

# VITAMIN B1 AND VITAMIN B6 IN WHOLE BLOOD – AUTOMATED SAMPLE PREPARATION - UHPLC

## VITAMINA B1 e VITAMINA B6 EM SANGUE TOTAL – PREPARO AUTOMATIZADO DE AMOSTRAS - UHPLC

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de Vitamina B<sub>1</sub> e Vitamina B<sub>6</sub> em Sangue total por UHPLC com preparo automatizado de amostras.

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

Artigo	Apresentação
52952/UHPLC/F	Kit Reagente para Análise de Vitamina B <sub>1</sub> e Vitamina B <sub>6</sub> em Sangue Total, 960 análises

**Para informações detalhadas sobre o método e procedimento, favor consultar o Manual de Instruções para Análise de Vitamina B<sub>1</sub> e Vitamina B<sub>6</sub> em sangue total – preparo automatizado de amostras - UHPLC no site [www.biosys.com.br](http://www.biosys.com.br).**

### FINALIDADE PRETENDIDA

Deteção quantitativa das formas fisiologicamente ativas de Vitamina B<sub>1</sub> (Tiamina pirofosfato, TPP) e Vitamina B<sub>6</sub> (piridoxal-5'-fosfato, PLP) em amostras de sangue total humano via cromatografia líquida de ultra performance (UHPLC). Trata-se de um teste para pacientes com suspeita de deficiência de Vitamina B<sub>1</sub> ou Vitamina B<sub>6</sub>.

### MÉTODO

Cromatografia líquida de ultra alto desempenho (UHPLC) com deteção por fluorescência.

### PRINCÍPIO

Este kit de reagentes da Chromsystems permite a determinação confiável e rápida das formas fisiologicamente ativas das Vitaminas B<sub>1</sub> e B<sub>6</sub>, tiamina pirofosfato e piridoxal-5'-fosfato via cromatografia líquida de ultra performance (UHPLC) em uma única corrida, com a mesma preparação de amostra e sem derivatização pós-coluna. A amostra derivatizada é analisada utilizando detector de fluorescência com comprimento de onda variável. Um gradiente binário garante uma separação confiável dos analitos.

O uso de dois padrões internos garante alta precisão e segurança na quantificação dos analitos.

O preparo de amostras é feito completamente automatizado em uma placa de 96 poços; assim, o processamento de até 96 amostras é possível em menos de 2 horas.

### REAGENTES

Componentes e composições:

Produto	Composição	Apresentação
Fase Móvel A (Mobile Phase A)	Solução de metanol	2 x 1000 mL
Fase Móvel B (Mobile Phase B)	Solução de metanol	1 x 1000 mL
Reagente de Extração (Extraction Reagent)	Ácido perclórico	2 x 75 mL
Solução de Preparo (Prep Solution)	Solução aquosa de fosfato de potássio dibásico contendo Hidróxido de potássio	3 x 25 mL
Finalizador 1 (Finisher 1)	Hexacianoferrato de potássio III	2 x 5 x 0,25 mL (liof.)
Finalizador 2 (Finisher 2)	Solução aquosa contendo agente oxidante nítrico	1 x 50 mL
Tampão de Diluição (Dilution Buffer)	Solução aquosa com conservante microbiológico	1 x 100 mL
Placa de filtro com 96 poços	-	2 x 5 unidades

Placa de coleta com 96 poços	-	2 x 10 unidades
Selos adesivos perfuráveis para placa de 96 poços		2 x 5 unidades

Mix de Padrão Interno (Internal Standard Mix)	Solução ácida contendo derivado PLP modificado e derivado TPP modificado	1 x 50 mL
---	--	-----------

### INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM 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	Produto	Armazenamento
52911	Fase Móvel A	+18 a +30 °C
52922	Fase Móvel B	+18 a +30 °C
52705	Reagente de Extração	+18 a +30 °C
52706	Solução de Preparo	+18 a +30 °C
52707	Finalizador 1	+18 a +30 °C
52708	Finalizador 2	+2 a +8 °C
52709	Tampão de Diluição	+18 a +30 °C

52744	Mix Padrão Interno	+2 a +8°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

As Fases Móveis A e B (artigos 52911 e 52922) contêm solventes orgânicos. Descarte os resíduos dos produtos em um recipiente para solventes livres de halogênio de acordo com os regulamentos locais.

O Reagente de Extração (artigo 52705) contém um ácido forte, a Solução de Preparo (artigo 52706), uma base forte. Neutralize os resíduos do produto e descarte em um recipiente para soluções salinas.

Resíduos de amostras de pacientes e amostras preparadas, assim como controles e calibradores (artigo 52003) e os

consumíveis do laboratório devem ser coletados e descartados como lixo potencialmente infeccioso.

As soluções mencionadas não devem ser descartadas junto com o lixo doméstico. Não circule no abastecimento principal de água. Descarte de acordo com as normas locais e nacionais em vigor. Os contêineres de lixo devem ser armazenados apropriadamente e o acesso só deve ser permitido a pessoas autorizadas.

#### Resíduos não perigosos

O mix de Padrão Interno (artigo 52744), Finalizador 1 (artigo 52707), Finalizador 2 (artigo 52708), Tampão de Diluição (artigo 52709), e consumíveis de laboratórios não contaminados não são classificados como perigosos. Descarte de acordo com as exigências locais e nacionais em vigor.

#### PREPARO DOS REAGENTES

**Fase Móvel A:** pronto para uso.

**Fase Móvel B:** pronto para uso.

**Reagente de Extração:** pronto para uso.

**Solução de preparo:** pronto para uso.

**Reagente Finalizador 1:** reconstitua o conteúdo do frasco do Finalizador 1 (artigo 52707) com exatamente 250 µl de água destilada. Armazenada refrigerada (+2 a +8°C), a estabilidade desta solução é de aproximadamente 4 semanas.

**Reagente Finalizador 2:** pronto para uso.

**Tampão de Diluição:** pronto para uso.

#### Solução Finalizadora:

Primeiro reconstitua o conteúdo do frasco do Finalizador 1. Subsequentemente, adicione 5,0 ml do Finalizador 2 (artigo 52708) e misture (proporção 1:21).

Para o preparo de amostra, 50 µl desta mistura (=solução finalizadora) são usados por amostra. A solução é suficiente para exatamente uma placa de 96 poços.

A solução finalizadora deve ser preparada imediatamente antes do preparo de amostras. Esta solução é estável por até 6 horas se mantida protegida da luz e refrigerada (+2 a +8°C). Se a solução for aberta e não refrigerada no dispositivo de manuseio de líquidos, ela é estável durante o período de uma sequência do programa. Se várias placas forem preparadas de uma só vez, a solução finalizadora deverá ser preparada fresca para cada placa.

**Mix Padrão Interno:** pronto para uso.

#### MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Sistema UHPLC binário de alta pressão em gradiente

Autosampler

Detector fluorescente (programável)

Coluna Cromatográfica UHPLC equilibrada (Chromsystems art.52210)

Material Geral de Laboratório

Controles e calibradores para Vitaminas B1/B6 em sangue total

A Chromsystems disponibiliza os seguintes produtos:

Artigo	Produto	Apresentação
52003	Vitamins B1/B6 Whole Blood Calibration Standard	5 x 1 mL (liof)
0164	Vitamins B1/B6 - Whole Blood Controls - Bi-Level (Level I+II)	2 x (5 x 2 mL) (liof)

#### Equipamentos laboratoriais para o preparo de amostra:

Equipamento de manipulação de líquidos com: Agitador para placa de 96 poços;

Centrífuga com rotor de placa de 96 poços (velocidade mínima de 2000 x g)

Incubador de placa de 96 poços

Detecção de coágulo

#### AMOSTRA

O material utilizado é sangue total para a análise de tiamina pirofosfato e piridoxal 5'-fosfato.

- Para dosagem de PLP, as amostras de sangue devem ser coletadas pela manhã em jejum e antes de qualquer medicação e na ausência de consumo recente de álcool [16].

- Em certas doenças, como a hipofosfatase, um nível alterado de vitamina B6 é indicativo. Nesses casos, o uso de suplementação de vitamina B6 deve ser evitada por pelo menos 2 semanas antes da coleta de sangue, pois níveis elevados de PLP podem ocorrer devido à suplementação [15];

- Altos níveis de ácido ascórbico (vitamina C) podem interferir com a análise de tiamina pirofosfato e levar a falsos resultados elevados (ver "Interferentes").

Ambos EDTA (K3-EDTA e K2-EDTA) e heparina (lítio, sódio e heparina de amônio) são usados como anticoagulantes. Sangue total com EDTA é recomendado porque o sangue total com heparina é muito mais suscetível à ação enzimática que pode levar a resultados falso positivos ou negativos e é mais propenso a coagulação, que pode reduzir a precisão da pipetagem.

**Atenção:** Apesar da adição de anticoagulantes (EDTA), amostras de sangue total podem conter coágulos. A presença de coágulos pode alterar o volume de pipetagem.

Quando dispositivos automáticos de manuseio de líquidos são utilizados pode ocorrer falsos resultados se o sistema não possuir ferramentas de detecção de coágulos disponíveis. Sistemas configurados com pressão monitorada tem demonstrado vantagens práticas sobre sistemas baseados em medida de condutividade. Contate o fabricante do sistema, uma vez que a Chromsystems não pode se responsabilizar pela adequabilidade do mesmo. O kit de reagentes da Chromsystems não pode produzir resultados confiáveis ao menos que seja garantido que o volume correto de amostra é utilizado.

#### 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

Não existem restrições quanto à utilização de amostras hemolisadas, lipêmicas e ictericas (ver "Interferentes").

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

#### PROCEDIMENTOS DO TESTE

##### Ajustes do instrumento:

Amostrador	Protegido da luz, frascos de vidro âmbar
Volume de injeção	2,5 – 5 µL
Tempo de corrida analítica	3 min
Temperatura da coluna	Temp. ambiente (20-25°C)
Detector de fluorescência	EX = 320 nm, EM = 415 nm. Após aprox. 1,6 min. mudar para: EX = 367 nm, EM 435 nm.
Solução de limpeza do injetor	Água/metanol = 95/5 (v/v)

## Procedimento de Preparo das Amostras

### Mantenha a ordem de pipetagem!

1. Pipete 100 µl de sangue total (calibrador, controle, amostras) em uma placa de coleta de 96 poços
2. Adicione 50 µl do Mix de Padrão Interno
3. Adicione 150 µl do Reagente de Extração
4. Misture por 4 minutos (800-1100 rpm, a 2 mm de órbita)
5. Separe o precipitado por centrifugação (3 min, 2000 x g)
6. Transfira 75 µl do sobrenadante para uma placa de filtro de 96 poços
7. Adicione 75 µl da Solução de Preparo
8. Adicione 50 µl na solução finalizadora
9. Misturar 30 s (1200 rpm, a 2 mm de órbita)
10. Coloque a placa filtrante de 96 poços sobre uma placa de coleta de 96 poços
11. Separe o precipitado por centrifugação (2 min, 1500 x g), descarte a placa filtrante de 96 poços
12. Incube a solução obtida a 60°C por 45 min
13. Adicione 100 µl do Tampão de Diluição, misture 180 s (400 rpm, a 2 mm de órbita)
14. Sele a placa com um selo adesivo e transfira para o amostrador
15. Injete 2,5-5 µl do eluato no sistema de UHPLC

### Notas adicionais:

- Certifique-se que a temperatura das soluções atinja +60°C. Somente assim o preparo de amostras funcionará adequadamente.
- Dependendo do agitador, a velocidade pode ter que ser adaptada, com o objetivo de prevenir vazamento. Previamente, confira a melhor velocidade com o uso de placas com água.

### Estabilidade das amostras preparadas (eluatos):

Temperatura de armazenamento	Tempo de armazenamento	Outras condições de armazenamento
+20 a + 25°C	1 dia	Na placa de coleta selada com um selo adesivo perfurável (artigo 52059)
+2 a +8°C	7 dias	Na placa de coleta selada com um selo adesivo perfurável (artigo 52059)

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

### Gradiente:

Devido às diferenças de volume morto dos sistemas UHPLC individuais, o perfil de gradiente pode precisar de modificações e é projetado como base para otimização.

Fluxo de 0.7ml/min

Tempo (min)	Fase Móvel A	Fase Móvel B
0 min	100 %	0 %
0,86 min	100 %	0 %
0,87 min	30 %	70 %
1,29 min	30%	70 %
1,30 min	0 %	100 %
2,50 min	0 %	100 %
2,51 min	100 %	0 %
3,00 min	100 %	0 %

Tempo de Retenção Esperado:

Analito	Tempo de Retenção (aprox.)
Padrão Interno 1 (PLP)	0,5 min.
Vitamina B <sub>6</sub> (PLP)	1,0 min
Vitamina B <sub>1</sub> (TPP)	1,9 min
Padrão Interno 2 (TPP)	2,6 min

Fatores de conversão

Analito	µg/L para nmol/L	nmol/L para µg/L
Vitamina B <sub>1</sub> (Tiamina pirofosfato, TPP)	x 2,357	x 0,4243
Vitamina B <sub>6</sub> (Piridoxal-5'-fosfato, PLP)	x 4,046	x 0,2471

### DESEMPENHO / CARACTERÍSTICAS

#### Recuperação:

Hamilton ML-Starlet IVD & Shimadzu Nexera UHPLC	
Analito	Recuperação
Vitamina B <sub>6</sub> (PLP)	80%
Vitamina B <sub>1</sub> (TPP)	96%
Padrão Interno 1	104%
Padrão Interno 2	104%

A recuperação foi determinada em amostras de sangue total fortificadas e diluições de padrões.

#### Linearidade e limite de quantificação:

Hamilton ML-Starlet IVD & Shimadzu Nexera UHPLC		
Analito	Limite de quantificação aprox. [µg/L]	Faixa linear até pelo menos
Vitamina B <sub>6</sub> (PLP)	2,5 µg/L	500 µg/L
Vitamina B <sub>1</sub> (TPP)	4 µg/L	750 µg/L

\*O limite de detecção depende do detector empregado.

#### Precisão intra-ensaio:

Hamilton ML-Starlet IVD & Shimadzu Nexera UHPLC			
Analito	Coeficiente de variação [%] (na concentração em µg/L)		
	n = 10		
Vitamina B <sub>6</sub> (PLP)	3,4 (9,9)	3,6 (16,4)	3,4 (25,7)
Vitamina B <sub>1</sub> (TPP)	3,1 (24,6)	2,3 (43,7)	2,6 (89,7)

Tecan Evo 100 & Agilent 1290 UHPLC			
Analito	Coeficiente de variação [%] (na concentração em µg /L)		
	n = 10		
Vitamina B <sub>6</sub> (PLP)	4.6 (10.8)	4.1 (19.5)	3.0 (29.1)
Vitamina B <sub>1</sub> (TPP)	2.0 (26.1)	1.1 (45.1)	1.1 (99.4)

#### Precisão inter-ensaio:

Hamilton ML-Starlet IVD & Shimadzu Nexera UHPLC			
Analito	Coeficiente de variação [%] (na concentração em µg /L)		
	n = 100		
Vitamina B <sub>6</sub> (PLP)	4.4 (10.1)	4.5 (19.4)	5.1 (27.4)
Vitamina B <sub>1</sub> (TPP)	3.2 (26.6)	3.1 (48.5)	3.5 (99.4)

Tecan Evo 100 & Agilent 1290 UHPLC			
Analito	Coeficiente de variação [%] (na concentração em µg /L)		
	n = 10		
Vitamina B <sub>6</sub> (PLP)	4.2 (10.8)	5.3 (19.5)	5.0 (29.1)
Vitamina B <sub>1</sub> (TPP)	3.2 (26.1)	3.6 (45.1)	3.8 (99.4)

## VALORES DE REFERÊNCIA

Os intervalos de referência declarados são baseados na literatura [17]. 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	Diminuição com aumento de idade.  21-30 anos: 138 nmol/L (homens) e 113 nmol/L (mulheres);  > 70 anos: 79 nmol/L (homens) e 84 nmol/L (mulheres)  Efeito fraco: nenhuma relação à idade foi incluída aos valores de referência
Correlação entre os resultados obtidos e o gênero	nenhuma
Literatura	17

## INTERFERÊNCIAS

### Interferências detectadas

Acetaminofeno (paracetamol), um medicamento para tratar a febre e dor de leve a moderada, leva a uma falsa dosagem de tiamina pirofosfato (TPP) e piridoxal 5'-fosfato (PLP), pois modifica a linha de base e causa diversos picos interferentes.

Isoniazida, um antimicrobiano, interage com piridoxal 5'-fosfato e leva a uma falsa dosagem baixa de piridoxal 5'-fosfato (PLP). Piridoxina é geralmente administrada como medicamento junto com a isoniazida. Altos níveis endógenos esperados desta substância não influenciam significativamente o resultado quantitativo, mas piridoxina pode ser convertida em piridoxal 5'-fosfato (PLP) por reações enzimáticas. Portanto, não é uma interferência analítica, porém, farmacocinética.

A presença de ácido ascórbico (vitamina C) causa degradação do sinal tiamina pirofosfato (TPP) assim como a do padrão interno IS2 correspondente. Devido a este último ser afetado em um nível mais elevado, o padrão interno não compensa por inteiro a degradação do analito, levando a falsos resultados altos de tiamina pirofosfato (TPP). Em caso de concentrações de vitamina C > 125 mg/L isto 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 podem afetar a precisão dos resultados do teste: Levofloxacino, Ácido micofenólico 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-piridóxico, piridoxina, 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.

#### Medicamentos:

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, nitrato de isossorbida, itraconazol, cetoconazol, 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-hidroxi-benzóico), fluoreto sódico, estreptomicina, 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 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%).

#### Ictericia















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, Vázquez Martínez 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, City 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. Marcé-Grau A, Martí-Sánchez L, Baide-Mairena H, Ortigoza-Escobar JD, Pérez-Duenãs 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 Manzanares, 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. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Bévier 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.
22. Heinz J, Domröse 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.
23. 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.

#### Símbolos utilizados:

	Fabricante
	Número de catálogo
	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Código do lote
	Validade
	Límite de temperatura
	Consultar as instruções para utilização
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Cuidado
	Atenção
	Perigo
	Perigo
	Perigo
	Perigo

**Fabricante: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH**  
**Registrado por: BioSys Ltda**  
**Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ**  
**Cep: 24020-112**  
**CNPJ: 02.220.795/0001-79**  
**Anvisa: 10350840309**  
**SAC: sac@biosys.com.br – 0800 015 1414 / (21) 3907-2534 /**  
**www.biosys.com.br**