

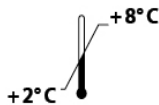
Vitamin C

Zur kolorimetrischen Bestimmung von Vitamin C
in Li-Heparinat-Plasma, Serum und Urin

For colorimetric determination of Vitamin C
in Li-heparine-plasma, serum and urine

Gültig ab / Valid from 31.05.2011

REF K 4000



Immundiagnostik AG
Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany
www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK	2
2. EINLEITUNG	2
3. TESTPRINZIP	2
4. INHALT DER TESTPACKUNG	3
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	3
6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	4
7. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	4
8. PROBENVORBEREITUNG	4
9. TESTDURCHFÜHRUNG	5
Pipettierschema	5
10. AUSWERTUNG	6
11. QUALITÄTSKONTROLLE	6
Erwartete Ergebnisse	6
12. TESTCHARAKTERISTIKA	6
Präzision und Reproduzierbarkeit	6
Wiederfindung	7
Sensitivität	7
Korrelationsdaten kolorimetertrischer Mikrotiterplattentest - HPLC	8
13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	9
14. LITERATUR	9

1. VERWENDUNGSZWECK

Dieser kolorimetrische Mikrotiterplattentest ist für die Bestimmung von Vitamin C (Ascorbinsäure) in Li-Heparinat-Plasma, Serum und Urin geeignet. Nur zur In-vitro-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Neben seiner Funktion als Coenzym (z.B. bei der Kollagen-Biosynthese) ist Vitamin C aufgrund seiner leichten Oxidierbarkeit das **zentrale Antioxidanz** unter den wasserlöslichen Antioxidanzen. Es spielt außerdem bei der **Detoxifizierung von Nebenprodukten der Atmungskette** eine Rolle. Normalerweise konvertiert die Superoxiddismutase (SOD) O_2^- zu H_2O_2 und O_2 , aber in Gegenwart von Fe^{2+} kann das Hydrogenperoxid in das hochreaktive Hydroxyl-Radikal ($\bullet OH$) umgewandelt werden. Das Hydroxyl-Radikal kann innerhalb einer Zelle unerwünschte und schädliche chemische Reaktionen hervorrufen, indem es einer organischen Verbindung ein Hydrogenatom ($H\bullet$) wegnimmt, um damit selbst ein H_2O -Molekül zu bilden. Dadurch entstehen weitere, möglicherweise noch stärker reaktive freie Radikale. Ein Ascorbinsäure-Molekül kann ein Wasserstoffatom an freie Radikale abgeben und damit diese Radikalbildung stoppen.

Im Serum/Plasma finden sich sowohl Ascorbinsäure als auch die oxidierte Form der Ascorbinsäure, die Dehydroascorbinsäure. Beide Formen sind biologisch aktiv. In verschiedenen Krankheitsbildern wird der Vitamin-C-Spiegel, bedingt durch den verstärkten oxidativen Stress, gesenkt. Bei HIV-positiven Patienten sinkt der Blutplasma-Gehalt von $75.7 \mu mol/l$ auf $40.7 \mu mol/l$. Rauchen bewirkt im Blutplasma einen starken Vitamin-C-Verbrauch. Es werden allgemein Proteinthiole oxidiert und nachdem der Vitamin C-Pool aufgebraucht ist, beginnt die Lipidperoxidation.

Indikationen

- Bestimmung des Vitamin-C-Status (z.B. bei HIV-Patienten oder Rauchern)
- Verlaufskontrolle bei Infusionstherapie
- Überprüfung der individuellen Resorptionsfähigkeit bei oraler Substitution

3. TESTPRINZIP

Unser Vitamin-C-Test misst den Analyten über eine vorgeschaltete Oxidation und erfasst dadurch sowohl Ascorbinsäure- als auch Dehydroascorbinsäure-Moleküle. Ein Farbumschlag erfolgt von Gelb nach Orange. Die Messung erfolgt fotometrisch bei 492 oder 520 nm mit einem Referenzfilter bei 620 nm. Die Konzentration der Proben wird anhand einer Standardkurve ausgewertet.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

Artikel Nr.	Abkürzung	Kit Komponenten	Menge
K 4000FR	PREC	Fällungsreagenz	15 ml
K 4000LSGA	SOL A	Reagenzlösung A	7 ml
K 4000LSGB	SOL B	Reagenzlösung B	1 ml
K 4000LSCG	SOL C	Reagenzlösung C	1 ml
K 4000AC	STOP	Schwefelsäurelösung	20 ml
K 4000ST	STD	4 Standards (lyophilisiert)	je 4 x 400 µl
K 4000KO1 K 4000KO2	CTRL1 und CTRL2	Kontrolle 1 und 2 (lyophilisiert)	je 4 x 250 µl
K 4000MTP	PLATE	Mikrotiterplatte (MTP)	12 x 8 Vertiefungen
K 4000FOL	FOL	Folie zum Aufkleben der Mikrotiterplatte	2

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Bidestilliertes Wasser (aqua bidest.)
- Präzisionspipetten und Einmalpipettenspitzen mit variablen Volumina von 20 - 200 µl und 100 - 1000 µl
- Eppendorf-Gefäße 1.5 ml
- 15 ml Röhrchen (z.B. Falcon)
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Mikrotiterplattenschüttler
- Zentrifuge für 15 ml Gefäße, 10 000 x g
- Vortex-Mixer
- Inkubator 37 °C
- Mikrotiterplattenphotometer mit Filter 490 - 520 nm (Referenzfilter 610 - 630 nm)
- Geeignete Unterlage für den Umgang mit SOL A, da der Farbstoff auf Kunststoffoberflächen nicht zu entfernen ist

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Die Testreagenzien sind bei 2-8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwendbar.
- STD** (Standards) werden mit 400 µl aqua bidest. rekonstituiert und **CTRL1** bzw. **CTRL2** (Kontrolle 1 bzw. Kontrolle 2) mit 250 µl aqua bidest. Rekonstituierte Standards und Kontrollen werden zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen. Rekonstituierte Standards und Kontrollen können nicht gelagert werden.

Bitte beachten Sie:

Proben müssen kühl und lichtgeschützt aufbewahrt werden. Eine Messung ist dann bis zu 24 Stunden nach Probenentnahme möglich.

7. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur zur in vitro Diagnostik.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befundet. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die STOP (Stopplösung) besteht aus konzentrierter Schwefelsäure (H_2SO_4). H_2SO_4 ist eine starke Säure und muss mit Vorsicht verwendet werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Schwefelsäure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.
- Das PREC (Fällungsreagenz) besteht aus Säure und muss mit Vorsicht behandelt werden. Sie verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

8. PROBENVORBEREITUNG

- 200 µl frisches Li-Heparinat-Plasma oder Serum bzw. rekonstituierte **STD** (Standards) und **CTRL1** bzw. **CTRL2** (Kontrolle 1 bzw. Kontrolle 2) in Eppendorf-Gefäße pipettieren und mit 200 µl **PREC** (Fällungsreagenz) versetzen
- Urinproben müssen zuerst 1:4 verdünnt werden (z. B. 250 µl Urin + 750 µl aqua dest.). Der Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration berücksichtigt werden.
- Gut vortexen
- Zentrifugation bei 10000 x g, 30 Minuten

- **Herstellung der Arbeitslösung:**

Für den Einsatz einer ganzen **PLATE** (Mikrotiterplatte):

6 ml **SOL A** (Reagenzlösung A) mit je 600 µl **SOL B** und **SOL C** (Reagenzlösung B und C) versetzen.

Bei mehrfachem Einsatz der **PLATE** (Mikrotiterplatte) werden nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt. Der Kit kann bis zu 4 x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.

Bitte beachten Sie:

Es wird empfohlen beim Umgang mit SOL A (Reagenzlösung A) eine geeignete Unterlage zu verwenden, da der Farbstoff auf Kunststoffoberflächen nicht zu entfernen ist.

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Pipettierschema

1.	Für eine Doppelbestimmung werden 2 x je 100 µl der Überstände der STD (Standards), CTRL1 bzw. CTRL2 (Kontrolle 1 bzw. Kontrolle 2) und Proben in PLATE (Mikrotiterplatten) pipettiert
2.	Zugabe von je 50 µl der frisch vorbereiteten Arbeitslösung in die Wells
3.	PLATE (Platte) mit Folie abkleben und für 3 h bei 37 °C inkubieren
4.	Zugabe von je 150 µl STOP (STOP-Lösung) in die Wells
5.	Die PLATE (Platte) auf einem Horizontalschüttler bei Raumtemperatur 20 Minuten schütteln (ohne Abkleben mit Folie). Der gebildete orangene Farbstoff kann ausflocken. Durch 2-3-maliges Aufziehen mit einer Pipette können die Flocken wieder aufgelöst werden.
6.	Messung der Absorption erfolgt bei 492 oder 520 nm mit Referenzfilter 620 nm

10. AUSWERTUNG

Es wird eine Standardkurve – Optische Dichte (Absorption bei 492 nm) versus Standardkonzentration – erstellt. Die Konzentrationen der Proben können direkt anhand der Standardkurve ausgewertet werden.

Es wird eine Punkt-zu-Punkt-Auswertung empfohlen.

11. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen die Kontrollen oder Plasma Pools bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches kann Immundiagnostik die Richtigkeit der Proben nicht gewährleisten.

Erwartete Ergebnisse

Normwerte

4 - 15 mg / L

(Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry, 4th ed. Saunders: Philadelphia, 2006:1107.)

Wir empfehlen jedem Labor einen eigenen Normwertbereich zu etablieren.

12. TESTCHARAKTERISTIKA

Präzision und Reproduzierbarkeit

Intra-Assay-Variation

Die Reproduzierbarkeit von einer Probe innerhalb einer Messserie wurde geprüft. Eine Normalprobe wurde 14-mal in einem Vitamin C Test von einer Person angesetzt.

Intra-Assay VK n= 14

Probe	Vitamin C Mittelwert [mg/l]	Intra-Assay VK [%]
1	10.49	6.03

Inter-Assay-Variation

Die Reproduzierbarkeit von vier Proben an unterschiedlichen Tagen wurde geprüft. Vier Normalproben wurden an drei verschiedenen Tagen mit dem Vitamin C Test gemessen.

Inter-Assay VK n= 3

Probe	Vitamin C Mittelwert [mg/l]	Inter-Assay VK [%]
1	13.8	5.06
2	4.5	16.74
3	9.3	11.75
4	12.0	1.80

Wiederfindung

Zwei Plasmaproben, eine mit einem niedrigen Vitamin C-Gehalt (5.1 mg/l) und eine mit einem hohen Vitamin C-Gehalt (16.6 mg/l), wurden 1:1 gemischt und gemessen.

Wiederfindung n=1

Probe	Vitamin C Erwartet [mg/l]	Vitamin C Gemessen [mg/l]	Wiederfindung [%]
1	10.9	11.9	109.2

Sensitivität

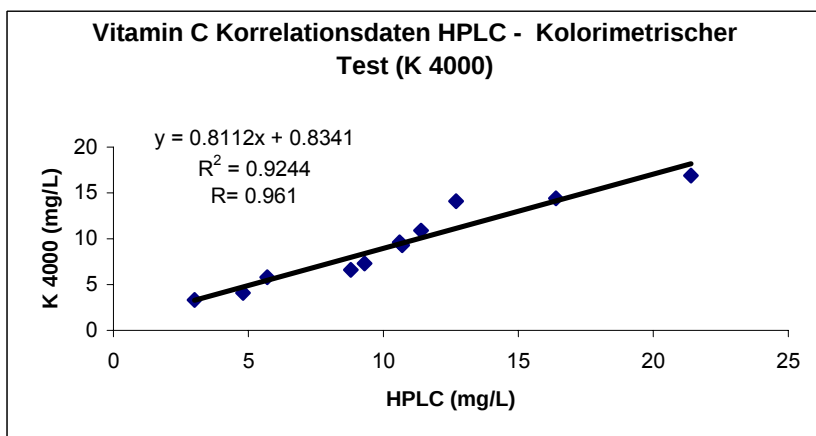
Die Nachweisgrenze wurde festgelegt als $B_0 + 3 \text{ SD}$. Gemessen wurde 9-mal der Standard null.

Probe	Vitamin C Mittelwert [OD]	Standard- abweichung	Nachweisgrenze [mg/l]
1	0.069	0.0021	0.7

Korrelationsdaten kolorimetrischer Mikrotiterplattentest - HPLC

Elf Proben wurden mit dem kolorimetrischen Mikrotiterplattentest bzw. mittels HPLC gemessen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle gezeigt:

Probe	Vitamin C - HPLC [mg/l]	Vitamin C - Kolorimetrischer Test [mg/l]
1	11.4	10.9
2	9.3	7.3
3	5.7	5.8
4	8.8	6.6
5	10.7	9.3
6	21.4	16.9
7	4.8	4.1
8	10.6	9.6
9	16.4	14.4
10	12.7	14.1
11	3.0	3.3



13. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Reagenzien dieser Testpackung enthalten organische Lösungsmittel. Berührungen mit der Haut oder den Schleimhäuten sind zu vermeiden.
- Sämtliche in der Testpackung enthaltene Reagenzien dürfen ausschließlich zur in vitro Diagnostik eingesetzt werden.
- Die Reagenzien sollten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden (Verfallsdatum siehe Testpackung).
- Einzelkomponenten mit unterschiedlichen Lot-Nummern aus verschiedenen Testpackungen sollten nicht gemischt oder ausgetauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die dafür erstellten Richtlinien für medizinische Laboratorien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten und der Aufbereitung der Proben wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für direkt daraus resultierende Schäden und Folgeschäden keine Haftung.

14. LITERATUR

Böhn U et al. (2003) Rationelle Diagnostik in der Orthomolekularen Medizin. Hippokrates Verlag, Stuttgart

Esteve MJ, Farre R, Frigola A, Garcia-Cantabella JM (1997) Determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in blood plasma and serum by liquid chromatography. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 24;688(2):345-9.

Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry, 4th ed. Saunders: Philadelphia, 2006:1107.

Verwendete Symbole:



Temperaturbegrenzung



Bestellnummer



In-Vitro-Diagnostikum



Inhalt ausreichend für <n>
Prüfungen



Hersteller



Verwendbar bis



Chargenbezeichnung

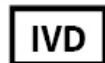
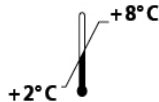
Vitamin C

For colorimetric determination of Vitamin C
in Li-heparine-plasma, serum and urine

Valid from 31.05.2011



K 4000



Immundiagnostik AG
Stubenwald-Allee 8a
64625 Bensheim, Germany
www.immundiagnostik.com

1. INTENDED USE	13
2. INTRODUCTION	13
3. PRINCIPLE OF THE TEST	13
4. MATERIAL SUPPLIED	14
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	14
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	15
7. PRECAUTIONS	15
8. SAMPLE AND REAGENT PREPARATION	15
9. ASSAY PROCEDURE	16
Test procedure	16
10. RESULTS	16
11. QUALITY CONTROL	17
Expected values	17
12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	17
Precision and reproducibility	17
Recovery	18
Sensitivity	18
Correlation data between the colorimetric microtiter plate test and HPLC	19
13. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	20
14. REFERENCES	20

1. INTENDED USE

This colorimetric microtiter plate assay is suitable for the determination of vitamin C (ascorbic acid) in Li-heparine-plasma, serum and urine. For in vitro diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

Vitamin C (ascorbic acid), being a **part of the antioxidative defense system**, is found in both the cytosol and extracellular spaces. Depending on the concentration and the availability of transitional metals, it has antioxidative as well as prooxidative features. The antioxidative effect dominates, especially in extracellular space. Since it acts through formation of semi-dehydro-ascorbate and dehydro-ascorbate respectively, as an electron donor transferring hydrogen to acceptor substances by reversibility, ascorbic acid has strong reducing effects.

Vitamin C contributes to the antioxidative defense system in two different ways: it reacts with reactive oxygen species, especially peroxide radicals, and regenerates α -tocopherol (vitamin E). Vitamin C also has a pro-oxidative effect in combination with transition metals. It catalyses the reduction of Fe^{3+} to Fe^{2+} . The created bivalent iron ions react faster with H_2O_2 . Therefore, the formation of $\text{OH}^\cdot$ -radicals is supported through the Haber-Weiss-Reaction.

Due to the very small concentration of free transition metals in biological tissues, the antioxidative features are predominant. **As a result of increased oxidative stress, the level of vitamin C is reduced in various syndromes**, e.g. the level of vitamin C in blood from **HIV positive patients** is significantly lower. The content in blood plasma falls from $75.7 \mu\text{mol/l}$ to $40.7 \mu\text{mol/l}$. **Smoking** causes a high consumption of vitamin C in the blood plasma. Protein thiols are oxidised and after the Vitamin C pool has been depleted, lipid peroxidation begins.

Indications

- Determination of vitamin C status
- Monitoring infusion therapy
- Monitoring of oral vitamin C substitution (checking the individual capacity of gastrointestinal vitamin C resorption)

3. PRINCIPLE OF THE TEST

In serum and plasma vitamin C is found as ascorbic acid as well as its oxidized form, dehydro-ascorbate. Both forms are biologically active. In our vitamin C assay, an oxidation is induced prior to analysis so that both forms are measured. A dose response curve of the absorbance unit (optical density, OD at 492 nm) vs. concentration is generated, using the values obtained from the standard. The concentration of the patient sample is determined directly from the linear standard curve.

4. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit Components	Quantity
K 4000FR	PREC	Precipitation reagent	15 ml
K 4000LSGA	SOL A	Reagent solution A	7 ml
K 4000LSGB	SOL B	Reagent solution B	1 ml
K 4000LSGC	SOL C	Reagent solution C	1 ml
K 4000AC	STOP	Sulfuric acid	20 ml
K 4000ST	STD	4 Standards (lyophilized)	each 4 x 400 µl
K 4000KO1 K 4000KO2	CTRL1 and CTRL2	Control 1 and 2 (lyophilized)	each 4 x 250 µl
K 4000MTP	PLATE	Microtiter plate (MTP)	12 x 8 wells
K 4000FOL	FOL	Microtiter plate coverfoil	2

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Bidistilled water (aqua bidest.)
- Precision pipettors and disposable tips to deliver 20 - 200 µl and 100 - 1000 µl
- A multi-channel dispenser or repeating dispenser
 - 1.5 ml Eppendorf cups
 - 15 ml Tubes (e.g. Falcon)
- Horizontal microtiter plate shaker
- Centrifuge suitable for 15 ml tubes at 10 000 x g
- Vortex-Mixer
- Incubator for 37 °C
- Microtiter plate reader at 490 - 520 nm (reference wave length 610 - 630 nm)
- A suitable place mat when working with solution A, because solution A contains dye which might be difficult to clean off plastic surfaces

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- All reagents are stable at 2-8 °C up to the expiry date stated on of the label.
- **STD** (standards) must be reconstituted with 400 µl of bidist. water, **CTRL1** and **CTRL2** (control 1 and control 2) with 250 µl of bidist. water. Allow the vial content to dissolve for 10 minutes. Reconstituted standards and controls are not stable.

Please note: Samples should be kept cool and light-protected. Samples can be measured within 24 hours after blood withdrawal.

7. 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 should be treated as potentially infectious.
- **STOP** (stop solution) is composed of sulfuric acid, which is a strong acid. It must be handled with care. It can cause acid burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spills should be wiped out immediately with copious quantities of water.
- **PREC** (precipitating reagent) contains acid and must be handled with care. It can cause acid burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spills should be wiped out immediately with copious quantities of water.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.

8. SAMPLE AND REAGENT PREPARATION

- Pipet 200 µl fresh collected Li-heparine-plasma sample, serum, **STD** (standards) or **CTRL1** and **CTRL2** (control 1 and control 2) in Eppendorf cups, respectively, and add 200 µl **PREC** (precipitation reagent)
- Urine samples must be diluted 1:4 before analysis (e.g. 250 µl urine + 750 µl aqua dist.). The dilution factor must be considered when calculating the concentration.
- Vortex well
- Centrifuge at 10000 x g for 30 min
- **Preparation of the working solution:**
To run a complete **PLATE** (microtiter plate):
Add 600 µl of each, **SOL B and C** (reagent solution B and C) to 6 ml of **SOL A** (reagent solution A).

To run assay more than once, prepare only the appropriate amount necessary for each assay. The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.

Please note:

SOL A (solution A) contains dye which might be difficult to clean off plastic surfaces. It is therefore recommended to use a suitable place mat when working with **SOL A** (solution A.)

9. ASSAY PROCEDURE

Test procedure

1.	Add 2 x 100 µl of the supernatants of STD (standard), CTRL1 and CTRL2 (control 1 and control 2) or samples into the PLATE (microtiter plate) wells in duplicates
2.	Add 50 µl of the freshly prepared working solution in the wells
3.	Cover the PLATE (microtiter plate) with foil and incubate for 3 h at 37 °C
4.	Add 150 µl of STOP (STOP-solution) in the wells
5.	Shake PLATE (microtiter plate) on a horizontal shaker at room temperature for 20 min (without any foil cover). An orange precipitate can be formed. The precipitate can be dissolved by repeatedly (2-3 times) drawing up the solution with the pipette.
6.	Determine the absorption at 492 nm or 520 nm against 620 nm as a reference

10. RESULTS

A dose response curve of the absorbance unit (optical density, OD at 492 nm) vs. concentration is generated, using the values obtained from standard. The concentration of patient samples is determined directly from the linear standard curve.

It is recommended to use a point-to-point-calculation.

11. QUALITY CONTROL

Control samples should be analyzed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid, if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

Expected values

Normal range
4 - 15 mg / L

(Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry, 4th ed. Saunders: Philadelphia, 2006:1107.)

12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision and reproducibility

Intra-Assay-Variation

The precision (intra-assay variation) was calculated from 14 replicate determinations on one sample.

Intra-Assay CV n= 14

Sample	Vitamin C Mean Value [mg/l]	Intra-Assay CV [%]
1	10.49	6.03

Inter-Assay-Variation

The total precision (inter-assay variation) of the vitamin C test was calculated from data obtained with four samples on three different days.

Inter-Assay CV n= 3

Sample	Vitamin C Mean Value [mg/l]	Inter-Assay CV [%]
1	13.8	5.06
2	4.5	16.74
3	9.3	11.75
4	12.0	1.80

Recovery

Two plasma samples, one with a low vitamin C content (5.1 mg/l) and a second with a high vitamin C content (16.6 mg/l), was mixed 1:1 and analyzed.

Recovery n=1

Sample	Vitamin C Expected [mg/l]	Vitamin C Measured [mg/l]	Recovery [%]
1	10.9	11.9	109.2

Sensitivity

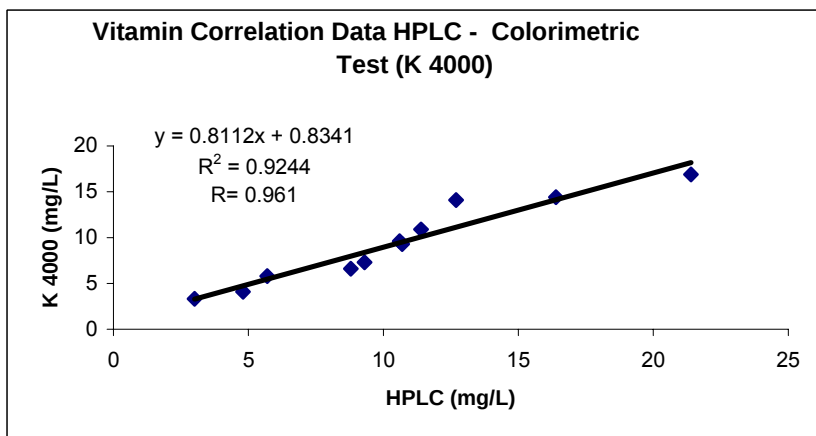
The detection limit was defined as $B_0 + 3 \text{ SD}$. The zero-standard was measured 9 times.

Sample	Vitamin C Mean Value [OD]	Standard variation	Detection limit [mg/l]
1	0.069	0.0021	0.7

Correlation data between the colorimetric microtiter plate test and HPLC

Eleven samples were measured using the colorimetric microtiter plate test and HPLC. The results are shown in the table:

Sample	Vitamin C - HPLC [mg/l]	Vitamin C - Colorimetric test [mg/l]
1	11.4	10.9
2	9.3	7.3
3	5.7	5.8
4	8.8	6.6
5	10.7	9.3
6	21.4	16.9
7	4.8	4.1
8	10.6	9.6
9	16.4	14.4
10	12.7	14.1
11	3.0	3.3



13. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The test components contain organic solvents. Contact with skin or mucous membranes must be avoided.
- All reagents in the test package are for research use only.
- Do not use the reagents after the date of expiry stated on the label.
- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- The guidelines for medical laboratories should be observed.
- 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.

14. REFERENCES

Böhn U et al. (2003) Rationelle Diagnostik in der Orthomolekularen Medizin. Hippokrates Verlag, Stuttgart

Esteve MJ, Farre R, Frigola A, Garcia-Cantabella JM (1997) Determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in blood plasma and serum by liquid chromatography. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 24;688(2):345-9.

Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry, 4th ed. Saunders: Philadelphia, 2006:1107.

Used Symbols:



Store at



Catalog Number



In Vitro Diagnostic Device



No. of tests



Manufacturer



Use by



Chargennummer



Immundiagnostik AG

Stubenwald-Allee 8a
D-64625 Bensheim

Tel.: +49 (0) 62 51/70 19 00

Fax: +49 (0) 62 51/84 94 30

info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com