

Изменения:

§ 4, 7, 12, 14 удалений §

Тест для количественного определения 1,25 Дигидроксивитамин Д LIAISON® XL (КАТ. № 310980)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Тест DiaSorin LIAISON® XL для количественного определения 1,25 дигидроксивитамин Д – это иммунохемилюминесцентный анализ (CLIA), предназначенный для количественного определения *in vitro* 1,25 дигидроксивитамина Д (1,25(OH)₂D) в сыворотке, ЭДТА и плазме с литий-гепарином. Результаты количественного определения следует использовать в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными в помощь врачу-клиницисту для принятия решений по управлению здоровьем человека среди взрослой популяции. Исследование проводят на анализатор LIAISON® XL

2. КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ И ПОЯСНЕНИЯ ПО ТЕСТУ

Витамин Д получают из 2 источников: экзогенного (пища) и эндогенного (биосинтез, регулируемый УФ светом). Экзогенный источник включает пищу с низкой концентрацией натурального витамина Д₂ (например, молоко, масло, зерновые с добавлением витамина Д₂), пищевые добавки в виде готовых безрецептурных витаминов и лекарственные средства с витаминами Д₂¹. Витамин Д не является активным, т.к. поступает в циркуляцию крови либо с пищей либо фотохимическим путем. Биологическая активность увеличивает после ряда метаболических стадий².

Известно, что метаболическая активность витамина Д – это сложно контролируемый процесс, подверженный большим изменениям под воздействием таких переменных, как кальций и фосфор в пище, степень дефицита витамина Д, генетический дефицит, концентрация паратиреоидного гормона, воздействие УФ света и работа почек³. Биосинтез дигидроксилированных форм витамина Д₃ начинается с действия солнечного УФ света на 7-дегидрохолестерин с образованием витамина Д₃ в коже. Как только витамин Д₃ поступает в циркуляцию крови, он быстро попадает в печень, где превращается в 25-гидроксивитамина Д₃ (25-ОН-D₃). В печени также происходит гидроксилирование витамин Д₂, поступившего с пищей, в 25-гидроксивитамин Д₂ (25-ОН-D₂)^{2,4}.

После гидроксилирования в печени 25-ОН-D транспортируется с белком, связывающим витамин Д, в почки, где происходит дальнейшее гидроксилирование. Добавление гидроксила в позиции 1 дает 1,25 дигидроксивитамин Д (1,25 (ОН)₂ D). 1,25 дигидроксивитамин Д – самый мощный метаболит природного витамина, известный до настоящего времени, его продуцирование четко регулируется концентрацией кальция, фосфора и паратиреоидного гормона в сыворотке. В стрессовые периоды для кальция 1,25 (ОН)₂ D является самым важным метаболитом витамина Д, продуцируемым почками^{5,6}. Объясняется это его важнейшей ролью в активной абсорбции кальция и фосфора, а также их нормальном метаболизме.

При вторичном гиперпаратиреозе паратиреоидные железы увеличиваются и становятся гиперактивными. Почечная недостаточность является общей причиной вторичного гиперпаратиреоза и происходит обычно, как осложнение болезни почек, когда почка не способна выводить фосфор, продуцируемый организмом, а также неспособна продуцировать достаточное количество активной формы витамина Д (1,25 (ОН)₂ D). Накопление фосфора ведет к снижению уровня кальция в крови, что, в свою очередь, стимулирует паратиреоидные железы увеличивать продуцирование PTH,

вызывая увеличение паратиреоидных желез. По мере прогрессирования болезни паратиреоидные железы больше не реагируют на кальций или витамин Д. Такие руководства по клинической практике, как Kidney Disease Outcomes Quality Initiatives (KDOQI) и Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO), рекомендуют терапевтический режим дозирования витамина Д при хронических болезнях почек (СКД) у пациентов^{7,8}. В результате определение уровня 1,25 (ОН)₂ Д быстро становится эффективным инструментом, который влияет на метаболизм фосфора и кальция^{9,10,11}.

3. ПРИЦИП МЕТОДИКИ

Исследование на анализаторе LIAISON® XL 1,25 дигидроксивитамина Д - это модифицированное количественное определение методом сэндвич, которое использует рекомбинантный гибридный белок для захвата молекулы 1,25 (ОН)₂ D и мышинового моноклонального антитела, которое конкретно обнаруживает комплекс, сформированный рекомбинантным гибридным белком и молекулой 1,25 (ОН)₂ Д.

При первой инкубации калибровочные растворы, контрольные растворы или образцы, взятые у пациентов, инкубируют с рекомбинантным белком (строительное вещество) и буферным аналитическим раствором. После инкубации добавляют твердую фазу, содержащую специфическое моноклональное антитело, и дают ему связаться с комплектом из первой инкубации. После второй инкубации проводят цикл промывки для удаления любого несвязанного материала. Третий этап заключается в добавлении конъюгата и инкубации. Несвязанный материал удаляется со второй промывкой. Затем добавляют исходные реагенты, и начинается хемилюминесцентная реакция. Световой сигнал измеряют ФЭУ в относительных световых единицах (RLU), он пропорционален концентрации 1,25 (ОН)₂ Д в калибровочных, контрольных растворах и образцах.

4. РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ В КОМПЛЕКТЕ ПОСТАВКИ

Магнитные частицы (2,4 мл)	сорбент	Магнитные частицы покрытые мышиним моноклональным антителом, фосфатные буферы, бычий сывороточный альбумин, (BSA) Твин 20, 0.09% азид натрия
ТСЕР (4,5 мл)	буфер А	Тирс(2-карбокситил фосфин гидрохлорид), цитратный буфер и 0.09% азид натрия
Конъюгат (14,0 мл)	связывающий	Мышиное моноклональное антитело*, связанное с производным изолюминола в фосфатном буфере, твин 20, гентамицина сульфат 0,01% и ПроКлин® 0,2%
Буферный контрольный раствор (14,0 мл)		Фосфатный буфер с блокаторами, мышиный IgG, бычий сывороточный альбумин, (BSA), Твин 20, гентамицина сульфат 0.01% и ПроКлин® 300 0.2%
Количество тестов		100

ProClin торговая марка компании Dow Chemical (Dow) или филиала компании Dow.

Дополнительные компоненты набора реагентов

Калибратор 1 (2 флакона лиофилизированный)	калибратор 1	Сыворотка крови человека и фосфатный буферный раствор с 1,25(ОН) ₂ D низкой концентрации, 0.2% ProClin® 300, 0.01% гентамицина сульфата. Восстановлен 2,0 мл дистиллированной или деионизированной воды
Калибратор 2	калибратор 2	Сыворотка крови человека и фосфатный

(2 флакона лиофилизированный		буферный раствор с segu 1,25(OH)2D низкой концентрации, 0.2% ProClin® 300, 0.01% гентамицина сульфата. Восстановлен 2,0 мл дистиллированной или деионизированной воды
Связывающее вещество (4 флакона лиофилизированное	белок	Рекомбинантный гибридный белок*, Тирс(2-карбоксиил фосфин гидрохлорид), буферный раствор с манитолом и детергентом. Буферный раствор с 5,0 мл связывающего вещества для восстановления
Связывающее вещество буфер восстановления (4 x 5.5 мл)	буфер В	Вода с 0.09% азидом натрия

*Заявка на европейский патент №13152851

*Заявка на международный патент №PCT/EP2014/051482

Стандартизация: концентрации калибровочных растворов (пг/мл) относятся к внутренним стандартам.

Необходимые расходные материалы, не входящие в поставку (в зависимости от системы)

LIASON®XL анализатор
LIASON® промывочная/системная жидкость (катал.№319100)
LIASON®XL мешки для отходов (катал.№X0025)
LIASON®XL реакционные кюветы (катал.№X0016)
LIASON®XL набор реагентов для запуска реакции (катал.№319200)
LIASON®XL одноразовые наконечники (катал.№X0015)

Необходимые дополнительные расходные материалы

Контрольный набор LIAISON® XL для определения дигидроксивитамина Д 1,25 (катал.№310981) или

Контрольный набор LIAISON® XL для определения дигидроксивитамина Д 1,25 (катал.№ 310984).

Рекомендуемые дополнительные расходные материалы

Тест LIAISON® XL для определения дигидроксивитамина Д 1,25 – разбавитель (катал.№310982).

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

ТОЛЬКО ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*. НЕ ИСПОЛЬЗОВАТЬ ДЛЯ ЛЮДЕЙ ИЛИ ЖИВОТНЫХ.

- Все образцы, биологические реагенты и расходные материалы для количественного определения должны рассматриваться как потенциально передающие возбудителей инфекции. Не допускать попадания на кожу, в глаза или слизистые. Выполнять требования Надлежащей Промышленной Практики во время проведения тестов
- В аналитической лаборатории запрещено принимать пищу, пить, курить, пользоваться косметикой
- Не брать пипетку в рот
- Не допускать прямого контакта с потенциально инфекционными расходными материалами, надевать защитную лабораторную одежду, очки/маску, одноразовые перчатки


- Тщательно мыть руки после проведения каждого анализа
- Не допускать разбрызгивания или скопления аэрозолей при обращении, разведении и перемещении образцов и реагентов. Любой разлитый реагент обеззараживают 10% раствором отбеливателя (содержащим 0,5% гипохлорит натрия) и ликвидируют как потенциально инфекционный
- Отходы уничтожаются в соответствии с законодательными нормами и правилами органов, в ведомстве которых находятся лаборатории, и нормами, принятыми в каждой стране
- Не пользоваться наборами или комплектами после окончания срока годности, указанного на этикетке

Информация по химической опасности и технике безопасности. Реагенты в данном наборе классифицируют в соответствии со стандартным правилом Федерального агентства по охране труда и здоровья, закон о праве на информацию США, профессиональными нормами по контролю безопасности продуктов и профзаболеваний и применимыми европейскими директивами (см. подробнее Паспорт безопасности).

Реагенты, содержащие сырье человеческого происхождения

Предупреждение! Обращаться как с потенциально инфекционными. Все пункты забора сыворотки/плазмы, которую использовали для приготовления данного продукта, проверяли методом, утвержденным FDA, США, и признали нереактивными на присутствие антитела ВИЧ 1 и 2, поверхностного антигена гепатита В (HBsAg) и антитела гепатита С (HCV). Несмотря на высокую точность этих методов, они не гарантируют выявление всех инфицированных пунктов. Данный продукт может также содержать другие вирусы болезней человека, для проверки которых нет утвержденного теста. В силу того, что ни один известный тест-метод не может дать полную гарантию отсутствия ВИЧ, вирусного гепатита В и вирусного гепатита С либо других инфекционных агентов, со всеми продуктами, содержащими материалы человеческого происхождения, обращаться с соблюдением общих мер предосторожности и, если применимо, в соответствии с требованиями Надлежащей Лабораторной Практики, как указано в инструкциях Центра по контролю болезней и действующем руководстве национальных органов здравоохранения, микробиологических и биомедицинских лабораторий (BMBL) по биобезопасности либо действующей редакции руководства ВОЗ по лабораторной биобезопасности.

Система классификации и маркировки химических веществ)/Надлежащая Лабораторная Практика

	ProClin®	Азид натрия
CAS №	55965-84-9	26628-22-8
Реагенты	Конъюгат Контрольный буферный раствор Калибровочный раствор 1 Калибровочный раствор 2	Сорбент Буферный раствор А Буферный раствор В
Классификация	Кожная сенсibilизация, категория 1	Не требуется
Сигнальное слово	Предупреждение	Не требуется
Пиктограмма	 GHS07-восклицательный знак	Не требуется
Заявление по рискам	H317 может вызывать аллергическую кожную реакцию	Не требуется
Предупредительные заявления	P261 не вдыхать пары или спрей P272 не выносить загрязненную рабочую одежду с рабочего места P280 надевать защитные перчатки, одежду и очки	Не требуется

Реагенты, содержащие азид натрия. Азид натрия может вступать в реакцию со свинцовыми и медными трубами с образованием очень взрывоопасных металлов азидов. При уничтожении промывают большим количеством воды во избежание скопления азидов. См. Обеззараживание стоков в лабораториях, и удаление солей азидов в руководстве Надлежащая безопасная практика №CDC-22, издание Центра контроля и профилактики заболеваний, Атланта, Джорджия, 1976.

6. ПОДГОТОВКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Помните о важных мерах безопасности при работе с реагентами.

6.1 Ресуспендирование магнитных частичек

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы перед размещением набора реагентов на инструменте. Выполнять этапы, указанные ниже, для гарантии полного суспендирования.

- Прежде, чем снимать пломбу, вращайте маленькое колесо отделения с магнитными частицами, пока цвет суспензии не изменится на коричневый. Легкое и осторожное перемешивание сбоку на бок может помочь в суспендировании магнитных частичек (не допускать пенообразования). Проверьте визуально дно флакона с магнитными частицами, чтобы убедиться, что все осевшие магнитные частицы ресуспендированы.
- При необходимости повторите, пока все магнитные частицы не будут ресуспендированы.
- После удаления пломбы осторожно протрите поверхность каждой перегородки, чтобы удалить, при необходимости, остаточную жидкость.

6.2 Вспенивание реагентов

Для оптимальной эффективности набора реагента не допускать вспенивание. Для этого следовать указаниям ниже

- Визуально проверить реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены, прежде чем использовать набор реагентов. Если после ресуспендирования магнитных частичек образовалась пена, поместите набор на инструмент и подождите рассеивания пены. Набор готов к использованию после исчезновения пены, он остается на инструменте для смешивания.

6.3 Загрузка набора в область реагентов

Анализатор LIAISON®XL

- Анализатор LIAISON®XL оснащен встроенным полупроводниковым магнитным устройством, которое помогает дисперсии микрочастиц до размещения набора реагентов в области реагентов анализатора. См. подробнее руководство по работе с анализатором
 - а) Вставляют набор реагентов в щель
 - б) Оставляют набор в полупроводниковом магнитном устройстве не менее 30 секунд (до нескольких минут). При необходимости повторяют
- Помещают набор в область для реагентов анализатора этикеткой влево и оставляют на 15 минут перед работой. Анализатор автоматически мешает и полностью ресуспендирует магнитные частицы
- По загрузке образцов и их запуске см. руководство по работе с анализатором.

7. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

После получения набора реагентов хранят в вертикальном положении для облегчения ресуспендирования магнитных частичек. См. инструкции по подготовке набора. Если набор не вскрывается, реагенты остаются стабильными при 2-8°C до окончания срока годности. Не замораживать. Набор реагентов нельзя использовать после окончания срока годности, указанного на этикетке набора и набора реагентов. После

вскрытия и каждого использования запечатывать лентой в комплекте набора и хранить в вертикальном положении при 2-8°C в темном месте. После вскрытия использовать в течение 4 недель при правильном хранении. Избегать чрезмерного воздействия света.

7.1 Подготовка, хранение и стабильность связывающего агента

Важную роль играет правильное восстановление связывающего агента. Связывающий агент поставляется лиофилизированным. После получения хранят связывающий агент при 2-8°C. Восстанавливают (разводят) один флакон связывающего агента 5 мл буферного раствора для разведения связывающего агента. **Оставляют на 15 минут при комнатной температуре, затем слегка перемешивают 7 раз в инверсивном направлении.** Загружают связывающий агент на вспомогательный штатив и плавно задвигают на анализатор LIAISON®XL в течение часа после разведения. См. инструкции по использованию вспомогательного штатива.

После вскрытия и каждого использования закрывают флакон колпаком и хранят при 2-8°C. После вскрытия и разведения связывающий агент остается стабильным 2 дня.

Для каждой партии используется особый свой связывающий агент, который должен использоваться только с набором реагентов этой партии. Анализатор LIAISON®XL автоматически проверяет совпадение между связывающим агентом и набором реагентов.

8. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

В данном исследовании можно использовать сыворотку крови человека, SST сыворотку, ЭДТА-плазму и плазму с литием-гепарином. Забор крови проводят венопункцией в асептических условиях. Образцы сыворотки должны загустеть, затем сыворотку отделяют от сгустка как можно быстрее. Образцы плазмы крови центрифугируют и сразу же удаляют из ячейки. Может понадобиться очищение путем фильтрации или центрифугирования перед тестированием образцов, содержащих мутные частицы, частицы с липемией или с осевшими эритроцитами. Перед исследованием удаляют пузырьки воздуха. **Правильное обращение с образцами играет решающую роль в обеспечении целостности образцов. Образцы остаются стабильными при комнатной температуре 48 часов. Если исследование проводят в течение 14 дней после забора образцов, их можно хранить при 2-8°C, в противном случае их необходимо разделить на аликвоты и хранить в глубокой заморозке (-20°C или ниже).** Если образцы хранятся замороженными, перед исследованием их надо хорошо перемешать. Образцы можно замораживать-размораживать 4 раза. Саморазмораживающиеся холодильники не рекомендуются для хранения образцов. Минимальный объем для исследования на анализаторе – 225 µл на образец (75 µл образца для исследования) +150 µл мертвый объем (объем на дне пробирки с аликвотой, которую инструмент не может аспирировать).

9. КАЛИБРАТОРОВОЧНЫЕ РАСТВОРЫ 1 И 2

Тест LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д 1,25 калибровочные растворы поставляются лиофилизированными. Каждый флакон разводят 2,0 мл дистиллированной или деионизированной воды. Оставляют флаконы на 15 минут при комнатной температуре и слегка перемешивают в обратном направлении. Переносят минимум 400 µл (тройная калибровка) в лабораторный стакан или пластмассовую пробирку для образцов. Прикрепляют этикетку со штрих-кодом и ставят на анализатор LIAISON®XL. Калибруют образец как описано в руководстве по эксплуатации анализатора.

Тест LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д калибровочные растворы остаются стабильными 6 часов при комнатной температуре, либо **14 дней** на борту анализатора LIAISON®XL при температуре 2-8°C. Калибровочные растворы можно также разделять на аликвоты минимум 400 µл и хранить замороженными при -20°C.

Калибровочные растворы остаются стабильными на протяжении 4 циклов замораживания-размораживания. После цикла замораживания-размораживания слегка перемешивают в обратном направлении перед использованием.

Номер калибровочного раствора и набора реагентов зависит от номера партии. В одном исследовании не использовать калибровочные растворы с реагентами из другой партии.

10. КАЛИБРОВКА

Индивидуальные наборы реагентов LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д 1,25 поставляются со специальной информацией по калибровке определенной партии набора реагентов. Исследование специфических калибровочных растворов позволяет определить относительные световые единицы (RLU) для настройки основной кривой. Каждый флакон с калибровочным раствором используется для 5 калибровок. Повторная калибровка в трех подходах обязательна в случае хотя бы одного условия, указанного ниже:

- новая партия набора реагентов или стартеров (запускающих реагентов)
- прошло более **14** дней после предыдущей калибровки
- результаты контроля качества выходят за ожидаемый диапазон
- проводилось техническое обслуживание анализатора.

См. инструкции по калибровке в руководстве по эксплуатации анализатора.

Диапазон измерения. Тест-набор LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д 1,25 измеряет в пределах 5,0-200 пг/мл. Самая низкая величина 5,0 пг/мл. Значения ниже 5,0 пг/мл должны обозначаться как <5,0 пг/мл. Самая высокая величина без разведения 200 пг/мл.

Образцы, которые показывают при количественном определении значения выше диапазона, можно разводить разбавителем LIAISON®XL 1,25 для дигидроксивитамина Д (катал.№310982) и повторно тестировать.

Предлагаемая пропорция разведения: на один образец 2 части разбавителя образца.

11. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Для эффективности исследования неукоснительно соблюдать рабочие инструкции анализатора LIAISON®XL.

Анализатор LIAISON®XL. Каждый параметр теста идентифицируется через закодированную информацию в транспондере радиочастотной идентификации (RFID Tag) набора реагентов. Если идентификация не считывается анализатором, набор нельзя использовать. Не выбрасывать набор реагентов: необходимо получить информацию в службе технической поддержки DiaSorin. См. подробнее руководство по эксплуатации анализатора.

Функции анализатора

1. Дозировать контрольный буферный раствор и ТСЕР
2. Дозировать калибровочные, контрольные раствора и образцы
3. Дозировать связывающий агент
4. Инкубировать
5. Дозировать магнитные частицы с покрытием
6. Инкубировать
7. Промывать промывочной/системной жидкостью
8. Дозировать конъюгат
9. Инкубировать
10. Промывать промывочной/системной жидкостью
11. Добавлять запускающие реагенты и измерять выделяемый свет

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества проводят один раз в день проведения исследования или в соответствии с инструкциями либо требованиями местных норм или аккредитованных организаций. Рекомендуется проводить контроль в соответствии с CLSI C22-A3 и 42 CFR 493.1256(c) надлежащей практики контроля качества.

Тест-набор LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д₂®XL, контрольный набор (катал.№310981) или контрольный набор LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д (катал.№310984) предназначен для контроля существенного сбоя реагента. Контроль LIAISON®XL проводят один раз для контроля эффективности анализа. Если контрольные значения находятся в пределах ожидаемого диапазона, указанного в аналитическом паспорте, тест проходит. Если контрольные значения выходят за пределы ожидаемого диапазона, тест не проходит, а результаты анализа образцов пациента не описывают. В случае сбоя контроля проводят калибровку и повторяют контроль и исследование образцов пациента.

Эффективность других контрольных проверок оценивают на совместимость с данным исследованием, прежде чем использовать их. Устанавливают диапазон значений для контрольных материалов, используемых в исследовании.

Диапазон концентрации каждого контрольного раствора указан в аналитическом паспорте с пределами, установленными DiaSolin для контрольных значений, которые ожидают при правильном проведении исследования.

13. РАСШИФРОВКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор LIAISON®XL автоматически рассчитывает концентрации 1,25 (ОН)₂Д в образцах. Концентрация выражается в пг/мл. Для преобразования результатов в единицы СИ пг/мл $\times 2,4 =$ пмоль/л.

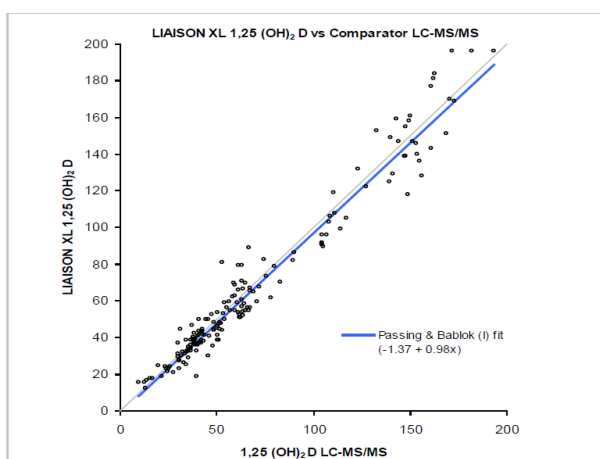
14. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. Результаты количественного определения необходимо использовать в сочетании с другими лабораторными и клиническими данными в помощь врачу-клиницисту для решений по индивидуальному управлению пациентами.
2. Для получения надежных результатов необходимо в совершенстве владеть приемами проведения анализа и неукоснительно выполнять инструкции. **Важную роль играет правильное восстановление связывающего агента.**
3. Образцы сильно гемолизированной крови, крови больных желтухой или липемией не следует использовать для анализа.
4. Бактериальная контаминация образцов может влиять на результаты теста.
5. Не нагревать инактивированную сыворотку или плазму.
6. Гетерофильные антитела в сыворотке крови человека могут реагировать на реагенты иммуноглобулина, вызывая помехи при проведении иммунологического исследования *in vitro*. Пациенты, которые длительное время общаются с животными или употребляют продукты из сыворотки животных, могут быть предрасположенными к таким помехам и аномальным результатам анализа.

Субъекты США	Среднее 1,25(ОН) ₂ Д	Полученный диапазон 2,5-97,5 процентиль
n=123	47,8 пг/мл	19,9-79,3 пг/мл

16.1 Корреляция пациентов/метод сравнения

Исследовали всего 173 образца в диапазоне количественного определения на анализаторе LIAISON®XL для определения 1,25 дигидроксивитамина Д и на компараторе исследований LC-MS/MS в соответствии с требованиями Института клинических и лабораторных стандартов EP9-A3. Исследование дало регрессия по Пассингу-Баблоку: LIAISON®XL 1,25 дигидроксивитамин Д=0,9811x-1,37;R²=0,9588.



16.2 Прецизионность

В компании DiaSorin Inc. 2 партии контрольных растворов из набора и 6 образцов сыворотки в диапазоне количественного определения проверяли дважды в день в двух экземплярах, в течение 20 дней 2 партии реагентов на 2 анализаторах LIAISON®XL. Тесты проводили в соответствии со требованиями Института клинических и лабораторных стандартов (CLIS E05-A2).

ID образца	n	Среднее 1,25(OH) ₂ D (пг/мл)	Внутри партии		Итого Между партиями	
			SD	%CV	SD	%CV
Контрольный раствор 1	160	30,9	0,84	2,7	1,16	3,8
Контрольный раствор 2	160	122,9	6,09	5,0	4,36	3,6
Сыворотка 1	160	23,3	0,05	0,2	1,53	6,6
Сыворотка 2	160	38,9	0,63	1,6	2,20	5,7
Сыворотка 3	160	52,7	0,64	1,2	2,65	5,0
Сыворотка 4	160	76,0	1,33	1,7	3,13	4,14,8
Сыворотка 5	160	137,4	1,91	1,4	6,55	5,9
Сыворотка 6	160	193,4	5,53	2,9	11,34	

16.3 LoB Предел измерения контрольного образца

В соответствии с методикой CLIS EP17-A2 предел измерения контрольного образца для LIAISON®XL 1,25 дигидроксивитамина Д равен $\leq 0,35$ пг/мл.

Предел измерения контрольного образца или самое высокое значение, которое может наблюдаться в образце, содержащем аналит, заменяет термин «аналитическая чувствительность».

16.4 LoD Предел обнаружения

В соответствии с методикой CLIS EP17-A2 предел обнаружения на анализаторе LIAISON®XL 1,25 дигидроксивитамина Д равен 0,70 пг/мл.

16.5 LoQ Предел количественного определения

В соответствии с методикой CLIS EP17-A2 предел количественного определения на анализаторе LIAISON®XL 1,25 дигидроксивитамина Д равен 5,0 пг/мл.

16.6 Линейность

Пул образцов каждого типа сыворотки, SST сыворотки, ЭДТА-плазмы и плазмы с литием-гепарином разбавляли и анализировали с помощью тест-набора LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д 1,25 в соответствии с CLSI EP6-A. Результаты анализировали при помощи регрессии полученной концентрации 1,25 (OH)₂D по сравнению с ожидаемой концентрацией 1,25(OH)₂D.

Уравнения для каждого типа образца

Сыворотка: полученная 1,25 (OH)₂D=1,014x-1,936; R²=0,9829

SST сыворотка: полученная 1,25 (OH)₂D=1,028x+0,2179; R²=0,9874

ЭДТА-сыворотка: полученная 1,25 (OH)₂D=1,02x+04,807; R²=0,9565

Плазма с литием-гепарином: полученная 1,25 (ОН)₂Д=1,023х-2,441; R²=0,9925

16.7 Восстановление

Анализировали неразбавленные 5 образцов сыворотки с высокой концентрацией и 5 образцов с низкой концентрацией. Затем готовили разведенные образцы, смешивая в точном соотношении образцы с высокой и низкой концентрацией, и тестировали последовательно 5 раз. Средние результаты 5 последовательных тестов приведены в таблице ниже.

Образцы	Заданная концентрация	Ожидаемое пг/мл	Полученное пг/мл	% восстановления
Образец с высокой концентрацией 1 (HS1) 2 HS1:1 LS1 1HS1:1 LS1 1 HS1: 2 LS1 Образец низкой концентрацией 1 (LS1)	177,4 27,8	 128,0 102,6 77,2	 121,0 97,3 73,0	 95% 95% 95%
Образец с высокой концентрацией 2 (HS2) 2 HS1:1 LS2 1HS2:1 LS2 1 HS2 2 LS2 Образец с низкой концентрацией 2 (LS2)	203,6 46,3	 151,7 125,0 98,2	 141,6 115,4 89,8	 93% 92% 91%
Образец с высокой концентрацией 3 (HS3) 2 HS3:1 LS3 1HS3:1 LS3 1 HS3 2 LS3 Образец с низкой концентрацией 3 (LS3)	181,6 38,0	 134,2 109,8 85,4	 127,0 101,8 81,7	 95% 93% 96%
Образец с высокой концентрацией 4 (HS4) 2 HS4:1 LS4 1HS4:1 LS4 1 HS4 2 LS4 Образец с низкой концентрацией 4 (LS4)	201,6 24,2	 143,0 112,9 82,7	 137,6 105,4 77,4	 96% 93% 94%
Образец с высокой концентрацией 5 (HS5) 2 HS5:1 LS5 1HS5:1 LS5 1 HS5 2 LS5 Образец с низкой концентрацией 5 (LS5)	223,8 25,3	 158,3 124,6 90,8	 148,4 111,8 85,1	 94% 90% 94%
			Средний процент восстановления	94%

16.8 Мешающие вещества

Контрольные исследования потенциальных мешающих веществ в сыворотке при 2 уровнях 1,25 (ОН)₂ Д (20 и 60 пг/мл) не выявили помех в исследовании LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д_{1,25} при самой высокой концентрации каждого вещества, перечисленного ниже. Тестирование основывалось на CLSI EP7-A2.

Лекарство/вещество	Исследуемая концентрация
Гемоглобин	300 мг/дл
Билирубин (связанный)	40 мг/дл
Билирубин (свободный)	40 мг/дл

Триглицериды	3000 мг/дл
Холестерин	400 мг/дл
Альбумин	12 г/дл
Кислота мочева	20 мг/дл
НАМА	3774 нг/мл
Ревматоидный фактор	3710 МЕ/мл
Ацетаминофен	20 мг/дл
Кислота ацетилсалициловая	65 мг/дл
Кислота салициловая	60 мг/дл
Ибупрофен	50 мг/дл
Биотин	0,1 мг/дл
Кислота аскорбиновая	6 мг/дл
Метопролол	1,2 мг/дл
Пропанола гидрохлорид	0,23 мг/дл
Гидрохлортиазид (HCTZ)	0,6 мг/дл
Фуросемид	6 мг/дл
Кислота вальпроевая	57,6 мг/дл
Спинолактон	0,6 мкг/мл
Нифедипин	43 мкг/дл
Верапамил	216 мкг/дл
Лозартан калия	2,25 мкг/мл
Вальсартан	11 мкг/мл
Тетрациклин	15,1 мкг/мл
Эналаприл	42,4 мкг/дл
Доксициклин	34,6 мкг/мл
Лизиноприл	32,7 мкг/дл

16.9 Перекрестная реактивность

Контрольные исследования потенциально веществ, вступающих в перекрестную реакцию, исследовали при помощи тест-набора LIAISON®XL для определения дигидроксивитамина Д 1,25 при концентрациях, указанных ниже. Тестирование основывалось на CLSI EP7-A2.

Перекрестные реактанты	Концентрация разведенного образца	% перекрестной реактивности
1,25 (OH) ₂ D ₃	100 pg/mL	100%
1,25 (OH) ₂ D ₂	100 pg/mL	104%
Zemplar	100 pg/mL	113%
25(OH)D ₃	100,000 pg/mL	<0.1%
25(OH)D ₂	50,000 pg/mL	<0.1%
24,25 (OH) ₂ D ₃	50,000 pg/mL	<0.1%
25,26 (OH) ₂ D ₃	50,000 pg/mL	<0.1%
3-epi 25 (OH)D ₃	50,000 pg/mL	<0.1%
Vitamin D2	50,000 pg/mL	<0.1%
Vitamin D3	50,000 pg/mL	<0.1%
Sensipar	50,000 pg/mL	<0.1%

16.10 Прозоновый эффект

Прозоновый эффект при концентрации дигидроксивитамина Д 1,25 до 5000 пг/мл не наблюдался.