

Kurzanleitung / Short manual

*Nur für den Gebrauch durch Fachpersonal /
For professional use only*

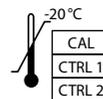
Vitamin B₆ HPLC Kit

*Zur Bestimmung von Vitamin B₆ in Plasma, Serum,
Vollblut und Trockenblutproben*

*For the determination of vitamin B₆ in plasma, serum,
whole blood and dried blood spots*

Gültig ab / Valid from 2023-07-31

REF KC2100



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

Sicherheitshinweise

Dieses Zubehör ist ausschließlich nach der beigefügten Arbeitsanleitung zu nutzen. Wichtige Sicherheitshinweise zu diesem Produkt sind dem Kapitel 8 zu entnehmen.

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK	2
2. EINLEITUNG	2
3. TESTPRINZIP	3
4. INHALT DER TESTPACKUNG	4
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	4
6. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZEN	5
7. PROBENVORBEREITUNG	5
<i>Trockenblut</i>	5
8. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	6
9. LITERATUR	6
10. SYMBOLE	7

1. VERWENDUNGSZWECK

Diese HPLC-Applikation ist für die Bestimmung von Vitamin B₆ aus Serum, Plasma, EDTA-Vollblut und Trockenblutproben (DBS) geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Vitamin B₆ ist der Sammelbegriff für Pyridoxin, Pyridoxal, Pyridoxamin und deren Phosphatverbindungen. Alle können im Stoffwechsel in die eigentliche Wirkform Pyridoxal-5-Phosphat umgewandelt werden.

Pyridoxal-5-Phosphat (hier als Vitamin B₆ bezeichnet) ist als Coenzym im Protein-stoffwechsel für über 50 Reaktionen unentbehrlich. Durch dieses Coenzym werden Aminosäuren auf-, um- und abgebaut. Vitamin B₆ fördert die Aminosäureresorption und deren Transport in die Zelle. Bei der Blutbildung ist es als Bestandteil des häm-bildenden Enzyms beteiligt. Weiterhin werden durch Vitamin B₆ Neurotransmitter und biogene Amine (z. B. Histamin) gebildet.

Die Speicherfähigkeit von Vitamin B₆ beträgt 2–6 Wochen. Die Symptome eines Vitamin-B₆-Mangels sind u. a. Störungen der Proteinbiosynthese, Muskelschwund, Hautveränderungen (Schuppung, Hyperpigmentierung) und Störungen des Nervensystems (Reizbarkeit, Depressionen, Lähmungen).

Indikationen

- Ermittlung des Vitamin-B₆-Status
- Homocysteinämie
- Hautveränderungen
- Bewegungsstörungen
- Anämie, Depressionen

3. TESTPRINZIP

Zur Bestimmung des Vitamin B₆ wird im ersten Schritt eine Probenvorbereitung mit angeschlossener Derivatisierung durchgeführt. Zunächst erfolgt ein Fällungsschritt, bei dem höhermolekulare Substanzen abgetrennt werden. Der Überstand wird abgenommen und ein Derivatisierungsreagenz zugegeben und für 5 min bei 60 °C inkubiert, wobei das Vitamin B₆ in ein fluoreszierendes Produkt umgesetzt wird. Die Probe wird anschließend in die HPLC injiziert.

Die Trennung mittels HPLC erfolgt in einem isokratischen Verfahren bei 30 °C auf einer „reversed phase“-Säule. Die Aufnahme der Chromatogramme erfolgt mit einem Fluoreszenzdetektor. Die Trennung benötigt ca. 7 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 Peakflächen/-höhen durchgeführt.

Zusammenfassung

Der hier vorliegende Komplettkit zur Bestimmung des Vitamin B₆ ermöglicht eine einfache, schnelle und präzise quantitative Bestimmung. Dieser Komplettkit enthält gebrauchsfertig alle Reagenzien und Verbrauchsmaterialien für die Aufbereitung der Proben und die analytische HPLC-Trennung.

Wie auch bei vielen anderen Parametern liegt der Vorteil der HPLC-Analytik in der gleichzeitigen Abarbeitung vieler Analyten in einem Test. Die HPLC-System-Komplettlösung ermöglicht auch Laboratorien, die bislang noch keine Erfahrung mit Hochdruckflüssigkeitschromatographie haben, diese Technik schnell und problemlos für klinisch-chemische Routinezwecke einzusetzen. Für die Kalibrierung des Testsystems ist meist eine Einpunkt-Kalibrierung ausreichend, im Gegensatz zu Immunoassays mit bis zu 6 Kalibratoren pro Testansatz. Eine Automatisierung der Probenaufgabe und der Auswertung ist möglich, sodass auch größere Probenzahlen fast unbeaufsichtigt abgearbeitet werden können. Bei kurzen Serienlängen ist die Einpunktkalibrierung sehr viel wirtschaftlicher gegenüber einer 6-Punkt-Kalibrierung bei Immunassays.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
K 0005.15	RECSOL	Rekonstitutionslösung	1 x 15 ml
KC0003.40	PREC	Fällungsreagenz (Serum, Plasma, Vollblut, DBS)	1 x 40 ml
KC2100	MOPHA	Laufmittel, gebrauchsfertig (rezirkulierbar)	1 x 1 000 ml
	CAL	Kalibrator; lyophilisiert (Konzentration siehe Spezifikationsdatenblatt)	4 x
	DER	Derivatisierungslösung (enthält KCN)	1 x 26 ml
	CTRL1	Kontrolle 1; lyophilisiert	4 x
	CTRL2	Kontrolle 2; lyophilisiert	4 x

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

Die HPLC-Trennsäule (KC2100RP), kann separat bei Immundiagnostik bestellt werden. Um die Lebensdauer Ihrer HPLC-Trennsäule zu verlängern, sollten idealerweise Vorsäulen (KC2100VS) verwendet werden. Diese und auch die Vorsäulenhalter (KC2100VH) können ebenfalls bei Immundiagnostik 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
- Vortex-Mixer
- diverse Pipetten
- HPLC-Gerät mit Fluoreszenz-Detektor
- Heizblock
- reversed phase C₁₈-Säule
- Ultraschallbad

6. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- **Der lyophilisierte Kalibrator (CAL)** ist bei **-20°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch wird er in mit x ml (x = genaues Volumen der beiliegenden Produktspezifikation entnehmen) **Rekonstitutionslösung (RECSOL)** resuspendiert. Der Gehalt an Vitamin B₆ ändert sich geringfügig von Charge zu Charge, der genaue Gehalt ist auf der Produktspezifikation angegeben.
- **Die lyophilisierten Kontrollen 1 und 2 (CTRL 1 und CTRL 2)** sind bei **-20°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch werden sie in je x ml (x = genaues Volumen der beiliegenden Produktspezifikation entnehmen) **Rekonstitutionslösung (RECSOL)** resuspendiert. Der Gehalt an Vitamin B₆ ändert sich geringfügig von Charge zu Charge, der genaue Gehalt ist der beiliegenden Produktspezifikation zu entnehmen.
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8°C** gelagert, bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

7. PROBENVORBEREITUNG

Als Probe eignen sich Serum und EDTA-Plasma, die aus venösem Nüchternblut gewonnen werden, sowie EDTA-Vollblut, CPDA-Vollblut und DBS aus Fingerbeerenblut.

Lagerung

Da Vitamin B₆ sehr licht- und temperaturempfindlich ist, sollte die Probe vor Licht geschützt, gekühlt und sofort abzentrifugiert werden. Die Haltbarkeit der Probe beträgt bei 2–8°C im Dunkeln eine Woche. Zur längeren Lagerung kann die Probe bei -20°C bis zu 6 Monate aufbewahrt werden.

Trockenblut

Probengewinnung und -lagerung

Als Probenmaterial eignen sich 50 µl Vollblut, das auf einen von Immundiagnostik AG freigegebenen Trockenprobenträger aufgetropft und vollständig getrocknet sind. Wir empfehlen DrySpot-ID (Katalognummer **DZ9020ID** oder **DZ9021ID**) als Trockenblutträger. Die benetzten Karten sind 7 Tage bei Raumtemperatur stabil. Zur längeren Lagerung empfehlen wir, die Karten trocken bei -20°C aufzubewahren.

8. 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.
- Für die Qualitätskontrolle sind die dafür erstellten Richtlinien für medizinische Laboratorien zu beachten.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettierolumina 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 sind der Immundiagnostik AG und den nationalen Aufsichtsbehörden zu melden.

9. LITERATUR

1. Ambrosch, A. et al., 2001. Relation between homocysteinaemia and diabetic neuropathy in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, **18**(3), pp.185–92.
2. Dierkes, J., Domröse, U., et al., 2001. Homocysteine lowering effect of different multivitamin preparations in patients with end-stage renal disease. *Journal of renal nutrition : the official journal of the Council on Renal Nutrition of the National Kidney Foundation*, **11**(2), pp.67–72.

3. Dierkes, J., Westphal, S., et al., 2001. Vitamin supplementation can markedly reduce the homocysteine elevation induced by fenofibrate. *Atherosclerosis*, **158**(1), pp.161–4.

10. SYMBOLE

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

Short manual

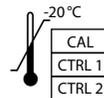
For professional use only

Vitamin B₆ HPLC Kit

*For the determination of vitamin B₆ in serum, plasma,
whole blood and dried blood spots*

Valid from 2023-07-31

REF **KC2100**



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

Safety information

These accessories are to be used exclusively in accordance with the enclosed instructions for use. Important safety information for this product can be found in chapter 8.

Table of Contents

1. INTENDED USE _____	11
2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST _____	11
3. PRINCIPLE OF THE TEST _____	11
4. MATERIAL SUPPLIED _____	12
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED _____	13
6. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS _____	13
7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION _____	13
<i>Dried blood spots</i> _____	14
8. GENERAL NOTES ON THE TEST _____	14
9. REFERENCES _____	15
10. SYMBOL EXPLANATION _____	16

1. INTENDED USE

This HPLC application is intended for the quantitative determination of vitamin B₆ in plasma, serum, EDTA whole blood and dried blood spots (DBS). For *in vitro* diagnostic use only.

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Vitamin B₆ is the term for pyridoxin, pyridoxal and pyridoxamin and the appropriate phosphate products. All forms can be transformed into the active form pyridoxal-5-phosphate (here referred to as vitamin B₆).

Vitamin B₆ functions as a coenzyme and is essential for more than 50 reactions in the protein metabolism thereby synthesizing, transforming or degrading amino acids. Vitamin B₆ supports the resorption of amino acids and their transport into the cells. Furtheron vitamin B₆ contributes to the synthesis of neuro transmitters and amine products (histamin).

Due to the fact that vitamin B₆ contributes to a variety of different reactions lack of vitamin B₆ results in various clinical pictures.

Applications:

- determination of vitamin B₆ status
- homocysteinaemia
- skin diseases
- movement disorders
- Anaemia, depression

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The first step in the determination of vitamin B₆ includes the sample preparation with additional derivatisation. During the precipitation, higher molecular substances are removed. The supernatant is used for derivatisation (5 min at 60°C), thereby transforming the vitamin B₆ into a fluorescent product. The sample is then injected into the HPLC system.

The separation via HPLC follows an isocratic method at 30°C using a reversed phase column; one run lasts about 7 minutes. The quantification is performed with the delivered calibrator; the concentration is calculated via integration of the peak area/heights.

Summary

This HPLC application for the determination of vitamin B₆ allows to determine the vitamin in an easy, fast and precise method. The kit includes all reagents in ready to use form for preparation and separation of the samples with exception of the columns.

As for many other parameters, the advantage of HPLC analytics is the simultaneous handling of many analytes in a single test. The HPLC complete system enables even laboratories without experience in high performance liquid chromatography to use this technique for clinical chemical routines quickly and precisely. Mostly, a one-point calibration is sufficient for calibrating the test system – unlike immunoassays with up to 6 calibrators per test. It is possible to automate the sample application and calculation of the results so that even higher number of samples can be handled nearly without control. With short test series, the one-point calibration is much more economic than 6-point calibration for immunoassays.

4. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity
K 0005.15	RECSOL	Reconstitution solution	1 x 15 ml
KC0003.40	PREC	Precipitation reagent (serum, plasma, whole blood, DBS)	1 x 40 ml
KC2100	MOPHA	Mobile phase, ready to use (can be recirculated)	1 x 1 000 ml
	CAL	Calibrator; lyophilised (see specification data sheet for concentration)	4x
	DER	Derivatisation solution (contains KCN)	1 x 26 ml
	CTRL1	Control 1; lyophilised	4x
	CTRL2	Control 2; lyophilised	4x

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as product number.

The HPLC column (KC2100RP), can be ordered separately from Immundiagnostik. To extend the lifetime of your HPLC column, pre-columns (KC2100VS) are highly recommended. These and also the pre-column holders (KC2100VH) can also be ordered from Immundiagnostik. 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 (e.g. Eppendorf)
- Centrifuge
- Various pipettes
- Vortex
- HPLC with fluorescence detector
- Reversed phase C₁₈ column
- Thermoblock
- Ultrasonic bath

6. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- **The lyophilised calibrator (CAL)** is stable at **-20°C** until the expiry date stated on the label. Before use, the CAL has to be reconstituted in x ml (x = see the enclosed product specification for the volume needed) **reconstitution solution (RECSOL)**. The concentration of vitamin B₆ slightly changes from lot to lot, please refer to the enclosed product specification sheet for the exact amount.
- **The lyophilised controls 1 and 2 (CTRL 1 and CTRL 2)** are stable at **-20°C** until the expiry date stated on the label. Before use, they have to be reconstituted with each x ml (x = see the enclosed product specification for the volume needed) **reconstitution solution (RECSOL)**. The concentration of vitamin B₆ slightly changes from lot to lot, the exact concentration is stated on the specification data sheet.
- All other test reagents are ready-to-use. Test reagents are stable until the expiry date (see label) when stored at **2–8°C**.

7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Plasma, serum, EDTA-whole blood, CPDA-whole blood and dried blood spots are suitable for use in the assay.

Sample storage

Vitamin B₆ is light- and temperature-sensitive; therefore, samples have to be protected from light, cooled and centrifuged immediately.

The samples are stable in the dark at 2–8°C for one week. For longer storage, samples can be frozen and kept at -20°C for up to 6 months.

Dried blood spots

Collection and storage of dried blood spots

50 µl whole blood dripped on a dried sample carrier cleared by Immundiagnostik AG are suitable as sample material after complete drying. We recommend DrySpot-ID (catalogue no. DZ9020ID or DZ9021ID) as dried blood spot carrier. The moistened cards are stable for 7 days at room temperature. For longer storage, store at -20 °C in a dry place.

Linearity is given over the entire measuring range. Non-linearity is less than 10% over this range.

8. GENERAL NOTES ON THE TEST

- 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.
- 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.
- Analyze 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. Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be sent to Immundiagnostik AG along with a written complaint.
- The assay should always be performed according to the enclosed manual.

9. REFERENCES

1. Ambrosch, A. et al., 2001. Relation between homocysteinaemia and diabetic neuropathy in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, **18**(3), pp.185–92.
2. Dierkes, J., Domröse, U., et al., 2001. Homocysteine lowering effect of different multivitamin preparations in patients with end-stage renal disease. *Journal of renal nutrition : the official journal of the Council on Renal Nutrition of the National Kidney Foundation*, **11**(2), pp.67–72.
3. Dierkes, J., Westphal, S., et al., 2001. Vitamin supplementation can markedly reduce the homocysteine elevation induced by fenofibrate. *Atherosclerosis*, **158**(1), pp.161–4.

10. SYMBOL EXPLANATION

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro 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

www.immundiagnostik.com

