

Arbeitsanleitung / Manual

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

1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ IDKenhance[®] ImmuTube[®] LC-MS/MS Extraktionskit

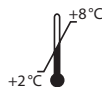
*Zur Extraktion von 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂
aus Plasma und Serum*

*For the extraction of 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂
from plasma and serum*

Gültig ab / Valid from 2023-11-27



KM1102



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

Inhalt

SICHERHEITSHINWEISE	2
1. ZWECKBESTIMMUNG	3
2. MITGELIEFERTE MATERIALIEN	3
3. BENÖTIGTE MATERIALIEN (IM KIT NICHT ENTHALTEN)	3
4. LAGERUNG DER REAGENZIEN	4
5. PROBENVORBEREITUNG	4
6. SICHERHEITSHINWEISE	6
7. ENTSORGUNG	7
8. SYMBOLE	7

SICHERHEITSHINWEISE

Der Assay ist ausschließlich nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen. Wichtige Sicherheitshinweise zu diesem Produkt sind dem Kapitel 6 zu entnehmen.

1. ZWECKBESTIMMUNG

Der 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ IDKenhance® ImmuTube® LC-MS/MS Extraktionskit ist für die Probenvorbereitung von 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ für die 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ LC-MS/MS Applikation mittels Extraktion aus humanem Serum und Plasma über Immunoaffinitätsanreicherung (ImmuTube®) und Derivatisierung (IDKenhance®) bestimmt. Er ist für den manuellen Gebrauch durch professionelles Laborpersonal anzuwenden. Nur zur *In-vitro*-Diagnostik.

2. MITGELIEFERTER MATERIALIEN

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
KM0003	WASHSOL	Waschlösung	1 x 80 ml
KM1002	DER	Derivatisierungsreagenz	1 x 3 ml
KM1002	STOP	Stopplösung	1 x 1,5 ml
KM1100	ELUSOL	Elutionslösung	1 x 15 ml
KM1100	COLUMNS	ImmuTube®-Säulen zur Extraktion des 1,25-(OH) ₂ -Vitamin D ₃ /D ₂	50 Stück

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

3. BENÖTIGTE MATERIALIEN (IM KIT NICHT ENTHALTEN)

Folgendes Zubehör wird für die 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ IDKenhance® ImmuTube® LC-MS/MS-Extraktion benötigt (nicht im Kit enthalten):

- Glasröhrchen (Innendurchmesser 10 mm)
- Präzisionspipetten und Einmalpipettenspitzen mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Zentrifuge, 10 000 g für 1,5-ml-Eppendorfreaktionsgefäße bzw. 550 g für Reagenzgefäße
- Vortex-Mixer

- Vakuumzentrifuge oder Stickstoffverdampfer
- Laborübliche Plastikröhrchen (Innendurchmesser 10 mm, Einmalartikel)
- Überkopfschüttler
- Orbitalschüttler

Folgende Artikel können unter anderem für die 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ /DKenhance® ImmuTube® LC-MS/MS-Applikation bei Immundiagnostik AG separat bestellt werden:

- 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ /DKenhance® ImmuTube® LC-MS/MS Kit (KM1002)
- Kalibratoren und Kontrollen (KM1002CAL1–6 und KM1002CTRL1–3)
- Tuninglösung für 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ (KM1002TU)
- Tuninglösung für den internen Standard (KM1002TS)
- UPLC-Säule (KM1002SP)
- In-Line Filter (KM1002IF)
- In-Line Filterhalter (KM1002IH)

Bitte fordern Sie unsere Einzelkomponentenpreisliste an.

Immundiagnostik AG bietet für die 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ LC-MS/MS-Applikation weitere Optionen zur Probenvorbereitung an. Bitte sprechen Sie uns für Ihre individuelle Lösung an.

4. LAGERUNG DER REAGENZIEN

Die Testreagenzien sollten lichtgeschützt, trocken und bei ihrer angegebenen Lagertemperatur (DER: -20 °C; alle anderen: 2–8 °C) gelagert werden. Die so gelagerten Testreagenzien sind bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar.

5. PROBENVORBEREITUNG

Als Probe eignet sich Serum und Plasma.

Proben müssen vor dem Einsatz zentrifugiert werden (mind. 5 min bei 10 000 g).

Qualitätskontrollen sollten immer mitgeführt werden.

Im Test dürfen nur Reagenzien und Proben verwendet werden, die Raumtemperatur (18–26 °C) aufweisen.

Vor Gebrauch Reagenzien und Proben gut mischen.

1.	ImmuTubes® vorsichtig vortexen und kurz zentrifugieren (30s bei 500–1000 rpm), damit die enthaltene Suspension nicht im Deckel verbleibt.
2.	ImmuTubes® beschriften, öffnen, 500 µl Probe zügig hinzu pipettieren, ImmuTubes® verschließen und den Inhalt vorsichtig mischen.
3.	Inkubation für 1 h bei Raumtemperatur im Überkopfschüttler (15–30 rpm).
4.	Verschlossene ImmuTubes® in Plastikröhrchen setzen, 2 min bei 550 g zentrifugieren, damit keine Suspension im Deckel verbleibt.
5.	ImmuTubes® am Auslass öffnen, dann den Deckel abschrauben und 2 min bei 550 g bis zum Eintrocknen zentrifugieren; den Durchlauf verwerfen.
6.	500 µl WASHSOL hinzu pipettieren und 2 min bei 550 g bis zum Eintrocknen zentrifugieren; den Durchlauf verwerfen. Diesen Waschschrift insgesamt dreimal durchführen.
7.	Neue Glasröhrchen beschriften und ImmuTubes® in die Glasröhrchen setzen.
8.	250 µl ELUSOL hinzu pipettieren, 2 min bei 550 g zentrifugieren und das Eluat mit den Analyten in den Glasröhrchen sammeln.
9.	Das Eluat unter Stickstoffstrom bei 37 °C oder in einer Vakuumzentrifuge eintrocknen.
10.	50 µl DER in jedes Glasröhrchen pipettieren und für 1 h bei 1 200 rpm auf einem Schüttler im Dunkeln inkubieren (Achtung: Reaktion ist lichtsensitiv).
11.	25 µl STOP in jedes Glasröhrchen pipettieren und für 2 min bei 1 200 rpm auf einem Schüttler inkubieren.
12.	Die Lösung unter Stickstoffstrom bei 37 °C oder in einer Vakuumzentrifuge eintrocknen.
13.	Den Rückstand in 175 µl einem dem Laufmittel angepassten Lösungsmittel lösen.












6. SICHERHEITSHINWEISE

- Dieser Kit wurde nach der Verordnung (EU) 2017/746 (IVDR) hergestellt und inverkehrgebracht.
- IDKenhance® und ImmuTube® sind Marken der Immundiagnostik AG.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen. 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.
- Reagenzien der Kitpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden. Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Alle im Zusammenhang mit dem Produkt auftretende schwerwiegende Vorkommnisse sind der Immundiagnostik AG und (innerhalb des Unionsmarkt) der zuständigen Meldebehörde des jeweiligen Mitgliedsstaats 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.
- 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.

7. ENTSORGUNG

Derivatisierungsreagenz (DER), Stopplösung (STOP) und Elutionslösung (ELUSOL) müssen als halogenfreier Lösungsmittelabfall entsorgt werden.

8. SYMBOLE

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	In-Vitro-Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Nicht wiederverwenden		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		

Manual
For professional use only

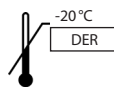
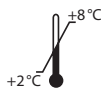
1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ **IDKenhance[®] ImmuTube[®]** **LC-MS/MS extraction kit**

*For the extraction of 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂
from plasma and serum*

Valid from 2023-11-27



KM1102



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

Table of Contents

SAFETY INFORMATION	11
1. INTENDED PURPOSE	12
2. MATERIALS PROVIDED	12
3. MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	12
4. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	13
5. SAMPLE PREPARATION	13
6. WARNINGS AND PRECAUTIONS	15
7. DISPOSAL	16
8. SYMBOL EXPLANATION	16

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 chapter 6.

1. INTENDED PURPOSE

The 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ IDKenhance® ImmuTube® LC-MS/MS extraction kit is intended for the sample preparation of 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ for the 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ LC-MS/MS application by means of extraction from human serum and plasma via immunoaffinity enrichment (ImmuTube®) and derivatization (IDKenhance®). It is for manual use by laboratory professionals. For *in vitro* diagnostic use only.

2. MATERIALS PROVIDED

Cat. No.	Identifier	Kit components	Quantity
KM0003	WASHSOL	Wash solution	1 x 80 ml
KM1002	DER	Derivatization reagent	1 x 3 ml
KM1002	STOP	Stop solution	1 x 1.5 ml
KM1100	ELUSOL	Elution solution	1 x 15 ml
KM1100	COLUMNS	ImmuTube®-columns for extraction of 1,25-(OH) ₂ -Vitamin D ₃ /D ₂	50 Stück

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

3. MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

The following material is required for the 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ IDKenhance® ImmuTube® LC-MS/MS extraction (not included in the kit):

- Glass tubes (inner diameter 10 mm)
- Precision pipettors and disposable tips to deliver 10–1 000 µl
- Centrifuge capable of 10 000 *g* for 1.5 ml Eppendorf reaction tubes and 550 *g* for glass tubes, respectively
- Vortex mixer
- Vacuum centrifuge or nitrogen evaporator

- Standard laboratory disposable plastic reagent vials (inner diameter 10 mm)
- Overhead rotator
- Orbital shaker

The following articles, among others, can be ordered separately for the 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ IDKenhance® ImmuTube® LC-MS/MS application at Immundiagnostik AG:

- 1,25-(OH)₂-Vitamin D₃/D₂ IDKenhance® ImmuTube® LC-MS/MS kit (KM1002)
- calibrators and controls (KM1002CAL1–6 and KM1002CTRL1–3)
- tuning solution for 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂ (KM1002TU)
- tuning solution for the internal standard (KM1002TS)
- UPLC column (KM1002SP)
- in-line filter (KM1002IF)
- in-line filter holder (KM1002IH)

Please ask for our single component price list.

Immundiagnostik AG offers further options for sample preparation for the 1,25-(OH)₂-vitamin D₃/D₂ LC-MS/MS application. Please contact us for your individual solution.

4. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

The test reagents should be stored protected from light, dry and their specified storage temperature (DER: -20 °C; all others: 2–8 °C). The test reagents stored in this way are usable until the indicated expiry date.

5. SAMPLE PREPARATION

Serum and plasma samples are suitable for the assay.

The samples must be centrifuged before use (minimum 5 min at 10 000 *g*).

Control samples should be carried along with each run.

Prior to use in the assay, allow all samples and reagents to come to room temperature (18–26 °C).

Mix samples and reagents well before use.

1.	Carefully vortex ImmuTubes® and centrifuge (30 s at 500–1 000 rpm) to ensure that no suspension remains in the lid.
2.	Label the ImmuTubes®, open ImmuTubes®, quickly add 500 µl sample, close ImmuTubes® and mix gently.
3.	Incubation for 1 h at room temperature in an overhead rotator (15–30 rpm).
4.	Insert closed ImmuTubes® in plastic reagent vials and centrifuge for 2 min at 550 g to ensure that no suspension remains in the lid.
5.	Open the outlet of the ImmuTubes®, then the lid and centrifuge for 2 min at 550 g to dryness. Discard flow-through.
6.	Add 500 µl WASHSOL and centrifuge for 2 min at 550 g to dryness; discard the flow-through. Perform this washing step a total of three times.
7.	Label new glass tubes and place ImmuTubes® in the labelled glass tubes.
8.	Add 250 µl ELUSOL, centrifuge for 2 min at 550 g and collect the eluate with the analytes in the glass tubes.
9.	Evaporate the solvents under a nitrogen stream at 37 °C or in a vacuum centrifuge.
10.	Add 50 µl DER into each glass tube and incubate for 1 h at 1 200 rpm on a shaker in the dark (attention: reaction is light sensitive).
11.	Add 25 µl STOP into each glass tube and incubate for 2 min at 1 200 rpm on a shaker.
12.	Evaporate the eluate under a nitrogen stream at 37 °C or in a vacuum centrifuge.
13.	Dissolve the residue in 175 µl solvent (adjust solvent to mobile phase).












6. WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This product has been produced and placed on the market in accordance with the regulation (EU) 2017/746 (IVDR).
- IDKenhance® and ImmuTube® are brands of Immundiagnostik AG.
- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- The assay should always be performed according the enclosed manual. 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.
- Do not mix different lot numbers of any kit component. Plugs and caps of different reagents should not be swapped.
- Reagents should not be used beyond the expiry date stated on the kit label.
- 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 regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be send to Immundiagnostik AG along with a written complaint.
- 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.

7. DISPOSAL

Derivatization reagent (DER), stop solution (STOP) and elution solution (ELUSOL) must be disposed as non-halogenated solvents.

8. SYMBOL EXPLANATION

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Lot number		Use by
	Do not re-use		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		

Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

