

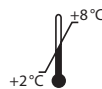
1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ ImmuTube[®] LC-MS/MS Extraktionskit / extraction kit

*Zur Extraktion von 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂
aus Plasma und Serum*

*For the extraction of 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂
from plasma and serum*

Gültig ab / Valid from 2022-05-25

REF KM1100



IVD **CE**



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK	2
2. EINLEITUNG	2
3. INHALT DES EXTRAKTIONSKITS	3
4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	4
5. LAGERUNG DER REAGENZIEN	4
6. PROBENVORBEREITUNG	4
7. VORSICHTSMASSNAHMEN	5
8. ENTSORGUNG	6
9. TECHNISCHE MERKMALE	6
10. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	6
11. LITERATUR	7

1. VERWENDUNGSZWECK

Der 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ ImmuTube® LC-MS/MS Extraktionskit ist für die Proben-
vorbereitung von 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ für die 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ LC-MS/
MS Applikation mittels Extraktion aus humanem Serum und Plasma über Immuno-
affinitätsanreicherung (ImmuTube®) bestimmt. Er ist für den manuellen Gebrauch
durch professionelles Laborpersonal anzuwenden. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Vitamin D wird entweder in der Haut (unter Einfluss von UV-Licht) gebildet oder aus
der Nahrung aufgenommen. In der Leber entsteht die Speicherform des Vitamin D,
das 25-Hydroxy-Vitamin D. In der Niere wird in einem 2. Hydroxylierungsschritt die
Hormonform des Vitamin D, das 1,25-Dihydroxy-Vitamin D (D-Hormon) gebildet. Das
dafür verantwortliche Enzym, die 1 α -Hydroxylase der Niere, unterliegt einer stren-
gen Kontrolle durch Hormone (insbesondere Parathormon) und wird in seiner Akti-
vität auch durch die Serumkonzentrationen von Calcium und Phosphat beeinflusst.

Die Serumkonzentration von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D richtet sich also normaler-
weise nach den Erfordernissen des Stoffwechsels. Abweichungen der 1,25-Dihydro-
xy-Vitamin-D-Konzentration von der Norm müssen also immer im Kontext mit den
übrigen Parametern des Calciumstoffwechsels interpretiert werden. Erst bei ausge-
prägtem Vitamin-D-Mangel wird auch die Serumkonzentration von 1,25-Dihydroxy-
Vitamin D absinken. Zur Diagnostik des Vitamin-D-Mangels sollte man deshalb den
Vorläufermetabolit, das 25-Hydroxy-Vitamin D, messen.

Ursachen für einen Mangel an 1,25-Dihydroxy-Vitamin D können jedoch Metabo-
lisierungsstörungen entweder aufgrund genetischer Defekte der 1 α -Hydroxylase
(selten) oder aufgrund von Nierenfunktionsstörungen (häufiger) sein. Bereits bei
leicht eingeschränkter Nierenfunktion kommt es zu einem Abfall der 1,25-Di-
hydroxy-Vitamin-D-Konzentration.

Da 1,25-Dihydroxy-Vitamin D wichtige Funktionen im Calciumstoffwechsel hat und
insbesondere auch die Parathormonsekretion in den Nebenschilddrüsen suppri-
miert, kommt es mit zunehmender Niereninsuffizienz zur Ausbildung der renalen
Osteopathie, die durch Mineralisierungsstörungen (Osteomalazie) und fibröse Ver-
änderungen (Osteitis fibrosa) gekennzeichnet ist.

Die Behandlung der renalen Osteopathie besteht in der Gabe von 1,25-Dihydroxy-
Vitamin D (Calcitriol) oder des Prohormons 1 α -Hydroxy-Vitamin D. Erniedrigte oder
relativ niedrige 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D-Spiegel findet man bei renalen Tubu-
lusfunktionsstörungen (z.B. Phosphatdiabetes, Fanconi-Syndrom). Eine unphysio-
logische Überproduktion von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D tritt bei granulomatösen
Systemerkrankungen (z.B. Sarkoidose) auf, wo eine extrarenale 1,25-Dihydroxy-

Vitamin-D-Synthese stattfindet. Diese kann zur Hypercalciämie führen. Auch bei der idiopathischen Hypercalciurie findet man relativ hohe 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D-Spiegel. Erhöhte 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D-Konzentrationen wurden des Weiteren in folgenden Fällen ermittelt: bei Störungen des Vitamin-D-Rezeptors (selten), bei calciumarmer Ernährung, sowie bei Parathormonüberschuss (primärer Hyperparathyreoidismus) und bei manchen Tumorarten (infolge Sekretion von parathormonähnlichem Peptid, PTHrP).

Zur Vitamin-D-Supplementierung werden zwei verschiedene Formen kommerziell angeboten: Ergocalciferol (Vitamin D₂) und Cholecalciferol (Vitamin D₃). Offiziell betrachten die Pharmakopöen diese zwei Formen als äquivalent und austauschbar aufgrund von Studien zur Rachitisprävention bei Kindern. Die 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D₃/D₂-Bestimmung dient als Maßstab für den 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D-Status und liefert objektive, quantitative Information über die biologische Antwort auf die Einnahme von Vitamin-D-Präparaten.

Indikationen

- Nierenfunktionsstörungen
Chronische Niereninsuffizienz
Hämodialyse nach Nierentransplantation
- Renale Osteopathie
- Osteomalazie bei gestörtem Vitamin-D-Metabolismus ausgelöst durch viele verschiedene Erkrankungen
- Nierentubulusfunktionsstörungen (Phosphatdiabetes, Fanconi-Syndrom)
- Überwachung einer Therapie mit aktiven Vitamin-D-Metaboliten
- Ideopathische Hypercalciurie
- Hypercalciämie

3. INHALT DES EXTRAKTIONSKITS

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
KM0003	WASHSOL	Waschlösung	1 x 80 ml
KM1100	COLUMNS	ImmuTube®-Säulen zur Extraktion des 1,25-(OH) ₂ -Vitamin D ₃ /D ₂	50 Stück
	ELUSOL	Elutionslösung	1 x 20 ml

Bitte verwenden Sie für Nachbestellungen von Einzelkomponenten als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung ohne Leerzeichen.

Folgendes Zubehör kann für den ImmuTube® LC-MS/MS Extraktionskit bei Immundiagnostik AG separat bestellt werden:

- 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ ImmuTube® LC-MS/MS Kit (KM1000)
- Tuninglösung für 1,25-Dihydroxyvitamin D₃/D₂ (KM1000TU)
- Tuninglösung für den internen Standard (KM1000TS)
- UPLC-Säule (KM1000SP)
- In-Line Filter (KM1000IF)
- In-Line Filterhalter (KM1000IH)

Bitte fordern Sie unsere Einzelkomponentenpreisliste an.

Immundiagnostik AG bietet für die 1,25-Dihydroxyvitamin D₃/D₂ LC-MS/MS-Applikation weitere Optionen zur Derivatisierung und Probenvorbereitung an. Bitte sprechen Sie uns für Ihre individuelle Lösung an.

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Glasröhrchen (Innendurchmesser 10 mm)
- Präzisionspipetten und Einmalpipettenspitzen mit variablen Volumina von 10-1 000 µl
- Multipipette
- Zentrifuge, 10 000 g für 1,5-ml-Eppendorfreaktionsgefäße bzw. 550 g für Reagenzgefäße
- Vortex-Mixer
- Vakuumzentrifuge oder Stickstoffverteiler
- Laborübliche Plastikröhrchen (Innendurchmesser 10 mm, Einmalartikel)
- Überkopfschüttler

5. LAGERUNG DER REAGENZIEN

Die Testreagenzien sollten lichtgeschützt, trocken und bei ihrer angegebenen Lager-temperatur (2–8 °C) gelagert werden. Die so gelagerten Testreagenzien sind bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar.

6. PROBENVORBEREITUNG

Als Probe eignet sich Serum und Plasma.

Proben müssen vor dem Einsatz zentrifugiert werden (mind. 5 min bei 10 000 g).

Qualitätskontrollen sollten immer mitgeführt werden.

Im Test dürfen nur Reagenzien und Proben verwendet werden, die Raumtemperatur (18–26 °C) aufweisen.

Vor Gebrauch Reagenzien und Proben gut mischen.

1.	ImmuTubes® vorsichtig vortexen und kurz zentrifugieren (30s bei 500–1000 rpm), damit die enthaltene Suspension nicht im Deckel verbleibt:
2.	Deckel der ImmuTubes® beschriften, öffnen, 500 µl Probe zügig hinzu pipettieren, ImmuTubes® verschließen und den Inhalt vorsichtig mischen.
3.	Inkubation für 1 h bei Raumtemperatur im Überkopfschüttler (15–20 rpm).
4.	Verschlossene ImmuTubes® in Plastikröhrchen setzen, 1 min bei 550 g zentrifugieren.
5.	ImmuTubes® am Auslass öffnen, dann den Deckel abschrauben und 2 min bei 550 g bis zum Eintrocknen zentrifugieren; den Durchlauf verwerfen.
6.	500 µl Waschlösung (WASHSOL) hinzu pipettieren und 2 min bei 550 g bis zum Eintrocknen zentrifugieren; den Durchlauf verwerfen. Diesen Waschschrift insgesamt dreimal durchführen.
7.	Frische Glasröhrchen beschriften, ImmuTubes® in die Glasröhrchen setzen.
8.	250 µl Elutionslösung (ELUSOL) hinzu pipettieren, 2 min bei 550 g zentrifugieren und das Eluat mit dem 1,25-(OH) ₂ -Vitamin D ₃ /D ₂ in den Glasröhrchen sammeln.
9.	Das Eluat unter Stickstoffstrom bei 37 °C oder in einer Vakuumzentrifuge eintrocknen.
10.	Den Rückstand in 165 µl einem dem Laufmittel angepassten Lösungsmittel durch 1 min intensives Vortexen lösen.

7. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Es sind die auf den Einzelkomponenten angegebenen GHS-Symbole und Spezifikationen der Sicherheitsdatenblätter (auf Anfrage bei Immun diagnostik AG erhältlich) zu beachten. Beim Arbeiten mit diesen Reagenzien sind die gesetzlichen Schutzvorkehrungen einzuhalten.

8. ENTSORGUNG

Elutionslösung (ELUSOL) muss als halogenfreier Lösungsmittelabfall entsorgt werden.

9. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Kitpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Der Assay ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Die Einzelkomponenten des Kits sind maximal für die angegebene Anzahl an Testdurchführungen ausgelegt. Ein bereits verwendeter Anteil der Komponenten darf nicht wiederverwendet, sondern muss entsprechend den lokalen Richtlinien ordnungsgemäß entsorgt werden.

10. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST












- Dieser Kit wurde nach der Verordnung (EU) 2017/746 (IVDR) hergestellt und inverkehrgebracht.
- ImmuTube® ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Diese Gebrauchsanweisung ersetzt die Version mit dem Stand 2022-05-24.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.

- Schwerwiegende Vorkommnisse sind der Immundiagnostik AG und den nationalen Aufsichtsbehörden zu melden.
- Sollten eine oder mehrere Komponenten des Testkits beschädigt, unvollständig (siehe Liste der Testbestandteile) oder Präzipitate in den gebrauchsfertigen Lösungen sichtbar sein, kontaktieren Sie bitte Immundiagnostik AG.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.

11. LITERATUR

1. Armbruster, F. et al., 1990. Extraktion und chromatographische Trennung von 1,25-(OH)₂-Vitamin D aus Serum oder Plasma ohne Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC). *Das Ärztliche Laboratorium*, **36**, pp.75–80.
2. Durham, B. et al., 1995. Comparison of the IDS Gamma-B 1,25 dihydroxy Vitamin D assay system with the Nichols Institute radioreceptor assay system. In *Proceedings of the ACB National Meeting*. Glasgow, UK: The Association of Clinical Biochemists.
3. Hollis, B.W., 1995. 1,25-DihydroxyVitamin D₃-26,23-lactone interferes in determination of 1,25-dihydroxyVitamin D by RIA after immunoextraction. *Clinical chemistry*, **41**(9), pp.1313–4.
4. Hollis, B.W., 1996. Assessment of Vitamin D nutritional and hormonal status: what to measure and how to do it. *Calcified tissue international*, **58**(1), pp.4–5.
5. Iqbal, S.J. et al., 1996. Possible interference with calcipotriol on new IDS RIA for 1,25-dihydroxyVitamin D. *Clinical chemistry*, **42**(1), pp.112–3.
6. Schilling, M., Armbruster, F.P. & Schmidt-Gayk, H., 1987. Rapid, selective separation of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ from serum with Extrelut-1 columns. *Clinical chemistry*, **33**(1), p.187.
7. Wildermuth, S. et al., 1993. Scintillation proximity assay for calcitriol in serum without high pressure liquid chromatography. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, **220**(1), pp.61–70.
8. Withold, W. et al., 1995. Evaluation of a radioimmunoassay for determination of calcitriol in human sera employing a 125I-labelled tracer. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry : journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*, **33**(12), pp.959–63.

Verwendete Symbole:

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	<i>In-Vitro</i> -Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Achtung		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		Nicht wieder-verwenden
	Eindeutige Produktkennung		

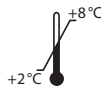
Manual

1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ ImmuTube[®] LC-MS/MS extraction kit

*For the extraction of 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂
from plasma and serum*

Valid from 2022-05-25

REF KM1100



IVD **CE**



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com www.immundiagnostik.com

Table of Contents

1. INTENDED USE	11
2. INTRODUCTION	11
3. CONTENT OF THE EXTRACTION KIT	12
4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	13
5. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	13
6. SAMPLE PREPARATION	13
7. PRECAUTIONS	14
8. DISPOSAL	14
9. TECHNICAL HINTS	15
10. GENERAL NOTES ON THE TEST	15
11. REFERENCES	16

1. INTENDED USE

The 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ ImmuTube® LC-MS/MS extraction kit is intended for the sample preparation of 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂ for the 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂ LC-MS/MS application by means of extraction from human serum and plasma via immunoaffinity enrichment (ImmuTube®). It is for manual use by laboratory professionals. For *in vitro* diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

Vitamin D is either produced in the skin (under the influence of UV light) or taken up from nourishment. The storage type of vitamin D, namely 25-hydroxy vitamin D, is formed in the liver. The hormone 1,25-dihydroxy vitamin D (D hormone) is formed in a second hydroxylation step in the kidney. The responsible enzyme, the kidney 1 α -hydroxylase, is subjected to a rigid control through hormones (especially parathyroid hormone) and its activity is influenced by the serum concentrations of calcium and phosphate.

The serum concentration of 1,25-dihydroxy vitamin D normally re-adjusts itself to the demands of metabolism. Deviations from the normal range of 1,25-dihydroxy vitamin D must therefore always be interpreted in the context of the remaining parameters of the calcium metabolism. The serum concentration of 1,25-dihydroxy vitamin D decreases only in seldom cases of vitamin D deficiency. For the diagnosis of vitamin D deficiency the precursor metabolite, 25-hydroxyvitamin D, should be measured.

The reason for a deficiency of 1,25-dihydroxy vitamin D can be found in metabolic disturbances, caused either by genetic defects of the enzyme 1 α -hydroxylase (rare) or kidney malfunctions (more common). Even a slightly impaired kidney function can lead to a decrease of the 1,25-dihydroxy vitamin D concentration.

Since 1,25-dihydroxy vitamin D has important functions in calcium metabolism as well as supplementing secretion of parathyroid hormone from the parathyroid glands, increasing kidney malfunctioning leads to development of renal osteopathy, which is characterized by osteomalacia and osteitis fibrosa.

Treatment of renal osteopathy consists of the administration of 1,25-dihydroxy vitamin D (calcitriol) or the prohormone 1 α -hydroxy vitamin D. In renal tubules malfunctions decreased or relatively low levels of 1,25-dihydroxy vitamin D (e.g. diabetes insipidus, Fanconi syndrome) are found. A non-physiological over-production of 1,25-dihydroxy vitamin D arises in granulomatosis (e.g. sarcoidosis), where extra-renal synthesis of 1,25-dihydroxy vitamin D occurs. This can lead to hypercalcaemia. Also in idiopathic hypercalciuria a relatively high level of 1,25-dihydroxy vitamin D is found. Increased concentrations of 1,25-dihydroxy vitamin D can be seen

in case of non-functional vitamin D receptors (rare), during calcium deficient nutrition, as well as a result from overproduction of parathyroid hormone (primary hyperthyroidism).

Supplemental vitamin D is available in two distinct forms: ergocalciferol (vitamin D₂) and cholecalciferol (vitamin D₃). Pharmacopoeias have officially regarded these two forms as equivalent and interchangeable, based on studies of rickets prevention in infants. The determination of 1,25-dihydroxy vitamin D₃/D₂ as a measure of 1,25-dihydroxy vitamin D status provides an objective, quantitative measure of the biological response to vitamin D administration.

Indications

- Defect of kidney functions
 - Chronic kidney failure
 - Haemodialysis following kidney transplantation
- Renal osteopathy
- Osteomalacia from various types of vitamin D metabolism disturbances
- Kidney tubules function disturbances (diabetes insipidus, Fanconi-Syndrom)
- Monitoring of therapy with active vitamin D metabolites
- Ideopathic hypercalciuria
- Hypercalcaemia

3. CONTENT OF THE EXTRACTION KIT

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
KM0003	WASHSOL	Wash solution	1 x 80 ml
KM1100	COLUMNS	ImmuTube®-Columns for extraction of 1,25-(OH) ₂ -vitamin D ₃ /D ₂	50 pieces
	ELUSOL	Elution solution	1 x 20 ml

For reorders of single components, please use the catalogue number followed by the label without space as product number.

The following accessories for the ImmuTube® LC-MS/MS extraction kit can be ordered separately at Immundiagnostik AG:

- 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂ ImmuTube® LC-MS/MS kit (KM1000)
- tuning solution for 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂ (KM1000TU)
- tuning solution for the internal standard (KM1000TS)
- UPLC column (KM1000SP)
- in-line filter (KM1000IF)
- in-line filter holder (KM1000IH)

Please ask for our single component price list.

Immundiagnostik AG offers further options for derivatization and sample preparation for the 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂ LC-MS/MS application. Please contact us for your individual solution.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Glass tubes (inner diameter 10 mm)
- Precision pipettors and disposable tips to deliver 10–1 000 µl
- Repeating dispenser
- Centrifuge capable of 10 000 *g* for 1.5 ml Eppendorf reaction tubes and 550 *g* for glass tubes, respectively
- Vortex mixer
- Vacuum centrifuge or nitrogen distributor
- Standard laboratory disposable plastic reagent vials (inner diameter 10 mm)
- Overhead rotator

5. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

The test reagents should be stored protected from light, dry and their specified storage temperature (2–8 °C). The test reagents stored in this way are usable until the indicated expiry date.

6. SAMPLE PREPARATION

Serum and plasma samples are suited for the assay.

The samples must be centrifuged before use (minimum 5 min at 10 000 *g*).

Control samples should be carried along with each run.

Prior to use in the assay, allow all samples and reagents to come to room temperature (18–26 °C).

Mix samples and reagents well before use.

1.	Vortex ImmuTubes® carefully and centrifuge (30 s at 500–1 000 rpm) that no suspension remains in the lid.
2.	Label the lids of ImmuTubes®, open ImmuTubes®, add quickly 500 µl of sample, close ImmuTubes® and mix gently.
3.	Incubation for 1 h at room temperature in an overhead rotator (15–20 rpm).
4.	Insert closed ImmuTubes® in plastic reagent vials, centrifuge for 1 min at 550 g.
5.	Open the outlet of the ImmuTubes®, then the lid and centrifuge for 2 min at 550 g to dryness; discard the flow-through.
6.	Add 500 µl of wash solution (WASHSOL) and centrifuge for 2 min at 550 g to dryness; discard the flow-through. Carry out this wash step three times in total.
7.	Label fresh glass tubes, place ImmuTubes® in the labeled glass tubes.
8.	Add 250 µl of elution solution (ELUSOL), centrifuge for 2 min at 550 g and collect the eluate with the 1,25-(OH) ₂ vitamin D ₃ /D ₂ in the glass tubes.
9.	Evaporate the eluate under a nitrogen stream at 37 °C or in a vacuum centrifuge.
10.	Vortex the residue for 1 min in 165 µl a solvent which is adjusted to the mobile phase.

7. PRECAUTIONS

- The GHS symbols indicated on the individual components and specifications of the material safety data sheets (available on request from Immunodiagnostik AG) must be noted. When working with these reagents, the legal protective precautions must be adhered to.

8. DISPOSAL

Elution solution (ELUSOL) must be disposed as non-halogenated solvents.

9. TECHNICAL HINTS

- Do not mix different lot numbers of any kit component.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.
- Plugs and caps of different reagents should not be swapped.
- The individual components of the kit are designed for a maximum of the specified number of test runs. Any part of the components that has already been used must not be reused, but must be disposed of properly in accordance with local regulations.














10. GENERAL NOTES ON THE TEST

- This product has been produced and placed on the market in accordance with the regulation (EU) 2017/746 (IVDR).
- ImmuTube® is a brand of Immundiagnostik AG.
- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- This instruction for use replaces the version dated 2022-05-24.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from wrong use.
- Serious incidents are to be reported to Immundiagnostik AG and the national regulatory authorities.
- Please contact Immundiagnostik AG if one or more components of the kit are damaged, missing (see material supplied) or precipitates are visible in the ready-to-use solutions.
- Warranty claims and complaints in respect of deficiencies must be lodged within 14 days after receipt of the product. The product shall be send to Immundiagnostik AG together with a written complaint.

11. REFERENCES

1. Armbruster, F. et al., 1990. Extraktion und chromatographische Trennung von 1,25-(OH)₂-Vitamin D aus Serum oder Plasma ohne Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC). *Das Ärztliche Laboratorium*, **36**, pp.75–80.
2. Durham, B. et al., 1995. Comparison of the IDS Gamma-B 1,25 dihydroxy Vitamin D assay system with the Nichols Institute radioreceptor assay system. In *Proceedings of the ACB National Meeting*. Glasgow, UK: The Association of Clinical Biochemists.
3. Hollis, B.W., 1995. 1,25-DihydroxyVitamin D₃-26,23-lactone interferes in determination of 1,25-dihydroxyVitamin D by RIA after immunoextraction. *Clinical chemistry*, **41**(9), pp.1313–4.
4. Hollis, B.W., 1996. Assessment of Vitamin D nutritional and hormonal status: what to measure and how to do it. *Calcified tissue international*, **58**(1), pp.4–5.
5. Iqbal, S.J. et al., 1996. Possible interference with calcipotriol on new IDS RIA for 1,25-dihydroxyVitamin D. *Clinical chemistry*, **42**(1), pp.112–3.
6. Schilling, M., Armbruster, F.P. & Schmidt-Gayk, H., 1987. Rapid, selective separation of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ from serum with Extrelut-1 columns. *Clinical chemistry*, **33**(1), p.187.
7. Wildermuth, S. et al., 1993. Scintillation proximity assay for calcitriol in serum without high pressure liquid chromatography. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, **220**(1), pp.61–70.
8. Withold, W. et al., 1995. Evaluation of a radioimmunoassay for determination of calcitriol in human sera employing a 125I-labelled tracer. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry : journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies*, **33**(12), pp.959–63.

Used symbols:

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Lot number		Use by
	Attention		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		Do not re-use
	Unique Device Identification		

Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

