

ONE STEP VITAMINS A/E IN SERUM/PLASMA - UHPLC (Vitaminas A e E em Soro/Plasma por UHPLC, em etapa única)

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* em etapa única, das Vitaminas A e E em Soro/Plasma por UHPLC.

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

Artigo	Apresentação
34900/UHPLC	Kit Reagente para Análise de Vitaminas A/E em Soro/Plasma em etapa única, usando Tubos de Reação pre-mix, 1000 análises

Para informações detalhadas sobre o método e procedimento, favor consultar o Manual de Instruções One Step Vitamins A/E in Serum/Plasma - UHPLC no site www.biosys.com.br.

SUMÁRIO

Este Kit permite a determinação simultânea das vitaminas A e E em soro ou plasma em sistema UHPLC isocrático com detecção UV, injetor e forno para coluna, auxiliando no diagnóstico das insuficiências e deficiências destas vitaminas, bem como, no acompanhamento do tratamento.

MÉTODO

Cromatografia líquida de ultra performance (UHPLC) com detecção UV.

PRINCÍPIO

A preparação rápida e fácil da amostra consiste em um passo de precipitação, seguida da análise do sobrenadante em sistema UHPLC-UV.

REAGENTES

Componentes e Composição:

Componente	Composição	Apresentação
Fase móvel (Mobile Phase)	Solução metanólica	2 x 500 mL
Tubos de Reação pre-mix (Pre-mixed Reaction Tubes)	Solução de propan-2-ol	10 x 100 peças

INSTRUÇÕES DE 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. A tabela abaixo mostra a temperatura de armazenagem dos reagentes do kit.

A estabilidade dos frascos em uso apresenta estabilidade garantida por pelo menos 1 ano após abertura dos mesmos, armazenados nas condições descritas abaixo:

Componente	Armazenamento
Fase móvel	Temperatura ambiente (18° a 30°C)
Tubos de Reação pre-mix	2°- 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

A Fase Móvel e os resíduos das amostras preparadas **contêm solventes orgânicos** e devem ser descartados como resíduo livre de halogênio de acordo com os regulamentos locais.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Fase Móvel: pronto para uso.

Tubos de reação pre-mix: pronto para uso.

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Cartucho de pré-coluna UHPLC (Chromsystems art. 19034)

Vitamins A/E Serum Calibration Standard (Chromsystems art. 34004)

Vitamins A/E Serum Control, Bi-Level (I+II) (Chromsystems art. 0032)

Centrífuga para microtubos.

Água grau HPLC.

Metanol PA.

Material Geral de Laboratório

AMOSTRA

A amostra pode ser soro ou plasma. O sangue é coletado pela manhã em jejum e antes de qualquer medicação. A amostra deve ser extraída com garroteamento leve e cuidado para prevenir a hemólise.

Estabilidade da amostra: Após a centrifugação o soro/plasma obtido deve ser separado o mais rápido possível e armazenado em temperatura < -18 °C. Proteger a amostra da luz.

Estabilidade das amostras preparadas (elutos): Preparadas como descrito, as amostras são estáveis protegidas da luz em temperatura ambiente por 24 horas ou refrigeradas entre 2° a 8°C por até 48 horas.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Sampler: volume de injeção 5 µL, tempo de corrida analítica 3.5 min. Compartimento protegido da luz. Sem refrigeração.

Razão de fluxo: 0,60 mL/min.

Temperatura da coluna: temperatura ambiente (35°C)

Detector UV programável: iniciar em $\lambda_{max} = 325$ nm, após 1,30 min. mudar para 295 nm.

Limpeza do injetor: metanol

Procedimento de Preparação das Amostras:

1. Pipetar em um tubo de reação pré-mix previamente identificado 100 µL plasma/soro (ou controle/calibrador reconstituído)
2. Agitar em vórtex por 30 segundos
3. Centrifugar por pelo menos 10 minutos a 9000 x g
4. Injetar 5 µL do sobrenadante no sistema HPLC.

Tempo de retenção esperado:

Analito	Tempo de retenção aprox. (minutos)
Vitamina A	0,72
Padrão Interno	1,56
Vitamina E	2,86

CÁLCULOS

$$C_{\text{Analito, Amostra}} [\text{mg/L}] = \frac{A_{\text{Amostra}} \times IS_{\text{Calibrador}}}{A_{\text{Calibrador}} \times IS_{\text{Amostra}}} \times C_{\text{Calibrador}}$$

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

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

Concentração C do analito A no calibrador = $C_{\text{Calibrador}}$

Fatores de conversão

Analito	$\mu\text{g/L}$ para nmol/L	nmol/L para $\mu\text{g/L}$
Vitamina A	x 3,49	x 0,286
Vitamina E	x 2,32	x 0,431

CALIBRADORES E CONTROLES

A Chromsystems disponibiliza os seguintes produtos para calibração e monitoramento da precisão e exatidão das análises:

Artigo	Produto	Apresentação
34004	Serum Calibration Standard (Iiof)	5 x 1mL
0032	Vitamins A/E Serum Control, Level I + II	2 x 5 x 2 mL

DESEMPENHO / CARACTERÍSTICAS

Recuperação:

Analito	Soro	Plasma
Vitamina A	104%	106%
Vitamina E	101%	99%
Padrão Interno	100%	98%

Linearidade e limite de quantificação:

Analito	Limite de quantificação aproximado (mg/L)*	Limite máximo de linearidade (mg/L)
Vitamina A	0,005	4,50
Vitamina E	0,100	38,0

*O limite de quantificação depende do detector utilizado.

Precisão intra-ensaio:

Analito	Coeficiente de variação (%) (concentração em mg/L)		
	n = 10	n=10	n=10
Vitamina A	0.6 (0.49)	0.8 (0.82)	1.3 (2.27)
Vitamina E	0.5 (14.1)	0.5 (18.2)	1.4 (30.1)

Precisão inter-ensaio:

Em soro:

Analito	Coeficiente de variação (%) (para a concentração em mg/L)	
	n = 20	
Vitamina A	3.1 (0.50)	2.9 (1.08)
Vitamina E	3.0 (14.7)	2.3 (29.3)

Em plasma:

Analito	Coeficiente de variação (%) (para a concentração em mg/L)	
	n = 20	
Vitamina A	3.3 (0.55)	2.0 (1.18)
Vitamina E	2.5 (13.3)	2.1 (25.6)

VALORES DE REFERÊNCIA

Vitamina A

Detalhes	Grupo de indivíduos	Valor de Referência
Retinol em soro	Adultos	1.05-2.45 $\mu\text{mol/L}$ 0.3-0.7 mg/L
Retinol em soro/plasma	Adultos Adolescentes	1.0-2.1 $\mu\text{mol/L}$ 0.3-0.6 mg/L
Retinol em soro/plasma	Crianças (até 10 anos)	0.66-1.7 $\mu\text{mol/L}$ 0.2-0.5 mg/L
Retinol em soro/plasma	Crianças (até 1 ano)	0.53-1.4 $\mu\text{mol/L}$ 0.15-0.4 mg/L
Retinol em soro/plasma	Recém-nascidos	0.35-1.0 $\mu\text{mol/L}$ 0.1-0.3 mg/L
Limite tóxico	-	A partir de 1.4 mg/L
Deficiência	Adultos	Inicial - 0.1-0.19 mg/L Grave - <0.1 mg/L

Vitamina E

Detalhes	Grupo de indivíduos	Valor de Referência
D- α -tocoferol em soro	Adultos	11.6-46.4 $\mu\text{mol/L}$ 5.0-20.0 mg/L
Vitamina E em soro/plasma	Adultos	12-42 $\mu\text{mol/L}$ 5-18 mg/L
Vitamina E em soro/plasma	Adolescente (13 - 19 anos)	14-23 $\mu\text{mol/L}$ 6-10 mg/L
Vitamina E em soro/plasma	Crianças (1 - 12 anos)	7-21 $\mu\text{mol/L}$ 3-9 mg/L
Vitamina E em soro/plasma	Bebes prematuros	2.3-11.6 $\mu\text{mol/L}$ 1-5 mg/L
D- α -tocoferol em soro	Adultos	22 $\mu\text{mol/L}$
Deficiência	Adultos	<11.6 $\mu\text{mol/L}$ < 5 mg/L
Limite padrão mínimo	Adultos	11.6 $\mu\text{mol/L}$

LITERATURA

- Vuilleumier, J. P., Keller, H.E., Gysel, D., Hunziker, F.: Clinical chemical methods for the routine assessment of the vitamin status in human populations. Part I: The fat-soluble vitamins A and E, and β -carotene; Int. J. Vitam. Nutr. Res.; 53 (3), 265-272; 1983.
- Reinards, R. in: Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie; 3rd Ed., Verlag Schattauer Stuttgart/New York; 344-346; 1987.
- Milne, D. B., Botnen, J.: Retinol, α -tocopherol, lycopene, and α - and β -carotene simultaneously determined in plasma by isocratic liquid chromatography; Clin. Chem.; 32: 874-876; 1986.
- Lehmann, J., Martin, H. L.: Improved direct determination of alpha- and gamma-tocopherols in plasma and platelets by liquid chromatography, with fluorescence detection; Clin. Chem.; 28: 1784-1787; 1982.
- Bertelsmann Stiftung (Editor): Mineralstoffe, Spurenelemente und Vitamine - Klinische Aspekte und chemische Analyse; Verlag Bertelsmann Stiftung, Gütersloh; 1997.
- Biesalski, J., Schrezenmeier, J., Weber, P., Weiß, H. E.: Vitamine - Physiologie, Pathophysiologie, Therapie; Georg Thieme Verlag Stuttgart/New York; 1997.
- Baltes, W.: Lebensmittelchemie; 2nd Ed., Springer Verlag Berlin; 1989.

Símbolos Usados

	Fabricante
	Limites de temperatura
	Diagnóstico in vitro
	Cuidado, consulte documentos anexos
	Consulte instruções de uso
	Material Reciclável
	Não rejeitar diretamente para o ambiente
	Lote
	Data de Fabricação
	Validade
	Risco Biológico
	Altamente tóxico
	Corrosivo
	Nocivo

Fabricado por: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH

Importado e Distribuído por: BioSys Ltda

Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ

Cep: 24020-112

CNPJ: 02.220.795/0001-79

MS – nº 10350840258

SAC: sac@biosys.com.br – (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

www.biosys.com.br