

**Arbeitsanleitung / Manual**

*Nur für den Gebrauch durch Fachpersonal /*

*For professional use only*

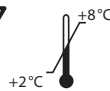
# Vitamin A/E HPLC Kit

*Zur Bestimmung von Vitamin A/E in Plasma und Serum*

*For the determination of vitamin A/E in plasma and serum*

Gültig ab / Valid from 2024-05-13

**REF** **KC1650**



CAL
CTRL1
CTRL2

**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](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

## **Sicherheitshinweise**

Der Assay ist ausschließlich nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen. Wichtige Sicherheitshinweise zu diesem Produkt sind dem Kapitel 16 zu entnehmen.

# Inhalt

1. ZWECKBESTIMMUNG	2
2. EINLEITUNG	2
3. TESTPRINZIP	2
4. INHALT DER TESTPACKUNG	3
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	3
6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZEN	4
7. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG	4
8. VORSICHTSMASSNAHMEN	4
9. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	4
10. LITERATUR	5
11. SYMBOLE	6

## 1. ZWECKBESTIMMUNG

Diese HPLC-Applikation ist für die Bestimmung von Vitamin A/E in Serum und Plasma geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

## 2. EINLEITUNG

Die Vitamine A und E gehören zu den fettlöslichen Vitaminen und können über einen längeren Zeitraum im Fettgewebe gespeichert werden. Sowohl Über- als auch Unterversorgung von den Vitaminen A und E können sich in Beschwerden äußern.

Vitamin A (Retinol) ist für den Sehprozess unerlässlich und hält die Haut und Schleimhäute gesund. Ein Mangel an Vitamin A kann daher Einfluss auf die Sehkraft haben, besonders bei Übergängen von hell zu dunkel. Ein schwerer Vitamin-A-Mangel kann zur Erblindung führen. Bei zu hohen Dosen kann es aber auch pathologisch wirken und Kopfschmerzen, Hautveränderungen, Leberschädigungen, schmerzhafte Skelettveränderungen und Fruchtschädigungen verursachen.

Das Vitamin E (Tocopherol) schützt als natürliches Antioxidans die ungesättigten Fettsäuren vor der Oxidation. Es fängt Radikale ab, bevor sie zerstörend auf die Zelle einwirken können.

Ein Mangel an Vitamin E zeigte im Tierversuch eine Schädigung der Muskulatur, des Nervensystems und Herzens, der Leber und der Fortpflanzung. Beim Menschen wurden derartige Auswirkungen nicht beobachtet. Vitamin E kann in großen Mengen im Fettgewebe gespeichert werden. Zu einer Unterversorgung kann es durch eine gestörte Fettverdauung oder -resorption kommen.

## 3. TESTPRINZIP

Zur Bestimmung der Vitamine A und E wird eine sehr einfache Probenvorbereitung mit einem Fällungsschritt durchgeführt.

Die Trennung mittels HPLC erfolgt in einem isokratischen Verfahren bei 30°C auf einer „reversed phase“-Säule. Die Aufnahme der Chromatogramme erfolgt mit einem UV-Detektor bei zwei verschiedenen Wellenlängen (Vitamin A: 325 nm; Vitamin E: 290 nm). Die Trennung benötigt ca. 3 Minuten für einen Lauf. Die Quantifizierung erfolgt über den mitgelieferten Kalibrator und die Berechnung der Ergebnisse wird über die „externe Standard-Methode“ anhand der Integration der Peakfläche/-höhe durchgeführt.

## Zusammenfassung

Der hier vorliegende Komplettkit zur Bestimmung der Vitamine A/E ermöglicht eine einfache, schnelle und präzise quantitative Bestimmung. Dieser Komplettkit enthält gebrauchsfertige Reagenzien und Verbrauchsmaterialien für die Aufbereitung der Proben und die analytische HPLC-Trennung.

## 4. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
KC1650	MOPHA	Laufmittel, gebrauchsfertig (rezirkulierbar)	1 000 ml
	PREC	Fällungsreagenz, gebrauchsfertig	50 ml
	CAL	Kalibrator, lyophilisiert	4 x
	CTRL1	Kontrolle 1, lyophilisiert	4 x
	CTRL2	Kontrolle 2, lyophilisiert	4 x
K 0005.15	RECSOL	Rekonstitutionslösung	15 ml

Die HPLC-Trennsäule (KC1650RP), kann separat bei Immundiagnostik AG bestellt werden. Um die Lebensdauer Ihrer HPLC-Trennsäule zu verlängern, sollten idealerweise Vorsäulen (KC1650VS) verwendet werden. Diese und auch die Vorsäulenhalter (KC1650VH) können ebenfalls bei Immundiagnostik AG bestellt werden.

Neben den kompletten Kits können auch alle Komponenten einzeln bestellt werden. Bitte fordern Sie unsere Einzelkomponentenpreisliste an.

## 5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- 1,5-ml-Reaktionsgefäße (z. B. Eppendorf)
- Zentrifuge
- div. Pipetten (100 µl, 1 000 µl)
- Vortex-Mischer
- HPLC-System mit UV-Detektor
- Reversed phase C18-Säule

## 6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Die lyophilisierten Kontrollen (**CTRL1** und **CTRL2**) sind bei -20°C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch werden sie in x µl Rekonstitutionslösung (**RECSOL**) resuspendiert (x= siehe Produktspezifikation). Der Gehalt an Vitamin A/E ändert sich geringfügig von Charge zu Charge, der genaue Gehalt ist der Produktspezifikation zu entnehmen.
- Der lyophilisierte Kalibrator (**CAL**) ist bei -20°C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch in x µl Rekonstitutionslösung (**RECSOL**) resuspendieren (x= siehe Produktspezifikation). Der Gehalt an Vitamin A/E ändert sich geringfügig von Charge zu Charge, der genaue Gehalt ist der Produktspezifikation zu entnehmen.
- Alle anderen Testreagenzien sind bei 2–8°C zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

## 7. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

Als Patientenprobe ist Plasma und Serum geeignet. Die Probe sollte in jedem Fall sofort nach der Abnahme kühl gelagert werden. Die Probe kann bei 2–8°C mind. 12 Stunden (Vitamin A) bzw. 3 Tage (Vitamin E) gelagert werden und ist bei -20°C 1 Monat (Vitamin A) bzw. mind. 3 Monate (Vitamin E) stabil.

## 8. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Kalibrator (**CAL**) und Kontrollen (**CTRL1** und **CTRL2**) sind auf Humanplasma aufgebaut. Sie sind auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befunden worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Reagenzien dieser Testpackung enthalten organische Lösungsmittel. Berührungen mit der Haut oder den Schleimhäuten sind zu vermeiden.

## 9. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

















- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Sämtliche in der Testpackung enthaltene Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik eingesetzt werden.

- Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden (Verfallsdatum siehe Testpackung).
- Einzelkomponenten mit unterschiedlichen Lot-Nummern aus verschiedenen Testpackungen nicht mischen oder austauschen.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die dafür erstellten Richtlinien für medizinische Laboratorien 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.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.
- Qualitätskontrollen immer mitmessen.
- Die Bestimmung ist immer nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.
- Schwerwiegende Vorfälle im Zusammenhang mit dem Testkit sind der Immundiagnostik AG sowie der nationalen Aufsichtsbehörde zu melden

## 10. LITERATUR

1. Sushil K.J., Mc Coy B., Wise R. (1994). Vitamin E and the hypercoagulability of neonatal blood. *Clin Cim Acta* **225**; 97-103.
2. Comstock G.W., Alberg A.J., Helzlsouer K.J. (1993). Reported effects of long-term freezer storage on concentrations of retinol,  $\beta$ -carotene, and  $\alpha$ -tocopherol in serum or plasma summarised. *Clin Chem* **39/6**; 1075-1078

## 11. SYMBOLE

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	<i>In-Vitro</i> -Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Enthält Plasmaderivate oder menschliches Blut		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		Nicht wiederverwenden
	eindeutige Produktidentifizierung		Enthält Material tierischen Ursprungs
	medizinische Substanz		Enthält Material humanen Ursprungs



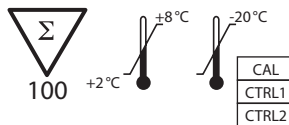


# Vitamin A/E HPLC Kit

*For the determination of vitamin A/E in plasma and serum*

Valid from 2024-05-13

**REF** **KC1650**



**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](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

**Safety information**

The assay has to be performed exclusively according to the instructions for use enclosed with the kit. Important safety information for this product can be found in the chapter 16.

## Table of Contents

1. INTENDED PURPOSE	11
2. INTRODUCTION	11
3. PRINCIPLE OF THE TEST	11
4. MATERIAL SUPPLIED	12
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	12
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	12
7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	13
8. PRECAUTIONS	13
9. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	13
10. REFERENCES	14
11. SYMBOLS	15

## 1. INTENDED PURPOSE

This HPLC application is intended for the quantitative determination of vitamin A/E in serum and plasma. This assay is designed for *in vitro* diagnostic use only.

## 2. INTRODUCTION

Vitamin A and E belong to the fat-soluble vitamins and can be stored in the fatty tissue over a longer period of time. Both an over- and an undersupply of vitamins A and E can manifest themselves in complaints.

Vitamin A (retinol) is essential for the visual process and keeps the skin and mucous membranes healthy. A deficiency of vitamin A can therefore have an impact on vision, especially during transitions from light to dark. A severe vitamin A deficiency can lead to blindness. Too high doses however, can also have a pathological effect and cause headaches, skin changes, liver damage, painful skeletal changes and damage to the foetus.

Vitamin E (tocopherol) is a natural antioxidant that protects unsaturated fatty acids from oxidation. It intercepts radicals before they can have a destructive effect on the cell. A deficiency of vitamin E showed damage to the musculature, nervous system and heart, liver and reproduction in animal experiments. In humans such effects have not been observed. Vitamin E can be stored in large quantities in fatty tissue. An undersupply can occur due to impaired fat digestion or absorption.

## 3. PRINCIPLE OF THE TEST

For the determination of vitamins A and E, a very simple sample preparation with a precipitation step is carried out

The separation via HPLC follows an isocratic method at 30 °C using a “reversed phase” column; one run lasts approx. 3 minutes. The detection is performed by an UV detector at two different wavelengths (Vitamin A: 325 nm; Vitamin E: 290 nm). The quantification is performed with the delivered calibrator; the concentration is calculated via integration of the peak areas/heights in the external standard calibration mode.

### Summary

The application of vitamin A and E for HPLC allows the determination of both vitamins in an easy, fast, and precise method. The kit includes reagents in ready-to-use form for preparation and separation of the samples with exception of the columns.

#### 4. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
KC1650	MOPHA	Mobile phase, ready-to-use (can be recirculated)	1 000 ml
	PREC	Precipitation reagent, ready-to-use	50 ml
	CAL	Calibrator, lyophilised	4 x
	CTRL1	Control 1, lyophilised	4 x
	CTRL2	Control 2, lyophilised	4 x
K 0005.15	RECSOL	Reconstitution solution	15 ml

The HPLC column (KC1650RP), can be ordered separately from Immundiagnostik AG. To extend the lifetime of your HPLC column, pre-columns (KC1650VS) are highly recommended. These and also the pre-column holders (KC1650VH) can also be ordered from Immundiagnostik AG.

In addition to the complete kits, all components can also be ordered separately. Please ask for our single component price list.

#### 5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- 1.5 ml reaction tubes (Eppendorf)
- Centrifuge
- Various pipettes (100 µl, 1 000 µl)
- Vortex
- HPLC system with UV-detector
- Reversed phase C18-column

#### 6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- The lyophilised controls (**CTRL1 and CTRL2**) are stable at -20°C until the expiry date stated on the label. Before use, they have to be reconstituted each with x µl reconstitution solution (**RECSOL**) (x= please see product specification). The concentration of vitamin A/E slightly changes from lot to lot, the exact concentration is stated in the product specification.

- The lyophilised calibrator (**CAL**) is stable at -20°C until the expiry date stated on the label. Before use, it has to be reconstituted with xµl reconstitution solution (**RECSOL**) (x= please see product specification). The concentration of vitamin A/E slightly changes from lot to lot, the exact concentration is stated in the product specification.
- All other test reagents are stable until the expiry date (see label of test package) when stored at 2–8°C.

## 7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum and EDTA plasma are suited as samples. The sample is light and temperature sensitive; therefore samples have to be protected from light and cooled and centrifuged immediately. The samples are stable in the dark at 2–8°C for 12 h (vitamin A) and 3 days (vitamin E). Vitamin A is stable for 1 month, vitamin E for at least 3 months when stored at -20°C.

m should be equilibrated with ~ 30 ml mobile phase (**MOPHA**).

## 8. PRECAUTIONS

- Calibrator (**CAL**) and controls (**CTRL1** and **CTRL2**) are based on human plasma. They have been tested for HIV and hepatitis B and found to be negative. However, as a precaution, the test components should always be handled as potentially infectious material.
- The test components contain organic solvents. Avoid contact with skin or mucous membranes.

## 9. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use reagents beyond the expiration date stated on the kit label.
- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- Follow the guidelines for medical laboratories.

















- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which has not been consulted with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be lodged within 14 days after receipt of the product. The product should be sent to Immundiagnostik AG along with a written complaint.
- Analyse controls with each run.
- Always perform the assay according to the enclosed manual.
- Serious incidents are to be reported to Immundiagnostik AG and the national regulatory authorities.

## 10. REFERENCES

1. Sushil K.J., Mc Coy B., Wise R. (1994). Vitamin E and the hypercoagulability of neonatal blood. *Clin Cim Acta* **225**; 97-103.
2. Comstock G.W., Alberg A.J., Helzlsouer K.J. (1993). Reported effects of long-term freezer storage on concentrations of retinol,  $\beta$ -carotene, and  $\alpha$ -tocopherol in serum or plasma summarised. *Clin Chem* **39/6**; 1075-1078



## 11. SYMBOLS

	Temperature limitation		Catalogue number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Content sufficient for <n> tests
	Lot number		Use by
	Contains plasma derivatives or human blood		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		Do not re-use
	Unique Device Identification		Contains material of animal origin
	Medicinal substance		Contains material of human origin

## **Immundiagnostik AG**

Stubenwald-Allee 8a  
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

[info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

