

Kurzanleitung / Short manual

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

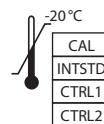
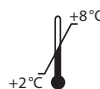
Coenzym Q₁₀ UHPLC Kit

*Zur Bestimmung von Coenzym Q₁₀ (Ubichinon) aus
EDTA-Vollblut, Serum und EDTA-Plasma*

*For the determination of coenzyme Q₁₀ (ubiquinone) in
EDTA-whole blood, serum and EDTA-plasma*

Gültig ab / Valid from 2024-11-26

REF KU1700



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

Der Assay ist ausschließlich nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen. Wichtige Sicherheitshinweise zu diesem Produkt sind dem Kapitel HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN 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	4
7. PROBENVORBEREITUNG	5
8. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	5
9. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	6
10. SYMBOLE	7

1. VERWENDUNGSZWECK

Diese HPLC-Applikation ist für die Bestimmung von Coenzym Q₁₀ (Ubichinon) aus EDTA-Vollblut, Serum und EDTA-Plasma geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Coenzym Q₁₀ (Ubichinon) wurde erstmalig in den 50er Jahren von der Arbeitsgruppe um Prof. Green (Wisconsin) isoliert. Die Funktion untersuchte Prof. Mitchel, der für seine Arbeiten zur Aufklärung der oxidativen Phosphorylierung 1978 den Nobelpreis erhielt.

Ubichinon ist, wie der Name schon sagt, ein ubiquitär (im gesamten Stoffwechsel) vorkommendes Coenzym. Ubichinone haben einen Chinonring und eine Isoprenseitenkette. Bei Coenzym Q₁₀ besteht diese Seitenkette aus 10 Isopreneinheiten. Der Mensch kann Ubichinon mit der Nahrung aufnehmen, aber auch selbst synthetisieren.

Coenzym Q₁₀ hat zunächst zwei generelle physiologische Wirkungskreise, die einerseits aus der bioenergetischen Funktion im Stoffwechsel und andererseits aus der hohen Anzahl der konjugierten Doppelbindungen resultieren:

- 1) Energiestoffwechsel-Komponente
- 2) Radikalfänger

Im Energiestoffwechsel werden während der Atmungskettenphosphorylierung bei der Reduktion von Sauerstoff 3 Mol ATP gebildet. Dieser Reduktionsvorgang, verbunden mit Elektronentransfer von NADPH zum Sauerstoff, läuft über 6 verschiedene Redox-Systeme ab. Q₁₀ ist in den Mitochondrienmembranen das am geringsten konzentrierte und damit geschwindigkeitsbestimmende Redox-System. Es übt daher eine Kontrollfunktion im Energiestoffwechsel aus und hat im Falle einer Unterversorgung Einfluss auf das gesamte Geschehen. Mit der üblichen Nahrung ist der Bedarf an diesem Coenzym gedeckt und der menschliche Organismus ist in der Lage, Coenzym Q₁₀ selbst bereitzustellen. Jedoch im ansteigenden Alter sowie unter Sonnenbestrahlung nimmt der Gehalt an Coenzym Q₁₀ um bis zu 50 % ab.

Ubichinone haben eine hohe Anzahl von Doppelbindungen und damit ein deutlich höheres Reduktionspotential als Vitamin C oder Vitamin E. Sie werden demnach bei einem radikalischen Angriff zuerst verbraucht und stellen somit einen Schutz für besonders empfindliche Systeme dar. Q₁₀ reagiert sehr schnell und sensibel auf freie Radikale, auch wenn andere Schutzsysteme wie z. B. Vitamin E sich noch inert verhalten. Q₁₀ wird dadurch zu einem optimalen Membranstabilisator, der die Ionenkanäle stabilisiert und den optimalen Stoffwechsel aufrechterhält.

Indikationen

- Überwachung des Coenzym-Q₁₀-Status
- Kardiovaskuläre Erkrankungen
- Karzinogenese
- Alterungsprozesse
- Ermüdungssyndrome

3. TESTPRINZIP

Zur Coenzym Q₁₀-Bestimmung wird im ersten Schritt eine Probenvorbereitung durchgeführt. Zunächst wird dem Kalibrator, den Kontrollen und den Proben der interne Standard, das Fällungsreagenz und anschließend die Extraktionslösung zugegeben. Anschließend wird der Überstand abgenommen und vollständig eingetrocknet. Die Probe wird in AufnahmeLösung resuspendiert und in die UHPLC injiziert.

Die Trennung mittels UHPLC erfolgt in einem isokratischen Verfahren auf einer reversed-phase-Säule. Die Aufnahme der Chromatogramme erfolgt mit einem UV-Detektor. Die Trennung benötigt 1,5 Minuten für einen Lauf. Die Quantifizierung erfolgt über den mitgelieferten Kalibrator und die Berechnung der Ergebnisse wird über die interne-Standard-Methode anhand der Integration der Peakhöhe/-fläche durchgeführt.

Zusammenfassung

Der hier vorliegende Komplettkit ermöglicht eine einfache, schnelle und präzise quantitative Bestimmung. Dieser Komplettkit enthält gebrauchsfertig alle Reagenzien 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 Analyte 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 Immunassays 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 der 6-Punkt-Kalibrierung bei Immunassays.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
K 0005.15	RECSOL	Rekonstitutionslösung	15 ml
KU1700	CAL	Kalibrator; lyophilisiert	4 x
	CTRL1	Kontrolle 1; lyophilisiert	4 x
	CTRL2	Kontrolle 2; lyophilisiert	4 x
	INTSTD	Interner Standard	1 ml
	EXTSOL	Extraktionslösung	110 ml
	PREC	Fällungsreagenz	40 ml
	SOL	Aufnahmelösung	25 ml
	MOPHA	Laufmittel gebrauchsfertig	1 000 ml

Die UHPLC-Trennsäule (KU1700RP), kann separat 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

- Glasreaktionsgefäße (Kunststoffbeschichtete Gefäße können zu Störsignalen führen)
- Zentrifuge
- diverse Pipetten
- UHPLC-Gerät mit UV-Detektor
- Anlage zum Eindampfen von Proben
- Reversed phase C₁₈-Säule
- Vortex-Mixer

6. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Der lyophilisierte Kalibrator (**CAL**) ist bei **-20 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch wird er in **x µl** (x = genaues Volumen der beiliegenden Produktspezifikation entnehmen) Rekonstitutionslösung (**RECSOL**) resuspendiert. Der Gehalt an Coenzym Q₁₀ ändert sich geringfügig von Charge zu Charge, der genaue Gehalt ist auf der Produktspezifikation angegeben.

- Die lyophilisierten Kontrollen 1 und 2 (**CTRL1 und CTRL2**) sind bei **-20°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Vor Gebrauch werden sie in je $x \mu\text{l}$ (x = genaues Volumen der beiliegenden Produktspezifikation entnehmen) Rekonstitutionslösung (**RECSOL**) resuspendiert. Der Gehalt an Coenzym Q₁₀ ändert sich geringfügig von Charge zu Charge, der genaue Gehalt ist dem Spezifikationsdatenblatt zu entnehmen.
- Der interne Standard (**INTSTD**) ist bei **-20°C** zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.
- Vor der ersten Verwendung des Assays den kompletten Inhalt des internen Standard (**INTSTD**) in das Fällungsreagenzfläschchen (**PREC**) geben und mischen. Die Mischung ist bei **-20°C** zu lagern.
- Alle anderen Testreagenzien sind bei **2–8°C** zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

7. PROBENVORBEREITUNG

Als Probe eignet sich EDTA-Vollblut, Serum und EDTA-Plasma, das aus venösem Nüchternblut gewonnen wird.

Die Haltbarkeit der Probe beträgt 1 Tag bei **2–8°C** im Dunkeln. Zur längeren Lagerung sollte die Probe bei **-20°C** aufbewahrt werden.









8. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Als Vorsichtsmaßnahme wird empfohlen, das verwendete Humanmaterial immer als potentiell infektiös zu betrachten.
- 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.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische 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.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.
- Schwerwiegende Vorfälle sind der Immundiagnostik AG und den nationalen Aufsichtsbehörden zu melden.

10. SYMBOLE

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	<i>In-Vitro</i> -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

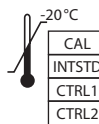
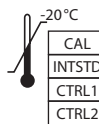
For professional use only

Coenzyme Q₁₀ UHPLC Kit

*For the determination of coenzyme Q₁₀ (ubiquinone) in
EDTA-whole blood, serum and EDTA-plasma*

Valid from 2024-11-26

REF KU1700



CAL
INTSTD
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

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 WARNINGS AND PRECAUTIONS.

Table of Contents

1. INTENDED USE _____	11
2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST _____	11
3. PRINCIPLE OF THE TEST _____	12
4. MATERIAL SUPPLIED _____	12
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED _____	13
6. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS _____	13
7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION _____	14
8. WARNINGS AND PRECAUTIONS _____	14
9. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE _____	14
10. SYMBOL EXPLANATION _____	15

1. INTENDED USE

This HPLC application is intended for the quantitative determination of coenzyme Q₁₀ (ubiquinone) in EDTA-whole blood, serum and EDTA-plasma. For *in vitro* diagnostic use only.

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Ubiquinone was first isolated in the 1950s from the group of Prof. Green (Wisconsin). The function was investigated by Prof. Mitchel, who received the Nobel price for his research on the oxydative phosphorylation pathway.

Ubiquinone is a coenzyme which is represented in every cell and the whole metabolism. It is built up by a chinonic ring and an isoprenic side chain. In humans, ubiquinone can be synthesized and taken up by nutrition.

Ubiquinone has two different pysiological functions:

- 1) Component of the energy metabolism
- 2) Radical scavanger

During the reduction of oxygen in the oxydative phosphorylation 3 mol ATP are generated. In this reduction electrons are transferred from NADPH to oxygen via 6 different redox systems. Ubiquinone is the least concentrated and thus speed-determining in the redox system in the mitochondrial membranes. It therefore has a control function in the energy metabolism and, in the case of a deficit on the entire metabolism. With normal nutrition enough amounts are taken up and the human organism is in the able to provide coenzyme Q₁₀ itself. However, with increasing age and under exposure to sunlight the content of coenzyme Q₁₀ is reduced up to 50%.

Ubiquinone has a high amount of carbon doublebonds and therefore a higher potential of reduction than vitamin C or vitamin E. It will therefore be consumed first when a radical attack occurs and thus represents a protection for particularly sensitive systems. Q₁₀ reacts very quickly and sensitively to free radicals, even if other protective systems such as vitamin E still behave inertly. Q₁₀ thus becomes an optimal membrane stabilizer, which stabilizes the ion channels and mantains optimal metabolism.

Indications

- Determination of ubiquinone status
- Cardiovascular disease
- Carcinogenesis
- Aging
- Fatigue symptoms

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The first step in determining coenzyme Q₁₀ is a sample preparation. The internal standard, the precipitation reagent and the extraction solution are added to the calibrator, controls and samples. The supernatant is then completely dried. The residue is resuspended with dilution solution and then injected into the UHPLC system.

The separation via UHPLC follows an isocratic method using a reversed phase column. One run lasts 1.5 minutes. The chromatograms are recorded by a UV detector. The quantification is performed with the delivered calibrator; the concentration is calculated via integration of the peak areas/heights by the internal standard method.

Summary

The kit includes all reagents for preparation and separation of the samples, except the column.

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	15 ml
KU1700	CAL	Calibrator; lyophilised	4 x
	CTRL1	Control 1; lyophilised	4 x
	CTRL2	Control 2; lyophilised	4 x
	INTSTD	Internal Standard	1 ml
	EXTSOL	Extraction solution	110 ml
	PREC	Precipitation reagent	40 ml
	SOL	Dilution solution	25 ml
	MOPHA	Mobile phase	1 000 ml

The HPLC column (KU1700RP), can be ordered separately 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

- Glass reaction tubes (plastic-coated vessels can lead to interference signals)
- Centrifuge
- Various pipettes
- UHPLC with UV detector
- Evaporation unit
- Reversed phase C₁₈ column
- Vortex

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, it has to be reconstituted in **x µl** (x = see the enclosed product specification for the volume needed) reconstitution solution (**RECSOL**). The concentration of coenzyme Q₁₀ slightly changes from lot to lot, please refer to the enclosed product specification sheet for the exact amount.
- 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** (x = see the enclosed product specification for the volume needed) reconstitution solution (**RECSOL**). The concentration of coenzyme Q₁₀ slightly changes from lot to lot, the exact concentration is stated on the specification data sheet.
- The internal standard (**INTSTD**) is stable at **-20 °C** until the expiry date stated on the label.
- Before using the assay for the first time, add the complete content of the internal standard (**INTSTD**) to the precipitation reagent vial (**PREC**) and mix. The mixture must be stored at **-20 °C**
- All other test reagents are ready to use. Test reagents are stable until the expiry date (see label of test package) when stored at **2–8 °C**.

7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

EDTA-whole blood, serum or EDTA-plasma are suited for this test system.

The samples are stable for 1 day at **2–8 °C** in the dark. For longer storage, samples should be frozen at **-20 °C**.

8. WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components must be treated as potentially infectious.
- As a precaution, it is recommended that the human material used is always considered potentially infectious.
- The test components contain organic solvents. Contact with skin or mucous membranes must be avoided.

















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 shown on kit label.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Always perform the assay according to the enclosed manual.
- 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 is not in agreement 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 made within 14 days after receipt of the product. The product should be sent to Immundiagnostik AG along with a written complaint.
- Serious incidents are to be reported to Immundiagnostik AG and the national regulatory authorities.

10. SYMBOL EXPLANATION

Symbol explanation:

	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

www.immundiagnostik.com

