

VITAMIN B₆ - HPLC

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

Artigo	Apresentação
31000/S 31000/WB	Conjunto de reagentes para análises de Vitamina B ₆ em soro/plasma/sangue total, 100 análises

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

FINALIDADE PRETENDIDA

Este conjunto de reagentes é um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* destinado ao uso profissional em laboratórios clínicos para a determinação quantitativa da forma fisiologicamente ativa da Vitamina B₆, piridoxal-5'-fosfato, em amostras de soro/plasma/sangue total.

O preparo da amostra é realizado manualmente, e a separação analítica é feita por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Este kit se destina ao uso para triagem e/ou monitoramento dos níveis de Vitamina B₆ quando indicado:

- em pacientes com suspeita de deficiência de vitamina B₆,
- em pacientes com suspeita de excesso de vitamina B₆,
- em pacientes em terapia com suplementação de vitamina B₆.

MÉTODO

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

PRINCÍPIO

O presente kit de reagentes permite a determinação rápida, fácil e específica de vitamina B₆ (piridoxal 5'-fosfato, PLP) usando um sistema HPLC isocrático simples. Em vez da derivatização pós-coluna habitual e tecnicamente exigente, é utilizada uma derivatização simples em pré-coluna. Amostras de plasma/soro/sangue total (após adição de EDTA ou heparina como anticoagulantes), são adequadas para este kit.

O procedimento de purificação da amostra inclui uma etapa eficaz de precipitação e extração de proteínas em condições otimizadas para liberar o PLP de seu status ligado. A derivatização subsequente (banho-maria, 60°C) produz um derivado PLP fluorescente. A determinação cromatográfica é realizada em um sistema HPLC isocrático com detecção por fluorescência. Através deste procedimento de purificação de amostras são obtidos extratos altamente estáveis, permitindo a análise de grandes lotes.

REAGENTES

Componentes e composições:

Componente	Composição	Apresentação
Fase móvel (<i>Mobile Phase</i>)	Solução de fosfato de potássio	1 x 1000mL
Reagente de Precipitação (<i>Precipitation Reagent</i>)	Solução de ácido perclórico	1 x 30 mL
Reagente de Derivatização (<i>Derivatisation Reagent</i>)	Solução aquosa contendo agente oxidante nítrico <0,1%	1 x 10 mL
Reagente de Neutralização (<i>Neutralisation Reagent</i>)	Solução de fosfato de potássio	1 x 25 mL
Frascos de Reação (âmbar) (<i>Reaction vials</i>)	-	2 x 100 unidades

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAGEM 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. A tabela abaixo mostra a temperatura de armazenagem para os reagentes do kit.

Artigo	Produto	Armazenamento
31001	Fase móvel	+18 a +30 °C
31004	Reagente de Precipitação	+18 a +30 °C
31005	Reagente de Neutralização	+18 a +30 °C
31006	Reagente de Derivatização	+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

O Reagente de Precipitação (art.31004) contém um ácido forte e inflamável. Neutralize os resíduos do produto e dispense dentro de um coletor para soluções salinas. Resíduos de amostras de paciente, amostras preparadas, controles e calibradores utilizados, assim como os consumíveis do laboratório contaminados com material humano devem ser coletados e despejados como lixo potencialmente infectante. Resíduos perigosos não devem ser despejados junto com lixo doméstico. Não circule no abastecimento de água principal. Descarte em conformidade com as diretrizes e regulamentos nacionais e locais em vigor. As embalagens com descarte devem ser armazenadas apropriadamente e seu acesso permitido somente a pessoas autorizadas.

Resíduos não perigosos como a Fase móvel (art. 31001), Reagente de Neutralização (art. 31005), Reagente de Derivatização (art. 31006) e os consumíveis de laboratório não contaminados não são classificados como perigosos. Descarte em conformidade com as diretrizes e regulamentos nacionais e locais em vigor.

PREPARO DOS REAGENTES

Fase Móvel: pronto para uso.

Reagente de Precipitação: pronto para uso.

Reagente de Neutralização: pronto para uso.

Reagente de Derivatização: pronto para uso.

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Sistema HPLC isocrático
Autosampler
Detector de fluorescência
Coluna Cromatográfica equilibrada (Chromsystems art.31100)
Centrifuga adequada

Aagitador (vórtex)
 Banho maria
 Plasma Control Vitamin B6 in plasma/serum - Bi-Level (I+II)
 (Chromsystems art. 0031)
 Vitamin B6 Whole Blood Control Bi-Level (I+II) (Chromsystems art. 0022)
 Plasma Calibration Standard Vitamin B6 in plasma/serum (Chromsystems art. 36005)
 Vitamins B1/B6 whole blood Calibration Standard Chromsystems art. 52003)

AMOSTRA

Para a análise de piridoxal-5-fosfato (PLP), utilize sangue total, plasma ou soro.

Observações importantes:

- As amostras devem ser colhidas pela manhã com o estômago vazio, antes de qualquer medicação e em ausência de consumo recente de álcool [10].

- É recomendado uma separação rápida do plasma após a coleta de amostra de sangue e armazenamento congelado para uma determinação confiável de PLP [3].

- Em algumas doenças como a hipofosfatase, um nível alterado de vitamina B6 é indicativo. Nesses casos a ingestão de suplementação de vitamina B6 deve ser evitado por pelo menos 2 semanas antes da coleta de sangue, pois níveis elevados de PLP causados pela suplementação podem ser enganosos [9].

- Deve ser considerado também que níveis de PLP no plasma ou no soro podem ser mais baixos em pacientes com albumina diminuída (ex: durante estados de aumento de inflamação) ou atividade alterada de fosfatase alcalina e usuários de anti-inflamatórios não esteroides de longa data [3,8].

Tanto o EDTA (K3-EDTA e K2-EDTA) como a heparina (de lítio, sódica e heparina de amônio) são adequados como anticoagulantes. Sangue total/plasma com EDTA é recomendado, pois sangue total/plasma com heparina é muito mais suscetível à falsificação enzimática de resultados (concentrações aumentadas e diminuídas do analito são possíveis) e é mais propensa à coagulação, que pode reduzir a precisão da pipetagem.

Estabilidade da amostra:

A temperatura de armazenamento/transporte é o principal fator que pode afetar a estabilidade da amostra. Outros fatores identificados em testes preliminares incluem o tipo de anticoagulante (EDTA ou heparina) e diferenças entre doadores ou amostras de sangue, provavelmente devido a variações no perfil enzimático. Não foram identificadas diferenças de estabilidade entre os tipos de EDTA (K2-EDTA, K3-EDTA) ou de heparina (heparina de lítio, heparina sódica, heparina de amônio). Além disso, descartou-se a dependência do doador para soro e plasma.

A estabilidade do PLP foi determinada em sangue com K3-EDTA (representando ambos os tipos de sangue com EDTA) e em sangue com heparina de lítio (representando os três tipos de sangue com heparina), provenientes de cinco doadores diferentes. Para a estabilidade do PLP em plasma com EDTA, plasma com heparina e soro, utilizou-se um *pool* de doadores. Foram aceitos desvios de até 15% nas concentrações do analito em relação ao valor de referência.

Temperatura	Sangue Total (EDTA e heparina)	Plasma EDTA	Plasma heparina	Soro
+20 a +25°C	24 horas	7 dias	2 dias	2 dias
+2 a +8°C	4 semanas	4 semanas	7 dias	7 dias
Abaixo -18°C	3 meses	3 meses	1 mês	1 mês
Ciclos de congelamento/descongelamento	1 ciclo	1 ciclo	1 ciclo	1 ciclo

Não há restrições no uso de amostras hemolisadas, lipêmicas ou com icterícia (ver **Interferentes**).

Nota:

É responsabilidade de cada laboratório usar todas as referências disponíveis e/ou seus próprios estudos para determinar o critério de estabilidade específica para seu laboratório.

PROCEDIMENTO DO TESTE

As substâncias são separadas por cromatografia utilizando uma coluna analítica (art. 31100). Mantenha a fase móvel fechada ou coberta, mesmo durante o uso. O uso de um compartimento de coluna termostaticado evitará variações de temperatura e garantirá estabilidade e reprodutibilidade ideais da separação cromatográfica.

Configurações do instrumento:

Autosampler	O módulo deve ser protegido da luz, frascos de vidro cor âmbar
Volume de injeção	50 µL
Tempo de corrida	8 min
Taxa de fluxo	1,0 mL/min
Temperatura da coluna	+20 a +25°C)
Detector de fluorescência	EX = 320 nm, EM = 415 nm
Solução de limpeza da agulha do injetor	água ultrapura (grau HPLC) com 5 - 10 % de metanol

Tempo de Retenção esperado:

Substância	Tempo de Retenção (min. aproximadamente)
Piridoxal-5'-fosfato (PLP)	3,1

Os tempos de retenção podem variar ligeiramente, por exemplo, se houver alteração na temperatura ambiente, se você utilizar um novo lote de fase móvel ou se substituir a coluna de HPLC. Portanto, utilize um cromatograma de calibração para determinar os valores atuais.

Procedimento de Preparo das Amostras:

Importante:

É essencial garantir proteção adequada contra luz durante todo o processo de preparo da amostra. As amostras não devem ser expostas à luz direta do sol.

Antes da preparação, permita que reagentes/calibradores/controles/amostras que estejam armazenados congelados ou refrigerados atinjam a temperatura ambiente e homogeneíze bem.

Para preparar as amostras de pacientes, controles e calibradores para análise, siga as etapas abaixo na ordem indicada:

1. Em um frasco de reação âmbar (art. 33005), pipetar 200 µL de amostra/calibrador/controle reconstituído e adicionar 300 µL de Reagente de Precipitação (art. 31004), agitar por pelo menos 30 segundos (vórtex).
2. Incubar por 10 min a +2-8°C, então centrifugar por 5 minutos a 16000 x g.
3. Transferir 250 µL do sobrenadante para um novo frasco de reação âmbar (art. 33005).
4. Adicionar 250 µL Reagente de Neutralização (art. 31005), agitar brevemente (irá se formar precipitação, não centrifugue).
5. Adicione 100 µL de Reagente de Derivatização (art. 31006), agitar brevemente.
6. Incubar 20 minutos a 60°C (banho-maria).
7. Resfriar as amostras em água gelada, então incubar por 10 minutos a +2-8°C;
8. Centrifugar por 2 minutos a 16.000 x g.
9. Transferir o sobrenadante para um frasco autosampler de vidro âmbar, injetar 50 µL no sistema HPLC.

Estabilidade das amostras preparadas (eluatos):

Temperatura de armazenamento	Vida útil de armazenamento	Outras condições
+20 a +25°C	5 dias	Proteção contra luz, frasco de vidro, bem fechado

+2 a +8°C	7 dias	Proteção contra luz, frasco de vidro, bem fechado
abaixo de -18°C	2 semanas	Proteção contra luz, frasco de vidro, bem fechado
Ciclos de congelamento/descongelamento	1 ciclo	-

CÁLCULOS

Para o cálculo manual, são necessários os seguintes dados:

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

Área/altura do pico da substância A no cromatograma do calibrador = $A_{\text{Calibrador}}$

Concentração da substância A no calibrador = $C_{\text{Calibrador}}$

A concentração da substância A na amostra C_{Sample} é então calculada da seguinte forma:

$$C_{\text{Amostra}} = \frac{A_{\text{Amostra}}}{A_{\text{Calibrador}}} \times C_{\text{Calibrador}}$$

Fatores de conversão

Analito	µg/L para nmol/L	nmol/L para µg/L
Piridoxal-5'-fosfato (PLP)	x 4,047	x 0,2471

CONTROLE DE QUALIDADE

Monitore a precisão e a exatidão das análises incluindo controles adicionais em cada corrida analítica. Se a análise desses controles apresentar valores fora da faixa indicada na bula que acompanha o produto, verifique o sistema. Se a discrepância persistir, recalibre o sistema.

A Chromsystems disponibiliza os seguintes produtos:

Artigo	Produto	Apresentação
0031	Plasma Control Vitamin B6 in plasma/serum - Bi-Level (I+II)	2 x (5 x 2 mL) (liof.)
0022	Vitamin B6 Whole Blood Control Bi-Level (I+II)	2 x (5 x 2 mL) (liof.)

CALIBRAÇÃO DO SISTEMA DE ANÁLISE

Realize uma calibração do sistema de análise para cada série de medições. Utilize para isso o calibrador de plasma (artigo 36005) para a análise de amostras de plasma/soro e o calibrador de sangue total (artigo 31003) para a análise de amostras de sangue total. A concentração do analito no calibrador é lote-dependente. Os níveis exatos são fornecidos nas Instruções de Uso que acompanha os produtos.

Curvas de calibração são construídas calculando a área do pico do analito ou a altura do pico no eixo y contra a concentração do calibrador no eixo x. Depois construa uma curva calibração desde a origem (calibração pontual). Selecione o método padrão externo para calibração em seu sistema de análise.

A Chromsystems disponibiliza os seguintes produtos:

Artigo	Produto	Apresentação
36005	Plasma Calibration Standard Vitamin B6 in plasma/serum	5 x 1 mL (liof)
52003	Vitamins B1/B6 whole blood Calibration Standard	5 x 1 mL (liof)

DADOS DE DESEMPENHO

Recuperação relativa:

A recuperação relativa foi determinada utilizando matrizes de plasma e soro. Foram analisadas dez amostras de plasma e doze de soro. Cada amostra foi fortificada com duas concentrações diferentes do analito, situadas dentro da faixa de medição analítica. A recuperação é calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Recuperação [\%]} = \frac{[(\text{concentração medida na amostra fortificada} - \text{concentração medida na amostra não fortificada}) / \text{Concentração da fortificação}] \times 100$$

Taxas de recuperação relativas no plasma e no soro, determinadas com Shimadzu FLD RF-20A

Substância	Matriz	Taxa de recuperação (concentração da substância)	
Piridoxal-5'-fosfato (PLP)	plasma	96,6% (10,0 µg/L)	105% (200 µg/L)
	soro	95,3% (10,0 µg/L)	102% (200 µg/L)

Faixa de medição analítica

Limite inferior de quantificação (LLOQ) e limite superior de quantificação (ULOQ):

O limite inferior de quantificação (LLOQ) foi determinado por meio de uma diluição definida de amostras com baixas concentrações endógenas do analito utilizando plasma isento de PLP. O limite superior de quantificação (ULOQ) foi determinado pela adição de quantidades definidas de substâncias padrão a amostras de sangue total, plasma e soro.

O método é linear desde o limite inferior de quantificação (LLOQ) até o limite superior de quantificação (ULOQ) declarado.

Limites inferior e superior de quantificação, determinado com Shimadzu FLD RF-20A

Substância	Matriz	LLOQ	ULOQ
Piridoxal-5'-fosfato (PLP)	Sangue total	1,0 µg/L	1000 µg/L
	plasma	0,7 µg/L	1000 µg/L
	soro	0,9 µg/L	1000 µg/L

Precisão intra-ensaio:

A determinação da precisão intraensaio foi realizada a partir de 10 preparações da mesma amostra e da determinação da concentração do analito em 3 níveis de concentração diferentes em sangue total e plasma:

Precisão intraensaio, determinada com Waters FLD 2474

Substância	Matriz	Coeficiente de variação (concentração do analito)		
Piridoxal-5'-fosfato (PLP)	Sangue total	0,9% (11,0 µg/L)	1,4% (23,2 µg/L)	0,7% (34,1 µg/L)
	plasma	1,0% (7,67 µg/L)	0,6% (13,5 µg/L)	0,9% (21,2 µg/L)

Precisão inter-ensaio:

A determinação da precisão interensaio foi realizada mediante 10 preparações de amostras e a determinação das concentrações do analito em três pools de sangue total e três pools de plasma, em 10 séries de testes diferentes:

Precisão interensaio, determinada com Waters FLD 2474

Substância	Matriz	Coeficiente de variação (concentração do analito)		
Piridoxal-5'-fosfato (PLP)	Sangue total	4,0% (10,5 µg/L)	1,7% (23,0 µg/L)	3,8% (34,3 µg/L)
	plasma	2,0% (7,53 µg/L)	1,0% (13,6 µg/L)	1,9% (21,7 µg/L)

Reprodutibilidade:

Os dados de desempenho foram determinados em 3 locais com base em 4 amostras diferentes de sangue total, plasma e soro. Todas as amostras foram preparadas 5 vezes, em 5 dias diferentes. O procedimento é baseado no CLSI EP05-A3 e corresponde a um delineamento de teste 3 x 5 x 5.

Reprodutibilidade, determinada com Shimadzu FLD RF-20A

Substância	Amostra	Média	Reprodutibilidade	
			CV	IC de 95%
Piridoxal-5'-fosfato (PLP)	Sangue total nativo	16,3 µg/L	5,9%	4,5-8,7%
	Sangue total baixo	7,58 µg/L	9,6%	7,3-14,2%
	Sangue total médio	48,8 µg/L	5,1%	3,9-7,1%
	Sangue total alto	198 µg/L	6,4%	5,1-8,4%
	Plasma nativo	9,15 µg/L	5,4%	3,8-9,2%
	Plasma baixo	4,43 µg/L	7,4%	5,8-10,2%
	Plasma médio	72,0 µg/L	5,0%	4,2-6,2%
	Plasma alto	214 µg/L	7,4%	6,4-8,8%
	Soro nativo	7,33 µg/L	7,3%	5,4-11,2%
	Soro baixo	2,94 µg/L	10,9%	7,1-23,0%
	Soro médio	60,2 µg/L	4,7%	3,7-6,4%
	Soro alto	197 µg/L	6,0%	4,9-7,7%

INTERFERENTES

Compostos estruturalmente relacionados, vitaminas hidrossolúveis e fármacos foram adicionados a amostras de sangue total e plasma ou a amostras de sangue total preparadas antes da derivatização, nas concentrações máximas esperadas e avaliados quanto a interferências.

Além disso, diferentes condições de amostra foram simuladas e sua influência no teste foi examinada.

Interferências detectadas

A isoniazida, um antibiótico, interage com o piridoxal 5'-fosfato (PLP) e leva a uma determinação falsamente baixa de piridoxal 5'-fosfato (PLP).

Substâncias de eluição tardia podem estar presentes em amostras de sangue total nativo, levando potencialmente a interferências em análises subsequentes (por exemplo, na forma de picos amplos ou linha de base elevada).

Interferências não detectadas

As seguintes substâncias foram testadas e apresentam uma influência insignificante nos resultados quantitativos (desvio ≤ 15%).

Metabólitos

Isopiridoxal, piridoxal*, piridoxamina*, piridoxamina 5'-fosfato*, ácido 4-piridóxico, piridoxina*, piridoxina 5'-fosfato*.

*Esses metabólitos podem ser convertidos entre si e em PLP por meio de reações enzimáticas. Eles não são interferentes analíticos, mas sim farmacocinéticos.

Vitaminas solúveis em água

Ácido ascórbico (vitamina C), biotina (vitamina B7), cobalamina (vitamina B12), folato (vitamina B9), niacina (ácido nicotínico, vitamina B3), ácido pantotênico (vitamina B5), riboflavina (vitamina B2).

Substâncias medicamentosas

Acetaminofeno, ácido acetilsalicílico, alopurinol, alprazolam, amlodipina, amoxicilina, anfetamina/dexanfetamina, apixabana, atenolol, atorvastatina, azitromicina, bisoprolol, brivaracetam, bupropiona, candesartana, carbamazepina, 10-OH-carbamazepina, carbamazepina-diol, carbamazepina-10,11-epóxido, carvedilol, cefuroxima, citalopram, clonazepam, clodigrel, ciclobenzaprina, N-desmetilmesuximida, diclofenaco, duloxetina, edoxabana, empagliflozina, enalaprilato, etossuximida, felbamato, fenoterol, fluoxetina, fluticasona, formoterol, furosemda, gabapentina, glimepirida, glipizida, hidroclorotiazida, hidrocodona, ibuprofeno, brometo de ipratrópio, lacosamida, lamotrigina, levetiracetam, lercanidipina,

levotiroxina, lisinopril, lorazepam, losartan, meloxicam, metamilzol/dipirona como 4-metilaminoantipirina, metformina, metocarbamol, metilfenidato, metoclopramida, metoprolol, montelucaste, nebivolol, noscapina, omeprazol/esomeprazol, oxcabazepina, pantoprazol, perampanel, fenobarbital, fenprocumon, feniletilmalonamida (PEMA), fenitoína, pravadastina, prednisolona, prednisona, pregabalina, primidona, propranolol, ramipril, ranitidina, retigabina, rivaroxabana, rosuvastatina, rufinamida, salbutamol/albuterol, sertralina, sinvastatina, sitagliptina, espironolactona, estiripentol, sultiame, tansulosina, teofilina, tiagabina, tilidina como nortilidina, topiramato, torasemida, tramadol, trazodona, ácido valpróico, valsartan, venlafaxina, vigabatrina, zolpidem, zonisamida.

Análise sem interferência é possível nas seguintes condições de amostra:

Hemólise

Amostras de plasma e soro foram enriquecidas com hemoglobina até uma concentração de hemoglobina de 10g/L e amostras de sangue total recém-colhidas foram hemolisadas por congelamento e descongelamento. Concentrações do analito foram comparadas com aquelas da amostra original: Não ocorreu interferência significativa (desvio ≤15%).

Lipemia

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

Icterícia

Amostras de sangue total, plasma e soro foram enriquecidas com bilirrubina conjugada e não-conjugada (cada uma 0,4 g/L) e as concentrações do analito foram comparadas com aquelas da amostra original: Não ocorreu interferência significativa (desvio ≤15%).

Limitações clínicas

Não existem intervalos de referência universalmente aplicáveis para o piridoxal-5-fosfato. Resultados obtidos por meio de diferentes métodos de teste não podem ser comparados. Os laboratórios devem indicar o método utilizado na análise para permitir uma interpretação precisa dos resultados.

Os usuários devem definir seus próprios intervalos de referência com base na avaliação clínica. Fatores de conversão entre diferentes métodos de análise não devem ser utilizados para prever resultados de um paciente específico.

VALORES DE REFERÊNCIA

Nota:

Os intervalos de referência listados abaixo representam níveis encontrados em uma parcela de uma população saudável (por exemplo, em 95% dos doadores de sangue saudáveis analisados). Consequentemente, eles podem ou não coincidir com níveis de decisão clinicamente relevantes ou valores de corte relacionados à finalidade pretendida deste dispositivo.

Os intervalos de referência indicados baseiam-se na literatura [11, 12]. Eles podem diferir de outros dados publicados. Como os níveis variam dependendo da população de pacientes e do método de medição, determine intervalos de referência específicos para o seu laboratório. Ao determinar os intervalos, certifique-se de cumprir os requisitos nacionais locais.

Amostras de sangue com heparina-lítio de pelo menos 15 homens e 15 mulheres de várias faixas etárias (21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70 e > 70 anos) foram coletadas para o estudo de G. Steen e M. van der Zwaal [11]. Um questionário foi aplicado para verificar os seguintes critérios de exclusão: uso de suplementos orais de vitaminas ou ferro, uso de anticoagulantes, diabetes, gravidez e uso de contraceptivos orais. Os testes foram realizados utilizando ensaio de fluorescência por HPLC após derivatização.

Para o estudo de K. K. Pantou et al. [12], foram coletadas amostras de plasma com EDTA de 65 homens com idades entre

22 e 66 anos (mediana de 44 anos) e 55 mulheres com idades entre 21 e 67 anos (mediana de 44 anos). Todos os participantes declararam-se saudáveis; os medicamentos utilizados nas últimas 4 semanas foram verificados e os doadores foram excluídos com base na medicação utilizada. A suplementação vitamínica não foi um critério de exclusão neste estudo. A análise foi realizada por medição de fluorescência por HPLC após derivatização.

Na pesquisa National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES, dados de 2005-2006) [13], um total de 8.311 norte-americanos foram examinados. A suplementação vitamínica não foi um critério de exclusão neste estudo. A análise foi realizada por HPLC com derivatização pós-coluna e detecção fluorométrica.

Intervalos de referência para piridoxal 5'-fosfato (PLP)

	Sangue total	Plasma	Soro
Intervalos de referência	12,6-45,2 µg/L 51-183 nmol/L	5,7-55,1 µg/L 23-223 nmol/L	2,8-75 µg/L; deficiência <4,9 µg/L 11,3-302 nmol/L; deficiência <20nmol/L
Número de resultados obtidos	246	120	8311
Método estatístico do intervalo de referência	Remoção dos 2,5% superiores e inferiores dos resultados	Remoção dos 2,5% superiores e inferiores dos resultados	Remoção dos 2,5% superiores e inferiores dos resultados
Correlação entre resultados obtidos e idade	Diminui com o aumento da idade dos 21 aos 30 anos: 138 nmol/l (homens) e 113 nmol/L (mulheres) >70 anos de idade: 79 nmol/l (homens) e 84 nmol/L (mulheres) Efeito fraco: não foram introduzidos intervalos de referência relacionados com a idade	Nenhuma influência no intervalo de referência superior, mas diminuição do intervalo de referência inferior com o aumento da idade <i>Efeito fraco:</i> não foram introduzidos intervalos de referência relacionados com a idade	Valores de referência detalhados por idade são fornecidos. Não há deficiência de concentração relacionada à idade
Correlação entre resultados obtidos e gênero	nenhum	Nenhuma influência no intervalo de referência inferior, mas influência no intervalo de referência superior por gênero (homens > mulheres) <i>Efeito fraco:</i> não foram introduzidos intervalos de referência relacionados com o gênero	Valores de referência relacionados ao gênero são fornecidos. Não há deficiência de concentração relacionada ao gênero.
	[11]	[12]	[13]

LITERATURA

- Gressner AM, Arndt T (ed): Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. Springer, Berlin, Heidelberg, 2019.
- 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.
- Berger MM, Shenkin A, Schweinlin A, Amrein K, Augsburg M, Biesalski H-K, et al.: ESPEN micronutrient guideline. *Clin Nutr* 2022; 41:1357-1424.
- Himmelreich N, Montioli R, Bertoldi M, Carducci C, Leuzzi V, Gempere C, et al.: Aromatic amino acid decarboxylase deficiency: Molecular and metabolic basis and therapeutic outlook. *Mol Genet Metab* 2019; 127:12-22.
- Kennedy DO: B Vitamins and the Brain: Mechanisms, Dose and Efficacy-A Review. *Nutrients* 2016; 8:68.
- 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.
- Marcé-Grau A, Martí-Sánchez L, Baide-Mairena H, Ortigoza-Escobar JD, Pérez-Dueñas B: Genetic defects of thiamine transport and metabolism: A review of clinical phenotypes, genetics, and functional studies. *J Inherit Metab Dis*. 2019; 581-597.
- 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.
- Jandl NM, Volk A, Barvencik F: Hypophosphatasie – eine klinisch und genetisch variable Erkrankung. *Medizinische Genetik* 2019; 31:364-371.
- 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.
- 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.
- 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.
- U.S. Centers for Disease Control and Prevention: Second National Report on Biochemical Indicators of Diet and Nutrition in the U.S. Population 2012. Atlanta (GA): National Center for Environmental Health, April 2012.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Hepp N, Folkestad L, Møllebæk S, Frederiksen AL, Duno M, Jørgensen NR, et al.: Bone-microarchitecture 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.
- Saraff V, Narayanan VK, Lawson AJ, Shaw NJ, Preece MA, Högl 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.
- Aasheim ET, Hofsø D, Hjølmesæth J, Kare B, Bohmer T: Vitamin status in morbidly obese patients a cross-sectional study 2008.

21. Aasheim ET, Johnson LK, Hofso D, Bøhmer T, Hjeltnes J: Vitamin status after gastric bypass and lifestyle intervention: a comparative prospective study. *Surg Obes Relat Dis* 2012; 8:169-175.
22. Ventura P, Corradini E, Di Pierro E, Marchini S, Marcacci M, Cuoghi C, et al.: Hyperhomocysteinemia in patients with acute porphyrias: A potentially dangerous metabolic crossroad? *Eur J Intern Med* 2020; 79:101-107.
23. Ventura P, Panini R, Verlato C, Scarpetta G, Salvioli G: Hyperhomocysteinemia and related factors in 600 hospitalized elderly subjects. *Metabolism* 2001; 50:1466-1471.
24. Ventura P, Panini R, Emiliani S, Salvioli G: Plasma homocysteine after insulin infusion in type II diabetic patients with and without methionine intolerance. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112:44-51.
25. Desborough R, Nicklin P, Gossiel F, Balasubramanian M, Walsh JS, Petryk A, et al.: Clinical and biochemical characteristics of adults with hypophosphatasia attending a metabolic bone clinic. *Bone* 2021; 144:115795.
26. Chew S-C, Khor G-L, Loh S-P: Association between dietary folate intake and blood status of folate and homocysteine in Malaysian adults. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2011; 57:150-155.

Símbolos utilizados:

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

Fabricante: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH
Am Haag 12 - 82166 Gräfelfing - Alemanha
Regularizado por: BioSys Ltda
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ
CEP: 24020-112
CNPJ: 02.220.795/0001-79
Anvisa: 10350840121
SAC: sac@biosys.com.br – 0800 015 1414 / (21) 3907-2534
www.biosys.com.br