

Folate II

Folato

03253678 122

100 testes

Português

Função

Doseamento por fixação para a determinação quantitativa in vitro de folato em soro humano.

O doseamento por fixação é concebido para utilização nos analisadores de imunoensaios Elecsys 2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) de Roche.

Características

As anemias nutricionais e macrocíticas podem ser causadas por uma deficiência de folato. Esta deficiência pode resultar de dietas pobres em frutos frescos, vegetais ou outros alimentos ricos em ácido fólico, que poderá ser o caso dos alcoólicos crónicos, dos toxicod dependentes, dos idosos ou de pessoas com poucos recursos socio-económicos, etc. O nível baixo de folato sérico durante a gravidez também foi associado a defeitos no tubo neural do feto.¹ As principais causas da deficiência de folato nos seres humanos são dieta deficiente e má absorção.² O folato é necessário para o metabolismo normal, a síntese do ADN e a regeneração dos glóbulos vermelhos. As deficiências não tratadas causam anemia megaloblástica.

Como tanto a deficiência de vitamina B12 como de folato podem causar anemia megaloblástica, é aconselhável determinar a concentração tanto da vitamina B12 como do folato para diagnosticar devidamente a etiologia da anemia. Os radioensaios de folato foram referidos pela 1ª vez em 1973.^{3,4,5,6}

A maioria utiliza marcadores rádio-marcados de ¹²⁵I-folato e proteínas naturais de fixação (proteína de fixação do leite, proteína de fixação do folato). Os vários ensaios comercializados diferem entre si em termos de técnicas de separação das formas ligada e livre e escolha do pré-tratamento da amostra. O teste Elecsys Folate utiliza um princípio de competição e a proteína de fixação natural do folato (FBP - folate binding protein) específica do folato. O folato na amostra compete com o folato adicionado marcado com biotina para os locais de fixação no complexo de FBP marcado com ruténio.^a

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Princípio do teste

Princípio de competição. Duração total do ensaio: 27 minutos.

- 1ª incubação: Através da incubação de 30 µl de amostra com os reagentes 1 e 2 de prétratamento do folato, o folato fixado é libertado a partir das proteínas de fixação do folato.
- 2ª incubação: Através da incubação da amostra pré-tratada com a proteína de fixação do folato marcada com ruténio, forma-se um complexo de folato, cuja quantidade depende da concentração do analito na amostra.
- 3ª incubação: Após incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina e de folato marcado com biotina, os locais não ocupados da proteína de fixação do folato marcado com ruténio são ocupados, formando-se um complexo de proteína de fixação do folato marcada com ruténio-folato biotinilado. O complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys Folate II, Ref. 03253678 - 100 testes

- PT1 Reagente de pré-tratamento 1 (tampa branca), 1 frasco, 4,0 ml: Monoioglicerol 53,3 g/l; pH 5,5.
- PT2 Reagente de pré-tratamento 2 (tampa cinzenta), 1 frasco, 4,0 ml: Hidróxido de sódio 37 g/l
- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml: Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml, capacidade de fixação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Proteína de fixação do folato-Ru(bpy)₃²⁺ (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 ml:

Proteína de fixação do folato marcada com ruténio 50 µg/l; estabilizante, albumina de soro humano, tampões de borato, fosfato e citrato, pH 5,5; conservante.

- R2 Folato-biotina (tampa preta), 1 frasco, 8,0 ml: Folato biotinilado 18 µg/l; biotina 120 µg/l; estabilizante, albumina de soro humano, tampão borato, pH 9,0; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais.

Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Este dispositivo contém preparações que estão classificadas da seguinte forma, de acordo com a directiva europeia 88/379/CEE:



PT2: C - CORROSIVO, R34, S2-S26-S28 (hidróxido de sódio) Provoca queimaduras. Manter fora do alcance das crianças. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Após contacto com a pele, lavar imediata e abundantemente com água.

Contacto telefónico: todos os países: +49-621-7590, EUA: +1-800-428-2336

Todo o material de origem humana deve ser considerado como potencialmente infeccioso. Todos os produtos derivados de sangue foram preparados exclusivamente com sangue de doadores testados individualmente e que, segundo os métodos aprovados pela FDA, estão isentos de HBsAg e de anticorpos para o HCV e HIV.

No entanto, como nenhum método pode excluir com total segurança o risco de potencial infecção, o material deve ser manipulado com o mesmo cuidado que é utilizado no caso das amostras dos pacientes. Em caso de exposição, cumpra as instruções das autoridades de saúde competentes.^{7,8}

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys Folate II **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C:	12 semanas
nos analisadores Elecsys 2010:	2 semanas
nos analisadores MODULAR ANALYTICS E170:	2 semanas

Colheita e preparação das amostras

O soro é colhido em tubos de amostra padrão ou com gel separador.

Não utilize plasma.

Estabilidade: 2 horas a 20-25°C, 2 dias a 2-8°C, 1 mês a -20°C. Congelar apenas uma vez. Conservar ao abrigo da luz.

Conservar as amostras a 2-8°C ou congele-as a -20°C se não puderem ser analisadas imediatamente.

Estabilidade do soro colhido em tubos com gel separador: 24 horas a 2-8°C (conforme os dados fornecidos pelo fabricante).

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Se utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor.



Folate II

Folato

cobas

Diluição

As amostras com concentrações de folato acima do intervalo de medição podem ser diluídas com o Elecsys Diluent Universal. A diluição recomendada é de 1:2. A concentração da amostra diluída deve ser > 10,0 ng/ml ou > 22,7 nmol/l. Após diluição manual, multiplique os resultados pelo factor de diluição 2.

Valores teóricos

Com referência à publicação "The New England Journal of Medicine"⁹ encontraram-se os seguintes valores de folato (ácido fólico) no soro:

Normal	7,0-39,7 nmol/l (3,1-17,5 ng/ml)
Deficiente limitrofe (borderline)	5,0-6,8 nmol/l (2,2-3,0 ng/ml)
Deficiente	< 5,0 nmol/l (< 2,2 ng/ml)
Excessivo	> 39,7 nmol/l (>17,5 ng/ml)

Na publicação "Harrison's Principles of Internal Medicine",¹⁰ podem observar-se valores de folato no soro dentro de um intervalo semelhante. Deve ter-se em atenção que os valores teóricos podem diferir devido à população e ao estado nutricional.

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho no analisador. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controlos de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 2010	Precisão intra-ensaio					Precisão total		
	Média		DP		CV	DP		CV
Amostra	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%	nmol/l	ng/ml	%
SH 1	8,78	3,87	0,50	0,22	5,6	1,20	0,53	13,8
SH 2	21,0	9,25	0,93	0,41	4,4	1,29	0,57	6,1
SH 3	34,1	15,03	1,88	0,83	5,5	2,41	1,06	7,0
PC U ^b 1	27,2	12,0	1,11	0,49	4,1	1,86	0,82	6,8
PC U2	14,3	6,3	0,41	0,18	2,8	1,14	0,50	7,9

b) PC U = PreciControl Universal

MODULAR ANALYTICS E170										
Amostra	Precisão intra-ensaio					Precisão total				
	Média		DP		CV	Média		DP		CV
	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%
SH 1	7,83	3,45	0,70	0,31	9,1	6,58	2,90	0,52	0,23	7,9
SH 2	12,1	5,34	0,43	0,19	3,6	13,0	5,72	0,59	0,26	4,5
SH 3	28,8	12,7	0,95	0,42	3,3	23,0	10,1	1,29	0,57	5,7
PC U1	29,7	13,1	0,75	0,33	2,6	32,5	14,3	0,95	0,42	2,9
PC U2	13,9	6,15	0,70	0,31	5,0	12,6	5,52	0,59	0,26	4,7

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

0,6 ng/ml (1,36 nmol/l)

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Comparação dos métodos

a) Uma comparação do teste Elecsys Folate II (no analisador MODULAR ANALYTICS E170, calibrado com o dispositivo Elecsys Folate II CalSet II; "y") e o teste Elecsys Folate II (no analisador MODULAR ANALYTICS E170, calibrado com o dispositivo Elecsys Folate II CalSet; "x"), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (ng/ml):
Número de amostras medidas: 93

Passing/Bablok¹¹
y = 0,978x + 0,019
τ = 0,919
DP (md68) = 0,232

Regressão linear
y = 0,973x + 0,091
r = 0,992
Sy.x = 0,311

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 1,62 e 19,5 ng/ml (aprox. 3,68 e 44,3 nmol/l).

b) Uma comparação do teste Elecsys Folate II no analisador MODULAR ANALYTICS E170 (y) e o teste Elecsys Folate II no analisador Elecsys 2010 (x) (ambos os testes calibrados com Elecsys Folate II CalSet II), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (ng/ml):
Número de amostras medidas: 203

Passing/Bablok¹¹
y = 1,02x - 0,29
τ = 0,851
DP (md68) = 0,543

Regressão linear
y = 0,96x + 0,092
r = 0,976
Sy.x = 0,605

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 1,64 e 18,1 ng/ml (aprox. 3,72 e 41,1 nmol/l).

c) Uma comparação do teste Elecsys Folate II no analisador Elecsys 2010 (y) com o teste Elecsys Folate no analisador Elecsys 2010 (x) utilizando amostras clínicas teve como resultado as correlações seguintes (ng/ml):
Número de amostras medidas: 87

Passing/Bablok¹¹
y = 0,81x + 0,63
τ = 0,862
DP (md68) = 0,535

Regressão linear
y = 0,76x + 1,00
r = 0,974
Sy.x = 0,571

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 2,60 e 19,5 ng/ml (aprox. 5,90 e 44,3 nmol/l).

Especificidade analítica

Observaram-se as seguintes reacções cruzadas:

Aminopterina	2,7%
Ácido folínico	2,3%
Ametopterina	2,3%

Bibliografia

- Rush D. Folate Supplements Prevent Recurrence of Neural Tube Defects, FDA Dietary Supplement Task Force. Nutrition Reviews 1992;50(1):22-28.
- 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.
- Dunn RT, Foster LB. Radioassay of serum Folate. Clin Chem 1973;19:1101-1105.
- Rothenberg SP, DaCosta M, Rosenberg BS. A radioassay for serum Folate: Use of a two phase sequential incubation, ligand-binding system. New Eng J Med 1972;285(25):1335-1339.
- Gutcho S, Mansbach L. Simultaneous radioassay of serum Folate and folic acid. Clin Chem 1977;23:1609-1614.
- BIO RAD Quantaphase B-12/Folate Radioassay Instruction Manual. March 1995.
- Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register. July 1, 2001;17:260-273.
- Directiva do Conselho (2000/54/CEE). Jornal Oficial das Comunidades Europeias Nº. L262 de 17 de Out., 2000.
- The New England Journal of Medicine, Volume 339, Number 15, 1063-1072
- Harrison's Principles of Internal Medicine, 14th Edition, McGraw-Hill Companies, Inc., Appendix A-2.
- Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para o diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo é concedida com esta aquisição, à excepção do direito específico de uso, adquirido através da compra deste dispositivo. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes



Folate II

Folato

de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

cobas

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.

©2005 Roche Diagnostics



 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

