

VDP

RID

*Zur in vitro Bestimmung des Vitamin-D-Bindungsprotein aus
Serum, Plasma und Urin*

*For the in vitro determination of Vitamin D binding protein from
serum, plasma and urine*

Gültig ab/valid from 30.05.2003

Artikelnummer/Catalogue No.: K 2313

Packungsgröße/Package size: 17 Tests/17 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C



Inhaltsverzeichnis	Seite/Page
Table of content	2
1. VERWENDUNGSZWECK	3
2. TESTPRINZIP	3
3. REAGENZIEN IN TESTPACKUNG	3
4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	4
5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	4
6. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN	4
7. PROBENVORBEREITUNG	5
8. TESTDURCHFÜHRUNG	5
HINWEISE	5
PIPETTIERSCHEMA	6
9. ERGEBNISSE	6
10. EINSCHRÄNKUNGEN	7
11. QUALITÄTSKONTROLLE	7
ERWARTETE ERGEBNISSE	7
12. TESTCHARAKTERISTIKA	7
NACHWEISGRENZE	7
13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	8

Table of content	Page
1. INTENDED USE	10
2. PRINCIPLE OF THE TEST	10
3. MATERIAL SUPPLIED	10
4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	11
5. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	11
6. PRECAUTIONS	11
7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	12
8. ASSAY PROCEDURE	12
PROCEDURAL NOTES	12
TEST PROCEDURE	13
9. RESULTS	13
10. LIMITATIONS	14
11. QUALITY CONTROL	14
EXPECTED VALUES	14
12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	14
LIMIT OF DETECTION	14
13. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	15

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung des Vitamin D bindenden Proteins aus Serum, Plasma und Urin. Nur zur in vitro Diagnostik.

2. TESTPRINZIP

Der vorliegende Test zur quantitativen Erfassung von Vitamin-D-bindenden-Protein (VDP) beruht auf dem Prinzip der radialen Immundiffusion (Mancini-Technik). Der in das Gelbett der Radialimmundiffusionsplatte (RID-Platte) eingearbeitete spezifische Antikörper gegen humanes VDP bildet mit dem VDP aus der zu untersuchenden Probe nach Gleichgewichtseinstellung einen sichtbaren Präzipitatring. Der Durchmesser des Präzipitatrings ist proportional der Konzentration an VDP in der zu untersuchenden Probe.

Vorteile der RID-Technik

- nur geringes Probenvolumen erforderlich (10 µl)
- keine radioaktive Belastung für das Personal

3. REAGENZIIEN IN TESTPACKUNG

Artikel Nr.	Kit Komponenten	Menge
K 2313MTP	RID Platte, gebrauchsfertig	17
K 2313ST	Standards, gebrauchsfertig (8.7; 17.5; 26; 35 mg/dl)	4 x 100 µl

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Eppendorf-Reaktionsgefäße
- Laborzentrifuge
- Pipette: 10µl
- Laborkühlschrank
- Tiefkühltruhe
- Feuchtkammer

5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Standards sind bei 2 –8 °C bis zu 4 Wochen haltbar. Bei –20 °C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum (siehe Etikett).
- Alle andern Komponenten sind bei 2 – 8 °C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil.

6. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Sind Komponenten auf Humanserum aufgebaut, sind sie auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

7. PROBENVORBEREITUNG

Plasma oder Serum

Bei 2-8 °C sind die Proben mindestens 1 Woche stabil, bei längerer Lagerung sind sie tiefzugefrieren.

Alle Proben sind im Verhältnis 1:3 mit NaCl-Lösung (0,9-prozentig) zu verdünnen (z.B. 50 µl Probe + 100 µl NaCl).

Urin

Zur Lagerung sind die Urine mit 1 N NaOH auf einen pH-Wert zwischen 6 und 8 einzustellen. Die Proben sind bei 2-8 °C eine Woche stabil, bei längerer Lagerung (mehr als 8-Tage) sind sie bei -20 °C tiefzugefrieren.

Proben mit einem DBP-Gehalt > 35 mg/dl sind im Verhältnis 1:2 mit NaCl-Lösung (0,9-prozentig) zu verdünnen (z.B. 50 µl Probe + 50 µl NaCl).

8. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumen sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik übernimmt keine Haftung.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

Pipettierschema

1. **10 µl** Standards, Kontrollen und Patientenproben (Plasma und Serum 1:3 verdünnt, Urin unverdünnt oder 1:2 verdünnt; siehe Probenvorbereitung) in vorgestanzte Löcher der RID-Platte pipettieren.
2. Platte mit Deckel verschließen und in eine feuchte Kammer stellen.
3. **40 - 48 Std.** bei Raumtemperatur inkubieren.
4. Auswertung durch Bestimmung der Präzipitatriingdurchmesser.

9. ERGEBNISSE

Zur Auswertung werden die Durchmesser der Präzipitatriinge der Standards, der Kontrollen und der Patientenproben an der Millimeterskala, die auf der RID-Platte eingeprägt ist, abgelesen oder mit einem Lineal ausgemessen. Anschließend werden die ermittelten Ringdurchmesser der Standardproben gegen die Konzentration - Ringdurchmesser auf Abszisse (linear), VDP-Konzentration auf Ordinate (logarithmisch) - auf halblogarithmisches Papier aufgetragen. An der so erstellten Eichgeraden können die VDP-Konzentrationen der Kontrollen und der Patientenproben ermittelt werden.

Serum/Plasma

Die Probenwerte werden mit dem Verdünnungsfaktor 3 multipliziert.

Urin

Sind die Proben verdünnt worden werden sie mit dem Verdünnungsfaktor 2 multipliziert.

10. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit einer VDP Konzentration größer dem größten Standard sollten verdünnt werden und nochmals im Assay eingesetzt werden.

11. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen die Kontrollen oder Pools, bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches kann Immundiagnostik die Richtigkeit der Proben nicht gewährleisten.

Erwartete Ergebnisse

Plasma oder Serum: 20 - 55 mg/dl (M= 50.800 Dalton)

Abweichungen vom Normbereich liegen vor bei:

- **Schwangerschaft** (erhöht)
- **schweren Lebererkrankungen** (erniedrigt)

Urin: < Nachweisgrenze

Erhöhte Werte weisen auf das **nephrotische Syndrom** hin.

12. TESTCHARAKTERISTIKA

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des Tests liegt bei ca. 5 mg/dl.

13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Falls für die Herstellung der Testkomponenten Humanseren verwendet wurde, sind diese auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Testkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid/Thimerosal sind giftig. Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit der Haut oder der Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Alle im Test enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zu wissenschaftlichen Zwecken oder, wenn vermerkt, zur in vitro Diagnostik eingesetzt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Datums nicht mehr verwendet werden. Einzelkomponenten verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt oder ausgetauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die, für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller- der Immundiagnostik zurück zu senden.

Arbeitsanleitung/Manual

VDP

RID

*Zur in vitro Bestimmung des Vitamin-D-Bindungsprotein aus
Serum, Plasma und Urin*

*For the in vitro determination of Vitamin D binding protein from
serum, plasma and urine*

Gültig ab/valid from 30.05.2003

Artikelnummer/Catalogue No.: K 2313

Packungsgröße/Package size: 17 Tests/17 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C



1. INTENDED USE

The *Immundiagnostik* Assay is intended for the quantitative determination of VDP in serum, plasma and urine. For in vitro diagnostic use only.

2. PRINCIPLE OF THE TEST

This test for the determination of vitamin D-binding protein (VDP) is based on a radial immunodiffusion in gel (RID, technique by Mancini). An antibody specific for the VDP is immobilised in gel on a radial immunodiffusion plate. This antibody forms a radial precipitate with the VDP from the sample. The precipitate is visualised as a ring and its diameter is directly proportional to the concentration of VDP in the sample.

Advantages of the RID-technique

- Only a small sample volume is required (10 µl)
- Non-radioactive procedure constitutes no hazard for personell

3. MATERIAL SUPPLIED

Catalogue No	Kit Components	Quantity
K 2313MTP	RID Platte, ready-to-use	17
K 2313ST	Standards, ready-to-use (8.7; 17.5; 26; 35 mg/dl)	4 x 100 µl

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- 10 µl precision pipet
- Refrigerator (2-8°C)
- Deep freezer (-20°C)
- Humidity chamber

5. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- The RID plate has been sealed in a protective pouch and is ready for use. At 2-8°C, it is stable until the expiry date printed on the kit box.
- The calibrators have been diluted to their working concentrations and are also ready for use. At 2-8°C, they are stable for four weeks after arrival. Immediate freezing to -20°C extends their stability until the expiry date printed on the kit box.

6. PRECAUTIONS

- For in vitro diagnostic use only.
- The substances could contain human source material which was tested and found to be non-reactive to HBsAg, anti-HIV-1/2, and anti-HCV. Since no method can offer complete assurance that hepatitis B virus, HIV-1/2, HVC or other infectious agents are absent, these reagents should be handled as if potentially infectious.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on kit label.

7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Plasma or Serum

At 2-8°C, the samples are stable for a week, they should be deep frozen (-20°C), if they are stored for a longer period of time. All samples should be diluted 1:3 with 0.9% NaCl (i.e. 50 µl sample + 100 µl 0.9% NaCl).

Urine

The urine samples should be adjusted with 1N NaOH to a pH of 6-8 for storage. At 2-8°C, the samples are stable for a week, they should be deep frozen (-20°C), if they are stored for more than eight days. Samples containing more than 35 mg/dL VDP should be diluted 1:2 with 0.9% NaCl (i.e. 50 µl sample + 50 µl 0.9% NaCl).

8. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- The quality control guidelines should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the test results. Immundiagnostik can therefore not be held reliable for any damage resulting from this.
- Carry out the assay with the actual manual delivered with the kit.

Test procedure

1. Pipette **10 µl** of calibrators, controls, and samples (plasma and serum diluted 1:3; urine undiluted or diluted 1:2 respectively; see unit Sample Preparation for more information) into the preformed holes in the RID plate.
2. Cover RID plate with cover and insert into the humidity chamber.
3. Incubate for **40-48 hours** at ambient temperature.
4. Evaluation of the assay by determination of the diameters of the precipitated rings.

9. RESULTS

The diameters of the precipitated rings are read from the millimetre scale that is imprinted on the RID plate or measured with a fine ruler. The evaluation is performed on semi-logarithmic paper. The measured diameters of the rings of the calibrators are linearly plotted on the x-axis against the VDP concentration on the logarithmic y-axis. The concentrations of the patient samples and of the controls can be read directly from this calibration curve.

Serum / Plasma

The results should be multiplied by the dilution factor of 3.

Urine

If the samples have been diluted, the result should be multiplied by the dilution factor of 2.

10. LIMITATIONS

Samples with VDP levels greater than the highest calibrator, should be diluted and re-assayed.

11. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends commercial control samples for internal quality control.

Control samples or serum pools should be analyzed with each run of calibrators and patient samples. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. In assays in which one or more of the quality control sample values lie outside the acceptable limits, the results for the patient sample may not be valid.

Expected values

Plasma or serum:

20-55 mg/dl (M = 50.8 kD).

Deviations of the reference range may be present in the case of pregnancy (elevated) or acute disorders of the liver (decreased).

Urine:

below the detection limit.

Elevated levels may indicate a nephritic syndrome

12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Limit of detection

The limit of detection of this test has been determined to be 5 mg/dl

13. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The test components which are made of human serum are tested for Australia antigen and HIV and found to be negative. However, since no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, these reagents should be handled as recommended for any potentially infectious human serum or blood specimen. The normal precautions for laboratory working should be observed.
- Reagents of the test package contain sodium azide as a bactericide. Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.
- All reagents in the test package are to be used for in-vitro diagnostics only.
- The reagents should not be used after the date of expiry (see label on the test package).
- Single components with different lot numbers should not be mixed or exchanged.
- The guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik can therefore not be held reliable for any damage resulting from this.