-OH Vitamin D in der Probe.

Anschließend wird Substratlösung zugegeben und die Farbentwicklung nach einer definierten Zeit gestoppt. Die Intensität der gebildeten Farbe ist umgekehrt proportional der 25-OH D-Konzentration in der Probe. Die Extinktion wird bei 450 nm mit einem Mikrotiterplattenleser gemessen.

3. VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet.
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt.
- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Jedoch sollten alle Bestandteile im Umgang und bei der Entsorgung wie mögliche Gefahrenstoffe betrachtet werden.
- Der Kontakt mit der *Stop Solution* sollte vermieden werden, da sie 0,5 M H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt beim Hersteller erhältlich.

4. BESTANDTEILE DES KITS

4.1 Kitinhalt

MS E-5831  **96 Microtiterwells**
 Inhalt: 96 Wells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar);
 Mit anti-25-OH D- Antikörper (monoklonal) beschichtet.

Standards und **Controls** - gebrauchsfertig

Artikelnr.	Komponente	Standard	Konzentration	Volumen/ Fläschchen
MS E-5801	 STANDARD A	Standard A	0 ng/ml	1 ml
MS E-5802	 STANDARD B	Standard B	5 ng/ml	1 ml
MS E-5803	 STANDARD C	Standard C	15 ng/ml	1 ml
MS E-5804	 STANDARD D	Standard D	30 ng/ml	1 ml
MS E-5805	 STANDARD E	Standard E	60 ng/ml	1 ml
MS E-5806	 STANDARD F	Standard F	120 ng/ml	1 ml
MS E-5851	 CONTROL 1	Control 1 (Low)	Kontrollwerte und – bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem QC - Report.	1 ml
MS E-5852	 CONTROL 2	Control 2 (High)		1 ml

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

Inhalt: Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

Die Standards sind gegen das folgende Referenzmaterial kalibriert: DEQAS No. 548

MS E-5826  **Release Reagent** (Freisetzungsreagenz) - gebrauchsfertig

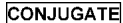
Inhalt: enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

Volumen: 1 x 20 ml

Mögliche
Gefahren:



H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

MS E-5840  **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat) - gebrauchsfertig

Inhalt: 25-OH D mit Biotin konjugiert. Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

Volumen: 1 x 7 ml

MS E-5841  **Enzyme Complex** (Enzymkomplex) - gebrauchsfertig

Inhalt: Streptavidin mit Merrettichperoxidase konjugiert; Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

Volumen: 1 x 7 ml

FR E-0055  **Substrate Solution** (Substratlösung) - gebrauchsfertig

Inhalt: Substratlösung TMB.

Volumen: 1 x 14 ml

FR E-0030  **Wash Solution** (Waschlösung) - **40X** konzentriert

Volumen: 1 x 30 ml
 Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

FR E-0080**STOP-SOLN****Stop Solution** (Stopplösung) - gebrauchsfertig

Inhalt: enthält 0,5 M H₂SO₄,
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.

Volumen: 1 x 14 ml

Mögliche
Gefahren:



H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.

Anmerkung: Zusätzlicher *Standard A* zur Probenverdünnung ist auf Anfrage erhältlich.

4.2 Erforderliche aber nicht enthaltene Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät mit 450 ± 10 nm Filter)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser
- Inkubator, 37 °C
- Laborwecker
- Millimeterpapier oder Software zur Datenauswertung

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C - 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C - 8 °C gelagert werden.

Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C - 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden. Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 8 Wochen ihre Reaktivität.

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.

Wash Solution

Die 40-fach konzentrierte *Wash Solution* (30 ml) mit 1170 ml destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1200 ml verdünnen.

Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur für 2 Wochen stabil.

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, Abschnitt 13.

4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss dem Hersteller in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten sollten nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen gelagert werden bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

5. PROBENVORBEREITUNG

Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma) kann in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.

Lipämische, ikterische und/oder stark hämolysierte Proben sollten nicht verwendet werden.

Achtung: Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

5.1 Probenentnahme**Serum:**

Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Plasma:

Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrchen, die ein Antikoagulant enthalten (z.B.: Sarstedt Monovette – mit entsprechender Plasma-Präparierung). Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein und können vor Testbeginn bis zu 7 Tage bei 2 °C - 8 °C gelagert werden.

Für eine längere Aufbewahrung (bis zu 12 Monaten) sollten die Proben eingefroren bei -20 °C bis zum Testbeginn gelagert werden. Nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben sollten vor Testbeginn vorsichtig durchmischt werden, ohne Schaumbildung.

5.3 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit *Standard A* weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

Beispiel:

a) Verdünnung 1:10: 10 µl Probe + 90 µl *Standard A* gründlich mischen)

b) Verdünnung 1:100: 10 µl Verdünnung a) 1:10 + 90 µl *Standard A* (gründlich mischen).

6. TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.

6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1. Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2. Je 50 µl <i>Standard</i>, <i>Control</i> und <i>Proben</i> mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Wells geben.
3. 150 µl <i>Release Reagent</i> in jedes Well geben. Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
4. 60 Minuten bei 37 °C inkubieren.
5. Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells 4-mal mit 400 µl verdünnter <i>Wash Solution</i> waschen, falls ein Waschautomat verwendet wird – oder – Wells 4-mal mit 300 µl verdünnter <i>Wash Solution</i> waschen bei manueller Durchführung. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen. Achtung: Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrittes!
6. 50 µl <i>Enzyme Conjugate</i> in jedes Well geben.
7. 50 µl <i>Enzyme Complex</i> in jedes Well geben.
8. 30 Minuten bei 37 °C inkubieren
9. Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells 4-mal mit 400 µl verdünnter <i>Wash Solution</i> waschen, falls ein Waschautomat verwendet wird – oder – Wells 4-mal mit 300 µl verdünnter <i>Wash Solution</i> waschen bei manueller Durchführung. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
10. 100 µl <i>Substrate Solution</i> in jedes Well geben.
11. 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
12. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von 100 µl <i>Stop Solution</i> in jedes Well abstoppen
13. Die Optische Dichte bei 450 ± 10 nm mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von 10 Minuten nach Zugabe der <i>Stop Solution</i> bestimmen.

6.3 Ergebnisermittlung

1. Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Controls und Patientenproben bestimmen.
2. Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren Optischen Dichte jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird.
3. Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Automatische Methode: Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter-Gleichung bestimmt. (4 Parameter Rodbard oder 4 Parameter Marquardt sind die bevorzugten Methoden.) Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

6.3.1 Beispiel für eine Standardkurve

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem 25-OH Vitamin D ELISA gezeigt. Diese Werte sollten **nicht** zur Berechnung von Patientendaten verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450 nm)
Standard A 0 ng/ml	2,10
Standard B 5 ng/ml	1,86
Standard C 15 ng/ml	1,51
Standard D 30 ng/ml	1,10
Standard E 60 ng/ml	0,57
Standard F 120 ng/ml	0,09

7. ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen normalen und abnormalen Werte ermittelt.

In einer Studie mit dem 25-OH Vitamin D (total) ELISA wurden die Proben von scheinbar gesunden Probanden (50% weiße Amerikaner, 20% Lateinamerikaner und 30% Afro-Amerikaner) untersucht. Dabei ergaben sich folgende Werte:

Population	n	Alter (Jahre)	Mittelwert (ng/ml)	Median (ng/ml)	2,5 - 97,5 Perzentile (ng/ml)	Bereich (min - max) (ng/ml)
Männer	92	10 - 83	21,49	18,66	5,58 - 56,83	5,39 - 58,33
Frauen	102	15 - 80	22,78	19,56	3,99 - 54,23	3,23 - 65,10
Sommer	52	24 - 76	22,20	18,21	5,96 - 57,84	3,74 - 58,33
Winter	60	21 - 66	15,13	13,82	3,71 - 33,45	3,23 - 41,24

Es ist wichtig, dass jedes Labor seinen eigenen Referenzbereich festlegt, der für seine typische Population repräsentativ ist. Es ist bekannt, dass Faktoren wie UV-Exposition, Jahreszeit, Rasse und die Ernährung die Konzentration von 25-OH-Vitamin D beim Menschen beeinflussen. In vielen Ländern wird vor allem während der Wintermonate ein weit verbreiteter, subklinischer 25-OH Vitamin D-Mangel festgestellt.

Die mit diesem Testkit erzielten Ergebnisse sollten niemals als alleinige Grundlage für therapeutische Konsequenzen dienen. Die Ergebnisse müssen zusammen mit anderen klinischen Befunden und diagnostischen Tests des Patienten interpretiert werden.

In der Literatur werden folgende Bereiche für die Klassifizierung des 25-OH-Vitamin D-Status vorgeschlagen³:

Vitamin D Status	25-OH Vitamin D (ng/ml)	25-OH Vitamin D (nmol/l)
Defizienz (schwerer Mangel)	< 10	< 25
Insuffizienz (Mangel)	10 - 29	25 - 72,5
Suffizienz (ausreichend versorgt)	30 - 100	75 - 250
Toxizität	> 100	> 250

8. QUALITÄTS-KONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im QC-Report, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Es wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungs-Programmen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit dem Hersteller in Verbindung.

9. ASSAY CHARACTERISTIKA

9.1 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 3,22 – 120 ng/ml.

9.2 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die Daten entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

9.3 Sensitivität

Der „Limit of Blank“ (LoB) ist 2,219 ng/ml.

Die Nachweisgrenze (LoD) ist 3,224 ng/ml.

Die Quantifizierungsgrenze (LoQ) ist 3,750 ng/ml.

Die Daten zu:

9.4 Reproduzierbarkeit (Präzision)

9.5 Wiederfindung

9.6 Linearität

9.7 Methodenvergleich

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

10. GRENZEN DES TESTS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Anweisungen in der Gebrauchsanleitung und unter Befolgung der GLP (Good Laboratory Practice)-Richtlinien durchgeführt wird.

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikation dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

10.1 Interferenzen

Serum, EDTA- und Zitratplasma

Hämoglobin (bis zu 4 mg/ml), Bilirubin (bis zu 0,5 mg/ml) und Triglyceride (bis zu 7,5 mg/ml) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

Li-Heparinplasma

Hämoglobin (bis zu 0,5 mg/ml), Bilirubin (bis zu 0,5 mg/ml) und Triglyceride (bis zu 7,5 mg/ml) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

Hinweis: Die Probenkonzentration sinkt bei Hämoglobinkonzentrationen > 0,5 mg/ml um mehr als 20%.

Bis zu einer Konzentration von 1200 ng/ml hat Biotin in Proben keinen Einfluss auf die Testergebnisse.

10.2 Beeinflussung durch Medikamente

Bislang sind uns keine Substanzen (Medikamente) bekannt geworden, die einen Einfluss auf die Bestimmung von 25-OH-D in einer Probe haben.

10.3 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook-Effekt tritt in diesem Test nicht auf.

11. RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit dem Hersteller in Verbindung.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1 genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.

Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2 erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

12. REFERENZEN / LITERATUR

Angaben zu den Referenzen entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

Symbole:

	Lagertemperatur		Hersteller		Enthält Testmaterial für <n> Tests
	Verwendbar bis		Chargennummer		In vitro Diagnostikum
	Vor Gebrauch Packungsbeilage lesen		Inhalt		CE gekennzeichnet
	Achtung		Katalog-Nummer		