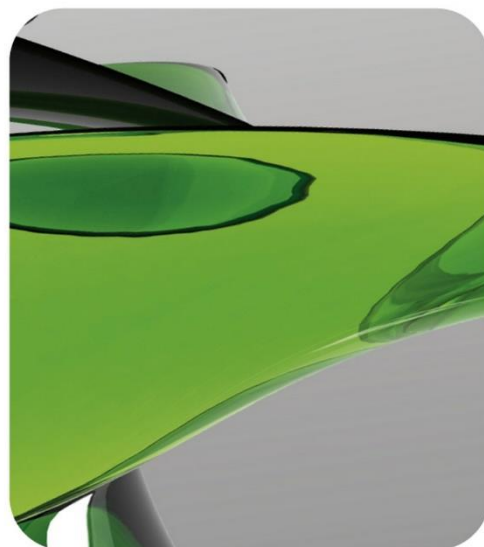




AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® 25OH Vitamin D

Ref 3810





Product Ref.	3810
Product Desc.	25OH Vitamin D
Manual Rev. No.	008: 2025-03-06

Istruzioni per l'uso

Indice

1	Uso Previsto	1
2	Applicazione clinica e principio del test	1
3	Contenuto del kit.....	2
4	Conservazione e durata.....	2
5	Precauzioni d'uso.....	2
6	Raccolta, manipolazione e conservazione del campione	3
7	Procedura del test.....	4
8	Calcolo dei risultati.....	8
9	Dati Tecnici.....	9
10	Dati/caratteristiche del test.....	10
11	Smaltimento.....	11
12	Bibliografia.....	12
13	Simboli normativi	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

1 Uso Previsto

AESKULISA® 25OH Vitamina D Totale è un test immunoenzimatico in fase solida per la misurazione quantitativa in vitro di 25-idrossivitamina D₂ e D₃ (25(OH) D₂ e 25(OH) D₃) nel siero. Il test serve per identificare il livello della vitamina D nel siero.

2 Applicazione clinica e principio del test

La vitamina D è un ormone steroideo fondamentale, molto conosciuta per il suo ruolo nell'omeostasi del calcio e nel metabolismo osseo. Essa è inoltre coinvolta in numerosi processi fisiologici. Insufficienti livelli di vitamina D sono associati a patologie dell'apparato scheletrico come rachitismo, osteoporosi e osteomalacia. Studi recenti indicano una correlazione tra carenza di vitamina D e numerose patologie non scheletriche, come malattie cardiovascolari, autoimmuni e infettive nonché diabete e cancro. L'intossicazione da vitamina D è molto rara, ma può determinare una calcificazione vascolare e dei tessuti, con conseguenti danni a cuore, vasi sanguigni e reni. In gravidanza, la carenza di vitamina D potrebbe influire sulla predisposizione del feto a sviluppare malattie croniche.

Esistono due forme isomeriche di vitamina D: la vitamina D₂ (ergocalciferolo) e la vitamina D₃ (colecalfiferolo). Entrambe le forme sono contenute nel pesce grasso e nei prodotti lattierocaseari, la vitamina D₃ viene anche prodotta nella pelle in seguito all'esposizione solare. Nel fegato, essa viene convertita in 25-idrossivitamina D (25(OH)D), la forma principale in circolazione. Nella circolazione, la vitamina D e la 25(OH)D sono legate alla proteina legante della vitamina D (VDBP). Tuttavia, la 25(OH)D è biologicamente inattiva e deve essere metabolizzata nella sua forma biologicamente attiva 1,25-diidrossivitamina D (1,25(OH)₂D) attraverso un preciso meccanismo renale.

Il livello sierico di 25-idrossivitamina D (che rappresenta la D₂ e/o la D₃) è stato ampiamente accettato come biomarcatore utile alla determinazione dei livelli di vitamina D (carenza, insufficienza, intossicazione) e come controllo della terapia. Sulla base di studi a livello mondiale, è stato stimato che 1 miliardo di persone hanno livelli di vitamina D al di sotto della norma. In particolare, vengono considerati gruppi a rischio di carenza di vitamina D le persone con limitata esposizione al sole (malati cronici o individui non autosufficienti, gruppi etnici e religiosi che indossano indumenti che coprono l'intero corpo), soggetti non caucasici e bambini.

I metodi utilizzati di routine per la determinazione della quantità di 25-idrossivitamina D sono la cromatografia liquida, la spettrometria di massa, l'analisi radioimmunologica, i test immunoenzimatici, i dosaggi competitivi a legame proteico e i test immunologici di chemiluminescenza.

Principio del test

AESKULISA® 25OH Vitamin D è un test immunoenzimatico (ELISA) in fase solida eseguito su Micropiastre. I campioni di siero vengono incubati nei pozzetti, consentendo alla vitamina D 25OH totale (D₂ e D₃) presente nel siero di dissociarsi dalle proteine sieriche leganti e di legarsi a un anticorpo monoclonale. Dopo un ciclo di lavaggio, una quantità definita di vitamina D 25OH marcata con biotina in presenza di perossidasi di rafano (HRP) compete con la vitamina D 25OH sierica non marcata, legata all'anticorpo monoclonale. L'eccesso di vitamina D 25OH marcata con biotina viene eliminato dopo l'incubazione. L'aggiunta su substrato TMB genera una reazione enzimatica colorimetrica (blu), che viene fermata con l'aggiunta di acido diluito (il colore vira al giallo). L'intensità del colore formatosi dopo la reazione cromogenica deriva dalla quantità di vitamina D 25OH marcata con biotina legata all'anticorpo monoclonale, ed è inversamente proporzionale alla concentrazione di vitamina 25OH D₃ e D₂ presente nei campioni. La concentrazione della vitamina 25OH D₃ e D₂ presente nei campioni viene determinata tramite interpolazione della dose utilizzando la curva di calibrazione ottenuta dall'assorbanza degli standard.



3 Contenuto del kit

DA DILUIRE PRIMA DELL'USO				
COMPONENTE	Quantità	Colore Tappo	Colore Soluzione	Descrizione / Componenti
Tampone di Lavaggio (50x)	1 x 20ml	Bianco	Verde	Concentrato 50 x Tris, NaCl, Tween 20, sodium azide < 0.1% (conservante)
25(OH)D biotina concentrate 50x	1 x 1ml	Giallo	N/A	Concentrato 50x Tampone liofilizzato con 25 (OH) D marcato con biotina e stabilizzatori brevettati
PRONTI PER USO				
COMPONENTE	Quantità	Colore Tappo	Colore Soluzione	Descrizione / Componenti
Controllo 1	1 x 1ml	Rosso	Giallo Chiaro	Siero umano: contiene 25 (OH) D e 0,09% di sodio azide (conservante)
Controllo 2	1 x 1ml	Verde	Giallo Chiaro	Siero umano: contiene 25 (OH) D e 0,09% di sodio azide (conservante)
Calibratori A-G	7 x 1ml	Bianco	Giallo Chiaro	Tampone di Siero umano: contiene 25 (OH) D e 0,09% di sodio azide (conservante)
25(OH)D buffer	1 x 50ml	Giallo	Giallo	Reagente brevettato per dissociare 25 (OH) D dai suoi ligandi
Coniugato	1 x 15ml	Blu	Blu	Perossidasi di rafano marcata con avidina, proteine, stabilizzanti enzimatici e conservanti
Substrato TMB	1 x 15ml	Nero	Incolore	Tetrametilbenzidina stabilizzata e Perossido di Idrogeno TMB/H2O2
Soluzione di Stop	1 x 15ml	Bianco	Incolore	Acido Cloridrico 1M
Micropiastro	12 x 8 colonne pozzetti	N/A	N/A	Con pozzetti separabili. Fare riferimento al paragrafo 1 per il rivestimento.
* L'intensità di colore che aumenta con la concentrazione				
MATERIALE OCCORRENTE MA NON FORNITO				
Lettore per Micropiastre con filtro di lettura da 450 nm e filtro di riferimento consigliato da 620 nm (600-690 nm). Articoli in vetro (cilindro 100-1000ml), provette in vetro borosilicato o polipropilene per diluizioni. Agitatore vortex, pipette di precisione (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o multi-pipetta regolabile (100-1000µl). Dispositivo di lavaggio per Micropiastre (pipetta a ripetizione o multicanale da 300 µl o sistema automatizzato), carta adsorbente. I nostri test sono progettati per essere utilizzati con acqua purificata secondo la definizione della Farmacopea degli Stati Uniti (USP 26 - NF 21) e della Farmacopea Europea (Eur.Ph. 4a ed.).				

4 Conservazione e durata

Conservare tutti i reagenti e la micropiastro a 2-8 °C/35,6-46,4 °F, nei contenitori originali. La soluzione di biotina 25 (OH) D ricostituita ha una durata di conservazione di 4 settimane dopo l'uso se protetta dalla luce a 2-8 °C/35,6-46,4 °F. Dopo essere stati aperti, i calibratori e i controlli hanno una durata di 4 settimane a 2-8 °C/35,6-46,4 °F. La soluzione di lavaggio diluita può essere conservata per un mese a 2-8 °C/35,6-46,4 °F. I reagenti e la micropiastro devono essere utilizzati solo entro la data di scadenza indicata su ciascun componente. Evitare l'esposizione intensa della soluzione TMB alla luce. Conservare le Micropiastre nella busta originale, compreso l'essiccante, e sigillarle ermeticamente.

5 Precauzioni d'uso

5.1 Dati sui rischi per la salute

QUESTO PRODOTTO È CONCEPITO SOLO PER LA DIAGNOSTICA IN VITRO. L'utilizzo di questo kit è consentito solo a personale addestrato, con ottima conoscenza dei metodi di



Product Ref.	3810
Product Desc.	25OH Vitamin D
Manual Rev. No.	008: 2025-03-06

diagnostica in vitro. Sebbene questo prodotto non sia considerato particolarmente tossico o pericoloso nelle normali condizioni d'uso, attenersi a quanto segue per la massima sicurezza:

Raccomandazioni e precauzioni

Questo kit contiene componenti potenzialmente pericolosi. Nonostante i reagenti del kit non siano classificati tra le sostanze irritanti per gli occhi e la pelle, raccomandiamo di evitare il contatto con occhi e pelle e di indossare guanti usa e getta

ATTENZIONE! I calibratori, i controlli e i tamponi contengono il conservante azotidrato di sodio (NaN_3). L' NaN_3 potrebbe essere tossico se ingerito o assorbito attraverso occhi o pelle.

L' NaN_3 potrebbe reagire con tubazioni di scarico in piombo e rame, formando azotidrati metallici altamente esplosivi. Durante lo smaltimento, far scorrere molta acqua per evitare la formazione di azotidrati. Fare riferimento alle procedure di decontaminazione indicate dalla CDC o ad altre indicazioni locali/nazionali.

Non fumare, mangiare o bere mentre si maneggia il kit. Non pipettare usando la bocca.

Tutti i materiali di origine umana utilizzati per alcuni reagenti di questo kit (controlli, standard, ecc.) sono stati sottoposti a test secondo metodi approvati, e sono risultati negativi a HbsAg, epatite C e HIV 1. Tuttavia, nessun test è in grado di garantire la totale assenza di agenti virali in tali materiali. Occorre quindi trattare i controlli del kit, gli standard e i campioni paziente come potenziali trasmettitori di malattie infettive e in conformità alle normative locali.

Il kit contiene le sostanze di origine animale indicate nella tabella dei componenti.

Maneggiare nel rispetto delle normative nazionali.

5.2 Indicazioni generali per l'uso

Se le informazioni sul prodotto, etichette incluse, risultassero mancanti o inesatte, contattare il produttore o il fornitore del kit.

Non mischiare o sostituire i controlli, i calibratori, i coniugati o le Micropiastre appartenenti a lotti con numeri diversi, per evitare di causare variazioni nei risultati.

Per uno svolgimento ottimale del test, attendere che tutti i componenti raggiungano la temperatura ambiente prima dell'uso, miscelare bene e seguire lo schema di incubazione raccomandato.

Incubazione: per i sistemi automatizzati, raccomandiamo di eseguire il test a 25 °C/77 °F.

Non esporre i componenti a temperature superiori a 30 °C/86 °F.

Pipettare la soluzione di substrato solo con puntali nuovi. Proteggere il reagente dalla luce.

Non pipettare mai il coniugato con puntali precedentemente usati per altri reagenti.

Non utilizzare provette in polistirolo per **AESKULISA® 25OH Vitamin D**.

Dopo aver diluito i campioni, i calibratori e i controlli con la soluzione di biotina devono essere pipettati nei pozzetti entro 30 minuti.

Per garantire che la temperatura di tutte le piastre rimanga la stessa, non impilare le piastre durante l'incubazione.

Coprire / sigillare le piastre durante l'incubazione.

Una diagnosi clinica definitiva non dovrebbe essere fatta esclusivamente sulla base dei risultati del test eseguito ma da un medico, tenendo conto di tutti i risultati clinici e dei risultati di laboratorio. La diagnosi dovrebbe essere confermata categoricamente utilizzando vari metodi diagnostici.

6 Raccolta, manipolazione e conservazione del campione

Usare preferibilmente campioni di siero freschi. Il prelievo di sangue deve essere effettuato in base ai requisiti nazionali. Non utilizzare campioni itterici, lipemici, emolizzati o contaminati da batteri. I sieri contenenti particelle in sospensione devono essere trattati con centrifugazione a bassa velocità ($<1000 \times g$). I campioni di sangue devono essere raccolti in provette pulite, asciutte e vuote.



Product Ref.	3810
Product Desc.	25OH Vitamin D
Manual Rev. No.	008: 2025-03-06

Dopo la separazione, i campioni di siero devono essere usati entro 8 ore. In alternativa, i campioni di siero possono essere conservati, accuratamente sigillati, fino a 48 ore ad una temperatura compresa tra 2-8 °C/35,6-46,4 °F, oppure congelati a -20 °C/-4 °F per periodi più lunghi. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4)

7 Procedura del test

7.1 Preparazione prima dell'inizio

Tutti i reagenti devono essere tenuti a temperatura ambiente per almeno 90 minuti prima dell'uso e devono essere ben miscelati capovolgendoli più volte.

Ricostituzione del liofilizzato concentrato di biotina 25 (OH) D:

Aggiungere 3 ml di tampone 25 (OH) D al contenitore con il concentrato di biotina 25 (OH) D liofilizzato (colore blu). Tappare e lasciare riposare per 10-15 minuti a temperatura ambiente. Capovolgere più volte per garantire la completa ricostituzione. Aggiungere nuovamente il concentrato di biotina 25 (OH) D ricostituito (3 ml) al contenitore con il tampone rimanente. Mescolare bene il contenuto capovolgendo il contenitore tappato. La soluzione di biotina diluita è verde. Dopo la preparazione, **conservare al riparo dalla luce a 2-8 °C/35,6-46,4 °F.**

Diluire i reagenti concentrati:

Diluire il tampone di lavaggio concentrato a 1:50 con acqua distillata (es. 20 ml più 980 ml).

Lavaggio automatico:

Considerare il volume in eccesso richiesto per la preparazione dello strumento e i volumi morti della pipetta del robot.

Lavaggio manuale:

Scaricare il liquido dai pozzetti rovesciando la piastra. Battere vigorosamente la micropiastra con i pozzetti rivolti verso il basso su un foglio di carta assorbente pulita. Pipettare 300 µl di tampone di lavaggio diluito in ogni pozzetto; attendere 20 secondi. Ripetere l'intera procedura due volte.

Micropiastre:

Calcolare il numero di strip richieste per il test. Rimuovere le strip inutilizzate dalla cornice, riporle e conservarle nel sacchetto di plastica fornito, insieme all'essiccante, chiudendole bene (2-8 °C/35,6-46,4 °F).



7.2 Schema di dispensazione

Si raccomanda di pipettare calibratori, controlli e campioni nel modo seguente

	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: calibratore A

Cal B: calibratore B

Cal C: calibratore C

Cal D: calibratore D

Cal E: calibratore E

Cal F: calibratore F

Cal G: calibratore G

Con 1: controllo 1

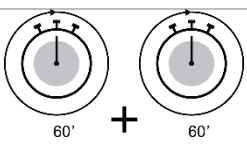
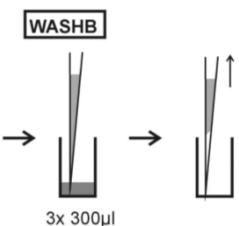
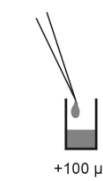
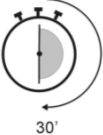
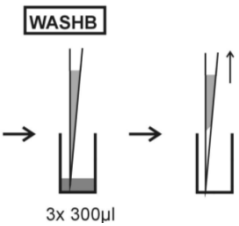
Con 2: controllo 2

P1: paziente 1

P2: paziente 2

P3: paziente 3

7.3 Passaggi del Test

Fasi	Descrizione
1.	Prima di pipettare, controllare che le preparazioni del passaggio 7.1 siano state eseguite. Attendere che tutti i componenti abbiano raggiunto la temperatura ambiente (20-32°C/68-86,6°F).
2.	Etichettare una provetta in vetro borosilicato o in polipropilene per ogni calibratore, controllo e campione.
CALIBRATORI, CONTROLLI E CAMPIONI	
3.	 Aggiungere 10 µl di ogni calibratore, controllo e campione alle provette etichettate. Aggiungere 400 µl della soluzione di biotina 25 (OH) D preparata a tutte le provette. Vortex accuratamente per 10 secondi. Aggiungere 100 µl di ogni calibratore, controllo o campione diluito al pozzetto corrispondente in duplicato.
4.	 Copri la Micropiastra. Incubare per 2 ore a 18-25 °C/64,4-77 °F.
5.	 Aspirare il liquido da ogni pozzetto e lavare la piastra tre volte con 300 µl di tampone di lavaggio (diluito 1:50). Aspirare il liquido dopo ogni ciclo di lavaggio.
CONIUGATO	
6.	 Aggiungere 100 µL di soluzione di coniugato enzimatico a ciascun pozzetto entro 5 minuti dalla fase di lavaggio.
7.	 Copri la Micropiastra. Incubare per 30 minuti a 18-25 °C/64,4-77 °F.
8.	 Aspirare il liquido da ogni pozzetto e lavare la piastra tre volte con 300 µl di tampone di lavaggio (diluito 1:50). Aspirare il liquido dopo ogni ciclo di lavaggio.



SUBSTRATO

9.

SUB



+100 µl

Aggiungere 100 µL di soluzione substrato TMB a ciascun pozzetto entro 5 minuti dalla fase di lavaggio.

10.



Copri la Micropiastra. Incubare per 30 minuti a 18-25 °C / 64,4-77 °F, proteggere dalla luce intensa.

STOP

11.

STOP



+100 µl

Pipettare 100 µl di soluzione di arresto in ogni pozzetto, seguendo lo stesso ordine di dispensazione del substrato.

12.



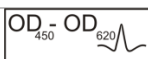
5'

Incubare per 5 minuti a temperatura ambiente

13.

Agitare accuratamente la piastra per 5 sec.

14.



450/620 nm

Leggere l'assorbanza a 450 nm (filtro di riferimento consigliato 620 nm) entro 30 minuti.



8 Calcolo dei risultati

La valutazione quantitativa si basa su una curva standard in cui la densità ottica dei calibratori (asse y) è tracciata rispetto alla concentrazione in ng / ml (asse x). Per la valutazione si consiglia un grafico log-lineare. È richiesto un adattamento della curva logistica a 4 parametri (4PL) che includa il calibratore "A". Altri algoritmi non sono consigliati per l'adattamento della curva. Utilizzando la curva, la concentrazione di vitamina D 25 (OH) viene stabilita dalla densità ottica del campione.

In alternativa, è possibile disegnare una curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica. L'assorbimento medio viene tracciato sull'asse y contro la concentrazione di 25 (OH) vitamina D sull'asse x. Il calibratore A dovrebbe trovarsi nella curva di calibrazione.

Conversione delle unità:

Conversione dei risultati in unità di massa

$$\text{ng/ml} = \text{nmol/l} \times 0.40$$

Conversione dei risultati in unità SI

$$\text{nmol/l} = \text{ng/ml} \times 2.5$$

Esempio di curva standard

Per ogni test deve essere preparata una nuova curva di calibrazione. Notare che le concentrazioni del calibratore sono specifiche per ogni lotto.

Non utilizzare questo esempio per valutare i sieri dei pazienti!

Calibratore	Concentrazione (ng/ml)	OD 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

Esempio di calcolo

Paziente	Replicati (OD)	Media (OD)	Risultati (ng/ml)	Risultati (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

I campioni con concentrazioni di 25 (OH) D al di sopra dell'intervallo di misurazione devono essere diluiti e rivalutati con un campione di siero umano a bassa concentrazione. I risultati dei campioni diluiti devono essere moltiplicati per il corrispondente fattore di diluizione e corretti per la bassa concentrazione del campione.

Per i dati specifici del lotto, vedere il foglio illustrativo del controllo di qualità allegato. I laboratori medici potrebbero eseguire un controllo di qualità interno utilizzando controlli propri e / o sieri raggruppati interni, come previsto dalle normative nazionali.

Il kit contiene i due controlli che aiutano a validare i risultati ottenuti con ciascuna piastra di analisi. Se un valore di controllo non rientra nell'intervallo accettabile, la validità dei risultati deve essere valutata determinando se il valore di controllo si discosta in modo significativo dalle medie delle serie di laboratorio. Inoltre, devono essere valutati i seguenti fattori tecnici:



Product Ref.	3810
Product Desc.	25OH Vitamin D
Manual Rev. No.	008: 2025-03-06

date di scadenza dei reagenti, condizioni di conservazione, pipette, attrezzatura usata, fotometro, condizioni di incubazione e metodi di lavaggio.

Se gli elementi testati mostrano valori aberranti o qualsiasi tipo di deviazione o che i criteri di convalida non sono soddisfatte senza una causa spiegabile si prega di contattare il produttore o il fornitore del kit di test.

Valutazione dei valori

La concentrazione ottimale di 25 (OH) D non è stata stabilita. Ci sono molti fattori che possono influenzare i valori. Includono nutrizione, ora del giorno, periodo dell'anno, posizione geografica, esposizione alla luce solare, età, colore della pelle e background genetico. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire il proprio intervallo per la propria popolazione locale.

L'Istituto federale tedesco per la valutazione dei rischi (BfR) raccomanda, in conformità con la Società tedesca per la nutrizione (DGE), l'Organizzazione mondiale della sanità (OMS), l'Istituto di medicina (IOM) e l'Istituto nazionale di sanità (NIH) i seguenti intervalli di riferimento per la concentrazione sierica di 25OH Vitamina D ^{1, 2}.

Carenza grave	< 12 ng/ml	< 30 nmol/l
Insufficienza	12 - 20 ng/ml	30 - 50 nmol/l
Normalità	≥ 20 ng/ml	≥ 50 nmol/l
Intossicazione da Vitamina D	> 160 ng/ml	> 400 nmol/l

¹ German Nutrition Society: 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 Dati Tecnici

Materiale del Campione:	siero
Volume Campione:	10 µl siero non diluito
Tempo di incubazione totale:	3 ore a 18-25 °C/64,4-77 °F
Range di Calibrazione:	0 - 100 ng/ml (0 - 250 nmol/l), specifico del lotto
Sensibilità Analitica:	
LoB	1.51 ng/ml (3.78 nmol/l)
LoD	3.66 ng/ml (9.15 nmol/l)
LoQ	4.54 ng/ml (11.35 nmol/l)
Conservazione:	2-8 °C/35,6-46,4 °F, solo nei flaconi originali
Numero di determinazioni:	96 test



10 Dati/caratteristiche del test

10.1 Intervallo di Normalità

I sieri di donatori sani sono stati studiati con **AESKULISA® 25OH Vitamin D** e hanno portato alla seguente distribuzione:

Numero dei Campionis	Media	Mediana	Concentrazione massima di 25 (OH) D	Concentrazione minima di 25 (OH) D
120	19,14 ng/ml	18,12 ng/ml	58,02 ng/ml	<4,54 ng/ml

Raccomandiamo inoltre che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di normalità.

10.2 Precisione

La precisione dei risultati dei test ottenuti con **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810 è stata valutata mediante la determinazione della precisione intra e inter-saggio, nonché la varianza da lotto a lotto mediante l'analisi di più campioni di diverse concentrazioni di vitamina D.

ID Campione	Precisione Intra Assay		Precisione Inter Assay		Precisione tra LOTTI	
	Media (ng/ml)	CV	Media (ng/ml)	CV	Media (ng/ml)	CV
Campione 1	7,62	12,77	7,62	17,28	7,77	12,85
Campione 2	17,68	11,40	17,68	14,17	17,38	7,89
Campione 3	26,50	8,16	26,50	12,00	24,08	9,65
Campione 4	31,19	8,68	31,19	12,62	29,54	6,91
Campione 5	36,87	7,62	36,87	10,30	34,94	7,10
Campione 6	60,15	12,56	60,15	12,23	59,09	14,78

10.3 Sensibilità

I limite del bianco (LoB), il limite di rilevamento (LoD) e il limite di quantificazione (LoQ) sono stati esaminati da diverse analisi di Miscele di campioni e campioni positivi bassi.

I seguenti valori sono stati determinati per **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810:

Sensibilità ¹	Concentrazione 25(OH)D	
LoB	1,51 ng/ml	3,76 nmol/L
LoD	3,66 ng/ml	9,15 nmol/L
LoQ	4,54 ng/ml	11,35 nmol/L



10.4 Specificità

Per determinare la specificità della **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810, i metaboliti della vitamina D endogeni e sintetici sono stati aggiunti ai campioni di siero e sono stati prodotti i seguenti risultati:

Cross Reazione	Massima Concentrazione (ng/ml)	Media % Cross Reattività
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%
VitaminaD ₃ (Colecalciferolo)	1000	0%
VitaminaD ₂ (Ergocalciferolo)	100	6%
Paricalcitol	100	17%

10.5 Linearità

Tre sieri che coprivano l'intera gamma di test sono stati diluiti in serie con un campione di siero altamente carente. I valori misurati e attesi delle distinte diluizioni sono stati utilizzati per calcolare una regressione lineare. Per **AESKULISA® 25OH Vitamin D**, REF 3810, la regressione lineare delle concentrazioni osservate rispetto alle concentrazioni previste ha prodotto un coefficiente di correlazione di $R^2 = 0,99$.

10.6 Confronto dei metodi

AESKULISA® 25OH Vitamin D, REF 3810 è stato confrontato con un altro test disponibile in commercio per determinare quantitativamente la 25 (OH) vitamina D. In generale, sono stati testati 110 campioni con concentrazioni di 25 (OH) vitamina D da 6,74 ng / mL a 71,98 ng / mL. Per i campioni comparativi è stata eseguita un'analisi di regressione di Passing-Bablok:

n	Pendenza	95% CI	Intercettazione	95% CI	R ²
80	0,898	0,828 bis 0,970	0,692 ng/ml	-0,980 bis 2,553 ng/ml	0,901

11 Smaltimento

Si prega di osservare i requisiti di legge pertinenti!



12 Bibliografia

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.

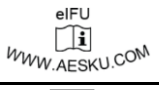
Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. Rev Endocr Metab Disord. 2017;18(2):153-165.

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 Simboli normativi

IVD	- 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
REF	- Numero d'ordine - Référence Catalogue - Bestellnummer - Número de catálogo	- Catalogue number - Numéro de catálogo - Αριθμός παραγγελίας
LOT	- Descrizione lotto - Lot - Chargen Bezeichnung - Lote	- Lot - Lote - Χαρακτηρισμός παρτίδας
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo - Identifiant unique de l'appareil - eindeutige Produktidentifizierung - Identificador único del dispositivo	- Unique Device Identifier - Identificador único del dispositivo - Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
CE	- 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
CON	- Controllo - Contrôle - Kontrolle - Controllo	- Control - Control - ορός ελέγχου
CAL	- Calibratore - Etalon - Kalibrator - Calibrador	- Calibrator - Calibrador - Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
CONJ	- Coniugato - Conjugé - Konjugat - Conjugado	- Conjugate - Conjugado - Σύζευγμα
MP	- Micropietra rivestita - Microplaque sensibilisée - Beschichtete Mikrotiterplatte - Microplaca revestida	- Coated microtiter plate - Microplaca sensibilizada - Επικαλυμμένη μικροπλάκα
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio - Tampon de Lavage - Waschpuffer - Solução de lavagem	- Wash buffer - Solución de lavado - Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
SUB	- Tampone substrato - Substrat - Substratpuffer - Substrato	- Substrate buffer - Tampón sustrato - Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
STOP	- Reagente bloccante - Solution d'Arrêt - Stopreagenz - Solução de paragem	- Stop solution - Solución de parada - Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
25(OH)D BIO 50x	- 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
25(OH)D BUF	- Tampone de 25(OH)D - Tampón 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