

## **S-25-OH Vitamin D3, S-25-OH Vitamin D2 på LCMSMS**

S-25-OH Vitamin D3 (NPU01435)

S-25-OH Vitamin D2 (NPU26810)

### **Bakgrund, indikation och tolkning**

#### **Bakgrund**

Bakgrunden till att D-vitaminbrist sannolikt är vanligt i Sverige är bristen på solljus vintertid. Koncentrationen 25-OH-Vitamin D3 uppvisar en tydlig årstidsvariation med lägre nivåer vintertid. Detta förklaras av att större delen av kroppens D-vitamin syntetiseras i huden under inverkan av ultraviolett ljus från solen (UV-B). Under en stor del av vinterhalvåret är solstrålningen otillräcklig för att tillgodose kroppens behov av vitamin D.

Födans innehåll av D-vitamin är litet och huvudsakligen begränsat till mejeriprodukter (berikade med D-vitamin) och fet fisk. 25-OH-Vitamin D2 är sannolikt mindre potent än vitamin D3, men är i vissa delar av världen den enda form som förekommer i D-vitaminpreparat.

#### **Indikationer**

Indikation för bestämning av 25-OH-Vitamin D3 är misstänkt D-vitaminbrist; t.ex. hos äldre patienter, individer med liten solexposition, patienter med högt PTH utan känd orsak, misstänkt osteomalaci och osteoporos, malabsorption och oklara smärttillstånd i skelett och muskler.

En speciell riskgrupp utgörs av mörkhyade personer med liten exponerad kroppsyta.

Eftersom osteoporos är vanligt i Sverige och ett stort sjukvårdsproblem bör D-vitamin bestämmas betydligt oftare än idag.

Andra tillstånd för vilka man på senare tid allt mer kommit att uppmärksamma vitamin D:s roll är coloncancer, prostatacancer och bröstcancer. Ytterligare andra studier antyder ett samband mellan vitamin D och multipel skleros, diabetes, autoimmuna sjukdomar samt hjärtkärlsjukdomar men bevisen är i dessa fall ännu ofullständiga.

## Tolkning

Gränsen för vad som anses vara brist på D-vitamin har successivt höjts och enligt internationell konsensus bör koncentrationen 25-OH-Vitamin D3 vara högre än 75 nmol/L (Dawson-Hughes et al., 2005). Intoxikation ses först vid nivåer högre än 350 nmol/L och är alltid resultat av alltför stort intag av D-vitaminpreparat. Förekomst av 25-OH-Vitamin D2 anges endast om koncentrationen överstiger 10 nmol/L.

Sambandet mellan D-vitamin och osteomalaci är välstuderat; vid 25-OH-Vitamin D3 koncentrationer under 25 nmol/L utvecklas så småningom nästan alltid en osteomalaci.

Vid koncentrationer under 50 nmol/L är ofta PTH något högre än hos individer med högre 25-OH-Vitamin D3 nivåer vilket indikerar att kroppen försöker kompensera bristen på D-vitamin.

Även koncentrationer i intervallet 50 – 75 nmol/L anses av flertalet experter innebära brist på vitamin D och kan vara förenade med bl.a. ökad frakturrisik.

## Analysprincip

Till patientprovet sätts intern standard och därefter görs en proteinfällning följt av centrifugering. På supernatanten görs analys med masspektrometri (LC-MS/MS). Masspektrometern API 4000 är en trippel quadropol som består av joniseringskälla och 4 quadropoler, Q 0- Q 3, samt en detektor som reagerar på joner (positiva eller negativa). Till masspektrometern är ett HPLC-system kopplat och separation av analyterna och interfererande substanser sker i HPLC-systemets analyskolonn.

Provet kommer i vätskefas från HPLC-systemet till masspektrometers joniseringskälla (APCI, kemisk jonisering) där vätskan sprayas in. Hög spänning bidrar till en jonisering av provmolekylen och med varm kvävgas tas vätskan bort och jonerna blir fria. Jonerna kommer att passera 4 quadropoler, Q 0-Q 3. Quadropol 1 (Q1) är ett massfilter som sorterar ut analytens moderjon. I Q 2 som är en kollisioncell, slås moderjonen sönder i mindre fragment, s.k dotterjoner. Dessa fragment går vidare till Q3, som liksom Q1 är ett massfilter, där två specifika dotterjoner (positiva) sorteras ut. I detektorn, en elektronmultiplikator, mäts det specifika masstalet/laddningen (m/z) på analyterna.

Kvoten mellan provets två dotterjoner jämförs med kalibrators kvot. Om kvoten faller inom fastlagda gränser, är en interferens mycket osannolik. Koncentrationen baseras på att en av de uppmätta dotterjonerna relateras till den interna standarden.

Metodbeskrivning

**S-25-OH Vitamin D3, S-25-OH Vitamin D2**Gäller för  
Klinisk kemi

LU

**Referensintervall**

S-25-OH Vitamin D3, rekommenderad nivå > 75 nmol/L.

S-25-OH Vitamin D2 saknar rekommenderad nivå.

Källor för referensintervall:

Dawson-Hughes, B., Heaney, R.P., Holick, M.F., Lips, P., Meunier, P.J., Vieth, R. (2005) Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporosis International* 16:713-716.

**Metodkaraktistika****Interferenser och felkällor**

Barn ≤ 1 år kan ha en inaktiv epi-form av Vit D som i rutinmetoden inte kan separeras från den aktiva formen. Därför analyseras provet från dessa patienter på en alternativ analyskolonn för att utesluta förekomst av epi-form.

**Mätområde**

Mätområdet för S- 25-OH Vitamin D3 är 6-450 nmol/L. Metoden är linjär till 450 nmol/L. Vid koncentrationer högre än 450 nmol/L späds provet 1:5 och analyseras om. Mätområdet går då upp till 2250 nmol/L. Svaret läggs in som kommentar i LIMSRS.

Mätområdet för S-25-OH Vitamin D2 är 6-225 nmol/L. Metoden är linjär till 225 nmol/L. Vid koncentrationer högre än 225 nmol/L späds provet 1:5 och analyseras om. Mätområdet går då upp till 1125 nmol/L. Svaret läggs in som kommentar i LIMSRS.

**Detektionsgräns**

Nedre detektionsgräns är 6 nmol/L för båda analyterna.

**Mätosäkerhet**

S-25-OH Vitamin D3:

Nivå 33 nmol/L, CV 8 %

Nivå 133 nmol/L, CV 5 %

S-25-OH Vitamin D2:

Nivå 35 nmol/L, CV 6 %

Nivå 114 nmol/L, CV 5 %

Mätosäkerheten är baserad på 2020 års precision för interna kontroller.

Metodbeskrivning

## S-25-OH Vitamin D3, S-25-OH Vitamin D2

Gäller för  
Klinisk kemi

LU

### Spårbarhet

25-Hydroxi vitamin D3/D2, Serum Calibration Standard

Catalog number 38033, Chromsystems. Kalibratören är spårbar till NIST SRM 972.

### Övrig information

Metoden är ackrediterad.

Vitamin D2 medbestäms alltid, men svar ges endast om resultatet är > 10 nmol/L.

### Referenser

1. S.H. Scharla, C. Scheidt-Nave, Clin. Lab., 1996, 42, 475-477.
2. D. Collins, C. Jasani, I. Fogelman, R. Swaminathan, Osteoporos. Int., 1998, 8, 110-114.
3. H. Greiling, A. AM. Gressner, Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage, 1995, Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, ISBN 3-7945-1548-X.
4. H.K. Biesalski, J. Schrezenmeir, P. Weber, H. Weiß, Vitamin: Physiologie, Pathophysiologie, Therapie, 1997, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, ISBN 3-13-118401-9.
5. Holick, M.F. (2005) Estimates of optimal vitamin D status. Osteoporosis International 16: 713-716.
6. Grant, W.B., Holick, M.F. (2005) Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: A review. Alternative Medicine Review 10: 94-111.
7. Zittermann, A. (2003) Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? British Journal of Nutrition 89: 552-572.
8. Dawson-Hughes, B., Heaney, R.P., Holick, M.F., Lips, P., Meunier, P.J., Vieth, R. (2005) Estimates of optimal vitamin D status. Osteoporosis International 16: 713-716.