

# VITAMINA B1 E VITAMINA B6 IN SANGUE INTERO IN FLUORIMETRIA

**REF Z85710**

Questo prodotto adempie a tutte le esigenze della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD). La dichiarazione di conformità CE è disponibile su richiesta.



## ISTRUZIONI PER L'USO

**IVD** Per uso diagnostico *in vitro*

**CE**

Eureka S.r.l. - Lab Division  
Via Enrico Fermi, 25 60033  
Chiaravalle (AN) - Italy  
Tel +39 071 7450790  
Fax +39 071 7496579

E-mail: [info@eurekaone.com](mailto:info@eurekaone.com)  
Website: [www.eurekakit.com](http://www.eurekakit.com)



**Eureka S.r.l. - Lab Division**  
**Via Enrico Fermi, 25 60033**  
**Chiaravalle (AN) - Italy**  
**Tel +39 071 7450790**  
**Fax +39 071 7496579**  
**E-mail: [info@eurekaone.com](mailto:info@eurekaone.com)**  
**Website: [www.eurekakit.com](http://www.eurekakit.com)**



**Z85710**



**Per uso diagnostico *in vitro***



## INDICE

<b>DESTINAZIONE D'USO</b> .....	4
<b>CONTENUTO DEL KIT PER 100 TEST</b> .....	4
<b>ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE</b> .....	5
<b>STRUMENTAZIONE</b> .....	5
<b>MATRICE – PROCEDURA DI RACCOLTA E CONSERVAZIONE</b> .....	5
<b>VALORI DI RIFERIMENTO</b> .....	6
<b>PROCEDURA PREANALITICA E ANALITICA</b> .....	7
<b>GRADIENTE</b> .....	8
<b>CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I</b> .....	9
<b>CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II</b> .....	9
<b>CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III</b> .....	10
<b>RECUPERO</b> .....	10
<b>CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO</b> .....	11
<b>AVVERTENZE GENERALI</b> .....	12
<b>ABBREVIAZIONI</b> .....	13
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	14
<b>NORME DI RIFERIMENTO</b> .....	15
<b>SIMBOLI IVD</b> .....	16

**DESTINAZIONE D'USO**

Dispositivo Medico diagnostico *In vitro* per la rilevazione e l'analisi quantitativa di Vitamina B1 e Vitamina B6 in sangue intero come monitoraggio della ipovitaminosi da Vitamina B1 e B6.  
Metodo Manuale per uso professionale.

**CONTENUTO DEL KIT PER 100 TEST**

CONTENUTO	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO	AVVERTENZE
Reagente A	Soluzione Diluente	1 x 10 ml	Stoccare a 2-8°C
Reagente B	Soluzione Derivatizzante	4 x 5 mg	Stoccare a 2-8°C
Reagente B1	Soluzione di Ricostituzione 1	4 x 2,5 ml	Stoccare a 2-8°C
Reagente B2	Soluzione Ricostituzione 2	4 x 2,5 ml	Stoccare a 2-8°C
Reagente C	Soluzione Precipitante	1 x 5 ml	Stoccare a 2-8°C
Reagente D	Soluzione Standard Interno	1 x 7 ml	Stoccare a 2-8°C
Reagente E	Soluzione Tampone	1 x 20 ml	Stoccare a 2-8°C
Reagente F	Soluzione Test Vitamina B1	1 x 1 ml	Stoccare a 2-8°C
Reagente G	Soluzione Test Vitamina B6	1 x 1 ml	Stoccare a 2-8°C
Calibratore liofilo su sangue intero		3 x 1 ml	(confezionato separatamente – Codice Z85716 -vedi scheda tecnica)
Reagente M1	Fase Mobile M1	4 x 500 ml	Stoccare a 2-8°C
Reagente M2	Fase Mobile M2	3 x 500 ml	Stoccare a 2-8°C
Provetta conica con tappo tipo Eppendorf da 1,5 ml ambrate		200 Pz	Stoccare a 15-25°C

**ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE**

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO
Z85716	Calibratore per Vitamine B1/B6 su sangue intero	4 x 1 ml
Z85719	Controllo per Vitamine B1/B6 su sangue intero	2 x 5 x 1 ml
Z85711	Fase Mobile M1	4 x 500 ml
Z85721	Fase Mobile M2	4 x 500 ml
Z699675902	Colonna Analitica Hypersil Gold AQ (150 x 4,6 mm - 3 µm)	1 Pz
S90199511	Javelin prefilter (analytical column protection)	1 x 10 Pz
S29057U	Vial Standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 Pz
S24717	Insert per vials da 2 ml	1 x 100 Pz
Z-EP0030120191	Provetta conica con tappo tipo Eppendorf da 1,5 ml ambrate	1 x 1000 Pz

**STRUMENTAZIONE**

DESCRIZIONE	AVVERTENZE												
Strumento HPLC con pompa binaria e detector Fluorimetrico <table border="1" data-bbox="327 1108 829 1344"> <thead> <tr> <th>Tempo (min)</th> <th><math>\lambda_{exc}</math></th> <th><math>\lambda_{em}</math></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>320</td> <td>415</td> </tr> <tr> <td>7.0</td> <td>320</td> <td>415</td> </tr> <tr> <td>7.01</td> <td>367</td> <td>435</td> </tr> </tbody> </table>	Tempo (min)	$\lambda_{exc}$	$\lambda_{em}$	0	320	415	7.0	320	415	7.01	367	435	Necessario
Tempo (min)	$\lambda_{exc}$	$\lambda_{em}$											
0	320	415											
7.0	320	415											
7.01	367	435											
Computer gestionale	Necessario												
Autocampionatore	Necessario												

**MATRICE – PROCEDURA DI RACCOLTA E CONSERVAZIONE**

MATRICE	PROCEDURA
Sangue intero	Prelevare 3 ml di sangue venoso in una provetta con EDTA come anticoagulante. Il campione di sangue intero deve essere stoccato immediatamente al riparo dalla luce in un contenitore chiuso a 2-8°C (stabile 1 settimana). I campioni che non vengono analizzati subito devono essere congelati ad una temperatura che va da -25 a -15°C. Evitare il ricongelamento.

**VALORI DI RIFERIMENTO**

---

<b>Vitamine</b>	<b>Range di normalità</b>
Vitamina B1	32 – 95 ng/ml
Piridossale-5'-fosfato ( <b>PLP</b> ) [Vitamina B6]	8,7 – 27,2 ng/ml

**PROCEDURA PREANALITICA E ANALITICA**

FASE	DESCRIZIONE																								
Procedura Preanalitica	<p>In una provetta di tipo Eppendorf ambrata aggiungere:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 300 µl di <b>Reagente F</b></li> <li>• 300 µl di <b>Reagente G</b></li> <li>• 100 µl di <b>Reagente D</b></li> <li>• 5 µl di <b>Reagente E</b></li> <li>• 100 µl di <b>Reagente B</b> (da ricostituire come in <u>FASE 5</u> della Procedura Analitica sotto riportata)</li> </ul> <p>Derivatizzare per 25 minuti a 60°C (bagno ad acqua). Incubare a 2-8°C per 2 minuti.</p> <p>Trasferire in vial con insert.</p> <p>Iniettare 20 µl della soluzione nel Sistema HPLC.</p>																								
Procedura Analitica 1	<p>Dispensare in provette di tipo Eppendorf ambrata:</p> <table border="1" data-bbox="347 981 1455 1335"> <thead> <tr> <th></th> <th>Calibratore</th> <th>Campione</th> <th>Controllo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calibratore</td> <td>150 µl</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Campione</td> <td></td> <td>150 µl</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Controllo</td> <td></td> <td></td> <td>150 µl</td> </tr> <tr> <td>Reagente A</td> <td>90 µl</td> <td>90 µl</td> <td>90 µl</td> </tr> <tr> <td>Reagente D</td> <td>60 µl</td> <td>60 µl</td> <td>60 µl</td> </tr> </tbody> </table> <p><b><u>Vortex per 10 secondi</u></b></p>		Calibratore	Campione	Controllo	Calibratore	150 µl			Campione		150 µl		Controllo			150 µl	Reagente A	90 µl	90 µl	90 µl	Reagente D	60 µl	60 µl	60 µl
	Calibratore	Campione	Controllo																						
Calibratore	150 µl																								
Campione		150 µl																							
Controllo			150 µl																						
Reagente A	90 µl	90 µl	90 µl																						
Reagente D	60 µl	60 µl	60 µl																						
2	<p>Aggiungere 40 µl di <b>Reagente C</b> ad ogni provetta di tipo Eppendorf ambrata preparata nella FASE 1.</p> <p><b><u>Attenzione: deproteinizzare direttamente sul Vortex per almeno 30 secondi</u></b></p>																								
3	<p>Incubare a 2-8°C per 10 minuti</p> <p>Centrifugare a 15.000 rpm per 5 minuti</p>																								
4	<p>Pipettare 200 µl del surnatante in una provetta di tipo Eppendorf ambrata.</p> <p>Aggiungere 200 µl del <b>Reagente E</b></p> <p><b><u>Vortex per 10 secondi</u></b></p>																								
5	<p><b>Ricostituzione del <u>Reagente B</u></b></p> <p>Aggiungere al <b>Reagente B</b> 2,5 ml di <b>Reagente B1</b> e 2,5 ml di <b>Reagente B2</b>.</p>																								

	<p><b><u>Vortex per 10 secondi</u></b></p> <p><i>Questo reagente derivatizzante così preparato NON è stabile. NON va preparato in anticipo e NON va tenuto in frigo. Deve essere preparato esattamente dopo che il surnatante viene diluito con il Reagente E.</i></p>
6	Aggiungere 100 µl del <b>Reagente B</b> (come ricostituito nelle FASE 5) al surnatante diluito come in FASE 4.
7	<p>Derivatizzare per 25 minuti a 60°C (bagno ad acqua).</p> <p>Incubare a 2-8°C per 2 minuti.</p> <p>Centrifugare a 15.000 rpm per 2 minuti.</p> <p>Trasferire in vial con insert.</p>
INIEZIONE	Iniettare 50 µl della soluzione nel Sistema HPLC.

## GRADIENTE

---

SISTEMA HPLC [Colonna Analitica Hypersil Gold AQ (150 x 4,6 mm - 3 µm)]

Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	Flusso (µl/min)
0	100	0	1200
4.0	100	0	1200
4.1	50	50	1200
5.0	50	50	1200
5.1	0	100	1200
12.0	0	100	1200
12.1	100	0	1200
16.0	100	0	1200



**CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I**

ABBREVIAZIONI	SIGNIFICATO
C LLOQ	Concentrazione al limite minimo di quantificazione
C1	Concentrazione bassa
C2	Concentrazione media
C3	Concentrazione alta

ANALITI	CONCENTRAZIONI USATE PER CALCOLARE LA RIPRODUCIBILITÀ E L'ACCURATEZZA (ng/ml)			
	C LLOQ	C1	C2	C3
Vitamina B1	4	30	100	170
Vitamina B6	2	10	25	40

ANALITI	ACCURATEZZA INTRA SERIE (ERRORE RELATIVO %)		ACCURATEZZA INTER SERIE (ERRORE RELATIVO %)	
	C1 (%)	C3 (%)	C1 (%)	C3 (%)
Vitamina B1	8,05	4,60	10,52	9,33
Vitamina B6	3,49	2,79	5,94	4,83

**CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II**

ANALITI	RIPRODUCIBILITÀ INTRA SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)		RIPRODUCIBILITÀ INTER SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)	
	C LLOQ (%)	C2 (%)	C LLOQ (%)	C2 (%)
Vitamina B1	10,92	4,73	15,68	7,92
Vitamina B6	6,67	1,99	15,46	3,43

**CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III**

---

<b>ANALITI</b>	<b>LLOD (ng/ml)</b>	<b>LINEARITÀ (ng/ml)</b>	<b>COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE R2 + STD DEV</b>
Vitamina B1	1,3	4 - 800	0,9947 ± 0,0035
Vitamina B6	0,6	2 - 500	0,9921 ± 0,0012

**RECUPERO**

---

<b>ANALITI</b>	<b>RECUPERO (%)</b>
Vitamina B1	98,4
Vitamina B6	96,2

## CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO

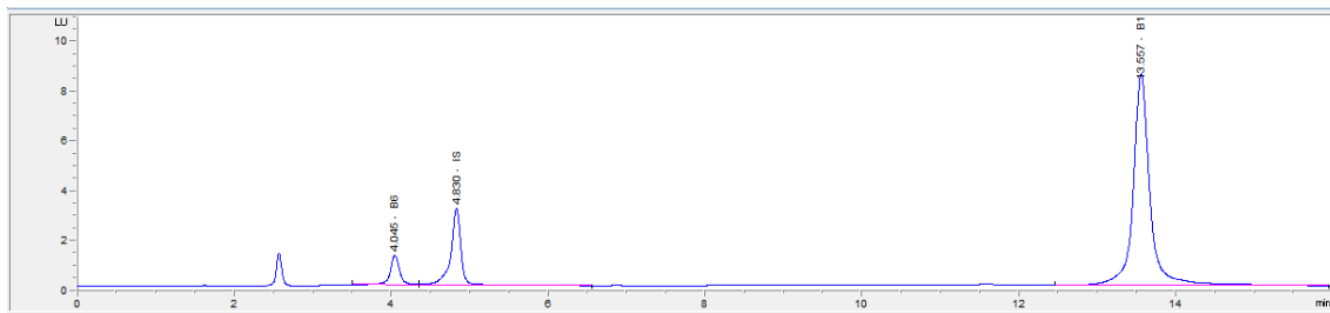


Fig. 1 Soluzione Test

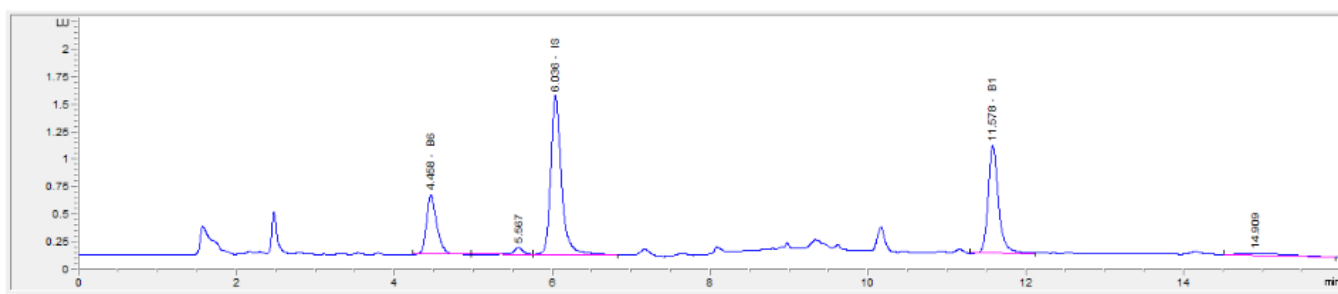


Fig. 2 Calibratore (25 ng/ml Vitamina B6 e 60 ng/ml Vitamina B1)

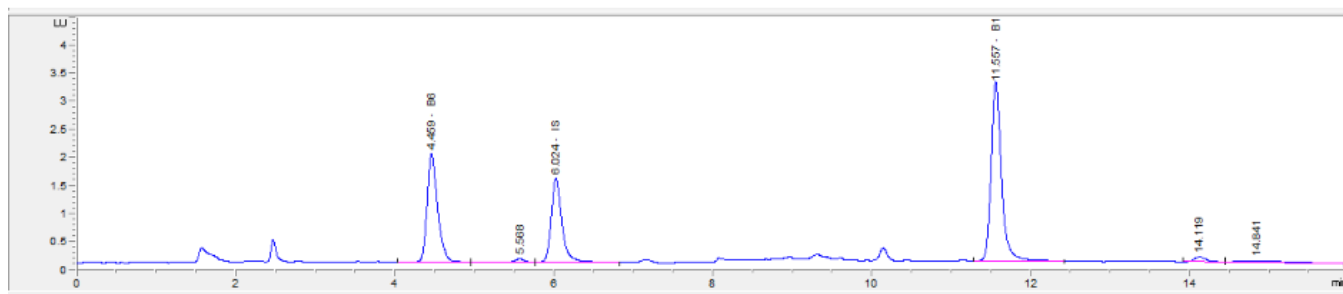


Fig 3 Controllo livello 2 (50 ng/ml Vitamina B6 e 200 ng/ml Vitamina B1)

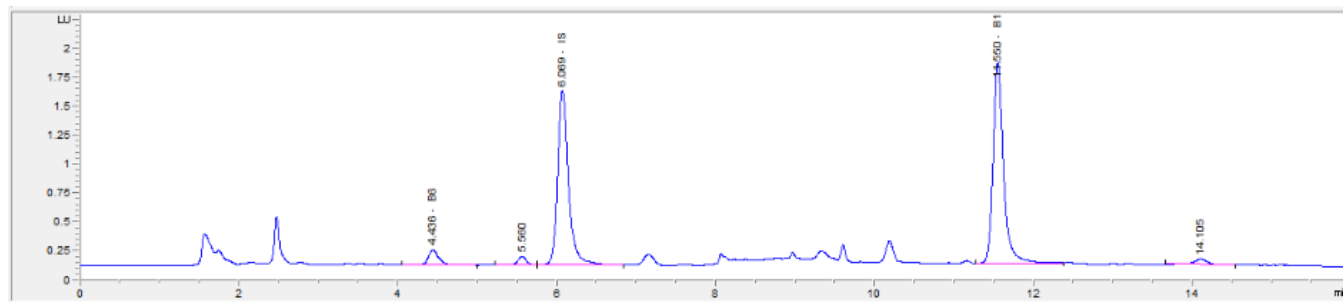


Fig. 4 Campione reale

## AVVERTENZE GENERALI

---

### 1. STOCCAGGIO E DURATA DI CONSERVAZIONE

Tutti i componenti sono pronti all'uso tranne il **Reagente B** che va ricostituito come da Procedura Analitica. Sono stabili per 3 anni a 2-8°C.

### 2. TRATTAMENTO DELLA NUOVA COLONNA

Installare la nuova colonna analitica Hypersil Gold AQ (150 x 4,6 mm - 3 µm). Scollegare il rilevatore e fluxare una soluzione di H<sub>2</sub>O:Metanolo (20 : 80 v/v) e poi H<sub>2</sub>O:Metanolo (80 : 20 v/v) impostando il flusso a 1 ml/minuto. Non riciclare le soluzioni di lavaggio.

### 3. CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Condizionare la nuova colonna analitica Hypersil Gold AQ (150 x 4,6 mm - 3 µm) con H<sub>2</sub>O:Metanolo (80 : 20 v/v) e poi con Fase Mobile M1, impostare il flusso a 1 ml/minuto e scaricare i primi 10 ml. Non è possibile effettuare analisi a ricircolo di fase. Se la Temperatura dell'ambiente è > 20°C, conservare la Fase Mobile a 2-8°C tra una sessione analitica e l'altra.

### 4. PULIZIA DELLA COLONNA

Flussare una soluzione composta da H<sub>2</sub>O:Metanolo (80 : 20 v/v) e poi con H<sub>2</sub>O:Metanolo (20 : 80 v/v), impostando il flusso a 1 ml/minuto per 30 min ciascuno e scaricare. La colonna deve essere stoccata in una soluzione di H<sub>2</sub>O:Metanolo (50:50 v/v). **Si raccomanda di lavare accuratamente la colonna a fine seduta analitica.**

### 5. LAVAGGIO SIRINGA AUTOCAMPIONATORE

Lavare la siringa con H<sub>2</sub>O:Metanolo (80 : 20 v/v) prima dell'utilizzo.

**ABBREVIAZIONI**

---

<b>ABBREVIAZIONI</b>	<b>SIGNIFICATO</b>
es. 5 x 1 x 1 ml	N° di livelli x N° di vials x volume
SI	Standard Interno
pz	Pezzo/Pezzi
RT	Tempo di Ritenzione
STD DEV	Deviazione Standard

## BIBLIOGRAFIA

---

1. The Reaction of Pyridoxal S-Phosphate with Cyanide and Its Analytical Use. VINCENZO BONAVITA, From the Graduate Department of Biochemistry, Brandeis University, Waltham, Massachusetts (1960)
2. G.J. den Ottolander, Diagnostisch Kompas, S.441(\*) (1997)
3. Piridoxal Phosphate decreases in plasma but not Erythrocytes during systemic inflammatory response. Taiwar-Quasim-Mcmillan (2003)
4. A simple and effective Method for HPLC quantification of simultaneous vitamin B1 and vitamin B6 from whole blood. Wei-Orlowicz-Pike (2014)
5. Washout of water-soluble vitamins and of homocysteine during haemodialysis: Effect of high-flux and low-flux dialyser membranes JUDITH HEINZ, UTE DOMRÖSE, SABINE WESTPHAL, CLAUS LULEY, KLAUS H NEUMAN and JUTTA DIERKES (2008)

## **NORME DI RIFERIMENTO**

---

Sistema di **Garanzia della Qualità** conforme alle normative:

UNI CEI EN ISO 13485:2016,

UNI EN ISO 9001:2015

Ogni modifica apportata al Dispositivo Medico se non autorizzata da Eureka S.r.l. - Lab Division rende la presente dichiarazione non valida.

Si dichiara che i dispositivi in oggetto ottemperano alle seguenti **Norme Tecniche**:












UNI CEI EN ISO 14971:2012

UNI CEI EN ISO 15223-1:2017

UNI EN ISO 18113-2:2012

Si dichiara che il dispositivo in oggetto viene commercializzato in confezione non sterile.

**SIMBOLI IVD**

NUMERO	SIMBOLO	DESCRIZIONE
1		Fabbricante
2		Numero di catalogo
3		Avvertenze
4		Numero di lotto del prodotto
5		Utilizzare entro
6		Consultare le istruzioni per l'uso
7		Data di fabbricazione
8		Limite di temperatura
9		Per uso diagnostico <i>in vitro</i>
10		Conformità Europea
11		Confezione