

# IDK<sup>®</sup> Vitamin A & E LC-MS/MS Kit

*Zur in-vitro-Bestimmung von Vitamin A & E  
in Serum und Plasma*

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

Gültig ab / Valid from 2023-09-21

**REF** KM5200

$\Sigma$   
300

+2°C  
+8°C

**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)



# Inhalt

<b>1. VERWENDUNGSZWECK</b>	<b>2</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>2</b>
<b>3. MITGELIEFERTE MATERIALIEN</b>	<b>3</b>
<b>4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL</b>	<b>3</b>
<b>5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN</b>	<b>4</b>
<i>Kalibratoren und Kontrollen</i>	4
<i>Fällungsreagenz</i>	5
<i>Mobile Phase A und B</i>	5
<i>Autosampler Waschlösung</i>	5
<b>6. HALTBARKEIT, STABILITÄT UND VORBEREITUNG DER PROBE</b>	<b>6</b>
<b>7. LC-MS/MS METHODE</b>	<b>6</b>
<b>8. MUSTERCHROMATOGRAMME</b>	<b>7</b>
<b>9. QUALITÄTSKONTROLLE</b>	<b>7</b>
<i>Referenzbereich</i>	8
<b>10. TESTCHARAKTERISTIKA</b>	<b>8</b>
<i>Messbereich mit Quantifizierungsgrenze (LLOQ)</i>	8
<i>Wiederholbarkeit</i>	8
<b>11. VORSICHTSMASSNAHMEN</b>	<b>9</b>
<b>12. ENTSORGUNG</b>	<b>9</b>
<b>13. TECHNISCHE MERKMALE</b>	<b>9</b>
<b>14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST</b>	<b>10</b>

## 1. VERWENDUNGSZWECK

Der Verwendungszweck dieses Kits ist die Bewertung von Vitaminprofilen durch die Bestimmung des Gehalts an Vitamin A und E in Vollblut mittels automatisierter quantitativer LC-MS/MS-Assay-Technologie. Dieses Kit ist nur für den professionellen Gebrauch im Labor bestimmt.

## 2. EINLEITUNG

Die Vitamine A (Retinol) und E ( $\alpha$ -Tocopherol) sind fettlösliche Vitamine, die wichtige Funktionen im Körper erfüllen.

Vitamin A spielt eine wichtige Rolle beim Sehen, beim Knochenstoffwechsel und bei der Synthese von Steroidhormonen. Ein Mangel an Vitamin A kann zu Nachtblindheit, Austrocknung der Haut und Haarausfall führen.

Vitamin E schützt u. a. ungesättigte Fettsäuren in den Zellmembranen und das LDL-Cholesterin vor Angriffen durch reaktive Radikale, die infolge von erhöhtem oxidativem Stress im Körper auftreten können. Ein Mangel an Vitamin E kann zu dauerhaften Gelenkschmerzen führen, weshalb die Bestimmung des Vitamin-E-Spiegels in diesem Fall unerlässlich ist.

Eine Überdosierung dieser Vitamine kann jedoch zu einer Hypervitaminose mit Vergiftungserscheinungen führen. Darüber hinaus sollten Chemotherapien nicht durch zusätzliche Vitaminpräparate "begleitet" werden - insbesondere hohe Dosen der Vitamine A und E können den Behandlungserfolg einschränken.

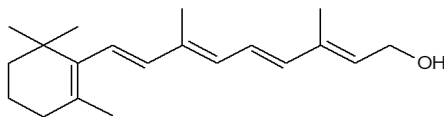


Abb. 1: Retinol (Vitamin A)

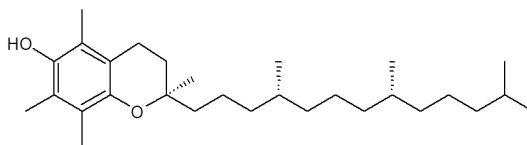


Abb. 2:  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E)

### 3. MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
KM5200	AUTOWASH	Autosampler Waschlösung	1 x 1 000 ml
	PREC	Fällungsreagenz (enthält den internen Standard)	3 x 100 ml
	CAL1–6	Kalibratoren 1–6, lyophilisiert (Konzentration siehe Produktspezifikation)	2 Fläschchen (à 500 µl) pro Konzentration
	CTRL1–3	Kontrollen 1–3, lyophilisiert (Konzentration siehe Produktspezifikation)	3 Fläschchen (à 500 µl) pro Konzentration
	MOPHAA	Laufmittel A	1 x 250 ml
	MOPHAB	Laufmittel B	1 x 500 ml

Bitte verwenden Sie für Nachbestellungen von Einzelkomponenten als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung ohne Leerzeichen.

### 4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

Folgendes Zubehör wird für die IDK® Vitamin A & E LC-MS/MS Applikation benötigt (nicht im Kit enthalten):

- Präzisionspipetten und Einmalpipettenspitzen mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Zentrifuge mit 10 000 g (je nach Testdurchführung für Reaktionsgefäße oder 96-Well-Platten)
- Vortex-Mixer
- Standard-Labor-Einmalreaktionsgefäße aus Kunststoff (z.B. 1,5 ml) und Schüttler (bei Testdurchführung in Reaktionsgefäßen)
- 96-Well-Platte und Schüttler (bei Testdurchführung in 96-Well-Platte)
- LC-MS/MS-Anlage und passende LC-MS Probenvials /96-Well-Platte für den Autosampler
- Reinstwasser\*

\* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

Folgendes Zubehör kann separat für die IDK® Vitamin A & E LC-MS/MS Applikation bei der Immundiagnostik AG bestellt werden:

- HPLC Säule (KM5200SP)
- alle Einzelkomponenten

Bitte kontaktieren Sie uns für Ihre individuelle Lösung und fordern Sie unsere Einzelkomponenten-Preisliste an.

## 5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

**Hinweis:** Bitte nehmen Sie die Kit-Komponenten sofort nach Erhalt aus der Transportverpackung und beachten Sie die auf den Produktetiketten aufgedruckten Hinweise zu den Lagerbedingungen.

Alle Komponenten sollten lichtgeschützt, trocken und bei der angegebenen Lagertemperatur gelagert werden. Die so gelagerten Testreagenzien sind bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar. Die angegebenen Stabilitäten gelten nur, wenn keine bakterielle Kontamination vorliegt.

### *Kalibratoren und Kontrollen*

#### **Handhabung:**

Entfernen Sie die Kappe und den Gummistopfen stets vorsichtig (um Verluste des Inhalts zu vermeiden).

Rekonstituieren Sie die Kalibratoren und Kontrollen wie folgt:

- Rekonstituieren Sie jeden CAL und jede CTRL mit genau 500 µl destilliertem oder deionisiertem Wasser und inkubieren Sie diese 15 min bei Raumtemperatur.
- Die Komponente anschließend gründlich mischen, um sicherzustellen, dass sich das gesamte Trockenmaterial aufgelöst hat; dabei nicht zu stark schütteln, um Schaumbildung zu vermeiden.
- Die angesetzte Komponente während des Testverfahrens wie eine Patientenprobe handhaben.

#### **Stabilität und Lagerung:**

Vor der Rekonstitution:	2–8 °C	Bis zu dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum.
nach der Rekonstitution:	2–8 °C	48 h
nach der Rekonstitution:	-20 °C	1 Woche

## *Fällungsreagenz*

### **Handhabung:**

Das Produkt ist flüssig und gebrauchsfertig.

### **Stabilität und Lagerung:**

Vor dem Öffnen:	2–8 °C	Bis zu dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum.
nach dem Öffnen:	2–8 °C	2 Wochen
nach dem Öffnen:	-20 °C	1 Woche

## *Mobile Phase A und B*

### **Handhabung:**

Die Komponente ist flüssig und gebrauchsfertig.

### **Stabilität und Lagerung:**

Lagerung bei 2–8 °C	Die Komponente kann verschlossen bis zu 6 Wochen nach dem ersten Öffnen oder bis zu 2 Wochen auf der UHPLC verwendet werden.
---------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## *Autosampler Waschlösung*

### **Handhabung:**

Das Produkt ist flüssig und gebrauchsfertig.

### **Stabilität und Lagerung:**

Lagerung bei 2–8 °C	Die Komponente kann verschlossen bis zu 6 Wochen nach dem ersten Öffnen oder bis zu 2 Wochen auf der UHPLC verwendet werden.
---------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## 6. HALTBARKEIT, STABILITÄT UND VORBEREITUNG DER PROBE

### Stabilität und Lagerung:

Als Probe eignet sich Serum, EDTA- oder Heparinplasma.

Wiederholte Auftau- und Einfrierzyklen sind zu vermeiden.

### Probenvorbereitung

#	96-Well-Plate	1.5 ml Reaktionsgefäß
1.	25 µl Probe, CAL oder CTRL in eine Kavität bzw. ein Reaktionsgefäß vorlegen.	
2.	975 µl PREC hinzugeben.	
3.	Platte verschließen und mind. 30 min schütteln lassen.	Gefäß verschließen und 30s vortexen.
4.	Zentrifugation bei 150 g für 15 min (bis eine ausreichende Trennung der Probe gegeben ist).	Zentrifugation bei 10000 g für 5 min.
5.	Die Platte direkt für den Autosampler verwenden oder 400 µl des Probenüberstandes in ein passendes Probenvial oder Mikrotiterplatte für den Autosampler überführen.	400 µl des Probenüberstandes in ein passendes Probenvial oder Mikrotiterplatte für den Autosampler überführen.
6.	Injektion in das LC-MS/MS System (siehe Application Note).	

## 7. LC-MS/MS METHODE

Die Parameter zur Einstellung der LC-MS/MS-Methode entnehmen Sie bitte der Application Note oder wenden Sie sich an [lcms@immundiagnostik.com](mailto:lcms@immundiagnostik.com).



## 8. MUSTERCHROMATOGRAMME

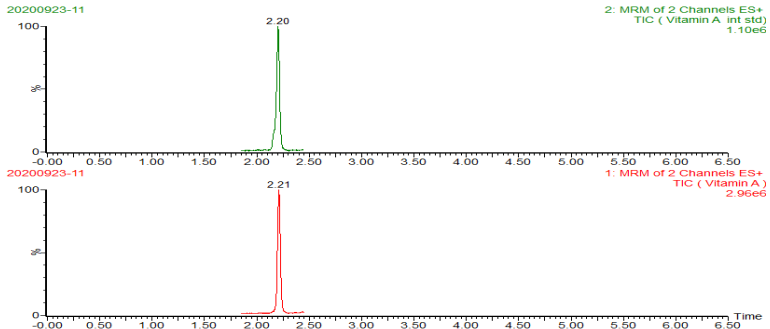


Abb. 3: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den internen Standard (oben) und den Analyten (unten) von Vitamin A.

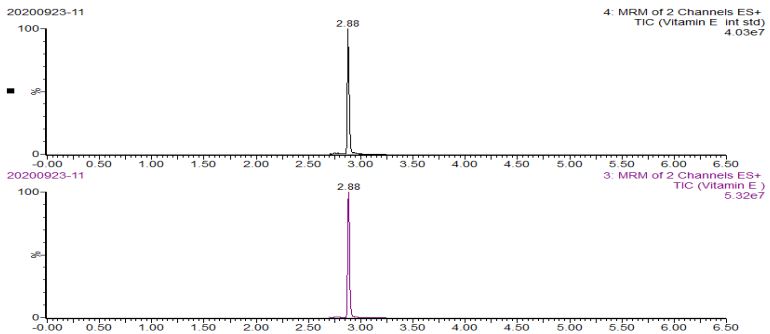


Abb. 4: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den internen Standard (oben) und den Analyten (unten) von Vitamin E.

## 9. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen Kontrollen bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen werden verwendet, um die Genauigkeit der Methode zu bestätigen. Liegen einer oder mehrere Werte der Qualitätskontrolle außerhalb des angegebenen Bereiches (siehe Produktspezifikation), kann Immundiagnostik AG die Richtigkeit der Testergebnisse nicht gewährleisten.

### Referenzbereich

Vitamin A: 1,2–2,7  $\mu\text{mol/l}$  (0,34–0,77  $\mu\text{g/ml}$ )

Vitamin E: 15–35  $\mu\text{mol/l}$  (6,5–15,1  $\mu\text{g/ml}$ )

Wir empfehlen jedem Labor einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

## 10. TESTCHARAKTERISTIKA

### Messbereich mit Quantifizierungsgrenze (LLOQ)

Analyt	$\mu\text{mol/l}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Vitamin A	0,25–8,5 (0,07–2,4)
Vitamin E	3,5–60 (1,5–25,8)

### Wiederholbarkeit

#### Vitamin A

Level	Konzentration [ $\mu\text{mol/l}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )]	Standardabweichung [ $\mu\text{mol/l}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )]	CV (%)	N
Level I	0,44 (0,13)	0,007 (0,002)	1,6	20
Level II	2,9 (0,83)	0,011 (0,003)	0,4	20
Patientenprobe	2,5 (0,72)	0,087 (0,025)	0,5	20

#### Vitamin E

Level	Konzentration [ $\mu\text{mol/l}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )]	Standardabweichung [ $\mu\text{mol/l}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )]	CV (%)	N
Level I	6,0 (2,58)	0,098 (0,04)	1,6	20
Level II	44,1 (18,99)	0,27 (0,12)	0,6	20
Patientenprobe	27,2 (11,72)	0,20 (0,09)	0,7	20

## 11. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV1/2-, HBV- und HCV-Antikörper, Hepatitis B-Oberflächenantigen, HIV1- und HCV-RNA, HBV-DNA (NAT) getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Es sind die auf den Einzelkomponenten angegebenen GHS-Symbole und Spezifikationen der Sicherheitsdatenblätter (auf Anfrage bei Immundiagnostik AG erhältlich) zu beachten. Beim Arbeiten mit diesen Reagenzien sind die gesetzlichen Schutzvorkehrungen einzuhalten.
- Reagenzien dieser Testpackung enthalten organische Lösungsmittel. Berührungen mit der Haut oder den Schleimhäuten sind zu vermeiden.

## 12. ENTSORGUNG

Autosampler Waschlösung (AUTOWASH), Fällungsreagenz (PREC), Laufmittel A (MOPHAA) und Laufmittel B (MOPHAB) müssen als halogenfreier Lösungsmittelabfall entsorgt werden.

Die Kalibratoren (CAL1–6) und Kontrollen (CTRL1–3) sollten als potentiell infektiöses Material gemäß der örtlichen Vorschriften entsorgt werden.

## 13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Kitpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Die Bestimmung ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Die Einzelkomponenten des Kits sind maximal für die angegebene Anzahl an Testdurchführungen ausgelegt. Ein bereits verwendeter Anteil der Komponenten darf nicht wiederverwendet werden.

## 14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- IDK® ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *In-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für Laboratorien erstellten Richtlinien 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.
- Schwerwiegende Vorkommnisse sind der Immundiagnostik AG und den nationalen Aufsichtsbehörden zu melden.
- Sollten eine oder mehrere Komponenten des Testkits beschädigt, unvollständig (siehe Liste der Testbestandteile) oder Präzipitate in den gebrauchsfertigen Lösungen sichtbar sein, kontaktieren Sie bitte Immundiagnostik AG.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.

**Verwendete Symbole:**

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

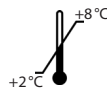


# **IDK<sup>®</sup> Vitamin A & E LC-MS/MS Kit**

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

Valid from 2023-09-21

**REF** **KM5200**



**IVD**



**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)

# Table of Contents

<b>1. INTENDED USE</b>	<b>15</b>
<b>2. INTRODUCTION</b>	<b>15</b>
<b>3. MATERIAL SUPPLIED</b>	<b>16</b>
<b>4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED</b>	<b>16</b>
<b>5. PREPARATION, STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS</b>	<b>17</b>
<i>Calibrators and controls</i>	17
<i>Precipitation solution</i>	18
<i>Mobile phases A and B</i>	18
<i>Autosampler wash solution</i>	18
<b>6. STORAGE, STABILITY AND PREPARATION OF SAMPLE</b>	<b>18</b>
<b>7. LC-MS/MS METHOD</b>	<b>19</b>
<b>8. EXAMPLES OF CHROMATOGRAMS</b>	<b>19</b>
<b>9. QUALITY CONTROL</b>	<b>20</b>
<i>Reference range</i>	20
<b>10. TEST CHARACTERISTICS</b>	<b>20</b>
<i>Measuring range with limit of quantification (LOQ)</i>	20
<i>Repeatability</i>	21
<b>11. PRECAUTIONS</b>	<b>21</b>
<b>12. DISPOSAL</b>	<b>21</b>
<b>13. TECHNICAL HINTS</b>	<b>22</b>
<b>14. GENERAL NOTES ON THE TEST</b>	<b>22</b>



## 1. INTENDED USE

The intended use of this device is assessment of vitamin profiles by determination of the levels of Vitamin A & E in serum/plasma, performed by automated quantitative LC-MS/MS assay technology. This kit is designed for laboratory professional use.

## 2. INTRODUCTION

Vitamins A (retinol) and E ( $\alpha$ -Tocopherol) are fat-soluble vitamins, which perform important functions in the body.

Vitamin A plays an important role in vision, bone metabolism, and the synthesis of steroid hormones. Deficiency of vitamin A can lead to night blindness, skin dehydration, and hair loss.

Vitamin E protects, among others, unsaturated fatty acids in the cell membranes and the LDL cholesterol from attacks by reactive radicals, which can occur as a result of increased oxidative stress in the body. Deficiency of vitamin E can lead to permanent joint pain, making the determination of vitamin E levels essential in this case.

However, overdoses of these vitamins may cause hypervitaminosis with intoxication symptoms. In addition, chemotherapies should not be "accompanied" by extra vitamin supplements – especially high doses of vitamins A and E may limit the success of treatment.

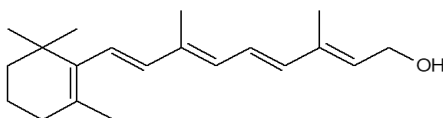


Fig. 1: Retinol (vitamin A)

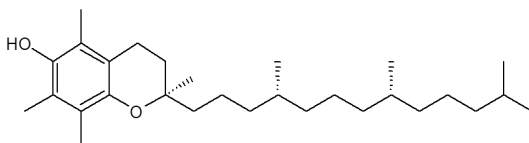


Fig. 2:  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E)

### 3. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Identifier	Kit components	Quantity
KM5200	AUTOWASH	Autosampler wash solution;	1 x 1 000 ml
	PREC	Precipitation solution (contains the internal standard)	3 x 100 ml
	CAL1–6	Calibrators 1–6; lyophilised (see product specification for concentration)	2 vials (à 500 µl) per level
	CTRL1–3	Controls 1–3; lyophilised (see product specification for concentration)	3 vials (à 500 µl) per level
	MOPHAA	Mobile phase A	1 x 250 ml
	MOPHAB	Mobile phase B	1 x 500 ml

For reorders of single components, please use the catalogue number followed by the identifier without space as product number.

### 4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

The following accessories are required for the IDK® Vitamin A & E LC-MS/MS application (not included in the kit):

- Precision pipettors and disposable tips to deliver 10–1 000 µl
- Centrifuge, 10 000 *g* (for reagent tubes or 96-well plate, depending on test procedure)
- Vortex mixer
- Standard laboratory disposable plastic reagent tubes (e.g. 1.5 ml) and shaker for the reagent tubes (for test procedure in reagent tubes)
- 96-well plate and shaker for the plate (for test procedure in 96-well plate)
- LC-MS/MS system and suitable LC-MS vials / 96-well plate for the autosampler
- Ultrapure water\*

\*Immundiagnostik AG recommends the use of ultrapure water (water type 1; ISO 3696/LC-MS grade), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

The following accessories for the *IDK*® Vitamin A & E LC-MS/MS application can be ordered separately at Immundiagnostik AG:

- HPLC column (KM5200SP)
- all single components

Please ask for our single component price list. Please contact us for customized inquiries.

## 5. PREPARATION, STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

**Note:** Please unpack the kit components from the transport packaging immediately upon receipt and follow the instructions for storage conditions printed on the product labels.

All components should be stored protected from light, dry and at their given specified storage temperature. The test reagents stored in this way are usable until the indicated expiry date. The declared stated stabilities are only valid in case of no bacterial contamination.

### *Calibrators and controls*

#### **Handling:**

Always remove the cap and rubber plug carefully (in order to avoid loss of content).

Reconstitute the calibrators and controls as follows:

- Reconstitute each calibrator and control with exactly 500 µl distilled or deionised water and incubate for 15 min at room temperature.
- Next, mix the component thoroughly to make sure that all dry material has dissolved; do not shake too vigorously to avoid foam formation.
- Handle the prepared component as a patient sample during the test procedure.

#### **Stability and storage:**

Before reconstitution: 2–8°C Until expiry date printed on the product label.

After reconstitution: 2–8°C 48 h

After reconstitution: -20°C 1 week

### *Precipitation solution*

**Handling:**

The component is liquid and ready for use.

**Stability and storage:**

Before opening: 2–8 °C	Until expiry date printed on the product label.
After opening: 2–8 °C	2 weeks
After opening: -20 °C	1 month

### *Mobile phases A and B*

**Handling:**

The component is liquid and ready for use.

**Stability and storage:**

Store at 2–8 °C	After first opening the component can be used for 6 weeks if closed and stored at 2–8 °C or 2 weeks on the UHPLC.
-----------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### *Autosampler wash solution*

**Handling:**

The component is liquid and ready for use.

**Stability and storage:**

Store at 2–8 °C	After first opening the component can be used for 6 weeks if closed and stored at 2–8 °C or 2 weeks on the UHPLC.
-----------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## **6. STORAGE, STABILITY AND PREPARATION OF SAMPLE**

**Storage and Stability**

Use serum, EDTA- or heparinplasma.

Avoid freeze-thaw cycles.

## Sample preparation

#	96-well plate	1.5 ml reaction tube
1.	Add 25 µl sample, CAL or CTRL in one well respectively reaction tube.	
3.	Add 975 µl PREC.	
4.	Seal plate and shake for at least 30 min.	Seal tubes and vortex for 30 s.
4.	Centrifuge for 15 min at 150g (until the sample is adequately separated).	Centrifuge for 5 min at 10000g.
5.	Use directly the plate for the autosampler or transfer 400 µl of the supernatant in a suitable microtiter plate for the autosampler.	Transfer 400 µl of the supernatant in a suitable vial or microtiter plate for the autosampler.
6.	Injection into the LC-MS system (see application note).	

## 7. LC-MS/MS METHOD

Please refer to the application note or contact [lcms@immundiagnostik.com](mailto:lcms@immundiagnostik.com) for the LC-MS/MS method parameters.

## 8. EXAMPLES OF CHROMATOGRAMS

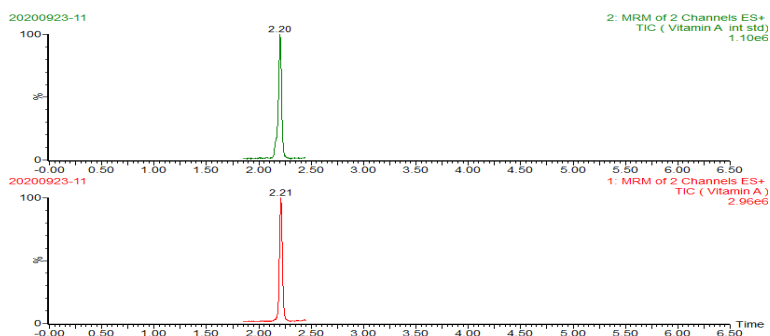


Fig. 3: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the internal standard (top) and analyte (bottom) of vitamin A.

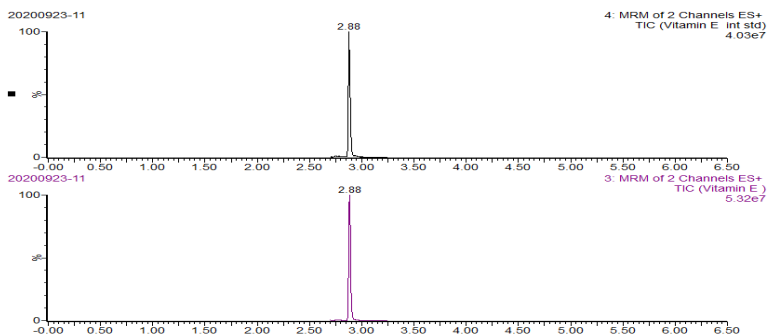


Fig. 4: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the internal standard (top) and analyte (bottom) of vitamin E

## 9. QUALITY CONTROL

Control samples should be analysed with each run. The results of the control samples are used to confirm the accuracy of the method. The test results may not be valid, if one or more values of the quality control sample are outside the acceptable range (see product specification).

### Reference range

Vitamin A: 1.2–2.7  $\mu\text{mol/l}$  (0.34–0.77  $\mu\text{g/ml}$ )

Vitamin E: 15–35  $\mu\text{mol/l}$  (6.5–15.1  $\mu\text{g/ml}$ )

We recommend each laboratory to establish its own reference range.

## 10. TEST CHARACTERISTICS

### Measuring range with limit of quantification (LOQ)

Analyte	$\mu\text{mol/l}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
Vitamin A	0.25–8.5 (0.07–2.4)
Vitamin E	3.5–60 (1.5–25.8)

## Repeatability

### Vitamin A

Level	Measured value [µmol/l (µg/ml)]	Standard Deviation [µmol/l (µg/ml)]	CV [%]	N
Level 1	0.44 (0.13)	0.007 (0.002)	1.6	20
Level 2	2.9 (0.83)	0.011 (0.003)	0.4	20
Patient sample	2.5 (0.72)	0.087 (0.025)	0.5	20

### Vitamin E

Level	Measured value [µmol/l (µg/ml)]	Standard Deviation [µmol/l (µg/ml)]	CV [%]	N
Level 1	6.0 (2.58)	0.098 (0.04)	1.6	20
Level 2	44.1 (18.99)	0.27 (0.12)	0.6	20
Patient sample	27.2 (11.72)	0.20 (0.09)	0.7	20

## 11. PRECAUTIONS

- Human material used in the kit components was tested and found to be negative for HIV1/2-, HBV- and HCV-antibodies, Hepatitis B-surface antigen, HIV1- and HCV-RNA, HBV-DNA (NAT). Still, all kit components should be treated as potentially infectious.
- The GHS symbols indicated on the individual components and specifications of the material safety data sheets (available on request from Immundiagnostik AG) must be noted. When working with these reagents, the legal protective precautions must be adhered to.
- The test components contain organic solvents. Avoid contact with skin or mucous membranes.

## 12. DISPOSAL

Autosampler wash solution (AUTOWASH), precipitation solution (PREC), mobile phase A (MOPHAA) und mobile phase B (MOPHAB) must be disposed as nonhalogenated solvents.

The calibrators (CAL1–6) and controls (CTRL1–3) should be disposed as potentially infectious material in accordance with local regulations.

### 13. TECHNICAL HINTS

















- Do not mix different lot numbers of any kit component.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.
- Plugs and caps of different reagents should not be swapped.
- The individual components of the kit are designed for a maximum of the specified number of test runs. Any part of the components that has already been used must not be reused.

### 14. GENERAL NOTES ON THE TEST

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- *IDK®* is a trademark of Immundiagnostik AG.
- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from wrong use.
- Serious incidents are to be reported to Immundiagnostik AG and the national regulatory authorities.
- Please contact Immundiagnostik AG if one or more components of the kit are damaged, missing (see material supplied) or precipitates are visible in the ready-to-use solutions.
- Warranty claims and complaints in respect of deficiencies must be lodged within 14 days after receipt of the product. The product shall be send to Immundiagnostik AG together with a written complaint.



**Used symbols:**

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains 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)

