

VITAMIN B1 IN WHOLE BLOOD AND VITAMIN B6 IN WHOLE BLOOD/PLASMA - HPLC
VITAMINA B1 EM SANGUE TOTAL E VITAMINA B6 EM SANGUE TOTAL/PLASMA POR HPLC

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de Vitamina B1 em Sangue total e Vitamina B6 em Sangue total/Plasma por HPLC.

Nº de lote, data de fabricação e validade: ver rótulos dos frascos e da embalagem.

Artigo	Apresentação
52052	Kit Reagente para Análise de Vitamina B ₁ em Sangue Total e Vitamina B ₆ em Sangue Total /Plasma, 100 análises

Para informações detalhadas sobre o método e procedimento, favor consultar o Manual de Instruções Análise de Vitamina B1 em sangue total e Vitamina B6 em sangue total/plasma por HPLC no site www.biosys.com.br.

FINALIDADE PRETENDIDA

Este kit oferece a possibilidade de determinar as formas fisiologicamente ativas de Vitamina B1 (tiamina pirofosfato, TPP) em amostras de sangue total humano e vitamina B6 (piridoxal-5'-fosfato, PLP) em amostras de sangue total humano ou plasma, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em uma única corrida.

Destina-se à triagem e/ou monitoramento dos níveis de vitamina B1 e/ou B6, quando indicado em:

- pacientes com suspeita de deficiência de vitamina B1 e/ou B6,
- pacientes com suspeita de excesso de vitamina B1 e/ou B6,
- pacientes sob terapia com suplementação de vitamina B1 e/ou B6,

MÉTODO

Cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) com detecção por fluorescência.

PRINCÍPIO

A preparação da amostra é realizada sem uma derivatização complexa pós-coluna.

O preparo da amostra se restringe a uma única etapa de precipitação seguido da derivatização das vitaminas no frasco de reação. A amostra derivatizada é analisada utilizando detector de fluorescência com comprimento de onda variável, e, a separação cromatográfica é realizada com duas fases móveis em cerca de 9 minutos. A inclusão de dois padrões internos feitos sob medida no método garante alta precisão e segurança na quantificação dos analitos.

REAGENTES

Componentes e Composição:

Componente	Composição	Apresentação
Fase Móvel A (Mobile Phase 1)	Solução de metanol	1 x 1000 mL
Fase Móvel B (Mobile Phase 2)	Solução de metanol	1 x 1000 mL
Padrão Interno (Internal Standard)	Solução aquosa de piridina e sais de sulfato contendo azida sódica	1 x 10 mL
Reagente de Precipitação (Precipitation Reagent)	Solução de ácido perclórico	1 x 30 mL
Reagente de Neutralização (Neutralisation Reagent)	Solução de fosfato de potássio dibásico contendo Hidróxido de potássio	1 x 25 mL
Reagente de Derivatização 1 (Derivatisation Reagent 1)	Solução aquosa de hexacianoferrato tripotássico	2 x 0,3 mL (liof)

Reagente de Derivatização 2 (Derivatisation Reagent 2)	Solução aquosa de fosfato de potássio dibásico	1 x 15 mL
Frascos de Reação (âmbar) (Reaction vials)	-	2 x 100 unidades

Armazenamento e estabilidade dos reagentes

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de validade indicada no rótulo, desde que as condições de armazenamento estabelecidas sejam obedecidas.

Artigo	Componente	Armazenar
52001	Fase Móvel A	18 - 30°C
52022	Fase Móvel B	18 - 30°C
52044	Padrão Interno	2 - 8°C
52005	Reagente de Precipitação	18 - 30°C
52006	Tampão de Neutralização	18 - 30°C
52007	Reagente de Derivatização 1	18 - 30°C
52008	Reagente de Derivatização 2	18 - 30°C

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Por favor, consulte a ficha de segurança dos reagentes e tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

A Fase Móvel A e Fase Móvel B contêm solventes orgânicos e devem ser descartadas como resíduos livres de halogênio de acordo com os regulamentos locais. O Reagente de Precipitação contém um ácido forte que pode provocar fogo e o Reagente de neutralização contém uma base forte. As soluções devem ser neutralizadas e descartadas em um recipiente para soluções salinas.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

- Fase Móvel A: pronto para uso.
- Fase Móvel B: pronto para uso.
- Padrão Interno: pronto para uso.
- Reagente de Precipitação: pronto para uso.
- Reagente de Neutralização: pronto para uso.
- Reagente de Derivatização 1: reconstitua o conteúdo do frasco do Reagente de Derivatização 1 (art. 52007) com exatamente 0,3 mL de água destilada. Sob refrigeração (+2 a +8°C), a estabilidade desta solução é de aproximadamente 4 semanas.
- Reagente de Derivatização 2: pronto para uso.

Mix de Derivatização:

- Misture 50 µL do Reagente de Derivatização 1 reconstituído com 1,0 mL do Reagente de Derivatização 2 (art. 52008). A proporção é 1:21.
 - Esta mistura (= mix de derivatização) está pronta para o uso no preparo das amostras.
- A estabilidade é de 4 dias quando mantido protegido da luz e refrigerado (+2 a +8°C).

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Sistema HPLC básico com bomba gradiente e detector de fluorescência programável
- Coluna Cromatográfica equilibrada (Chromsystems art.52100)
- Autosampler
- Vórtex
- Centrifuga para frascos de reação de 1,5 ml
- Padrão de Calibração e Controles de Vitaminas B1/B6.

A Chromsystems disponibiliza os seguintes produtos:

Artigo	Produto	Apresentação
52003	Vitamins B1/B6 Whole Blood Calibration Standard	5 x 1 mL (liof)
36005	Plasma Calibration Standard Vitamin B6	5 x 1 mL (liof)
0164	Vitamins B1/B6 - Whole Blood Controls - Bi-Level (Level I+II)	2 x (5 x 2 mL) (liof)
0031	Plasma Control Vitamin B6 in plasma/serum - Bi-Level I+II	2 x (5 x 2 mL) (liof)
0038	Plasma Control Vitamin B6 in plasma/serum - Level I	5 x 2,0 ml (liof)
0039	Plasma Control Vitamin B6 in plasma/serum - Level II	5 x 2,0 ml (liof)

AMOSTRA

Para a análise de vitamina B1 (TPP) utilizar sangue total, para a análise de vitamina B6 (PLP) utilizar sangue total ou plasma.

Observações importantes:

- Para a medição da vitamina B6, as amostras de sangue devem ser colhidas pela manhã com o estômago vazio, antes de qualquer medicação e na ausência de consumo recente de álcool [16].
- Recomenda-se a separação rápida do plasma após a coleta de amostras de sangue e armazenamento congelado para garantir medição confiável de vitamina B6 [3].
- Em certas doenças como a hipofosfatasia, um nível alterado de vitamina B6 é indicativo. Nesses casos, a ingestão de suplementos de vitamina B6 deve ser evitada por pelo menos 2 semanas antes da coleta, pois pode-se obter falsos níveis elevados de vitamina B6 causados pela suplementação [15].
- Deve-se notar também que os níveis de vitamina B6 no plasma podem ser mais baixos em pacientes com níveis baixos de albumina (por exemplo, durante estados de inflamação aumentada) ou atividade alterada da fosfatase alcalina e em usuários de longo prazo de AINE [3,12].
- Níveis elevados de ácido ascórbico (vitamina C) podem interferir na análise do pirofosfato de tiamina e levar a resultados de medição falsamente elevado (consulte o item "Interferentes").

Tanto o EDTA (K3-EDTA e K2-EDTA) quanto a heparina (heparina de lítio, sódio e amônio) são adequados como anticoagulantes. Entretanto, recomenda-se utilizar sangue total/plasma com EDTA porque sangue total/plasma com heparina é muito mais suscetível à falsificação enzimática dos resultados (possibilidade de aumento e diminuição das concentrações do analito) e é mais propenso à coagulação, o que pode reduzir a precisão da pipetagem.

Estabilidade das amostras:

TPP (vitamina B1)	Sangue total	
	EDTA	Heparina
+20 to +25 °C	24 horas	24 horas
+2 to +8 °C	7 dias	7 dias
Abaixo -18°C	3 meses	3 meses
Ciclos de congelamento/descongelamento	1 ciclo	1 ciclo

PLP (vitamina B6)	Sangue total	
	EDTA	Heparina
+20 to +25 °C	24 horas	24 horas
+2 to +8 °C	4 semanas	4 semanas
Abaixo -18°C	3 meses	3 meses
Ciclos de congelamento/descongelamento	1 ciclo	1 ciclo

PLP (vitamina B6)	Plasma	
	EDTA	Heparina
+20 to +25 °C	7 dias	2 dias
+2 to +8 °C	4 semanas	7 dias
Abaixo -18°C	3 meses	1 mês
Ciclos de congelamento/descongelamento	1 ciclo	1 ciclo

Não existem restrições quanto à utilização de amostras hemolisadas, lipemicas e ictericas (consulte o item "Interferentes").

É responsabilidade de cada laboratório usar todas as referências disponíveis e/ou seus próprios estudos para determinar critérios de estabilidade específicos do laboratório.

Estabilidade das amostras preparadas (eluatoss):

Temperatura de armazenamento	Tempo de armazenamento	Outras condições de armazenamento
+20 a + 25°C	1 dia	Protegido da luz, bem fechado, em frasco de vidro
+2 a +8°C	7 dias	Protegido da luz, bem fechado, em frasco de vidro

O armazenamento de amostras preparadas abaixo de -18°C não é recomendado, pois pode ocorrer a formação de cristais.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Ajustes do instrumento:

Amostrador	Protegido da luz, frascos de vidro âmbar
Volume de injeção	25 µL
Tempo de corrida analítica	7 min (plasma), 9 min (sangue total).
Temperatura da coluna	Temp. ambiente (20-25°C)
Detector de fluorescência	EX = 320 nm, EM = 415 nm. Após aprox. 3,8 min. mudar para: EX = 367 nm, EM 435 nm.
Solução de limpeza do injetor	Água/metanol = 95/5 (V/V)

Perfil de gradiente:

Perfil de gradiente para determinação de Vitamina B1/B6 em sangue total:

Tempo (min)	% Fase móvel A	% Fase móvel B	Taxa de fluxo [mL/min]
0	100	0	1,5
2,40	100	0	
2,50	50	50	
3,50	50	50	
3,60	0	100	
6,70	0	100	2,3
6,71	0	100	
8,00	0	100	
8,01	100	0	
8,90	100	0	1,5
8,91	100	0	
9,00	100	0	

Perfil de gradiente para a determinação de Vitamina B6 em plasma:

Tempo (min)	% Fase móvel A	% Fase móvel B	Taxa de fluxo [mL/min]
0	100	0	1,5
2,40	100	0	
2,50	50	50	
3,50	50	50	
3,60	0	100	
5,50	0	100	
5,51	100	0	
7,00	100	0	

PROCEDIMENTO DE PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Importante: É essencial proteção suficiente contra luz durante toda a preparação da amostra. As amostras não devem ser expostas à luz solar direta.

Antes da preparação da amostra, permita que os reagentes/calibradores/controles/amostras armazenadas congeladas ou refrigeradas atinjam a temperatura ambiente. Homogeneizar bem.

• Preparação da amostra em frascos de reação âmbar (fornecido)

Em um frasco de reação âmbar, pipetar:

- 200 µL de sangue total ou plasma (ou calibrador ou controle reconstituído)
 - + 100 µL de Padrão Interno
 - + 300 µL de Reagente de Precipitação

Atenção: Adicione o reagente de precipitação imediatamente após pipetar o padrão interno e agite.

- Agitar por 30 s (vórtex).
- Centrifugar por 5 min. a 14.000 g
- Em um novo frasco âmbar, pipetar 250 µL do Reagente de Neutralização +100 µL do mix de derivatização
- Adicionar 250 µL do sobrenadante obtido nas etapas 1-3 e agitar brevemente. Não centrifugar o precipitado obtido!
- Incubar 25 min. a 60°C (banho-maria).
- Incubar por pelo menos 10 min. entre + 2 e + 8°C, centrifugar por 2 min. a 14.000 g.
- Transferir o sobrenadante para um frasco de vidro âmbar de amostrador automático, injetar 25 µL no sistema HPLC.

Tempos de retenção esperados:

Analito	Tempo de retenção (aprox. min)
Padrão Interno 1 (PLP)	1,2
Vitamina B6 (PLP)	2,7
Vitamina B1 (TPP)	5,1
Padrão Interno 2 (TPP)	6,2

CÁLCULOS

Área/altura do pico da substância A no cromatograma da amostra = $A_{amostra}$

Área/altura do pico do Padrão Interno (IS) no cromatograma da amostra = $IS_{amostra}$

Inclinação da curva de calibração ($A_{calibrador}/IS_{calibrador}/C_{calibrador}$) = α

Calcule a concentração do analito A na amostra $C_{amostra}$ da seguinte forma:

$$C_{amostra} = \frac{A_{amostra} / IS_{amostra}}{\alpha}$$

Fatores de conversão

Analito	µg/L para nmol/L	nmol/L para µg/L
Vitamina B1 (Tiamina pirofosfato, TPP)	x 2,357	x 0,4243
Vitamina B6 (Piridoxal-5'-fosfato, PLP)	4,047	x 0,2471

DESEMPENHO / CARACTERÍSTICAS

Recuperação relativa:

Analito	Matriz	Recuperação (concentração do analito)	
Vitamina B6 (PLP)	Sangue total EDTA (n=10)	92% (20 µg/L)	93% (200 µg/L)
	Sangue total heparina (n=10)	104% (20 µg/L)	104% (200 µg/L)
	Plasma EDTA (n=12)	104% (20 µg/L)	107% (200 µg/L)
	Plasma heparina (n=10)	101% (20 µg/L)	104% (200 µg/L)
Vitamina B1 (TPP)	Sangue total EDTA (n=10)	108% (40 µg/L)	110% (400 µg/L)
	Sangue total heparina (n=10)	109% (40 µg/L)	110% (400 µg/L)

Linearidade/limite de quantificação:

Analito	Matriz	Limite de quantificação	Faixa linear (até pelo menos)
Vitamina B6 (PLP)	Sangue total	4,0 µg/L	500 µg/L
	Plasma	0,5 µg/L	500 µg/L
Vitamina B1 (TPP)	Sangue total	3,5 µg/L	750 µg/L

*O limite de quantificação depende do detector utilizado.

Precisão intra-ensaio:

Analito	Matriz	Coeficiente de variação (concentração em µg/L)		
Vitamina B6 (PLP)	Sangue total	0,7% (12,3)	1,7% (17,0)	0,8% (24,0)
	Plasma	1,5% (6,57)	1,6% (12,0)	2,3% (19,8)
Vitamina B1 (TPP)	Sangue total	1,3% (24,6)	2,1% (39,3)	0,9% (89,6)

Precisão inter-ensaio:

Analito	Matriz	Coeficiente de variação (concentração em µg/L)		
Vitamina B6 (PLP)	Sangue total	2,3% (12,3)	1,5% (17,0)	2,9% (24,8)
	Plasma	5,2% (6,47)	1,8% (12,0)	3,0% (19,6)
Vitamina B1 (TPP)	Sangue total	2,0% (24,9)	1,7% (39,3)	2,3% (92,9)

VALORES DE REFERÊNCIA

Os intervalos de referência declarados são baseados na literatura [17,18]. Eles podem diferir de outros dados publicados. Como os níveis variam dependendo da população de pacientes e do método de medição, determine os intervalos de referência para o seu laboratório. Ao determinar os intervalos, certifique-se de cumprir as normas locais requisitos nacionais.

Vitamina B1 (TPP) em sangue total	
Faixa de valores	33,1–60,7 µg/L 78 – 143 nmol/L
No. Resultados obtidos	247
Método estatístico da faixa de referência	Média ± 2x desvio padrão
Correlação entre os resultados obtidos e a idade	nenhuma
Correlação entre os resultados obtidos e o gênero	nenhuma
Literatura	17

Vitamina B6 (PLP) em sangue total	
Faixa de valores	12,6 – 45,2 µg/L 51 – 183 nmol/L
No. Resultados obtidos	246
Método estatístico da faixa de referência	Remoção de 2,5% dos resultados superiores e inferiores
Correlação entre os resultados obtidos e a idade	Decréscimo com a idade: 21-30 anos: 138 nmol/L (homem) e 113 nmol/L (mulher) >70 anos: 79 nmol/L (homem) e 84 nmol/L (mulher) Efeito fraco: nenhum intervalo de referência relacionado à idade foi introduzido
Correlação entre os resultados obtidos e o gênero	nenhum
Literatura	17

Vitamina B6 (PLP) em plasma	
Faixa de valores	5,7 – 55,1 µg/L 23 – 223 nmol/L
No. Resultados obtidos	120
Método estatístico da faixa de referência	Remoção de 2,5% dos resultados superiores e inferiores
Correlação entre os resultados obtidos e a idade	Nenhuma influência na faixa de valor superior, porém decréscimo na faixa inferior com aumento da idade. Efeito fraco: nenhum intervalo de referência relacionado à idade foi introduzido
Correlação entre os resultados obtidos e o gênero	Nenhuma influência na faixa de valor inferior, porém influência na faixa superior devido ao gênero (homens>mulheres). Efeito fraco: nenhum intervalo de referência relacionado ao gênero foi introduzido
Literatura	18

INTERFERÊNCIAS

Interferências detectadas

O acetaminofeno (paracetamol), um medicamento para tratar febre e dor leve a moderada, leva a falsas determinações de pirofosfato de tiamina (TPP) e piridoxal 5'-fosfato (PLP), pois influencia a linha de base e causa vários picos de interferência.

A isoniazida, um antibiótico bactericida, interfere com a vitamina B6 (PLP) levando a uma determinação falsamente baixa da mesma.

A piridoxina é geralmente administrada como co-medicação com a isoniazida. Mesmo os níveis endógenos mais elevados esperados desta substância não influenciam significativamente o resultado quantitativo, mas a piridoxina pode ser convertida em piridoxal 5'-fosfato (PLP) por reações enzimáticas. Portanto, não causa interferência analítica, mas sim uma interferência farmacocinética.

A presença de ácido ascórbico (vitamina C) leva a uma diminuição do sinal de vitamina B1 (TPP), bem como o correspondente padrão interno IS 2. Por ser mais prejudicado, o padrão interno não compensa totalmente a deterioração do analito, levando a resultados falsamente altos para a vitamina B1 (TPP). Nas

concentrações de ácido ascórbico acima de 125 mg/l, isso pode afetar a precisão dos resultados do teste em >15%.

As seguintes substâncias não foram observadas como interferentes na injeção primária. Mas elas eluem em uma injeção subsequente e pode afetar a precisão dos resultados do teste: Levofloxacino e Triamtereno

Interferências não detectadas

As seguintes substâncias foram testadas e não apresentaram picos interferentes e/ou tiveram uma influência insignificante nos resultados quantitativos (desvio ≤15%).

Compostos relacionados à estrutura:

Isopiridoxal, piridoxal*, piridoxamina*, piridoxamina 5'-fosfato*, ácido 4-piridoxico, piridoxina*, piridoxina 5'-fosfato*, tiamina*, tiamina monofosfato *, tiamina trifosfato*.

**Esses metabólitos podem ser convertidos entre si e em PLP ou TPP por meio de reações enzimáticas. Eles não são interferências analíticas, mas sim farmacocinéticas.*

Drogas:

Acetazolamida, acetilcisteína, ácido acetilsalicílico, aciclovir, alopurinol, aloxantina (testada como oxipurinol), ampicilina, amoxicilina, ampicilina, azatioprina, azitromicina, bisoprolol, captopril, carbamazepina, carbamazepina-10,11-epóxido, cefradina, cloranfenicol, clordiazepóxido, cimetidina, ciprofloxacino, claritromicina, dexametasona, diazepam, diclofenaco, digitoxina, digoxina, dihidrocodeína, disopiramide, enalaprilato, eritromicina, furosemida, ganciclovir, gentamicina, hidroclorotiazida, ibuprofeno, dinitrato de isossorbida, itraconazol, cetozonazol, levotiroxina, lidocaína, lorazepam, metformina, metilprednisolona, metoclopramida, metoprolol, ácido micofenólico, ácido micofenólico glicuronídeo, N-acetilprocainamida, nadolol, N-desmetildiazepam, neomicina, nifedipina, norverapamil, omeprazol, oxazepam, penicilina G, penicilina V, fenitoína, prazosina, prednisolona, prednisona, procainamida, (±)-propranolol, ranitidina, rifampicina, risperidona, salbutamol (albuterol), ácido salicílico (ácido 2-hidroxibenzóico), fluoreto sódico, estreptomina, sulfametoxazol, tramadol, trimetoprim, ácido valpróico, vancomicina, verapamil.

Análise sem interferências é possível com as seguintes condições da amostra:

Hemólise

As amostras de plasma foram enriquecidas com hemoglobina até uma concentração de hemoglobina de 5 g/L e as concentrações dos analitos foram comparadas com as da amostra original: Não ocorreram interferências significativas (desvio ≤ 15%).

Lipemia

Amostras de sangue total e plasma foram enriquecidas com diferentes concentrações de uma emulsão lipêmica (0,67 a 10 g/L) e as concentrações do analito foram comparadas com as da amostra original: Não ocorreram interferências significativas (desvio ≤ 15%).

Icterícia

Amostras de sangue total e plasma foram enriquecidas com bilirrubina não conjugada e conjugada (0,4 g/L) e as concentrações do analito foram comparadas com as da amostra original: Não ocorreram interferências significativas (desvio ≤ 15%).

LITERATURA

- Gressner AM, Arndt T (ed): Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Springer, Berlin, Heidelberg, 2019.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA): Dietary Reference Values for thiamin.
- Berger MM, Shenkin A, Schweinlin A, Amrein K, Augsburg M, Biesalski H-K, et al.: ESPEN micronutrient guideline. *Clin Nutr* 2022; 41:1357-1424.
- Araujo Castro M, Vazquez Martinez C: The refeeding syndrome. Importance of phosphorus. *Medicina Clínica (English Edition)* 2018; 150:472-478.

5. Da Silva JSV, Seres DS, Sabino K, Adams SC, Berdahl GJ, Citty SW, *et al.*: ASPEN Consensus Recommendations for Refeeding Syndrome. *Nutr Clin Pract* 2020; 35:178–195.

6. Wirth R, Diekmann R, Janssen G, Fleiter O, Fricke L, Kreilkamp A, *et al.*: Refeeding-Syndrom : Pathophysiologie, Risikofaktoren, Prophylaxe und Therapie. *Internist (Berl)* 2018; 59:326–333.

7. Kennedy DO: B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy--A Review. *Nutrients* 2016; 8:68.

8. Talwar D, Catchpole A, Wadsworth JM, Toole BJ, McMillan DC: The relationship between plasma albumin, alkaline phosphatase and pyridoxal phosphate concentrations in plasma and red cells: Implications for assessing vitamin B6 status. *Clin Nutr* 2020; 39:2824–2831.

9. Himmelreich N, Montioli R, Bertoldi M, Carducci C, Leuzzi V, Gemperle C, *et al.*: Aromatic amino acid decarboxylase deficiency: Molecular and metabolic basis and therapeutic outlook. *Mol Genet Metab* 2019; 127:12–22.

10. Nix WA, Zirwes R, Bangert V, Kaiser RP, Schilling M, Hostalek U, *et al.*: Vitamin B status in patients with type 2 diabetes mellitus with and without incipient nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2015; 107:157–165.

11. Marce-Grau A, Marti-Sanchez L, Baide-Mairena H, Ortigoza-Escobar JD, Perez-Duenas B: Genetic defects of thiamine transport and metabolism: A review of clinical phenotypes, genetics, and functional studies. *J Inherit Metab Dis.* 2019; 581–597.

12. Zhou J, Effiong U: Isolated Pyridoxine Deficiency Presenting as Muscle Spasms in a Patient With Type 2 Diabetes: A Case Report and Literature Review. *Am J Med Sci* 2021; 361:791–794.

13. Martel JL, Kerndt CC, Doshi H, Franklin DS: Vitamin B1 (Thiamine). StatPearls Publishing, 2023.

14. Sriram K, William Manzaneres, Joseph K: Thiamine in nutrition therapy 2012.

15. Jandl NM, Volk A, Barvencik F: Hypophosphatasie – eine klinisch und genetisch variable Erkrankung. *Medizinische Genetik* 2019; 31:364–371.

16. Rojas-Hernandez CM OT: The Unusual Nutritional and Toxin-related Underproduction Anemias Approaching the Riddle Beyond Iron, Cobalamin and Folate. *Discov Med* 2018; 67–74.

17. Steen G, Vlasveld LTh, Poot CC, Slot-Verhoeven AJ van, Castel A: Onderzoek naar referentiewaarden van laboratoriumonderzoek in een algemeen ziekenhuis: resultaten en bevindingen. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2009; 34:35–43.

18. Panton KK, Farup PG, Sagen E, Sirum UF, Asberg A: Vitamin B6 in plasma - sample stability and the reference limits. *Scand J Clin Lab Invest* 2013; 73:476–479.

19. Parker E, Maister T, Stefoska-Needham A, Wearne C, Anderson G, Gomes L, *et al.*: An audit of the changes in thiamine levels during higher caloric nutritional rehabilitation of adolescent patients hospitalised with a restrictive eating disorder. *J Eat Disord* 2020; 8:41.

20. Bahat H, Reisler G, Brandriss N, Bar-Chaim A, Goldman M: Thiamine Deficiency in Adolescents with Eating Disorders: A Prospective Cohort Study. *Nutrients* 2020; 12(5):1396.

21. Castro J, Deulofeu R, Gila A, Puig J, Toro J: Persistence of nutritional deficiencies after short-term weight recovery in adolescents with anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 2004; 35:169–178.

22. Bevier A, Novel-Catin E, Blond E, Pelletier S, Parant F, Koppe L, *et al.*: Water-Soluble Vitamins and Trace Elements Losses during On-Line Hemodiafiltration. *Nutrients* 2022; 14(17):3454.

23. Heinz J, Domrose U, Westphal S, Luley C, Neumann KH, Dierkes J: Washout of water-soluble vitamins and of homocysteine during haemodialysis: effect of high-flux and low-flux dialyser membranes. *Nephrology (Carlton)* 2008; 13:384–389.
















24. Looman M, Geelen A, Samlal RAK, Heijligenberg R, Klein Gunnewiek JMT, Balvers MGJ, *et al.*: Changes in Micronutrient Intake and Status, Diet Quality and Glucose Tolerance from Preconception to the Second Trimester of Pregnancy. *Nutrients* 2019; 11.

25. O'Leary F, Flood VM, Petocz P, Allman-Farinelli M, Samman S: B vitamin status, dietary intake and length of stay in a sample of elderly rehabilitation patients. *J Nutr Health Aging* 2011; 15:485–489.

26. Hepp N, Folkestad L, Mollebak S, Frederiksen AL, Duno M, Jorgensen NR, *et al.*: Bonemicroarchitecture and bone-strength in a sample of adults with hypophosphatasia and a matched reference population assessed by HR-pQCT and impact microindentation. *Bone* 2022; 160:116420.

27. Saraff V, Narayanan VK, Lawson AJ, Shaw NJ, Preece MA, Hogler W: A Diagnostic Algorithm for Children with Low Alkaline Phosphatase Activities: Lessons Learned from Laboratory Screening for Hypophosphatasia. *The Journal of Pediatrics* 2016; 172:181–186.e1.

Símbolos utilizados:

	Fabricante
	Número de catálogo
	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Código do lote
	Validade
	Limite de temperatura
	Consultar as instruções para utilização
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Cuidado
	Atenção
	Perigo
	Perigo
	Perigo
	Perigo
	Este produto cumpre as exigências da Regulation (EU) 2017/746 relativa aos dispositivos médicos para uso em diagnóstico <i>in vitro</i>

Fabricante: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH
Regularizado por: BioSys Ltda
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ
Cep: 24020-112
CNPJ: 02.220.795/0001-79
Anvisa: 10350840189
SAC: sac@biosys.com.br - 0800 015 1414 / (21) 3907-2534
www.biosys.com.br