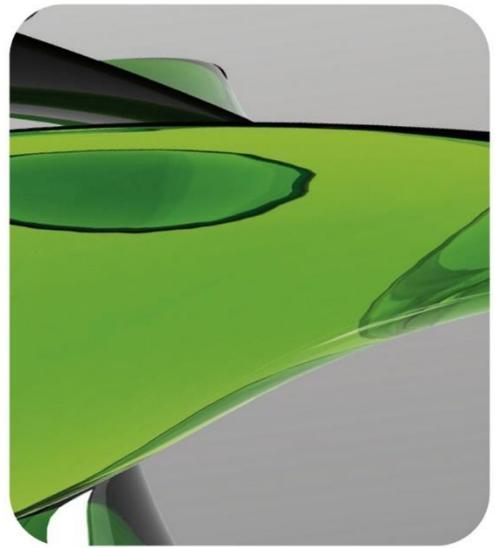




AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA[®]

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA[®] 25OH Vitamin D

Ref 3810





| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

Manual de instrucciones

Índice

| | | |
|----|---|----|
| 1 | Uso previsto..... | 1 |
| 2 | Aplicaciones clínicas y principio del ensayo..... | 1 |
| 3 | Contenido del kit..... | 2 |
| 4 | Almacenamiento y caducidad..... | 2 |
| 5 | Precauciones..... | 3 |
| 6 | Obtención, manipulación y almacenamiento de las muestras..... | 4 |
| 7 | Procedimiento del ensayo..... | 4 |
| 8 | Cálculo de los resultados..... | 8 |
| 9 | Datos técnicos..... | 9 |
| 10 | Datos de funcionamiento..... | 10 |
| 11 | Eliminación del producto..... | 11 |
| 12 | Bibliografía..... | 12 |
| 13 | Símbolos reglamentarios..... | 13 |



Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

1 Uso previsto

AESKULISA® 25OH Vitamin D ELISA es un enzimoimmunoensayo en fase sólida para la determinación cuantitativa de 25-hidroxivitamina D y otros metabolitos hidroxilados en suero humano. La prueba permite identificar el nivel general de vitamina D.

2 Aplicaciones clínicas y principio del ensayo

La vitamina D es una hormona esteroidea esencial bien conocida por su papel en la homeostasis del calcio y el metabolismo óseo. Además, interviene en varios procesos fisiológicos. Los niveles insuficientes de vitamina D están asociados a enfermedades óseas, como el raquitismo, la osteoporosis y la osteomalacia. Estudios recientes indican una correlación entre la carencia de vitamina D y una serie de trastornos no óseos, como las enfermedades cardiovasculares, autoinmunitarias e infecciosas, la diabetes y el cáncer. La intoxicación por vitamina D es muy poco frecuente, pero puede provocar calcificación vascular y tisular, con los consiguientes daños en el corazón, los vasos sanguíneos y los riñones. En el embarazo, la carencia de vitamina D puede afectar a la predisposición del feto a desarrollar enfermedades crónicas.

Existen dos formas isoméricas de vitamina D, la vitamina D₂ (ergocalciferol) y la vitamina D₃ (colecalfiferol). Aunque los alimentos como el pescado graso y los productos lácteos contienen ambas formas, la vitamina D₃ también se genera en la piel debido a la exposición al sol. En el hígado, se convierte en 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), la principal forma circulante. Tanto la vitamina D como la 25(OH)D se enlazan con la proteína de unión a la vitamina D (VDBP) en la circulación. Sin embargo, la vitamina 25(OH)D es biológicamente inactiva, por lo que debe metabolizarse a su forma biológicamente activa 1,25-dihidroxivitamina D (1,25(OH)₂D) en los riñones mediante un mecanismo estrictamente regulado.

El nivel sérico de 25-hidroxivitamina D (que representa la D₂ y/o D₃) se acepta tradicionalmente como biomarcador útil para la determinación del nivel de vitamina D (carencia, niveles insuficientes y suficientes e intoxicación) y como control terapéutico. De acuerdo con los resultados de estudios internacionales, se calcula que mil millones de personas tienen niveles de vitamina D inferiores a lo normal. En concreto, las personas con una exposición al sol limitada (personas con enfermedades crónicas o dependientes de cuidados, grupos étnicos y religiosos que llevan prendas que cubren todo el cuerpo), personas de raza no caucásica y bebés representan grupos de riesgo de deficiencia de vitamina D.

Para la determinación de los niveles de 25-hidroxivitamina D se utilizan habitualmente diversos métodos, como la espectrometría de masas por cromatografía líquida, los radioinmunoensayos, los enzimoimmunoensayos, los ensayos competitivos de unión a proteínas y los inmunoensayos quimioluminiscentes.

Principio del análisis

Los calibradores, controles y muestras se diluyen con 25(OH)D marcada con biotina y posteriormente se incuban en los pocillos de **AESKULISA 25OH Vitamin D**, que están recubiertos con un anticuerpo 25(OH)D muy específico. La 25(OH)D del suero del paciente y la 25(OH)D marcada con biotina compiten entre sí para unirse al anticuerpo de la placa. Los componentes del suero no unidos se eliminan en el siguiente paso de lavado. A continuación, se añade avidina marcada con peroxidasa de rábano picante que se une selectivamente a los complejos de biotina. Otro paso de lavado va seguido de una reacción enzimática colorimétrica (azul) en la que se utiliza el sustrato (TMB), que se detiene con ácido diluido (cambio repentino de color a amarillo). La intensidad del color del cromógeno es inversamente proporcional a la concentración de 25(OH)D en el suero.



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

3 Contenido del kit

| PARA SER RECONSTITUIDO | | | | |
|--|--------------------------|-----------------|----------------------|--|
| Artículo | Cantidad | Color del tapón | Color de la solución | Descripción/Contenido |
| Tampón de lavado (50 unidades) | 1 x 20 ml | Blanco | Verde | 50 unidades de concentrado Tris, cloruro de sodio (NaCl), Tween 20, azida sódica <0,1 % (conservante) |
| 50 unidades de concentrado de 25(OH)D biotina | 1 x 1 ml | Amarillo | N/A | 50 unidades de concentrado Tampón liofilizado con 25(OH)D marcada con biotina y estabilizadores patentados |
| LISTO PARA EL USO | | | | |
| Artículo | Cantidad | Color del tapón | Color de la solución | Descripción/Contenido |
| Control 1 | 1 x 1 ml | Rojo | Amarillo claro | Suero humano: contiene 25(OH)D y 0,09 % de azida sódica (conservante) |
| Control 2 | 1 x 1 ml | Verde | Amarillo claro | Suero humano: contiene 25(OH)D y 0,09 % de azida sódica (conservante) |
| Calibradores A-G | 7 x 1 ml | Blanco | Amarillo claro | Suero humano tamponado: contiene 25(OH)D y 0,09 % de azida sódica (conservante) |
| Tampón de 25(OH)D | 1 x 50 ml | Amarillo | Amarillo | Reactivo patentado para disociar 25(OH)D de sus ligandos |
| Conjugado | 1 x 15 ml | Azul | Azul | Peroxidasa de rábano picante marcada con avidina, proteínas, estabilizadores enzimáticos y conservantes |
| Sustrato TMB | 1 x 15 ml | Negro | Incoloro | TMB/H ₂ O ₂ estabilizado |
| Solución de paro | 1 x 15 ml | Blanco | Incoloro | Ácido clorhídrico 1M |
| Placa Microtiter | 12 x 8 tiras de pocillos | N/A | N/A | Con tiras rompibles de pocillos. Consulte el párrafo 1 para obtener información sobre revestimiento. |
| * La intensidad del color aumenta con la concentración | | | | |
| MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO | | | | |
| Filtro de lectura de 450 nm para lector de placas Microtiter y filtro de referencia recomendado de 620 nm (600-690 nm). Material de vidrio (cilindro de 100-1000 ml), tubos de ensayo de vidrio borosilicato o polipropileno para diluciones, tubos de ensayo para diluciones. Mezclador espiral, pipetas de precisión (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o pipeta múltiple ajustable (100-1000 µl). Dispositivo de lavado de la microplaca (pipeta de repetición o microcanal de 300 µl o sistema automatizado), papel absorbente. Nuestras pruebas se han diseñado para uso con agua destilada, de acuerdo con la definición de las farmacopeas de Estados Unidos (USP 26 - NF 21) y Europa (Eur.Ph. 4. ^a ed.). | | | | |

4 Almacenamiento y caducidad

Mantenga todos los reactivos y la microplaca a 2–8 °C/35,6–46,4 °F en sus recipientes originales. La solución reconstituida de 25(OH)D biotina tiene un periodo de validez de 4 semanas después de su uso si se almacena protegida de la luz a 2–8 °C/35,6–46,4 °F. Una vez abiertos, los calibradores y controles tienen una vida útil de 4 semanas a 2–8 °C/35,6–46,4 °F. La solución de lavado diluida puede conservarse durante un mes a 2–8 °C/35,6–46,4 °F. Los reactivos y la microplaca deben utilizarse únicamente hasta la fecha de caducidad indicada en cada componente. Evite la exposición intensa a la luz de la solución TMB. Guarde las microplacas en la bolsa original, incluido el desecante, y séllelas herméticamente.



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

5 Precauciones

5.1 Datos de riesgo para la salud

ESTE PRODUCTO SE HA DISEÑADO EXCLUSIVAMENTE PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Como consecuencia, el kit solo puede ser utilizado por personal con la cualificación apropiada y formación especial sobre los métodos de diagnóstico *in vitro*. Aunque este producto no se considera especialmente tóxico ni peligroso en las condiciones de uso previsto, siga estas recomendaciones para garantizar un nivel de seguridad óptimo:

Recomendaciones y precauciones

Este kit incluye componentes potencialmente peligrosos. Aunque los reactivos del kit no están clasificados como irritantes para los ojos o la piel, se recomienda evitar el contacto con los ojos y la piel, y llevar guantes desechables.

ADVERTENCIA Los calibradores, controles y tampones contienen azida sódica (NaN_3) como conservante. La NaN_3 puede ser tóxica si se ingiere o adsorbe por la piel o los ojos. La NaN_3 puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y formar acidas metálicas muy explosivas. Al desechar acida sódica, enjuague con un gran volumen de agua para evitar su acumulación. Consulte los procedimientos de descontaminación indicados en las directrices de los CDC u otras normativas locales o nacionales.

Está prohibido fumar, comer y beber mientras se manipula el kit. La pipeta no se debe llevar a la boca.

Todo el material de origen humano utilizado para algunos reactivos de este kit (controles, estándares, etc.) se ha analizado con métodos aprobados, con resultados negativos para HbsAg, hepatitis C y VIH 1. Sin embargo, ninguna prueba puede garantizar por completo la ausencia de agentes virales en dicho material. Por tanto, manipule los controles, patrones y muestras del paciente como si existiera riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas y conforme a los requisitos de su país.

Como se indica en la sección Contenido del equipo, el equipo contiene material de origen animal que debe manipularse de acuerdo con la normativa nacional.

5.2 Instrucciones generales de uso

En caso de que observe defectos o datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

No mezcle ni sustituya los controles, calibradores, conjugados ni microplacas pertenecientes a diferentes números de lote. Esto podría dar lugar a variaciones en los resultados.

Permita que todos los componentes alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C/64,4-77 °F) antes de utilizarlos, mézclelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para conseguir un rendimiento óptimo.

Incubación: Se recomienda realizar las pruebas a 25 °C (77 °F) como máximo para los sistemas automatizados.

No exponga nunca los componentes a temperaturas superiores a 30 °C (86 °F).

Pipetee siempre la solución de sustrato con puntas completamente nuevas. Proteja el reactivo de la luz. No pipetee nunca el conjugado con puntas utilizadas anteriormente con otros reactivos.

No utilice tubos de ensayo de poliestireno con **AESKULISA® 25OH Vitamin D**.

Una vez diluidas las muestras, los calibradores y los controles con la solución de biotina deben pipetearse en los pocillos en un plazo de 30 minutos.

Para garantizar que la temperatura de todas las placas se mantiene igual, no apile las placas durante la incubación.

Tape/selle las placas durante la incubación.

El diagnóstico clínico definitivo no debe basarse exclusivamente en los resultados de la prueba realizada, sino que debe realizarlo un médico de acuerdo con todos los hallazgos clínicos y los resultados de laboratorio. El diagnóstico debe confirmarse categóricamente mediante diversos métodos diagnósticos.



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

6 Obtención, manipulación y almacenamiento de las muestras

Deben utilizarse preferentemente muestras de suero recién extraídas. La extracción de sangre debe cumplir los requisitos de protocolo de su país. No deben utilizarse muestras ictericas, lipémicas, hemolizadas ni contaminadas con bacterias. Se produce una desviación positiva de los resultados en muestras de suero de pacientes que toman paricalcitol. Las muestras de suero con partículas se deben limpiar mediante centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben recogerse en tubos limpios, secos y vacíos.

Tras la separación, las muestras de suero deben utilizarse durante las primeras 8 horas. Alternativamente, las muestras de suero deben conservarse bien cerradas a 2–8 °C/35,6–46,4 °F hasta 48 horas, o congeladas a -20 °C/-4 °F durante períodos más largos. (Thomas: Labor und Diagnose; Directrices del CLSI GP44-A4)

7 Procedimiento del ensayo

7.1 Preparativos antes de comenzar

Todos los reactivos deben mantenerse a temperatura ambiente durante al menos 90 minutos antes de su uso, y deben mezclarse bien invirtiéndolos varias veces.

Reconstitución del concentrado liofilizado de 25(OH)D biotina:

Añada 3 ml de tampón de 25(OH)D al matraz con el concentrado liofilizado de 25(OH)D biotina (color azul). Inserte el tapón y deje reposar durante 10-15 minutos a temperatura ambiente. Invierta varias veces para garantizar una reconstitución completa. Vuelva a añadir el concentrado de 25(OH)D biotina reconstituido (3 ml) al matraz con el tampón restante. Mezcle bien el contenido invirtiendo el matraz. La solución diluida de biotina es verde. Después de la producción, almacene la solución **protegida de la luz** a 2-8 °C/35,6-46,4 °F.

Dilución de los reactivos concentrados:

Diluya la solución de tampón de lavado concentrada a una proporción de 1:50 con agua destilada (p. ej., 20 ml en 980 ml).

Lavado automático:

Tenga en cuenta los volúmenes de exceso requeridos para purgar el instrumento y el volumen muerto en el dispensador del aparato.

Lavado manual:

Elimine el líquido de los pocillos invirtiendo la placa. Golpee vigorosamente el marco de la microplaca con los pocillos boca abajo sobre papel absorbente limpio. Pipetee 300 µl de solución tampón de lavado diluida dentro de cada pocillo y esperar durante 20 segundos. Repita todo el procedimiento dos veces más.

Placas Microtiter:

Calcule el número de tiras necesarias para el ensayo. Quite las tiras sin usar del marco de la microplaca, guárdelas en la bolsa de plástico del kit, junto con el desecante y cierre herméticamente (2–8 °C/35,6–46,4 °F).



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

7.2 Esquema de pipeteado

Se recomienda pipetear los calibradores, controles y muestras como sigue:

| | 1 | 2 | 3 | 4... |
|----------|-------|-------|-------|------|
| A | Cal A | Cal E | Con 2 | ... |
| B | Cal A | Cal E | Con 2 | ... |
| C | Cal B | Cal F | P1 | |
| D | Cal B | Cal F | P1 | |
| E | Cal C | Cal G | P2 | |
| F | Cal C | Cal G | P2 | |
| G | Cal D | Con 1 | P3 | |
| H | Cal D | Con 1 | P3 | |

Cal A: calibrador A

Cal B: calibrador B

Cal C: calibrador C

Cal D: calibrador D

Cal E: calibrador E

Cal F: calibrador F

Cal G: calibrador G

Con 1: control 1

Con 2: control 2

P1: paciente 1


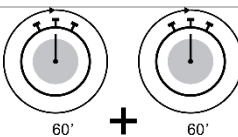
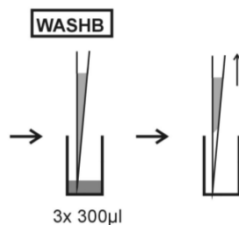


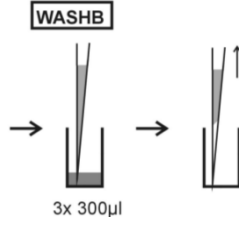
P2: paciente 2

P3: paciente 3



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |


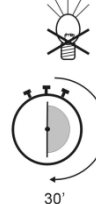
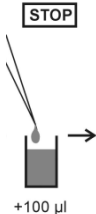


7.3 Pasos del análisis

| Paso | Descripción |
|---|---|
| 1. | Asegúrese de que los preparativos del paso 7.1 (arriba) se han llevado a cabo antes del pipeteado. |
| 2. | Etiquete un tubo de ensayo de vidrio borosilicato o polipropileno para cada calibrador, control y muestra. |
| Calibradores, controles y muestras | |
| 3. |  <p>+100 µl</p> <p>Añada 10 µl de cada calibrador, control y muestra a los tubos de ensayo etiquetados. Añada 400 µl de la solución preparada de 25(OH)D biotina a todos los tubos de ensayo. Mezcle por completo con vórtex durante 10 segundos. Añada 100 µl de cada dilución de calibrador, control o muestra al pocillo correspondiente por duplicado.</p> |
| 4. |  <p>60' + 60'</p> <p>Cubra la placa Microtiter. Incube durante 2 horas a 18-25 °C (64,4-77 °F).</p> |
| 5. |  <p>WASHB</p> <p>3x 300µl</p> <p>Aspire el líquido de cada pocillo y lave la placa tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido en una proporción 1:50). Aspire el líquido después de cada ciclo de lavado.</p> |
| CONJUGADO | |
| 6. |  <p>CONJ</p> <p>+100 µl</p> <p>Añada 100 µl de solución de conjugado enzimático a cada pocillo en los 5 minutos siguientes al paso de lavado.</p> |
| 7. |  <p>30'</p> <p>Cubra la placa Microtiter. Incube durante 30 minutos a 18-25 °C (64,4-77 °F).</p> |
| 8. |  <p>WASHB</p> <p>3x 300µl</p> <p>Aspire el líquido de cada pocillo y lave la placa tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido en una proporción 1:50). Aspire el líquido después de cada ciclo de lavado.</p> |



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

SUSTRATO

| | | |
|---------------|---|--|
| 9. |  | Añada 100 µl de solución de sustrato TMB a cada pocillo en los 5 minutos siguientes al paso de lavado. |
| 10. |  | Cubra la placa Microtiter. Incube durante 30 minutos a 18-25 °C (64,4-77 °F) y evite que reciba luz intensa. |
| <h3>PARO</h3> | | |
| 11. |  | Pipetee 100 µl de solución de paro en cada pocillo siguiendo el mismo orden que al pipetear el sustrato. |
| 12. |  | Incube durante 5 minutos a temperatura ambiente. |
| 13. | | Agite la placa suavemente durante 5 segundos. |
| 14. |  | Lea la absorbancia a 450 nm (se recomiendan 620 nm) durante los 30 minutos siguientes. |

8 Cálculo de los resultados

La **evaluación cuantitativa** se basa en una curva estándar en la que la densidad óptica de los calibradores (eje y) se representa gráficamente frente a la concentración en ng/ml (eje x). Se recomienda utilizar un gráfico logarítmico-lineal para la evaluación. Se requiere una adaptación de curva logística de 4 parámetros (4PL) que incluya el calibrador "A". No se recomiendan otros algoritmos para la adaptación de curvas. Mediante la curva, la concentración de 25(OH) vitamina D se establece a partir de la densidad óptica de la muestra.

Como alternativa, es posible dibujar una curva de calibración en papel cuadrulado semilogarítmico. La absorción media se representa en el eje y, en comparación con la concentración de 25(OH) vitamina D en el eje x. El calibrador A debe estar en la curva de calibración.

Conversión de las unidades:

Conversión de los resultados en unidades de masa

$$\text{ng/ml} = \text{nmol/l} \times 0,40$$

Conversión de los resultados en unidades SI

$$\text{nmol/l} = \text{ng/ml} \times 2,5$$

Ejemplo de curva estándar

Debe prepararse una nueva curva de calibración para cada prueba. Tenga en cuenta que las concentraciones del calibrador son específicas de cada lote.

No utilice este ejemplo para evaluar sueros de paciente

| Calibrador | Concentración (ng/ml) | DO 450/620 nm |
|------------|-----------------------|------------------|
| A | 0,37 | 2,224 |
| B | 5,27 | 1,589 |
| C | 10,23 | 1,270 |
| D | 21,38 | 0,895 |
| E | 36,95 | 0,644 |
| F | 57,56 | 0,474 |
| G | 90,20 | 0,336 |

Ejemplo de cálculo

| Paciente | Réplica (DO) | Media (DO) | Resultado (ng/ml) | Resultado (nmol/l) |
|----------|--------------|------------|-------------------|--------------------|
| P 01 | 1,075/1,125 | 1,100 | 14,26 | 35,65 |
| P 02 | 0,488/0,458 | 0,473 | 57,81 | 144,53 |

Las muestras con concentraciones de 25(OH)D superiores al intervalo de medición deben diluirse y reevaluarse con una muestra de suero humano de baja concentración. Los resultados de las muestras diluidas deben multiplicarse por el factor de dilución correspondiente y corregirse para tener en cuenta la baja concentración de la muestra.

Para conocer los datos específicos del lote, consulte el folleto del control de calidad adjunto. Los laboratorios médicos deberían realizar un control de calidad interno con controles propios y/o una mezcla de sueros interna, tal y como contemplan las normativas del país.

El kit contiene los dos controles que ayudan a validar los resultados obtenidos con cada placa de ensayo. Si un valor de control se encuentra fuera del intervalo aceptable, deberá evaluarse la validez de los resultados determinando si el valor de control se desvía significativamente de las medias de las series de laboratorio. Será necesario comprobar los siguientes factores técnicos: fechas de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenamiento, pipetas, equipo empleado, condiciones de incubación y métodos de lavado.

Si al analizar los elementos se obtuvieron valores anómalos, se produjo algún tipo de desviación o los criterios de validación no se cumplieron por algún motivo no indicado, póngase en contacto con el fabricante o el proveedor del producto.



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

Evaluación de los valores

No se ha establecido la concentración óptima de 25(OH)D. Hay muchos factores que pueden influir en los valores, por ejemplo, la nutrición, la hora del día, la época del año, la ubicación geográfica, la exposición a la luz solar, la edad, el color de la piel y los antecedentes genéticos. Cada laboratorio debe establecer una zona de distribución propia para la población local.

El Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) alemán recomienda, de conformidad con la Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Institute of Medicine (IOM) y el National Institute of Health (NIH), los siguientes intervalos de referencia para la concentración sérica de 25OH vitamina D ^{1, 2}.

| | | |
|-----------------------------|---------------|----------------|
| Deficiencia grave | <12 ng/ml | <30 nmol/l |
| Insuficiencia | 12 - 20 ng/ml | 30 - 50 nmol/l |
| Suficiencia | ≥20 ng/ml | ≥50 nmol/l |
| Intoxicación por vitamina D | >160 ng/ml | >400 nmol/l |

¹ Sociedad Alemana de Nutrición: Ann. Nutr. Metab., 60:241–246, 2012

² Institute of Medicine, Food and Nutrition Board: Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: National Academy Press, 2010.

9 Datos técnicos

| | |
|-----------------------------|--|
| Material de muestra: | Suero |
| Volumen de muestra: | 10 µl en suero |
| Tiempo total de incubación: | 3 horas a 18-25 °C (64,4-77 °F) |
| Rango del calibrador: | 0 - 100 ng/ml (0 - 250 nmol/l), lote específico |
| Sensibilidad analítica: | |
| LdB | 1,51 ng/ml (3,78 nmol/l) |
| LdD | 3,66 ng/ml (9,15 nmol/l) |
| LdC | 4,54 ng/ml (11,35 nmol/l) |
| Almacenamiento: | 2–8 °C/35,6–46,4 °F; use exclusivamente los viales originales. |
| Número de determinaciones: | 96 análisis |

10 Datos de funcionamiento

10.1 Intervalo normal

Se analizó el suero de donantes sanos con **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, con la siguiente distribución:

| Número de muestras: | Media | Mediana | Concentración máxima de 25(OH)D | Concentración mínima de 25(OH)D |
|---------------------|-------------|-------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 120 | 19,14 ng/ml | 18,12 ng/ml | 58,02 ng/ml | <4,54 ng/ml |

También recomendamos que cada laboratorio establezca un intervalo normal propio.

10.2 Precisión

La precisión de los resultados de prueba obtenidos con **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810 se evaluó mediante la determinación de la precisión intra e interensayo y de las variaciones de lote a lote. Para ello, se realizó un análisis en múltiples muestras con diversas concentraciones de vitamina D.

| ID de la muestra | Precisión intraensayo | | Precisión interensayo | | Precisión de lote a lote | |
|------------------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|--------------------------|-------|
| | Media (ng/ml) | CV | Media (ng/ml) | CV | Media (ng/ml) | CV |
| Muestra 1 | 7,62 | 12,77 | 7,62 | 17,28 | 7,77 | 12,85 |
| Muestra 2 | 17,68 | 11,40 | 17,68 | 14,17 | 17,38 | 7,89 |
| Muestra 3 | 26,50 | 8,16 | 26,50 | 12,00 | 24,08 | 9,65 |
| Muestra 4 | 31,19 | 8,68 | 31,19 | 12,62 | 29,54 | 6,91 |
| Muestra 5 | 36,87 | 7,62 | 36,87 | 10,30 | 34,94 | 7,10 |
| Muestra 6 | 60,15 | 12,56 | 60,15 | 12,23 | 59,09 | 14,78 |

10.3 Sensibilidad

El límite de blanco (LdB), el límite de detección (LdD) y el límite de cuantificación (LdC) se investigaron mediante varios análisis de tampones de muestras y muestras positivas bajas.

Se determinaron los siguientes valores para **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810:

| Sensibilidad | Concentración de 25(OH)D | |
|--------------|--------------------------|--------------|
| LdB | 1,51 ng/ml | 3,76 nmol/l |
| LdD | 3,66 ng/ml | 9,15 nmol/l |
| LdC | 4,54 ng/ml | 11,35 nmol/l |

10.4 Especificidad

Para determinar la especificidad de **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810, se introdujeron metabolitos endógenos y sintéticos de vitamina D en muestras de suero, y se midieron los siguientes resultados:



| Reacción cruzada | Concentración pico (ng/ml) | Media (%) Reactividad cruzada |
|--|----------------------------|----------------------------------|
| 25(OH)D ₃ | 10,0 20,0 | 95 % |
| 25(OH)D ₂ | 10,0 20,0 | 109 % |
| 24,25(OH) ₂ D ₃ | 4,0 6,0 | 91 % |
| 3-epi-25(OH)D ₃ | 100 | -1 % |
| 3-epi-25(OH)D ₂ | 100 | -1 % |
| 1,25-(OH) ₂ D ₃ | 2 | 5 % |
| 1,25-(OH) ₂ D ₂ | 20 | 84 % |
| Vitamina D ₃ (colecalfiferol) | 1000 | 0 % |
| Vitamina D ₂ (ergocalciferol) | 100 | 6 % |
| Paricalcitol | 100 | 17 % |

10.5 Linealidad

Tres sueros que abarcaban la totalidad del intervalo de prueba se diluyeron en serie con una muestra de suero muy deficiente. Los valores medidos y previstos de las distintas diluciones se utilizaron para calcular una regresión lineal. Para la prueba **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810, la regresión lineal de las concentraciones observadas en comparación con las concentraciones previstas arrojó un coeficiente de correlación de $R^2 = 0,99$.

10.6 Comparación de métodos

La prueba **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810, se comparó con otro ensayo comercializado para la determinación cuantitativa de 25(OH) vitamina D. En total, se analizaron 110 muestras con concentraciones de 25(OH) vitamina D de 6,74 ng/ml a 71,98 ng/ml. Se realizó un análisis de regresión Passing-Bablok para las muestras comparativas:

| n | Pendiente | IC del 95 % | Interceptor | IC del 95 % | R ² |
|----|-----------|---------------|-------------|----------------------|----------------|
| 80 | 0,898 | 0,828 a 0,970 | 0,692 ng/ml | -0,980 a 2,553 ng/ml | 0,901 |

11 Eliminación del producto

Cumpla los requisitos de la normativa correspondiente



| | |
|--------------------|-----------------|
| Ref. del producto | 3810 |
| Desc. del producto | 25OH Vitamin D |
| Rev. manual no. | 008: 2025-03-06 |

12 Bibliografía

Dusso AS et al. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289(1):F8-28.

Holick MF. The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr.* 2005;135(11):2739S-48S.

Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc.* 2006;81(3):353-73.

Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266-81.

Cannell JJ et al. Diagnosis and treatment of vitamin D deficiency. *Expert Opin Pharmacother.* 2008;9(1):107-18.

Zerwekh JE. Blood biomarkers of vitamin D status. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(4):1087S-91S.

Kennel KA et al. Vitamin D deficiency in adults: when to test and how to treat. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(8):752-7.

Wallace AM et al. Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations. *Steroids.* 2010;75(7):477-88.

Sempos CT et al. Vitamin D Standardization Program (VDSP). Vitamin D status as an international issue: national surveys and the problem of standardization. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2012;243:32-40.

Gröber U et al. Vitamin D: Update 2013: From rickets prophylaxis to general preventive healthcare. *Dermatoendocrinol.* 2013;5(3):331-47.

Hosseini-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc.* 2013;88(7):720-55.

Wacker M, Holick MF. Vitamin D - effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients.* 2013;5(1):111-48.




















Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017;18(2):153-165.

Phinney KW et al. Baseline Assessment of 25-Hydroxyvitamin D Reference Material and Proficiency Testing/External Quality Assurance Material Commutability: A Vitamin D Standardization Program Study. *J AOAC Int.* 2017 1;100(5):1288-1293.

Burdette CQ et al. Establishing an Accuracy Basis for the Vitamin D External Quality Assessment Scheme (DEQAS). *J AOAC Int.* 2017;100(5):1277-1287.

Bouillon R, Carmeliet G. Vitamin D insufficiency: Definition, diagnosis and management. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;32(5):669-684.

13 Símbolos reglamentarios

| | | |
|---|---|--|
|  | - Diagnosi in vitro - Pour diagnostic in vitro - In Vitro Diagnostikum - Para uso Diagnóstico in vitro | - For in vitro diagnostic use - Para uso diagnóstico in vitro - In Vitro Διαγνωστικό μέσο |
|  | - Numero d'ordine - Référence Catalogue - Bestellnummer - Número de catálogo | - Catalogue number - Numéro de catálogo - Αριθμός παραγγελίας |
|  | - Descrizione lotto - Lot - Chargen Bezeichnung - Lote | - Lot - Lote - Χαρακτηρισμός παρτίδας |
|  | - Identificatore univoco del dispositivo - Identifiant unique de l'appareil - eindeutige Produktidentifizierung - Identificador único do dispositivo | - Unique Device Identifier - Identificador único del dispositivo - Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής |
|  | - Conformità europea - Déclaration CE de Conformité - Europäische Konformität - Declaração CE de Conformidade | - EC Declaration of Conformity - Declaración CE de Conformidad - Ευρωπαϊκή συμφωνία |
|  | - 96 determinazioni - 96 tests - 96 Bestimmungen - 96 Testes | - 96 tests - 96 pruebas - 96 προσδιορισμοί |
|  | - Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso - Voir les instructions d'utilisation électronique - Elektronische Gebrauchsanweisung beachten - Seguir as instruções electrónicas de utilização | - See electrical instructions for use - Siga las instrucciones electrónicas de uso - Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης |
|  | - Da utilizzarsi entro - Utilise avant le - Verwendbar bis - Utilizar antes de | - Use by - Utilizar antes de - Χρήση μέχρι |
|  | - Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F) - Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F) | - Store at 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F) - Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F) |
|  | - Prodotto da - Fabriqué par - Hergestellt von - Fabricado por | - Manufactured by - Fabricado por - Κατασκευάζεται από |
|  | - Controllo - Contrôle - Kontrolle - Controllo | - Control - Control - ορός ελέγχου |
|  | - Calibratore - Etalon - Kalibrator - Calibrador | - Calibrator - Calibrador - Αντιδραστήριο βαθμονόμησης |
|  | - Coniugato - Conjugé - Konjugat - Conjugado | - Conjugate - Conjugado - Σύζευγμα |
|  | - Micropietra rivestita - Microplaque sensibilisée - Beschichtete Mikrotiterplatte - Microplaca revestida | - Coated microtiter plate - Microplaca sensibilizada - Επικαλυμμένη μικροπλάκα |
|  | - Tampone di lavaggio - Tampon de Lavage - Waschpuffer - Solução de lavagem | - Wash buffer - Solución de lavado - Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης |
|  | - Tampone substrato - Substrat - Substratpuffer - Substrato | - Substrate buffer - Tampón sustrato - Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος |
|  | - Reagente bloccante - Solution d'Arrêt - Stopreagenz - Solução de paragem | - Stop solution - Solución de parada - Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης |
|  | - Concentrato di biotina 25-D - Concentré de biotine 25-D - 25(OH)D-Biotinkonzentrat - Concentrado de biotina 25-D | - 25(OH)D biotin concentrate - Concentrado de 25-D biotina - συμπύκνωμα 25(OH) D βιοτίνης |
|  | - Tampone de 25(OH)D - Tampon de 25(OH)D - 25(OH)D Puffer - Tampão de 25(OH)D | - 25(OH)D buffer - Tampón de 25(OH)D - Διάλυμα 25(OH)D |