

Folato

Folato (CLIA)

Informações do pedido

Número de catálogo	Tamanho de embalagem
Folato111	50 testes
Folato112	100 testes
Folato113	30 testes

Uso pretendido

O ensaio de Folato da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para a determinação quantitativa de folato no soro, plasma ou hemácias de humanos.

Resumo

Folatos são uma classe de compostos vitamínicos com construção química e bioatividade semelhantes, que são necessários para síntese de DNA, metabolismo de aminoácido, regeneração de hemácias e outras vias metabólicas¹. Em virtude de várias enzimas nas diferentes vias metabólicas, formas de folato metabolicamente ativas diferentes são geradas, em que 5-tetraidrofolato é a forma principal de folato circulante².

A deficiência de folato pode ser resultado de baixa ingestão alimentar, má absorção, hereditariedade, antagonista do folato, álcool e contraceptivos orais e gravidez ^{3,4}. Folato e vitamina B12 estão associados à reação da síntese da metionina. A deficiência de qualquer um pode causar anemia megaloblástica (macrocítica)^{5- 6}. Por esse motivo, é geralmente necessário determinar tanto o folato quanto a vitamina B12 para diagnosticar a etiologia da anemia. Os níveis de folato no soro ou plasma refletem a ingestão recente de folato, e a medida do folato nas hemácias reflete os níveis de folato no tecido de maneira mais confiável. Níveis baixos de folato nas hemácias estão mais correlacionados à anemia megaloblástica^{7, 8}.

Princípio de ensaio

O ensaio de Folato da série CL é um ensaio imunoenzimático de ligação competitiva para determinar o nível de Folato. Na primeira etapa, amostragem, o reagente de pré-tratamento 1 e 2 são adicionados a uma cubeta de reação. Após a incubação, o folato ligado é liberado da proteína de ligação do folato endógeno.

Na segunda etapa, amostra pré-tratada, a proteína de ligação de folato (FBP) biotinizada e micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo antibiotina monoclonal são adicionadas à outra cubeta de reação. Após a segunda incubação, o folato presente na amostra se liga à FBP biotinizada, a qual se liga às micropartículas revestidas com anticorpo anti-biotina.

Na terceira etapa, o conjugado de ácido fólico-fosfatase alcalina é adicionado à cubeta de reação. Depois da terceira incubação, o conjugado de ácido fólico-fosfatase alcalina se liga ao locais não ocupados da FBP biotinizada, que são ligados às micropartículas, enquanto que outras substâncias não ligadas são removidas por lavagem.

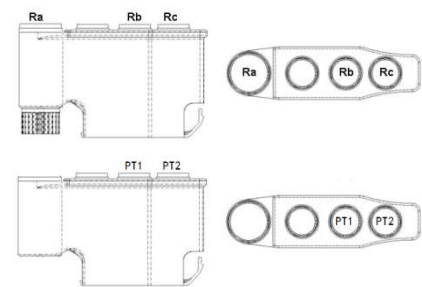
Na quarta etapa, a solução do substrato é adicionada à cubeta de reação. Ela é catalisada pelo conjugado de ácido fólico-fosfatase alcalina no imunocomplexo retido nas micropartículas. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades de luz relativas (RLUs) por um fotomultiplicador integrado no sistema. A quantidade de folato presente na amostra é inversamente proporcional nas unidades de luz relativas (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de folato pode ser

determinada via uma curva de calibração.

Componentes reagentes

Ra	Micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal antibiotina no tampão PBS com conservante.
Rb	conjugado de ácido fólico-fosfatase alcalina no tampão MES com conservante.
Rc	proteína de ligação do folato (FBP) biotinizada no tampão TRIS com conservante.
PT1	Reagente de pré-tratamento 1, DTT em solução tampão de citrato com conservante.
PT2	Reagente pré-tratamento 2, solução de hidróxido de sódio.

A posição de cada componente reagente é mostrada na figura abaixo (vista frontal à esquerda e vista superior à direita):



Armazenamento e estabilidade

O kit de reagente de folato (CLIA) não aberto é estável até a data de expiração indicada quando armazenado a 2-8°C.

O kit de reagente de folato (CLIA) pode ser armazenado onboard e usado por um máximo de 28 dias após a abertura em 2-8°C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Rc: Pronto para usar

PT1: Pronto para usar.

PT2: Pronto para usar.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray.

Cat.No.Folate211/ Folate212: Calibradores de Folato, 1×2,0 mL/ 1×1,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

Cat.No.MML311: Multicontrolre metabólico (L), 3×2,0 mL.

Cat.No.MMH311: Multicontrolre metabólico (H), 3×2,0 mL.

Nº Cat. MML 312: Multicontrolre metabólico (L), 6×2,0 mL.

Nº Cat. MMH 312: Multicontrolre metabólico (H), 6×2,0 mL.

Cat.No.Folate311: Reagente de liberação de folato nas hemácias, 2×50 mL.

Cat.No.WB411: Tampão de lavagem, 1×10 L.

Cat.No.CS511: Solução de substrato, 4×115 mL.

Cubeta de reação.

Instrumentos aplicáveis

Analizador de Imunoensaio Quimioluminescente da série CL da Mindray

Coleta e preparação do espécime

Folato no soro ou plasma (heparina sódica e heparina de lítio)

Amostras de soro e plasma humanos (heparina sódica e heparina de lítio) são recomendáveis para este ensaio.

Colete todas as amostras de sangue seguindo precauções de rotina para punção venosa. Siga as recomendações de centrifugação do fabricante do tubo de coleta de sangue. Centrifugue as amostras após a conclusão da formação de coágulos. Algumas amostras, principalmente aqueles de pacientes que recebem terapia anticoagulante podem apresentar maior tempo de coagulação. Certifique-se de que a fibrina residual e a matéria celular sejam removidas antes da análise.

Para obter resultados ideais, veja se há bolhas em todas as amostras. Remova as bolhas com a ponta de uma pipeta antes da análise. As amostras devem ser completamente misturadas após descongelamento. Amostras descongeladas devem ser centrifugadas antes do uso. Se a amostra estiver coberta com uma camada lipídica após a centrifugação, essa amostra deverá ser transferida para um tubo limpo antes do teste. Não transfira a camada lipídica. Manuseie com cuidado para evitar a contaminação cruzada. Não use amostras inativadas por calor. Não utilize amostras hemolizadas, pois o nível de folato nas hemácias é muito maior que o do soro ou plasma, levando a resultados ilegítimamente elevados. Amostras séricas ou plasmáticas devem ser coletadas de indivíduos em jejum. Amostras séricas ou plasmáticas a serem testadas quanto a folato devem ser protegidas contra luz.

As amostras devem ser testadas assim que possível, após a coleta da amostra. Se a testagem não for realizada em 2 horas, as amostras deverão ser armazenadas a 2-8°C ou em temperatura mais fria. As amostras devem ficar estáveis por 2 dias a 2-8°C, 1 mês a -20°C. Evite mais de um ciclo de congelamento.

Folato nas Hemácias (Folato em RBC)

Amostras de sangue total humano (EDTA, heparina sódica e heparina de lítio) são recomendadas para esse ensaio.

Colete todas as amostras de sangue seguindo precauções de rotina para punção venosa.

Para obter resultados ideais, veja se há bolhas em todas as amostras. Remova as bolhas com a ponta de uma pipeta antes da análise. As amostras devem ser completamente misturadas após descongelamento. Manuseie com cuidado para evitar a contaminação cruzada. Amostras de sangue total a serem testadas quanto a folato devem ser protegidas contra luz.

Determine e registre os hematócritos para uso nos cálculos.

Reconstituição do reagente de liberação do folato nas hemácias: Reconstitua um frasco de reagente de liberação do folato nas hemácias com 50 mL de água destilada ou deionizada, tampe o reagente e misture por inversão. Deixe em repouso durante

40 minutos, até dissolvido. Misture por inversão antes do uso. A solução reconstituída permanece estável durante 14 dias sob 2-8 °C. Permita que a solução reconstituída atinja a temperatura ambiente antes de cada uso.

Preparação de hemolisado de hemácias: Misture o tubo de sangue total por inversão 10 vezes para garantir que esteja bem misturado. Combine 50 µL de sangue total a 1 mL do reagente de liberação reconstituído. Misture por inversão e permita repouso sob temperatura ambiente durante 90 minutos (±10 minutos).

As amostras devem ser testadas assim que possível, após a coleta da amostra. Para amostras de sangue total, se a testagem não for realizada em 2 horas, as amostras deverão ser armazenadas a 2-8°C ou em temperatura mais fria. As amostras devem ficar estáveis por 8 horas a 2-8°C, 15 dias a -20°C. Evite mais de um ciclo de congelamento.

Para amostras de hemolisado de hemácias, se a testagem não for realizada em 2 horas, as amostras deverão ser armazenadas a 2-8°C ou em temperatura mais fria. As amostras devem ficar estáveis por 3 horas a 2-8°C, 15 dias a -20°C. Evite mais de um ciclo de congelamento.

Procedimento do ensaio

Para obter o procedimento de ensaio ideal, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com atenção, para obter informações suficientes, como instruções de operação, preservação e administração da amostra, precauções de segurança e manutenção. Prepare todos os materiais necessários para o ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagente de Folato (CLIA) na máquina pela primeira vez, o frasco fechado do reagente deve ser invertido suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspensão das micropartículas que se acomodaram durante a remessa ou armazenamento. Inspeccione visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas estão em suspensão de novo. Se as micropartículas permanecerem coladas no frasco, continue invertendo até que elas sejam totalmente ressuspensas. Se não for possível colocar as micropartículas em suspensão de novo, é recomendável não usar esse frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda. Não inverta o frasco do reagente aberto. Este ensaio requer 80 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do contêiner da amostra. Um volume adicional é necessário ao realizar mais testes da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e o requisito específico do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

Calibração

O Folato (CLIA) da série CL foi padronizada em relação a um teste de Folato comercial (CLIA).

As informações específicas do kit de reagente da curva de calibração principal de Folato (CLIA) são armazenadas no código de barras bidimensional colado no pacote do reagente. Ele é usado em combinação com os calibradores de Folato para a calibração do lote do reagente específico. Ao realizar a calibração, verifique as informações da curva de calibração principal do código de barras no sistema primeiro, e depois use os calibradores de Folato em três níveis. A curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de folato. A recalibração é recomendável a cada 4 semanas ou quando um novo lote de reagente é usado, ou os controles de qualidade estão fora do intervalo especificado. Para obter instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operação do sistema.

Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada às necessidades individuais de cada laboratório. Os dois níveis recomendados de controles de qualidade para este ensaio são Multicontrolre metabólico (L) e Multicontrolre metabólico (H).

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora do

intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras precisarão ser retestadas. Talvez seja necessário recalibrar. Examine o sistema do ensaio consultando o manual operacional do sistema. Se os resultados do controle de qualidade ainda estiverem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Serviço de Atendimento da Mindray para obter ajuda.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra na leitura da curva de calibração principal do código de barras, e um Ajuste da curva logística de 4 parâmetros (4PLC) com as unidades de luz relativas (RLUs) geradas dos calibradores de Folato dos valores de concentração definidos. Os resultados são mostrados na unidade de ng/ml.

Fator de conversão: ng/mL x2,266 = nmol/L

Cálculo da Concentração de Folato nas Hemácias

O analisador relata automaticamente o resultado corrigido para diluições necessário na preparação do hemolisado de hemácias, que é a concentração de folato do hemolisado de hemácias. Utilize a seguinte fórmula para calcular a concentração de folato nas hemácias a partir do resultado do teste relatado pelo analisador.

$$\text{RBC Folate Concentration} = \frac{\text{RBC hemolysate folate concentration}}{\% \text{ Hematocrit}} \times 100$$

Exemplo:

Concentração de folato do hemolisado de hemácias (resultado do analisador)=72 ng/mL
% de hematócrito=45

$$\text{RBC Folate Concentration} = \frac{72 \text{ ng/mL}}{45} \times 100 = 160 \text{ ng/mL}$$

Cálculo da Concentração Corrigida de Folato nas Hemácias

Na maioria dos casos, o valor de folato nas hemácias é muito alto em comparação ao valor de folato no soro ou plasma (heparina). É possível que a concentração de folato no soro ou plasma esteja dentro ou acima do intervalo normal esperado, enquanto que a concentração de folato nas hemácias está abaixo do intervalo normal esperado. Nesse caso, utilize a seguinte fórmula para corrigir a concentração de folato nas hemácias.

$$\text{Corrected RBC Folate Concentration} = \left[\text{serum or plasma concentration} \times \frac{100 - \% \text{ Hematocrit}}{\% \text{ Hematocrit}} \right]$$

Exemplo:

Concentração de folato nas hemácias=160 ng/mL
% de hematócrito=45

Concentração no soro ou plasma=15 ng/mL

$$\text{Corrected RBC Folate Concentration} = 160 \text{ ng/mL} - 15 \text{ ng/mL} \times \frac{100 - 45}{45} = 141.67 \text{ ng/mL}$$

Valores esperados

Um estudo em um coorte de 399 indivíduos saudáveis (268 com soro e 131 com sangue total) determinou o intervalo de referência do ensaio de Folato da série CL. Gestantes e lactantes foram excluídas.

Categoria	Número de amostras	2.5-97.5° Percentil
Folato no soro	268	3,20~19,60 ng/mL
Folato nas Hemácias	131	119,47~822,63 ng/mL

Em razão da variação de população, doença, nutrição e fator ambiental, é altamente recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Limitações

O limite superior deste ensaio é de 20 ng/mL. Uma amostra com concentração de Folato menor que o limite superior pode ser quantitativamente determinado, enquanto o espécime com uma concentração mais alta do que o limite superior será relatado como >20 ng/ml. A concentração de Folato em um dado espécime, determinada com ensaios de fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças nos métodos do ensaio, calibração e especificidade do reagente. Os resultados do ensaio devem ser usados em conjunto com outros dados para tomar decisões clínicas, como sintomas, resultados de outros testes. Os espécimes de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongos podem conter antígeno humano anticamundongo (HAMA)⁹. Esses amostras podem mostrar valores falsamente elevados ou falsamente reduzidos com kits de ensaio que empregam anticorpos monoclonais de camundongos^{10,11}. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

Características de desempenho

Limites inferiores de medição

O kit de reagente de Folato (CLIA) apresenta um Limite de Espaço em Branco (LoB) de ≤ 0,8 ng/mL, um Limite de Detecção (LoD) de ≤ 1 ng/mL e um Limite de Quantificação (LoQ) de ≤ 2 ng/mL (com um erro relativo permitido total ≤ 30 %).

Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pelo Limite de Espaço em Branco e o limite superior da curva de calibração principal. O intervalo para relatório do kit de reagente de Folato (CLIA) é 0,8-20 ng/ml.

Especificidade

Bilirrubina até 40 mg/dL, triglicérides até 1500 mg/dL e proteína total até 10 g/dL não vão interferir com o ensaio de Folato da série CL. Essas substâncias mostra menos de 10% de interferências na concentração indicada. Nenhuma interferência óbvia foi observada do fator reumatoide (até 200 IU/mL) ou antígeno antinuclear. O Calibrador de Folato C0 atingiu o pico com aminopterina, metotrexato, ácido fólico e fenitoína. Nenhuma reatividade cruzada óbvia foi observada. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Substância	Concentração de reagente cruzado	Reatividade cruzada
Aminopterina	500 ng/mL	1,67%
Metotrexato	100 ng/mL	1,55%
Ácido fólico	100 ng/mL	1,78%
Fenitoína	100 µg/mL	0,00%

Exatidão

Dois controles com valores rastreáveis e predefinidos foram usados para verificar a exatidão deste ensaio. Os resultados mostraram que os desvios relativos foram menores que ±10%. Os resultados estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Valor de Folato Medido (ng/ml)	Valor de Folato Definido (ng/ml)	Desvio relativo
Nível 1	3,86	3,94	~2,03%
Nível 2	15,56	15,13	2,84%

Precisão

O ensaio de Folato da série CL foi projetado para ter uma precisão de ≤10% (dentro do CV do dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Comitê Nacional para Normas de Laboratórios Clínicos (NCCLS), Protocolo EP5-A2¹¹. Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicata em duas execuções separadas por dia, em um total de 20 dias, usando um único lote de reagentes e uma única curva de calibração. Os dados de precisão estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	Média de Folato (ng/ml)	Dentro do CV da execução	Entre o CV da execução	Dentro do CV do dispositivo
1	3,99	6,22%	7,00%	9,37%
2	15,00	6,50%	7,24%	9,73%

Linearidade

Uma amostra com alta concentração de Folato (aproximadamente 20 ng/ml) foi misturada com uma amostra de baixa concentração (<1 ng/ml) em proporções diferentes, gerando uma série de diluições. O Folato de cada diluição foi determinado com o uso do Ensaio de Folato da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada no intervalo de 1 ng/ml a 20 ng/ml. o coeficiente de correlação r é ≥0,990. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Concentração (ng/ml)	1	2	3	4	5	6
Folato esperado	0,56	4,68	8,80	12,92	17,04	21,16
Folato medido	0,56	4,44	8,47	11,81	16,22	21,16

Comparação de métodos

O Ensaio de Folato da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico comercialmente disponível em um estudo de correlação com cerca de 304 amostras de soro e amostras de sangue total. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação Deming estão resumidos na tabela abaixo.

Categoria	Inclinação	Interceptação	Coefficiente de correlação
Folato no soro	0,9773	0,0332	0,9874
Folato nas Hemácias	1,0154	-36,914	0,9874

Avisos e precauções

1. Apenas para diagnóstico in vitro.
2. Siga todas as regras ao manusear reagentes de laboratório e adote as precauções de segurança necessárias.
3. Devido às diferenças na metodologia e especificidade do antígeno, os resultados de teste da mesma amostra podem ser diferentes durante o uso de kits de reagentes de fabricantes diferentes no sistema da Mindray ou com o uso de kits de reagentes da Mindray em outros sistemas.
4. Não use kits de reagentes com a data de expiração vencida.
5. Não use reagentes misturados de lotes diferentes.
6. Sempre mantenha o pacote de reagente na posição vertical para assegurar que nenhuma micropartícula seja perdida antes do uso.
7. Não é recomendável usar o pacote de reagente aberto a mais de 28 dias.
8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida se as instruções no encarte deste pacote não forem seguidas.
9. Todos os espécimes e dejetos de reação devem ser considerados potencialmente perigosos. O manuseio de amostras e dejetos de reação deve ser realizado de acordo com os regulamentos e diretrizes locais¹².
10. A folha de dados de segurança de material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos Gráficos


In vitro diagnostic medical device


Batch code


European Conformity


Authorized representative in the European Community


Use by


Consult instructions for use


Caution


Temperature limit


Manufacturer


Catalogue number

Referências

1. Miale JB. Laboratory medicine: hematology. St. Louis: CV Mosby, 1982. p.416–40.
2. Appling DR. Compartmentation of folate-mediated one-carbon metabolism in eukaryotes. FASEB J 1991;5(12):1693-5
3. Rush D. Folate Supplements Prevent Recurrence of Neural Tube Defects, FDA Dietary Supplement Task Force. Nutrition Reviews 1992;50(1):22-28.
4. Herbert V. Drugs effective in megaloblastic anemias. In Goodman LS and Gilman A (eds): The Pharmacological Basis of Therapeutics, 5th Ed, MacMillan Co, 1975;1324-1349.
5. Hoffbrand AV. Vitamin B12 and folate metabolism: the megaloblastic anaemias and other nutritional anaemias. In Blood and its disorders, 1982;199-263. Edited by Hardisty RM and Weatherall D.Philadelphia, PA:Blackwell Scientific Publications.
6. Chanarin I. Megaloblastic anaemia, cobalamin and folate, J Clin Pathol, 1987; 40: 978-984
7. Brewster MA. Vitamins. Em: Kaplan LA, Pesce AJ, editors. Clinical chemistry: theory, analysis, and correlation. 2nd ed. St. Louis: CV Mosby, 1989.p.543-68
8. McNeely MD. Folic acid. Em: Pesce AJ, Kaplan LA, editors. Methods in clinical chemistry. St. Louis: CV Mosby, 1987.p.539-42
9. Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988; 34:27-33.
10. Kricka L. Interferences in immunoassays - still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037-1038.
11. Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.
12. CLSI. EP5-A2: Vol. 24, No. 25, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method; Approved Guideline –Second Edition.

© 2015 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd. Todos os direitos reservados

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Endereço: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

Endereço de e-mail: service@mindray.com

Site: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Representante da EC: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Endereço: Eiffestraße 80, Hamburgo 20537, Alemanha

Tel: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

Registrado no Brasil por:

Mindray do Brasil Comércio e Distribuição de Equipamentos Médicos Ltda.

CNPJ: 09.058.456.0001-87

Endereço: Av. Pompéia, 634 conj. comercial 406. Vila Pompéia - São Paulo - SP

CEP: 05022-000

Responsável Técnica: Carla Rodríguez Morales Kelciauskas – CRF/SP nº 34657

