

ARCHImedline®

Gebrauchsanweisung



Methylmalonsäure aus Serum/ Plasma

Wichtig!

Lesen Sie die Gebrauchsanweisung gründlich vor Beginn der Testdurchführung durch.



N/A



MMA DE Version 2, ARCHImedline GmbH



A100; A101



ARCHImedline GmbH, Leberstraße 20/2, 1110 Vienna, Europe

Inhalt

1. NAME UND VERWENDUNGSZWECK	4
2. KLINISCHER HINTERGRUND UND FUNKTIONSWEISE	4
2.1 <i>Klinischer Hintergrund</i>	4
2.2 <i>Funktionsweise</i>	6
3. VORSICHTSMAßNAHMEN UND SICHERHEITSHINWEISE	7
3.1 <i>Vorsichtsmaßnahmen</i>	7
3.2 <i>Sicherheitshinweise</i>	7
4. LAGERUNG UND STABILITÄT	7
5. GERÄTE UND MATERIALIEN	9
5.1 <i>Zur Verfügung gestellte Materialien</i>	9
5.2 <i>Benötigte Materialien</i>	11
6. PROBENMATERIAL UND VORBEREITUNG	13
7. DURCHFÜHRUNG DES ANALYTISCHEN TESTVERFAHRENS	13
7.1 <i>Rekonstitution der lyophilisierten Serum-Kalibratoren/Kontrollseren</i>	13
7.2 <i>Aufarbeitung in Deepwell-Platten</i>	13
7.3 <i>Aufarbeitung in 1,5mL Probenvorbereitungsgefäßen</i>	14
7.4 <i>Inbetriebnahme des Analysesystems</i>	15
7.5 <i>LC-MS/MS Analyse</i>	19
7.6 <i>Auswertung</i>	20
7.7 <i>Referenzbereiche</i>	21
7.8 <i>Troubleshooting</i>	22
8. LEISTUNGSCHARAKTERISTIKA	24
8.1 <i>Linearität, LOD, LLOQ</i>	24
8.2 <i>Wiederfindung</i>	24
8.3 <i>Präzision</i>	24
9. QUALITÄTSKONTROLLE	24
10. GRENZEN DES TESTVERFAHRENS	24
11. ENTSORGUNG	24
12. KONTAKTINFORMATIONEN	25
13. SYMBOLE	25
13.1 <i>IVD Symbole</i>	25
13.1 <i>Gefahren Symbole</i>	26

14. INFORMATIONEN ÜBER MARKENZEICHEN	26
15. VERSION	26
16. LITERATUR	27
17. ANHANG I – GEFAHREN UND SICHERHEITSHINWEISE	28

1. Name und Verwendungszweck

Der Methylmalonsäure aus Serum/ Plasma Kit ist ein In vitro diagnostisches Medizinprodukt und sein Zweck ist die quantitative Bestimmung von Methylmalonsäure aus humanem Serum und Plasma mittels HPLC gekoppelt mit einem Tandem Massenspektrometer (LC-MS/MS).

Das Kit ist nur für die Verwendung durch professionelle Anwender in klinischen und medizinischen Labors bestimmt.

2. Klinischer Hintergrund und Funktionsweise

2.1 Klinischer Hintergrund

Vitamin B12 (Cobalamin) ist ein essenzieller Nährstoff und spielt eine wichtige Rolle für den normalen Körperfunktion des menschlichen Organismus.

Die Coenzym-Form von Vitamin B12 (Coenzym B12) ist an zwei metabolischen Schlüsselpositionen beteiligt. Eine dieser Reaktionen ist die Vitamin B12-abhängige Umwandlung von Methylmalonyl-Coenzym A (CoA) zu Succinyl-CoA [1]. Bei Vitamin B12-Mangel reichert sich Methylmalonyl-CoA an und anschließend wird Methylmalonsäure (MMA) freigesetzt (siehe Abbildung 1) [1, 2].

Dementsprechend führt ein Vitamin-B12-Mangel zu einer quantitativen Akkumulation von MMA im Blut. Dies tritt bereits im Anfangsstadium einer Insuffizienz auf, wenn der Vitamin-B12-Spiegel noch „normal“ erscheint (siehe unten), was MMA zu einem sensitiven, frühen Biomarker für intrazelluläre, funktioneller Vitamin-B12-Mangel macht [2].

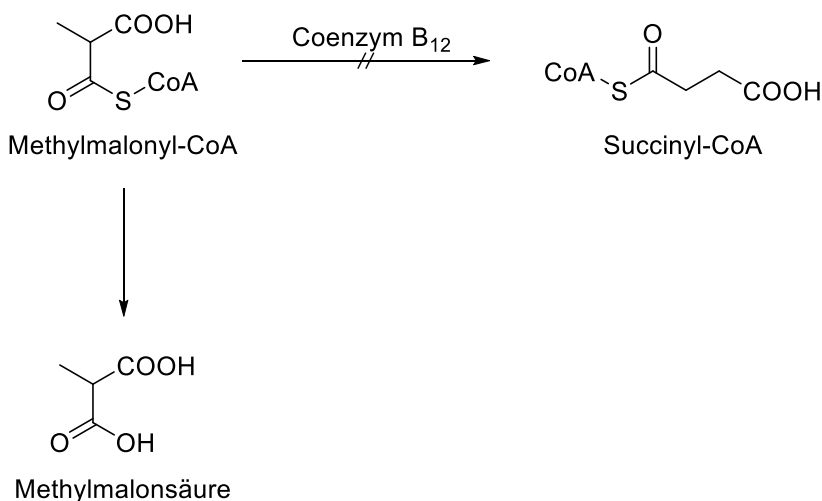


Abbildung 1 Vitamin B12 Mangel und Freisetzung von Methylmalonsäure

Im Gegensatz dazu zeigt die Bestimmung von Vitamin B12 im Serum (als Gesamt-Vitamin B12), welche häufig aufgrund seiner Kosteneffizienz verwendet wird, im unteren Bereich keine ausreichende Selektivität und Empfindlichkeit im Referenzwertbereich (unter 400 pmol/l) [1]. Daher kann dies bei intrazellulärem funktionellem Vitamin-B12-Mangel, bei dem die Vitamin-B12-Spiegel normal erscheinen (> 156 pmol/l), zu einer möglichen falsch-

negativen Diagnose führen. In solchen Fällen ist jedoch das Serum-MMA bereits signifikant erhöht (> 300 nmol/l) und zeigt deutlich den Mangel an [1].

In diesen speziellen Fällen werden neben Gesamtvitamin B12 und MMA auch Holotranscobalamin (Holo TC) und Homocystein* bestimmt. Holo TC ist die intrazellulär verwertete Form von Vitamin B12 und wird als Vorstufe von Coenzym B12 für die Umwandlung von MMA und Homocystein benötigt. Ein metabolisch manifestierter Vitamin-B12-Mangel wird daher durch erniedrigte Holo-TC-Spiegel und durch erhöhte MMA- und Homocysteinspiegel angezeigt [1 - 3].

Die Bestimmung von MMA kann aus Serum, Plasma und Urin erfolgen.

Serumproben werden im Allgemeinen für die MMA-Bestimmung verwendet, da diese Matrix für parallele Cobalaminspiegeltests verwendet wird. Der Vorteil der Bestimmung aus Serum liegt daher in der Probenverfügbarkeit. Außerdem scheint die Ernährung einen geringeren Einfluss auf den MMA-Serumspiegel zu haben als dies beim Urin der Fall ist [4, 5]. Auch für die Bestimmung aus Urin ist eine zusätzliche Messung von Kreatinin erforderlich, da das MMA/Kreatinin-Verhältnis für die Dateninterpretation benötigt wird [5].

Der Vorteil der Bestimmung aus Urin liegt in den deutlich höheren MMA-Gehältern, welche die Analysen erleichtern. Dieser Vorteil ist bei ausreichend sensitiven Massenspektrometern jedoch vernachlässigbar. Bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion Serum-MMA Messungen können aufgrund der reduzierten MMA-Ausscheidung im Urin falsch positive Ergebnisse liefern [6]. Die Berechnung des MMA/Kreatinin-Quotienten im Urin kann dies jedoch kompensieren [7].

Auf Massenspektrometrie basierende Methoden wurden für die Bestimmung von MMA umfassend getestet.

GC/MS wurde routinemäßig zur Quantifizierung von MMA angewendet, jedoch ist aufgrund der Notwendigkeit der Derivatisierung vor der Analyse eine alternative Methode mit weniger zeitaufwändiger Probenvorbereitung und daher schnellerer Durchlaufzeit von anhaltendem Interesse.

Die Anwendung von LC-MS/MS-Methoden auf die MMA-Bestimmung hat in den letzten Jahren zunehmende Aufmerksamkeit erfahren, was jedoch aufgrund der niedrigen endogenen Konzentration von MMA, der hochpolaren Natur, des niedrigen Molekulargewichts, des niedrigen pKa-Werts und der Dicarbonsäure-Struktur noch einige Herausforderungen mit sich bringt. Darüber hinaus ist die chromatographische Trennung vom natürlich vorkommenden Strukturisomer Bernsteinsäure (SA), das in physiologischen Konzentrationen etwa 50-mal höher als MMA vorliegt, kritisch und nicht elementar. Viele Methoden erfordern daher langwierige Probenvorbereitungsschritte wie Festphasenextraktion, Derivatisierung, Verdampfung und/oder Ultrafiltration und können auch eine suboptimale Auflösung von Bernsteinsäure zeigen [8, 9].

Diese Methode wurde für die routinemäßige Analyse von Methylmalonsäure (MMA) in menschlichen Serum-, Plasmaproben entwickelt. Die Probenvorbereitung ist einfach und schnell und analog für die verschiedenen biologischen Matrices. Die Kalibrierung wird mit lyophilisierten Serumkalibratoren in klinisch relevanten Konzentrationen durchgeführt. Zur Qualitätssicherung sind auch lyophilisierte Serumkontrollen erhältlich. Zur Kompensation von Matrixeffekten und Messwertschwankungen wird ein isotope markierter interner

Standard (d3-Methylmalonsäure) verwendet. Die Proben werden mit Elektrospray mit negativen Ionen im MRM-Modus für maximale Empfindlichkeit und Selektivität analysiert.

2.2 Funktionsweise

Bei diesem Analyseverfahren wird MMA aus menschlichem Serum oder Plasma mittels HPLC gekoppelt mit Elektrospray-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) bestimmt.

Die Routineanalyse von MMA wird hauptsächlich aus Serum durchgeführt. Mit dem hier vorgestellten Verfahren kann auch mit Plasma (K2EDTA) angewendet werden (siehe Probenmaterial und Vorbereitung, Abschnitt 6).

Vor der LC-MS/MS-Analyse wird eine kurze manuelle Probenaufreinigung durchgeführt. Dabei werden störende Komponenten der Probenmatrix größtenteils entfernt und die Probe mit dem internen Standard gemischt (Durchführung des analytischen Testverfahrens siehe Abschnitt 7). Die vorbereiteten Proben werden zur chromatographischen Trennung in das LC-MS/MS-System injiziert. Die Analyten werden mittels Elektrospray-Ionisation (ESI) ionisiert.

Die Elektrospray-Ionisation ist eine sanfte Ionisationstechnik, bei der ein starkes elektrisches Feld an die ESI-Kapillare angelegt wird, durch das die Flüssigkeit fließt. Die sich dabei gebildeten Ionen befinden sich im Lösungsmittel, welches durch den Spray verdunstet. Die Ionen in der Gasphase werden anschließend durch ein elektrisches Feld in den Ionenpfad des Tandem Massenspektrometers überführt. Dieser besteht aus drei Quadrupolen (zwei durch eine Stoßzelle verbundenen Massenselektoren).

Die Messung der Analyten erfolgt im MRM-Modus (MRM: Multiple Reaction Monitoring). In diesem Modus werden nur ausgewählte Ionen (sogenannte „Precursor-Ionen“) mit einem definierten Masse/Ladung (m/z)-Verhältnis im ersten Quadrupol isoliert und anschließend in die Kollisionszelle überführt, wo sie durch Aufprall mit einem Inertgas (Argon oder Stickstoff) mit definierten Spannungseinstellungen fragmentiert werden. Unter den erzeugten Fragmenten (bekannt als „Produktions-Ionen“) können nur diese mit definierten m/z -Verhältnis den dritten Quadrupol zur endgültigen Detektion passieren. Auf diese Weise wird mit dem MRM Modus eine selektive Identifizierung und Quantifizierung der Zielanalyten gewährleistet.

Zur Optimierung der MS/MS-Parameter (vgl. Abschnitt 7.5.1) und für den Probelauf des Analysensystems (siehe Abschnitt 7.5.2) steht der Optimization Mix zur Verfügung.

Die Kalibrierung des Analysensystems erfolgt mit den Serum Kalibrator-Set. Für diesen Zweck wird das Serum Kalibrator-Set lyophil. (Level 0-3) zur Verfügung gestellt (siehe Abschnitt 5.1).

Die Qualitätskontrolle wird mithilfe von Serumkontrollen durchgeführt. Diese Kontrollen sind verfügbar in zwei unterschiedliche Konzentrationen (siehe Abschnitt 5.1).

Die Kit-Komponenten müssen gemäß dieser Bedienungsanleitung verwendet werden. Der Bausatz ist nicht ausgelegt zur Kombination mit Komponenten anderer Hersteller

3. Vorsichtsmaßnahmen und Sicherheitshinweise

3.1 Vorsichtsmaßnahmen

Dieses Testverfahren ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt und erfordert Erfahrung auf dem Gebiet der klinischen Analytik. Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, ist die Einhaltung guter Laborpraktiken eine Grundvoraussetzung. Verwenden Sie nur kalibrierte Geräte und Einwegspitzen. Verhindern Sie eine Kreuzkontamination, indem Sie gebrauchte Platten nicht öffnen und sie sofort in dafür vorgesehenen Abfallbehältern entsorgen.

Verwenden Sie die Materialien nicht über das Verfallsdatum hinaus. Lagern Sie die Reagenzien gemäß den Anweisungen, da eine unsachgemäße Lagerung die Stabilität beeinträchtigen kann. Mischen Sie keine Lösungen oder Materialien aus verschiedenen Chargen. Notieren Sie die für jeden Test verwendete Chargennummer, um die Rückverfolgbarkeit der Proben zu gewährleisten.

3.2 Sicherheitshinweise

Kitkomponenten wie mobile Phasen und Reagenzien sind chemische Zubereitungen und können somit gefährliche Stoffe enthalten. Sicherheitsrelevante Informationen zum jeweiligen Produkt finden Sie in den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern.

Die Serum-Kalibratoren und -Kontrollen wurden basierend auf Humanmaterial hergestellt und auf Abwesenheit verschiedener bekannter Krankheitserreger getestet. Unabhängig davon müssen die Produkte als potenziell infektiös eingestuft werden. Aus diesem Grunde empfehlen wir beim Umgang mit diesen Produkten dieselben Vorsichtsmaßnahmen wie beim Umgang mit Patientenproben zu treffen (siehe Anhang I und den Sicherheitsdatenblätter der Produkte).

Verschüttete Reagenzien mit saugfähigem Material aufwischen. Laborschutzausrüstung tragen (Laborbrille, Laborkittel und Nitrilhandschuhe). Die Durchlaufzeit der Schutzhandschuhe muss von jedem Labor selbst überprüft werden.

4. Lagerung und Stabilität

Bitte entnehmen Sie die Kitkomponenten sofort nach Erhalt der Lieferung aus der Versandverpackung und beachten Sie die auf den Produktetiketten angegebenen Lagerbedingungen bzw. die Angaben in Tabelle 1.

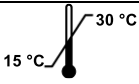
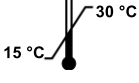
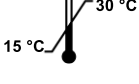
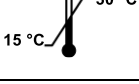




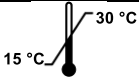
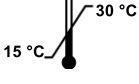
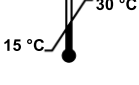
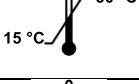
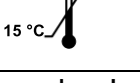
Ungeöffnete und sachgerecht gelagerte Komponenten können bis zu dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum aufbewahrt werden.

Geöffnete Reagenzien sind nach Gebrauch sofort fest zu verschließen und sachgerecht zu lagern. Diese können dann in dem Zeitintervall, welches im Produktdatenblatt angegebenen ist, verwendet werden.

Mobile Phasen sind nach Gebrauch sofort fest zu verschließen und sachgerecht zu lagern. Diese können ab Anbruch einen Monat verwendet werden.

Bezüglich der Lagerung und Haltbarkeit des Internen Standards, des Optimierungs Mix sowie der Kalibratoren und der Kontrollen (lyophilisiert und nach Rekonstitution) beachten Sie bitte auch die Angaben in den jeweiligen Produktdatenblättern.

Tabelle 1 Lagerbedingungen von Kitkomponenten

Best.-Nr.		Produktbeschreibung	Lagerbedingungen	
REF	A100-001	Mobile Phase A for Methylmalonic acid		Bei 15 – 30°C lagern
REF	A100-002	Mobile Phase B for Methylmalonic acid		Bei 15 – 30°C lagern
REF	A100-003	Mobile Phase B		Bei 15 – 30°C lagern
REF	A100-005	Washing Solution for Methylmalonic acid		Bei 15 – 30°C lagern
REF	A100-006	Optimization Mix for Methylmalonic acid		Bei -25 – -18°C lagern
REF	A100-010	Precipitant solvent with Internal Standard for Methylmalonic acid		Bei -25 – -18°C lagern Stabilität nach Anbruch bei 2-8°C für 21Tage
REF	A100-011	Serum Calibrator Set, lyophil. (Level 0 – 3) for Methylmalonic acid		Bei 2 – 8°C lagern*
REF	A100-012	Serum Controls, lyophil. (Level I-II) for Methylmalonic acid		Bei 2 – 8°C lagern*
REF	A100-046	Deepwell-Plates 1.2mL		Bei 15 – 30°C lagern
REF	A100-049	1,5mL Sample Preparation Vials		Bei 15 – 30°C lagern
REF	A100-050	Protective Foil		Bei 15 – 30°C lagern
REF	A100-090	Analytical Column for Methylmalonic acid		Bei 15 – 30°C lagern
REF	A100-092	Pre-column for Methylmalonic acid		Bei 15 – 30°C lagern

*Angaben für das lyophilisierte Produkt. Angaben zu den Lagerbedingungen nach Rekonstitution entnehmen Sie bitte dem Produktdatenblatt.

5. Geräte und Materialien

5.1 Zur Verfügung gestellte Materialien

Bestellnummer	Beschreibung	Anzahl
A100-A	Methylmalonsäure Kit für Plattenaufarbeitung	1
	Inhalt:	
	Mobile Phase A for Methylmalonic acid	2 x A100-001
	Mobile Phase B for Methylmalonic acid	1 x A100-002
	Washing solution for Methylmalonic acid	1 x A100-005
	Optimization Mix for Methylmalonic acid	1 x A100-006
	Precipitation solvent with Internal	4 x A100-010
	Standard for Methylmalonic acid	
	Serum Calibrator-Set, lyophil. (Level 0-3) for Methylmalonic acid	1 x A100-011
	Serum Control-Set, lyophil., Level I, II for Methylmalonic acid	1 x A100-012
	Deepwell-Plates 1.2mL	4 x A100-046
	Protective Foil	1 x A100-050
	Analytical Column for Methylmalonic acid	1 x A100-090
Pre Column for Methylmalonic acid	1 x A100-092	
A100-B	Methylmalonsäure Nachfüll-Kit für Plattenaufarbeitung	1
	Inhalt:	
	Mobile Phase A for Methylmalonic acid	2 x A100-001
	Mobile Phase B for Methylmalonic acid	1 x A100-002
	Washing solution for Methylmalonic acid	1 x A100-005
	Precipitation solvent with Internal	4 x A100-010
	Standard for Methylmalonic acid	
	Serum Calibrator-Set, lyophil. (Level 0-3) for Methylmalonic acid	1 x A100-011
	Serum Control-Set, lyophil., Level I, II for Methylmalonic acid	1 x A100-012
	Deepwell-Plates 1.2mL	4 x A100-046
Protective Foil	1 x A100-50	
A101-A	Methylmalonsäure Kit für die Aufarbeitung in 1,5mL Probenvorbereitungsgefäße	1
	Inhalt:	
	Mobile Phase A for Methylmalonic acid	1 x A100-001
	Mobile Phase B for Methylmalonic acid	1 x A100-003
	Washing solution for Methylmalonic acid	1 x A100-005
	Optimization Mix for Methylmalonic acid	1 x A100-006
	Precipitation solvent with Internal	2 x A100-010
	Standard for Methylmalonic acid	
	Serum Calibrator-Set, lyophil. (Level 0-3) for Methylmalonic acid	1 x A100-011

Serum Control-Set, lyophil., Level I, II for Methylmalonic acid	1 x A100-012
1.5mL Sample Preparation Vials	3 x A100-049
Analytical Column for Methylmalonic acid	1 x A100-090
Pre Column for Methylmalonic acid	1 x A100-092

A101-B	Methylmalonsäure Nachfüll-Kit für die Aufarbeitung in 1,5mL Probenvorbereitungsgefäße	1
	Inhalt:	
	Mobile Phase A for Methylmalonic acid	1 x A100-001
	Mobile Phase B for Methylmalonic acid	1 x A100-003
	Washing solution for Methylmalonic acid	1 x A100-005
	Precipitation solvent with Internal Standard for Methylmalonic acid	2 x A100-010
	Serum Calibrator-Set, lyophil. (Level 0-3) for Methylmalonic acid	1 x A100-011
	Serum Control-Set, lyophil., Level I, II for Methylmalonic acid	1 x A100-012
	1.5mL Sample Preparation Vials	3 x A100-049

	Separat erhältliche Komponenten	
A100-001	Mobile Phase A for Methylmalonic acid	2,4L
A100-002	Mobile Phase B for Methylmalonic acid	2,2L
A100-003	Mobile Phase B for Methylmalonic acid	1L
A100-005	Washing solution for Methylmalonic acid	1L
A100-006	Optimization Mix for Methylmalonic acid	1mL
A100-010	Precipitation solvent with Internal Standard for Methylmalonic acid	150mL
A100-011	Serum Calibrator-Set, lyophil. (Level 0-3) for Methylmalonic acid	4 x 1 x 2 mL
A100-012	Serum Control-Set, lyophil., Level I, II for Methylmalonic acid	2 x 1 x 2 mL
A100-046	Deepwell-Plates 1.2mL	4pcs.
A100-049	1.5mL Sample Preparation Vials	250pcs.
A100-050	Protective Foil	16pcs.
A100-090	Analytical Column for Methylmalonic acid	1pcs.
A100-092	Pre Column for Methylmalonic acid	1pcs.

5.2 Benötigte Materialien

Benötigte allgemeine Laborausstattung

Laborausstattung	Lieferant und Artikelnummer
Pipetten	Eppendorf oder Äquivalent
Benchtop Zentrifuge geeignet für Deepwell-Platten	Eppendorf 5804 mit Plattenrotor oder äquivalent
Benchtop Zentrifuge geeignet für 1,5mL-Probenaufarbeitungsgefäße	Eppendorf oder äquivalent
Vortex	VWR oder äquivalent
Plattenschüttler	Heidolph Titramax 100 oder äquivalent

Benötigte Verbrauchsmaterialien

Verbrauchsmaterialien	Lieferant und Artikelnummer
1,5mL HPLC Vials mit Verschluss	<p>Carl Roth</p> <p>Rotilabo-Kurzgewindefläschchen ND9</p> <p>Klarglas mit Beschriftungsfeld 1,5mL</p> <p>Artikelnummer LC03.1</p> <p>Schraubkappen mit Bohrung, PP, ND9, Septum Silik./PTFE UltraCl., 1.0mm 55°</p> <p>Artikelnummer LC11.1</p>
Pipettenspitzen	Eppendorf oder äquivalent

Benötigte spezielle Geräte

Geräte	Lieferant und Artikelnummer
HPLC	<p>Pumpen:</p> <p>Die Pumpen (2 Stück) müssen einem Arbeitsdruck von 400bar bei einem Fluss von 1,2mL/min standhalten können.</p> <p>Autosampler:</p> <p>Injektionen aus Deepwell-Platten und aus VT54 (1,5mL Glasfläschchen) müssen durchführbar sein.</p> <p>Es müssen 1-20µL injiziert werden können.</p> <p>Säulenofen:</p> <p>Der Säulenofen muss eine Temperatur von 40°C gewährleisten können.</p> <p>Anbieter zB: Shimadzu</p>
Massenspektrometer	<p>Es muss sich um einen Triple-Quadrupol Massenspektrometer mit ausreichender Sensitivität handeln.</p> <p>Die Mass range muss einen m/z Bereich von 50-1000 abdecken.</p> <p>Kalibrierter negativ Ion Mode</p> <p>zB Shimadzu 8050 oder äquivalent</p>

6. Probenmaterial und Vorbereitung

Die Routineanalyse von MMA wird primär aus Serum durchgeführt. Wenn kein Serum verfügbar ist, kann auch Plasma (K2EDTA) verwendet werden.

Bei Raumtemperatur (15 - 30 °C) gelagert, beträgt die Haltbarkeit die Proben mindestens 3 Tage. Bei Temperaturen zwischen 2 - 8 °C können die Proben mindestens 7 Tage aufbewahrt werden. Bei Temperaturen unterhalb von -18 °C beträgt die Haltbarkeit der Proben mindestens 3 Monate (ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden).

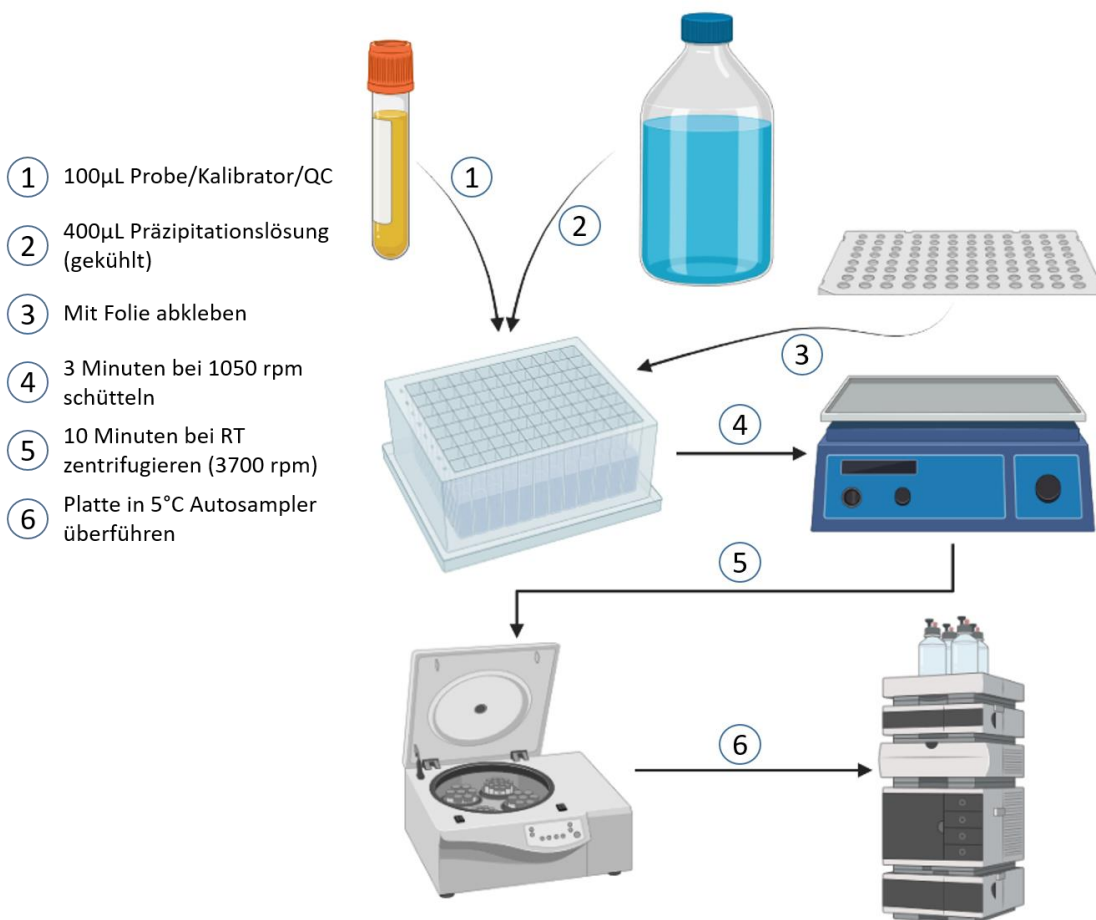
7. Durchführung des analytischen Testverfahrens

7.1 Rekonstitution der lyophilisierten Serum-Kalibratoren/Kontrollseren

Die Serum-Kalibratoren und Serum-Kontrollen (siehe Abschnitt 5.1) sind lyophilisiert und müssen deshalb vor Gebrauch rekonstituiert werden. Informationen zur Rekonstitution, zu Analytkonzentrationen, sowie zu Lagerung und Haltbarkeit sind den entsprechenden Produktdatenblättern zu entnehmen.

7.2 Aufarbeitung in Deepwell-Platten

7.2.1 Fließschema



7.2.2 Probenverteilung

Pipettieren Sie 100µL der Kalibratoren/Kontrollen/Patientenproben in ein leeres Well der Deepwell-Platte.

7.2.3 Präzipitation

Pipettieren Sie 400µL der gekühlten Präzipitationslösung (enthält den internen Standard) zu jedem Kalibrator sowie zu jeder Kontrolle/Patientenprobe und verschließen Sie die Platte mit einer Folie. Schütteln Sie die Platte für 3 min auf dem Plattenschüttler bei 1050rpm. Anschließend zentrifugieren Sie die Platte bei 3700 rpm für 10 Minuten bei RT und mittlerer Beschleunigung/Abbremsung.

7.2.4 LC-MS/MS Analyse

Injizieren Sie 5µL der Probe in das LC-MS/MS System. Je nach Sensitivität des verwendeten Systems kann das injizierte Probenvolumen angepasst werden.

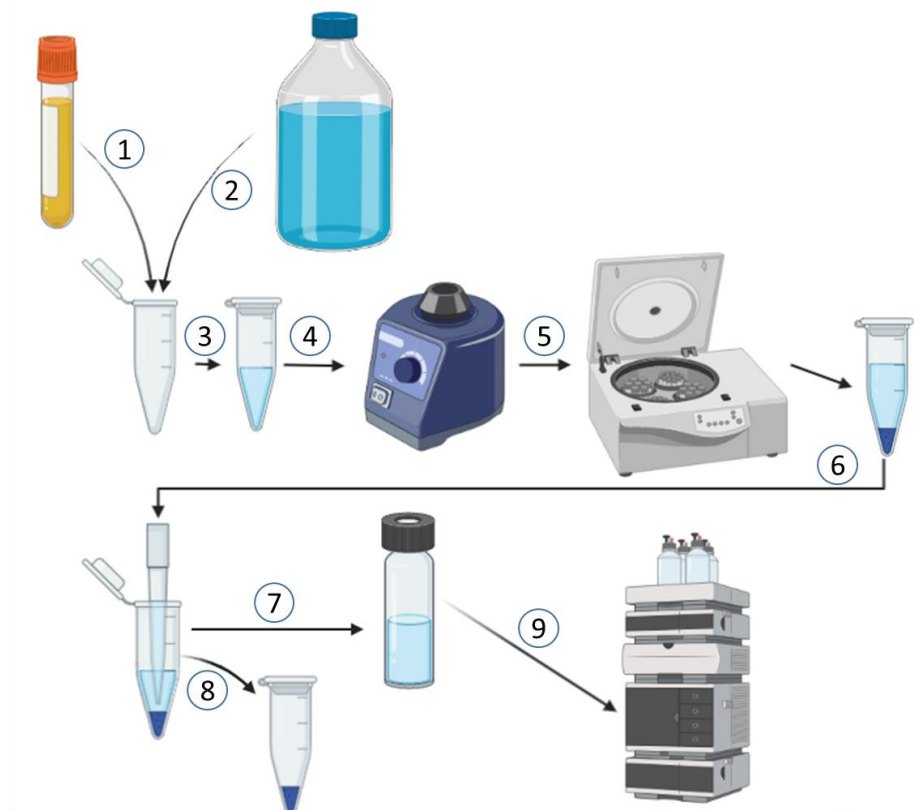
7.2.5 Stabilität der Probe

Die vorbereiteten Proben sind 24h bei 5°C stabil.

7.3 Aufarbeitung in 1,5mL Probenvorbereitungsgefäßen

7.3.1 Fließschema

- ① 100µL Probe/Kalibrator/QC
- ② 400µL Präzipitationslösung (gekühlt)
- ③ Gefäß fest verschließen
- ④ 10 Sekunden vortexen
- ⑤ 10 Minuten bei RT zentrifugieren (11000 rpm)
- ⑥ Gefäße entnehmen
- ⑦ 400µL Überstand in ein HPLC Vial überführen
- ⑧ Präzipitat verwerfen
- ⑨ Vial in 5°C Autosampler überführen



7.3.2 Probenverteilung

Pipettieren Sie 100µL der Kalibratoren/Kontrollen/Patientenproben in ein 1,5mL Probenvorbereitungsgefäß.

7.3.3 Präzipitation

Vor Verwendung der Präzipitationslösung sollte diese für mindestens 1h bei 2-8°C im Kühlschrank gelagert werden. Pipettieren Sie 400µL der gekühlten Präzipitationslösung (enthält den internen Standard) zu jedem Kalibrator sowie zu jeder Kontrolle/Patientenprobe und verschließen Sie das Reaktionsgefäß fest. Jedes Reaktionsgefäß wird für mindestens 10 Sekunden am Vortexer gemischt bis ein verklumptes Präzipitat sichtbar wird. Anschließend zentrifugieren Sie die Reaktionsgefäße bei 11000 rpm für 10 Minuten bei RT und mittlerer Beschleunigung/Abbremsung. 400µL Überstand wird danach in ein leeres 1.5mL HPLC Vial überführt, verschlossen und im Autosampler bis zur Analyse gelagert. Nach der Verwendung kann die Präzipitationslösung im Kühlschrank bei 2-8°C für bis zu 21 Tage aufbewahrt werden.

7.3.4 LC-MS/MS Analyse

Injiziere 5µL der Probe in das LC-MS/MS System. Je nach Sensitivität des verwendeten Systems kann das injizierte Probenvolumen angepasst werden.

7.3.5 Stabilität der Probe

Die vorbereiteten Proben sind 24h bei 8°C stabil.

7.4 Inbetriebnahme des Analysesystems

7.4.1 Spülen des LC-Systems

Verbinden Sie die LC-Module mit Ausnahme der Säule. Führen Sie die Auslasskapillare in einen sicheren Abfallbehälter.

Geben Sie der HPLC-Pumpe eine Flussrate von 1 ml/min vor und spülen Sie das LC-System mit 10 ml der Mobilphase A/B (Mobile Phase A/B = 50:50).

Schließen Sie dann die analytische Säule im Säulenofen an. Achten Sie beim Anschließen der analytischen Säule auf die korrekte Flussrichtung (Markierungspfeil auf der Säule beachten!).

Stellen Sie bitte außerdem sicher, dass geeignete Fittings für den Anschluss an die Säule vorliegen. Zum Anschluss sollte ein neues Fitting verwendet und an die Säule angepasst werden. Für Rückfragen zum fachgerechten Anschluss wenden Sie sich bitte an ARCHIMED Life.

7.4.2 Equilibrierung des LC-Systems

Nach dem Spülen (siehe Abschnitt 7.4.1) erfolgt die Equilibrierung wie folgt:

Geben Sie der HPLC-Pumpe eine Flussrate von 0.2 ml/min vor, stellen Sie am Säulenofen eine Temperatur von 40 °C ein. Equilibrieren Sie die Säule 10 min mit mobilen Phase Startbedingungen (5% mobile Phase B).

Im Anschluss stoppen Sie die Pumpe und verbinden die Auslasskapillare der analytischen Säule mit dem Tandem-Massenspektrometer.

7.4.3 Starten des Analysesystems

In den folgenden Abschnitten sind die einzustellenden Parameter für das LC-System (siehe Abschnitt 7.4.4) und das Tandem-Massenspektrometer (siehe Abschnitt 7.4.5)

angegeben. Für die Optimierung, für Equilibrierung und Testlauf, sowie für die Kalibration des LC-MS/MS-Systems beachten Sie bitte Abschnitt 7.5.

Zur korrekten Bedienung Ihres Tandem-Massenspektrometers beachten Sie bitte die entsprechende Bedienungsanleitung des Geräteherstellers. Gegebenenfalls ist eine Schulung durch den Hersteller erforderlich.

7.4.4 LC-Parameter

Tabelle 2 LC-Parameter

HPLC-Pumpe (Mobile Phase A, B):	Flussraten: 1.2 mL/min Gradientenprogramm der binären HPLC-Pumpe: Siehe Tabelle 3 Achten Sie darauf, dass die Vorratsflaschen fest verschlossen sind. Bedingt durch die sonst auftretende Verdunstung bestimmter Komponenten der mobilen Phasen könnten sich die Retentionszeiten ändern.
Analytische Säule:	Die Analytische Säule wird im Säulenofen installiert (40 °C). Bei einer Flussrate von 1.2 mL/min sollte der initiale Gegendruck der analytischen Säule 150 bar nicht überschreiten.
Autosampler:	Injektionsvolumen 5 µL Injektionsintervall: 3.2 min Nadelspülung: Die Injektionsnadel ist nach der Probenentnahme zu spülen (Minimierung der Probenverschleppung). Hierzu sind die vom Hersteller des Autosamplers empfohlenen Einstellungen zur Nadelspülung zu verwenden. Zur Spülung ist die Waschlösung (Best. Nr. A100-005) zu verwenden.

Der binären HPLC-Pumpen ist folgendes Gradientenprogramm vorzugeben:

Tabelle 3 Gradientenprogramm

Zeit [min]	Mobile Phase A [%]	Mobile Phase B [%]	Flussrate [mL/min]
0.00	95	5	1.2
0.20	95	5	1.2
1.20	50	50	1.2
1.21	0	100	1.2
2.00	0	100	1.2
2.01	95	5	1.2
3.00	95	5	1.2

*Bitte beachten Sie, dass je nach Totvolumen des jeweiligen HPLC-Systems eine Anpassung des Gradienten erforderlich sein kann.

7.4.5 MS/MS Parameter

Die in nachfolgenden Tabellen angegebenen MS/MS-Parameter sind als Richtwerte zu betrachten. Insbesondere die angegebenen Parameter für die Massenübergänge sind als Ausgangspunkte für die Optimierung zu verstehen. Da die Optima zwischen den verschiedenen MS/MS-Systemen variieren können, müssen diese für das betreffende System ermittelt werden (siehe Abschnitt 7.5.1).

Die Parameter in Tabellen 4 & 5 beziehen sich auf ein MS/MS-System Shimadzu 8050

Tabelle 4 MS/MS-Parameter, Shimadzu 8050

	Shimadzu 8050
Ionsource	ESI
Polarität	Negativ
Nebulizing Gas Flow	3 L/min
Heating Gas Flow	10 L/min
Interface Temperature	400 °C
DL Temperature	150 °C
Heat Block Temperature	400 °C
Drying Gas Flow	10 L/min

Tabelle 5 Massenübergänge, Shimadzu 8050

Substanz	Precursor [m/z]	Product [m/z]	Dwell time [ms]	Collision energy
Methylmalonsäure (Quantifier)	117.1	72.95	75	11
Methylmalonsäure (Qualifier)	117.1	55.05	75	23
Methylmalonsäure-IS (Quantifier)	120.3	76.15	75	12
Methylmalonsäure-IS (Qualifier)	120.3	58.15	75	24

7.4.6 Betriebspausen

Bei Betriebspausen soll die HPLC-Pumpe abgeschaltet werden, die mobile Phase kann im LC-System verbleiben.

Die Vakuum-Pumpen des Tandem-Massenspektrometers (MS/MS-System) sollten ständig in Betrieb sein. Zur Schonung der Ionisierungsquelle und des Multipliers sollte das MS/MS-System in den Standby-Modus geschaltet werden.

Bei Betriebsunterbrechungen von mehr als 2 Tagen sollte die analytische Säule ausgebaut und fest verschlossen aufbewahrt werden. Sollte das analytische System für mehrere Tage nicht verwendet werden, wird ein Einspülen mit 100% mobile Phase B bzw. eine Einlagerung in einem wässrig-alkoholischem (>30%) Lösungsmittel empfohlen um ein Wachstum von Mikroorganismen zu verhindern und einem Verkleben von Ventilschaltungen vorzubeugen.

7.5 LC-MS/MS Analyse

Unabhängig von der Analysenmethode wird empfohlen, die Massengenauigkeit des Tandem- Massenspektrometers in regelmäßigen Zeitabständen zu überprüfen.

Gegebenenfalls muss dieses neu kalibriert werden.

Zur Überprüfung des MS/MS Systems beachten Sie bitte die Anwenderdokumentation des Geräteherstellers.

7.5.1 Optimierung des Tandem-Massenspektrometers

Die Optimierung des MS/MS-Systems umfasst die Optimierung der Ionenquellenparameter sowie der substanzspezifischen Massenübergänge. Hierfür steht ein Optimierungs-Mix zur Verfügung. Der Optimierungs-Mix enthält den Analyten und den internen Standard. Der Optimierungs-Mix ist ggf. entsprechend der Empfindlichkeit des vorliegenden MS/MS-Systems mit MPB zu verdünnen.

7.5.2 Equilibrierung des Analysesystems und Testlauf

Gehen Sie sicher, dass alle Leitungen gespült sind und equilibrieren Sie das gesamte Analysesystem für mindestens 10 min, bevor Proben injiziert werden.

Zu Beginn jeder Analyseserie ist sind drei Injektionen von Mobiler Phase durchzuführen.

Um einen Testlauf durchzuführen, injizieren Sie den Optimierungs-Mix mehrfach, bis zwei aufeinanderfolgende Chromatogramme mit vergleichbaren Retentionszeiten und Peakflächen erhalten werden. Vorab ist der Optimierungs-Mix entsprechend der Empfindlichkeit des vorliegenden MS/MS-Systems mit mobiler Phase zu verdünnen.

7.5.3 Kalibrierlauf

Zur Kalibration steht das Kalibrator-Set zur Verfügung:

A100-011 Serum Kalibrator-Set lyophil. (Level 0-3)

Führen Sie die Kalibration in aufsteigender Reihenfolge durch.

Die Serum-Kalibratoren sind nach der Rekonstitution in gleicher Weise wie die Patientenproben vorzubereiten (siehe Abschnitt 7.2 bzw. 7.3).

Für jede analytische Serie sind frisch vorbereitete Kalibratoren zu verwenden.

7.5.4 Richtigkeitskontrolle

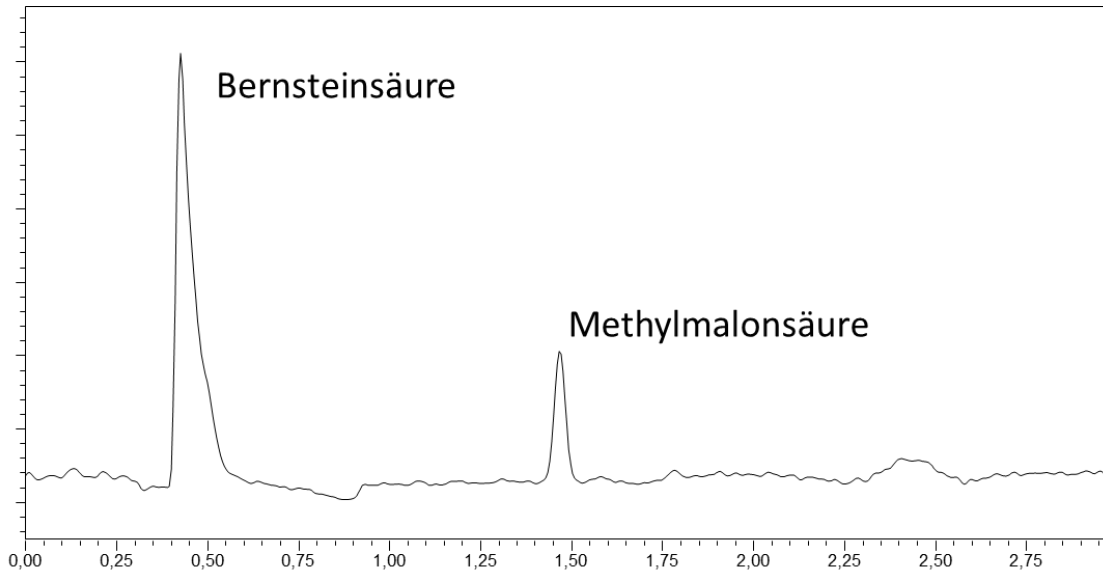
Für die Qualitätskontrolle der analytischen Messungen stehen Kontrollen in verschiedenen Konzentrationen zur Verfügung:

A100-012 Serum Kontroll-Set lyophil. Level I, II

Die Kontrollseren sind nach Rekonstitution in gleicher Weise wie die Patientenproben vorzubereiten (siehe Abschnitt 7.2 bzw. 7.3).

Für jede analytische Serie sind frisch vorbereitete Kontrollen zu verwenden. Im Falle großer analytischer Serien empfehlen wir diese Kontrollen zusätzlich am Serienende mitzuführen.

7.5.5 Beispielchromatogramm



Chromatogramm des Kontrollserums, Level 2

7.6 Auswertung

Die Detektion der Analyten erfolgt durch Messung substanzspezifischer Massenübergänge, siehe Abschnitt 7.4.5.

Die Berechnung der Analyt-Konzentration erfolgt mit der Internen-Standard Methode über die Peakflächen.

Die Kalibriergerade wird aus den Kalibratoren durch das Auftragen des Verhältnisses aus Peakfläche „Analyt/Interner Standard“ gegen Konzentration „Nennwert“ erhalten.

Die Konzentrationen der Analyten in den Proben und den Kontrollen werden aus den Kalibriergeraden berechnet.

Um eine korrekte Auswertung zu gewährleisten, beachten Sie bitte die Gebrauchsanweisung der MS/MS-Software des Geräteherstellers.

Zur Umrechnung von $[\mu\text{g/L}]$ in Stoffmengenkonzentration $[\text{nmol/L}]$ und umgekehrt, ist mit dem Faktor aus Tabelle 6 zu multiplizieren.

Tabelle 6 Konvertierungs-Faktoren

Analyt	Molekulargewicht [g/mol]	Umrechnung: nmol/L → µg/L	Umrechnung: µg/L → nmol/L
MMA	118,09	0,118	8,468

7.7 Referenzbereiche

Tabelle 7 Normalwerte MMA

	Plasma, Serum [10]
Normalbereich	73–271 nmol/l

Die angegebenen Referenzbereiche sind sorgfältig ausgewählter und aktueller wissenschaftlicher Literatur entnommen. Ihre Aktualität entspricht dem Druckdatum dieses Dokuments. Bitte beachten Sie, dass diese Bereiche keine Empfehlungen des Herstellers dieses Produkts widerspiegeln, sondern als Richtlinie für die Bewertung des Referenzbereichs durch das klinische Labor verwendet werden können.

7.8 Troubleshooting

Problem	Mögliche Ursache	Korrekturmaßnahme
Gradientenprofil kann nicht erzeugt werden	HPLC-Pumpe defekt	Pumpen überprüfen
	Luft im System	Mobile Phasen entgasen und HPLC spülen
	Schwankungen der Flussrate	Pumpen überprüfen
Interferenz-Signale	Injektionssystem verunreinigt	Mit angesäuertem Methanol spülen bzw. 10 x Mobile Phase B injizieren Flushport: Flüssigkeitsstand überprüfen Injektionsnadel und Nadelsitz reinigen/austauschen
	Probengefäße verunreinigt	Neue Gefäße verwenden
	Septum des Probengefäßes verunreinigt	Anderes Septum benutzen
	Mobile Phase kontaminiert	Mobile Phasen tauschen und System spülen
	Säule(n) (Analytische Säule/Vorsäule) verunreinigt	Vorsäule / Analytische Säule tauschen
	Massenauflösung zu niedrig	Massenauflösung optimieren
	System nicht ordnungsgemäß installiert	Sämtliche Verbindungen überprüfen
Sensitivität lässt nach	Massenauflösung zu hoch/niedrig	Massenauflösung optimieren
	Massenkalibrierung verschoben	MS/MS neu kalibrieren
	Injektionsventil undicht	Injektor überprüfen
	Massenspektrometer verunreinigt	Massenspektrometer reinigen
	Ionenquelle verunreinigt	Ionenquelle reinigen
Keine Signale	Pumpe defekt	Pumpe überprüfen
	MS/MS-System nicht einsatzbereit	MS/MS-System überprüfen
	Injektor defekt	Injektor überprüfen
Keine Gasversorgung	Gasflasche leer	Gasflasche auswechseln
	Kompressor defekt	Kompressor überprüfen
	Stickstoffgenerator defekt	Stickstoffgenerator überprüfen
	Gaseingangsdrücke nicht im Sollbereich	Gaseingangsdrücke regulieren

Starke Signalschwankungen	Gasfluss instabil	Gasleitungen überprüfen
	Ungleichmäßiger Fluss	HPLC-Pumpe überprüfen
	Spray instabil	Sprühkapillare überprüfen und gegebenenfalls reinigen
Kein Vakuum	Vakuum-Pumpen defekt	Vor- und Hochvakuum pumpen überprüfen
	Leck im Vakuum-System	Vakuum-Schläuche und Anschlüsse überprüfen

8. Leistungscharakteristika

Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem MS/MS System Shimadzu LCMS-8050 erhalten

8.1 Linearität, LOD, LLOQ

	Serum/Plasma	
	[µg/L]	[nmol/L]
Linearity	18,75 – 1500	159 – 12712
LOD	4,68	39,71
LLOQ	15,61	132,38

8.2 Wiederfindung

Für MMA wurden Wiederfindungsraten von 90-100% erzielt.

8.3 Präzision

Proben mit 3 unterschiedlichen Konzentrationen wurden verwendet, um den Intra- und Interassay Genauigkeit der Methode zu bestimmen. Die Analytkonzentrationen sind zusammen mit den Ergebnissen in Tabelle 7 enthalten.

Tabelle 7 Ergebnisse der Intra-& Interday Präzision

	Konzentration [µg/L]	Konzentration [nmol/L]	Intraday Precision CV [%]; n=10	Interday Precision CV [%]; n=80
Level 1	31,9	270	6	10
Level 2	69,5	588	3	6
Level 3	125	1060	1	12

9. Qualitätskontrolle

Bei jedem Run müssen die Kontrollseren (siehe 5.1) mitgeführt werden. Es wird empfohlen jährlich an einem Ringversuch teilzunehmen.

10. Grenzen des Testverfahrens

Der Methylmalonsäure Kit funktioniert nur mit den angegebenen Probenmatrices. Weiters können nur Konzentrationen innerhalb des Kalibrationsbereichs bestimmt werden.

11. Entsorgung

Benutzte Verbrauchsmaterialien und Lösungsmittel sollten gemäß den nationalen Richtlinien in speziell dafür vorgesehenen Abfallbehältern entsorgt werden.

12. Kontaktinformationen

Sie können uns jederzeit gerne mit Fragen kontaktieren. Nutzen Sie dafür bitte folgende Kontaktinformationen:

E-Mail: info@archimedline.com

Phone: +43 664 1283579

Web: www.archimedline.com





ARCHImedline GmbH





Leberstraße 20/2, 1110 Vienna, Austria

13. Symbole



13.1 IVD Symbole

Nach der EU-Richtlinie 98/79/EG über in-vitro Diagnostika (IVD), werden folgende IVD-Symbole auf den Produktetiketten und in dieser Arbeitsanleitung verwendet:

	Herstellerinformationen
	Haltbarkeitsdatum
	Chargenbezeichnung
	Referenznummer
	Temperaturbereich
	Gebrauchsanweisung

	Für <i>in-vitro</i> diagnostische Zwecke
	Unique device identifier
	Nicht wiederverwenden
	Beinhaltet biologisches Material menschlichen Ursprungs

13.1 Gefahren Symbole

	<p>Gefahr Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. Von Hitze / Funken / offenen Flammen / heißen Oberflächen fernhalten - Nicht rauchen. Verwenden Sie explosionsgeschützte Elektro-/Lüftungs-/Licht-/Geräte. Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen. Maßnahmen gegen statische Aufladung treffen.</p>
	<p>Achtung Gesundheitsschädlich bei Verschlucken, Hautkontakt oder Einatmen. Verursacht schwere Augenreizung. Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.</p>

14. Informationen über Markenzeichen

N/A

15. Version



V2

16. Literatur



- [1] W. Herrmann, R. Obeid: Ursachen und frühzeitige Diagnostik von Vitamin-B12-Mangel, Deutsches Ärzteblatt 2008, 108 (40), 680-685.
- [2] Klee, G.G, Cobalamin and Folate Evaluation: Measurement of Methylmalonic Acid and Homocysteine vs Vitamin B12 and Folate, Clinical Chemistry 2000, 46 (8), 1277-1283.
- [3] Refsum, H., Smith, A.D., Ueland, P. M., Nexø, E. , Clarke, R., McPartlin, J., Johnston, C., Engbaek, F., Schneede, J., McPartlin, C., Scott, J.M., Facts and Recommendations about Total Homocysteine Determinations: An Expert Opinion, Clinical Chemistry 2004, 50 (1), 3-
32. [4] Rasmussen, K., Studies on Methylmalonic Acid in Humans. I. Concentrations in Serum and Urinary Excretion in Normal Subjects after Feeding and during Fasting, and after Loading with Protein, Fat, Sugar, Isoleucine, and Valine, Clinical Chemistry 1989, 35 (12), 2271-2276.
- [5] Rasmussen, K., Moelby, L., Mogens Krogh, J., Studies on Methylmalonic Acid in Humans. II. Relationship between Concentrations in Serum and Urinary Excretion, and the Correlation between Serum Cobalamin and Accumulation of Methylmalonic Acid, Clinical Chemistry 1989, 35 (12), 2277-2280.
- [6] Rasmussen, K., Vyberg, B., Pedersen, K., Brochner-Mørtensen, J., Methylmalonic Acid in Renal Insufficiency: Evidence of Accumulation and Implications for Diagnosis of Cobalamin Deficiency, Clinical Chemistry 1990, 36 (8), 1523-1524.
- [7] Norman, E.J., Morrison, J.A., Screening Elderly Populations for Cobalamin (Vitamin B12) Deficiency Using the Urinary Methylmalonic Acid Assay by Gas Chromatography Mass Spectrometry, The American Journal of Medicine 1993, 94, 589-594.
- [8] Carvalho, V.M., Kok, F., Determination of serum methylmalonic acid by alkylative extraction and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, (2008) Analytical Biochemistry, 381, 67-73.
- [9] Magera, M.J., Helgeson, J.K., Matern, D., Rinaldo, P., Methylmalonic Acid Measured in Plasma and Urine by Stable-Isotope Dilution and Electrospray Tandem Mass Spectrometry, Clinical Chemistry 2000, 46 (11), 1804-1810.
- [10] L. Thomas, Labor und Diagnose: Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik, 8. Auflage, Band 1, TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main 2012, page 714.
- [11] Norman, E.J., Urinary Methylmalonic Acid Test May Have Greater Value than the Total Homocysteine Assay for Screening Elderly Individuals for Cobalamin Deficiency, Clinical Chemistry 2004, 50 (8), 1482-1483

17. Anhang I – Gefahren und Sicherheitshinweise

Folgende Hinweise zu Gefahrstoffen sind zu beachten und entsprechende Sicherheitsmaßnahmen zu treffen. Weitere Informationen finden Sie in unseren Sicherheitsdatenblättern.

Piktogramme	Gefahren und Sicherheitshinweise
Mobile Phase A - Ref. A100-001	
	<p>H225 Entzündbare Flüssigkeiten H302 Akute Toxizität (oral) H312 Akute Toxizität (dermal) H332 Akute Toxizität (inhalativ) H319 Schwere Augenschädigung/ Augenreizung</p> <p>P210 Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen P233 Behälter dicht verschlossen halten P261 Einatmen von Nebel/Dampf vermeiden P280 Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz/... tragen P305+P951+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen P312 Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen P370+P378 Bei Brand: Sand, Kohlendioxid oder Pulverlöschmittel zum Löschen verwenden P403 + P235 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Kühl halten P501 Inhalt/Behälter industrieller Verbrennungsanlage zuführen</p>
Mobile phase B - Ref. A100-002 & -003	
	<p>H225 Entzündbare Flüssigkeiten H302 Akute Toxizität (oral) H312 Akute Toxizität (dermal) H332 Akute Toxizität (inhalativ) H319 Schwere Augenschädigung/ Augenreizung</p> <p>P210 Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen P233 Behälter dicht verschlossen halten P261 Einatmen von Nebel/Dampf vermeiden</p>

	<p>P280 Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz/... tragen P305+P951+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen P312 Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen P370+P378 Bei Brand: Sand, Kohlendioxid oder Pulverlöschmittel zum Löschen verwenden P403 + P235 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Kühl halten P501 Inhalt/Behälter industrieller Verbrennungsanlage zuführen</p>
Optimization Mix - Ref. A100-006	
	<p>H225 Entzündbare Flüssigkeiten H302 Akute Toxizität (oral) H312 Akute Toxizität (dermal) H332 Akute Toxizität (inhalativ) H319 Schwere Augenschädigung/ Augenreizung</p> <p>P210 Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen P233 Behälter dicht verschlossen halten P261 Einatmen von Nebel/Dampf vermeiden P280 Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz/... tragen P305+P951+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen P312 Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen P370+P378 Bei Brand: Sand, Kohlendioxid oder Pulverlöschmittel zum Löschen verwenden P403 + P235 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Kühl halten P501 Inhalt/Behälter industrieller Verbrennungsanlage zuführen</p>
Precipitation solution with internal standard - Ref. A100-010	
	<p>H225 Entzündbare Flüssigkeiten H302 Akute Toxizität (oral) H312 Akute Toxizität (dermal) H332 Akute Toxizität (inhalativ) H319 Schwere Augenschädigung/ Augenreizung</p>

	<p>P210 Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen</p> <p>P233 Behälter dicht verschlossen halten</p> <p>P261 Einatmen von Nebel/Dampf vermeiden</p> <p>P280 Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz/... tragen</p> <p>P305+P951+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen</p> <p>P312 Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen</p> <p>P370+P378 Bei Brand: Sand, Kohlendioxid oder Pulverlöschmittel zum Löschen verwenden</p> <p>P403 + P235 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Kühl halten</p> <p>P501 Inhalt/Behälter industrieller Verbrennungsanlage zuführen</p>
<p>Autosampler washing solution - Ref. A100-005</p>	
	<p>H319 Schwere Augenschädigung/ Augenreizung</p> <p>P280 Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz/... tragen</p> <p>P305+P951+P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen</p>