

VITAMINA B1 SU SANGUE INTERO in FLUORIMETRIA - FAST – Codice Z85010

INTRODUZIONE

La vitamina B1 è una vitamina idrosolubile che fa parte del gruppo B. Le vitamine di questo gruppo prendono parte al metabolismo dei carboidrati, dei grassi e delle proteine e sono quindi essenziali per la produzione di energia e per il normale funzionamento di diversi organi e apparati.

Le più importanti fonti di vitamina B1 sono i cereali integrali e la carne, ma essa è presente anche in alcuni legumi secchi (ceci, fagioli bianchi, fagioli di Spagna), nel germe di grano, nel fegato di manzo, nelle carni di maiale, nel salmone e nei semi di girasole essiccati. Anche il lievito di birra ne contiene importanti quantità.

Viene rapidamente assorbita nella parte inferiore dell'intestino tenue e distribuita al fegato, ai reni, al cuore. L'organismo ne deve essere rifornito giornalmente tenendo conto che viene rapidamente distrutta dall'alcol, da quantità eccessive di zucchero e dal fumo.

La vitamina B1 è essenziale per il corretto funzionamento del sistema nervoso, del cuore e dei muscoli. Contribuisce inoltre alla formazione dei globuli rossi e svolge un'azione coadiuvante nel trattamento dell'herpes zoster. Tra i sintomi che possono indicare una carenza di vitamina B1 ci sono inappetenza e senso di affaticamento e, nei casi più gravi, nausea, vomito e un generale indebolimento della muscolatura.

La carenza grave di questa vitamina, oggi presente per lo più negli alcolisti, porta al Beri-Beri, che si accompagna a danni al sistema nervoso che poi si estendono ai sistemi cardiovascolare e gastrointestinale. I sintomi più evidenti sono quelli neurologici: fatica, irritabilità, mancanza di memoria e, successivamente, dolore ai nervi periferici (polinevrite).

L'intossicazione con questa vitamina è molto improbabile perché l'eccesso è in genere eliminato dall'organismo con le urine.

Il fabbisogno giornaliero raccomandato di vitamina B1 è per gli uomini adulti di 1,2 mg (sopra i 60 anni scende a 0,8 mg), per le donne dai 14 anni in su di 0,9 mg (donne in gravidanza: 1 mg).

Un supplemento di vitamina B1 può essere necessario per chi soffre di cirrosi e in altre situazioni di carenza provocate da stati infettivi o malattie come l'ipertiroidismo o il diabete. Anche chi è convalescente da un intervento chirurgico può aver bisogno di integratori di vitamina B1.

La forma attiva nel metabolismo è la tiamina pirofosfato (TPP).

Riferimenti Bibliografici: 1- *J. Serb. Chem. Soc.* 70 (10) 1229-1235 (2005)

 EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel. +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com



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.

N° 009		06/ 2024
--------	--	----------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo : La vitamina B1 viene dosata nel sangue dopo deproteinizzazione ed iniezione del surnatante opportunamente trattato.

Recupero del Metodo : n.a.

Sensibilità del Metodo (LLOD): 10 ng/ml

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ): 10 ng/ml

Linearità del metodo : 10 – 500 ng/ml

Accuratezza intra serie (errore relativo %) :

C1	C3
75 ng/ml	125 ng/ml
5,14%	3,51%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) :

C1	C3
75 ng/ml	125 ng/ml
8,31%	5,13%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) :

C1loq	C2	MAX C
10 ng/ml	100 ng/ml	150 ng/ml
5,05%	4,87%	3,54%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) :

C1loq	C2	MAX C
10 ng/ml	100 ng/ml	150 ng/ml
9,74%	6,06%	8,00%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. std: 0,9922 ± 0,0009

Range di normalità nel sangue : Vitamina B1 32 – 95 ng/ml

Riferimenti Bibliografici:

Herbeth B., J. Zittoun, L. Miravet, M. Boureay-Causse, G. Carre-Guery, E. Delacoux, C. Le Devehat, A. Lemoine, J.P. Mareschi, J. Martin, G. Portier de Courcy and J. Sancho (1986). Reference intervals for vitamin B1, B2, E, D, retinol, and folate in blood: Usefulness of dietary selection criteria. Clin. Chem. 32/9, 1756-1759.

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2–8 °C. Il Calibratore liofilo è stabile 24 mesi se conservato a -20°C.

Reagente A – Soluzione Deproteinizzante + Standard Interno, **1 x 30 ml**

Reagente B – Soluzione Derivatizzante, **5 x 7,5 mg** Una volta ricostituito è stabile 15 giorni a 2-8 °C

Reagente C – Soluzione Ricostituente, **1 x 25 ml**

Reagente D – Soluzione Diluente, **1 x 10 ml**

Reagente E – Soluzione Test, **1 x 2 ml**

Calibratore liofilo, **2 x 1 ml**

Codice Z85016

Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Reagente M – Fase Mobile, **4 x 500 ml**

100 Eppendorf ambrate

Dotazione strumentale minima richiesta:

Strumento HPLC isocratico con loop da 10 μ l
Detector Fluorimetrico $\lambda_{EX}=367$ nm $\lambda_{EM}=435$ nm
Registratore di cromatogrammi

Dotazione opzionale:

Autocampionatore
Computer gestionale

Modalità di prelievo ematico:

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 una temperatura di 2 – 8 °C (stabile 1 giorno). I campioni che non vengono analizzati subito devono essere congelati a – 20°C. Evitare il ricongelamento.

ATTENZIONE: LA VITAMINA B1 E' FOTOSENSIBILE! UTILIZZARE PROVETTE E VIAL AMBRATE.

PROCEDURA PREANALITICA

Ricostituire un flacone di **Reagente B - Soluzione Derivatizzante** con 5 mL **Reagente C – Soluzione Ricostituente**. La soluzione così preparata è stabile 15 giorni a 2-8 °C.

In una provetta dispensare :

- 980 µl di H₂O di grado HPLC
- 10 µl di **Reagente E - Soluzione Test**
- 10 µl di **Reagente B - Soluzione Derivatizzante opportunamente ricostituita**

Al vortex per 20 secondi

NOTA: Prima di iniziare la seduta analitica è consigliabile iniettare 10 µl di questa soluzione nel sistema HPLC per identificare il tempo di ritenzione dell' analita che deve essere simile a quello riportato in Fig. 1.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Preparazione dei Campioni

Dispensare in provette coniche da 1,5 ml tipo Eppendorf ambrate con tappo (fornite nel kit) :

	Bianco	Calibratore	Campione
Acqua di grado HPLC	100 µl		
Calibratore		100 µl	
Campione			100 µl
Reagente A – Soluzione Deproteinizzante + Standard Interno	300 µl	300 µl	300 µl

Attenzione: si consiglia di deproteinizzare direttamente sul Vortex per almeno 20 secondi

FASE 2 : Centrifugare a 14.000 rpm per 10 minuti.

FASE 3 : Trasferire 60 µl di sovranatante in una vial di vetro ambrata provvista di insert.

FASE 4 : Aggiungere a ciascuna vial 10 µl di **Reagente B - Soluzione Derivatizzante ricostituita**.

Al vortex per 20 secondi

FASE 5 : Incubare a Temperatura Ambiente per 30 minuti al buio

FASE 6 : Aggiungere a ciascuna provetta 100 µl di **Reagente D – Soluzione Diluente**

Al vortex per 20 secondi

N.B.: il campione così preparato è stabile 1 giorno a 2-8 °

INIEZIONE :

- Iniettare 10 µl della soluzione nel cromatografo HPLC.

VITAMINA B1 SU SANGUE INTERO in FLUORIMETRIA – Avvertenze

REAGENTE E: SOLUZIONE TEST

VITAMINA B1	1.000 ng/ml
-------------	-------------

PARAMETRI DEL DETECTOR FLUORIMETRICO

λ_{EX}	367 nm
λ_{EM}	435 nm
GAIN	0,001 AUFS

PROTEZIONE DELLA COLONNA ANALITICA

Per salvaguardare la colonna analitica ZORBAX Eclipse Plus C18 (100 x 4,6 mm, 3,5 μ) è tassativo l'uso del Prefiltri Javelin (1 x 10 pz), cod. S90199511.

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova ZORBAX Eclipse Plus C18 (100 x 4,6 mm, 3,5 μ) .
Disconnettere il detector Fluorimetrico e far passare 30 ml di una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (20 : 80 v / v)** al flusso di 1,0 ml/minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Far passare 30 ml di una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (80 : 20 v / v)** al flusso di 1,0 ml/minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Condizionare la colonna con la fase mobile al flusso di 1 ml/minuto e scaricare i primi 20 ml. Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione. **Non è possibile effettuare analisi a ricircolo di fase.**
Se la T Amb del Laboratorio è > 20 °C si consiglia di conservare a 2-8 °C la Fase Mobile fra una seduta analitica e l'altra.

PULIZIA DELLA COLONNA

Disconnettere il detector. Flussare 15 ml di **H₂O : Acetonitrile o Metanolo (80 : 20 v / v)** al flusso di 1,0 ml/minuto e scaricare. Flussare una soluzione di **H₂O : Acetonitrile o Metanolo (30 : 70 v / v)** per 30 minuti scaricandola. **Si raccomanda di eseguire il lavaggio della Colonna Analitica alla fine di ogni seduta analitica.** La colonna va stoccata in una soluzione di **H₂O : Acetonitrile o Metanolo (30 : 70 v / v)**

LAVAGGIO AGO INIEZIONE

Lavare con una soluzione di Acqua / Etanolo o Metanolo o Acetonitrile (80 : 20 v/v).

PARAMETRI HPLC

LOOP	10 μ l
Flusso di lavoro consigliato	0,7-1,8 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 110 bar

GRADIENTE DI FLUSSO

Tempo (min)	Flusso (ml/min)
0.0	0,7
4.5	0,7
4.51	1,8
10.0	1,8
10.01	0,7
12.0	0,7

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z85016	Calibratore su sangue intero per Vitamina B1	4 x 1 ml
Z85019	Controllo su sangue intero per Vitamina B1/B2/B6 – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 1 ml
Z959961902	Colonna Analitica Zorbax Eclipse Plus C 18 (100 x 4,6mm–3,5 um)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
S29004U	Vial ambrate di vetro da 2 ml	1 x 100 PZ
S51820717	Tappi per vial ambrate di vetro da 2 ml	1 x 100 PZ
S24717	Riduttori di volume per vial di vetro da 2 ml	1 x 100 PZ



VITAMINA B1 SU SANGUE INTERO

(Cromatogrammi di riferimento)

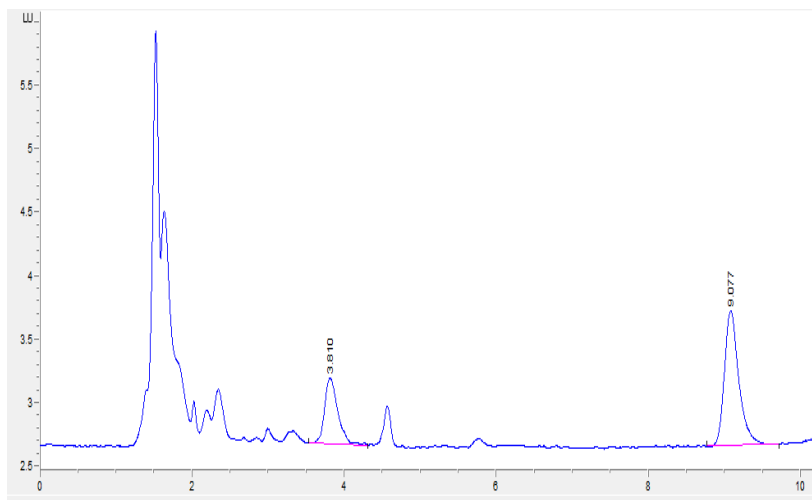


Fig. 1 :	Calibratore liofilo su sangue intero
	R.T. 3.8 Vitamina B1 (TPP) 100 ng/ml
	R.T. 9.0 Standard Interno

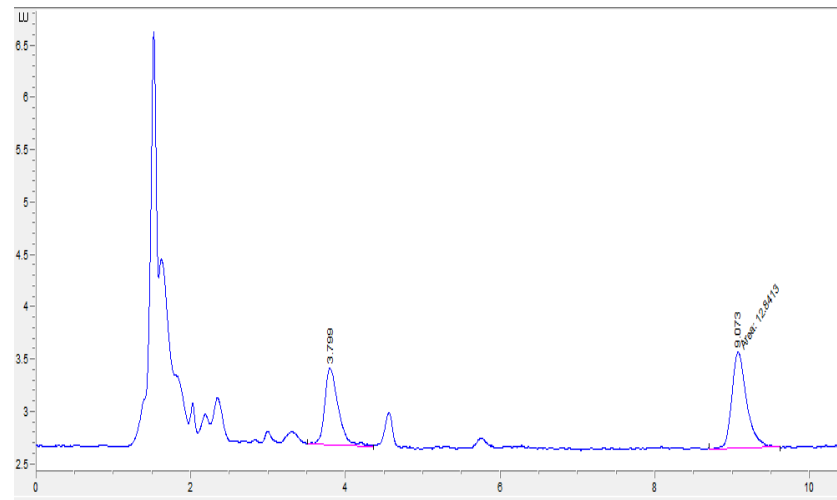


Fig. 2 :	Controllo liofilo L2 su sangue intero
	R.T. 3.7 Vitamina B1 (TPP) 125 ng/ml
	R.T. 9.0 Standard Interno

VITAMINA B1 SU SANGUE INTERO

(Cromatogrammi di riferimento)

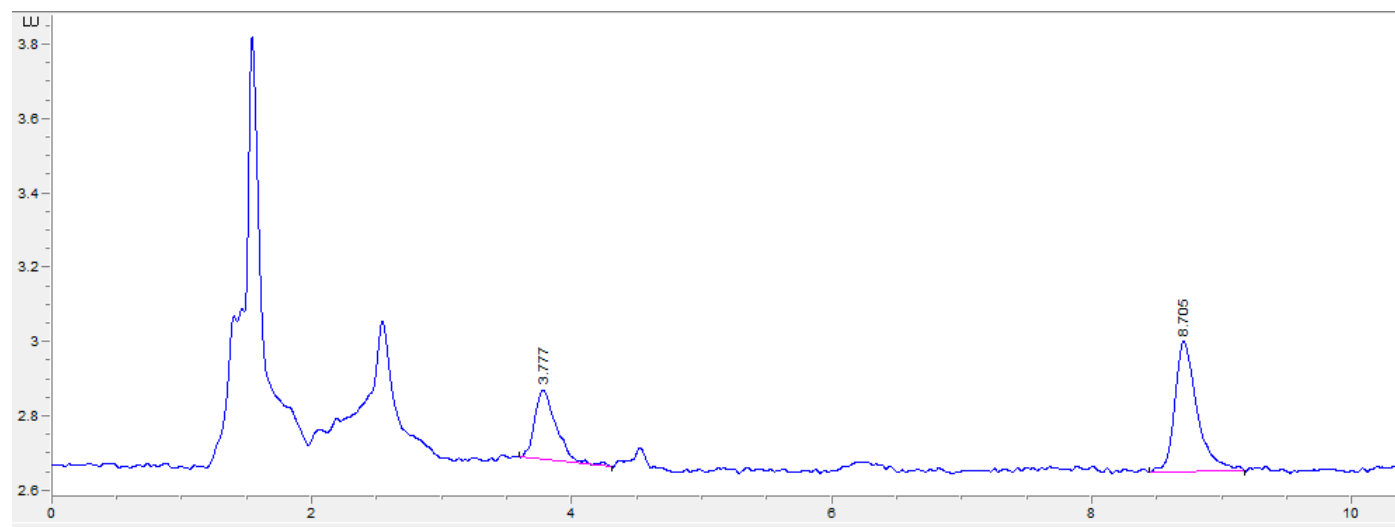


Fig. 3 :	Campione su sangue intero
	R.T. 3.7 Vitamina B1 (TPP)
	R.T. 8.7 Standard Interno