

## FOLATE

**REF** A14208

---

**Finalidade prevista** O teste Access Folate é um imunoensaio quimioluminescente com partículas paramagnéticas para a determinação quantitativa dos níveis de ácido fólico no soro, no plasma (heparina) ou nos eritrócitos humanos utilizando os Sistemas de Imunoensaio Access.

---

**Resumo e explicação do teste** O ácido fólico (ou folato) é uma vitamina essencial, vital para o crescimento normal das células e para a síntese do ADN. Existe numa grande variedade de alimentos, tais como hortaliças de folhas escuras, citrinos, levedura, feijões, ovos e leite. É absorvido pelo intestino delgado e armazenado no fígado. Uma deficiência em ácido fólico pode causar a anemia megaloblástica e até mesmo graves problemas neurológicos.<sup>1,2</sup>

A deficiência em ácido fólico pode ser causada por um consumo dietético insuficiente, má absorção ou uma utilização excessiva desta vitamina, que ocorre com muita frequência durante a gravidez. O alcoolismo, a hepatite ou outras doenças hepáticas também podem causar um consumo excessivo de ácido fólico.<sup>2,3</sup> Para avaliar o estado do ácido fólico, utilizam-se os níveis de folato no soro e nos eritrócitos. O nível de folato no soro indica a ingestão recente de ácido fólico. O folato nos eritrócitos é o melhor indicador de armazenamento de ácido fólico a longo prazo. Um valor baixo de folato nos eritrócitos pode indicar uma deficiência prolongada de ácido fólico.

O ácido fólico e a vitamina B<sub>12</sub> estão ligados pela via de reacção para a síntese da metionina. Uma deficiência num dos dois leva a uma ruptura desta via e a sintomas clínicos semelhantes.<sup>1,2</sup> Uma outra consequência desta via metabólica comum é que a deficiência em vitamina B<sub>12</sub> interrompe a absorção de folato nos eritrócitos. Isto leva a um valor baixo de folato nos eritrócitos mesmo com uma ingestão adequada. Pelos motivos supracitados, frequentemente, é necessário medir ambas as vitaminas num exame clínico minucioso. O tratamento depende de qual vitamina é insuficiente.

---

**Princípios do teste** O teste Access Folate é um ensaio de receptores de ligação competitivo. Para o teste do folato no soro ou no plasma (heparina), não é necessário algum pré-tratamento. Para o teste do folato nos eritrócitos, uma amostra de sangue integral é primeiro tratada manualmente com um agente lisante composto de ácido ascórbico. Este pré-tratamento hemolisa os eritrócitos e converte as formas de ácido poliglutâmico do folato, presentes nos eritrócitos, na forma de ácido monoglutâmico predominante no soro.<sup>4</sup> A amostra proveniente do pré-tratamento do sangue integral é definida como um hemolisado.

Uma amostra de soro, plasma (heparina) ou hemolisado é tratada para que liberte folato das proteínas de ligação endógenas. A proteína de ligação do folato, anticorpos de rato antiproteína de ligação do folato, conjugado ácido fólico-fosfatase alcalina e anticorpos de captura de cabra anti-rato ligados a partículas paramagnéticas são adicionados ao recipiente de reacção. O folato da amostra compete com o conjugado ácido fólico-fosfatase alcalina pelos locais de ligação de uma quantidade limitada de proteína de ligação do folato. Os complexos resultantes ligam-se à fase sólida através dos anticorpos de rato anti-proteína de ligação do folato. Após a incubação num recipiente de reacção, os materiais ligados à fase sólida são retidos num campo magnético enquanto os materiais não ligados são removidos por lavagem. De seguida, o substrato quimioluminescente, Lumi-Phos<sup>®</sup> 530, é adicionado ao recipiente e a luz gerada pela reacção é medida com um luminómetro. A produção de luz é inversamente proporcional à concentração

de ácido fólico na amostra. A quantidade de analito presente na amostra é determinada a partir duma curva de calibração multiponto armazenada no sistema.

### Informações sobre o produto

#### Kit de reagentes Access Folate

Nº Cat. A14208: 100 determinações, 2 embalagens, 50 testes/embalagem

- Fornecido pronto para utilizar.
- Armazenar em posição vertical e refrigerar a 2–10°C.
- Manter refrigerado a 2–10°C por no mínimo duas horas antes de usar no equipamento.
- Estável até ao vencimento do prazo de validade marcado no rótulo quando armazenado a 2–10°C.
- Estável a 2–10°C por 14 dias após utilização inicial.
- Uma possível degradação pode ser indicada pela ruptura da camada de elastómero da embalagem ou por valores de controlo fora do intervalo de variação.
- Abrir a embalagem de reagente caso tenha sofrido prejuízos (p.ex. ruptura da camada elastomérica).
- Todos os anti-soros são policlonais, excepto quando indicado em contrário.

|             |  |
|-------------|--|
| <b>R1a:</b> | Anticorpos monoclonais de rato antiproteína de ligação do folato, partículas paramagnéticas revestidas com anticorpos de cabra anti-IgG de rato, tampão, albumina sérica humana (HSA). |
| <b>R1b:</b> | 1,0M de ascorbato, 0,05N de HCl, pH 5,5.   |
| <b>R1c:</b> | Proteína (bovina) do leite de ligação do folato em tampão, HSA.  |
| <b>R1d:</b> | Conjugado ácido fólico - fosfatase alcalina (bovina) em tampão, HSA.   |
| <b>R1e:</b> | 0,6M de K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> .   |

### Avisos e precauções

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- As amostras dos doentes e os produtos hemoderivados podem ser analisados rotineiramente com riscos mínimos utilizando o procedimento descrito. Contudo, deve manusear estes produtos como potencialmente infecciosos de acordo com as precauções gerais e os métodos adequados de laboratórios clínicos, independentemente da origem, tratamento ou certificação anterior. Usar um desinfectante apropriado para a descontaminação. Armazenar e eliminar estes materiais e os respectivos contentores segundo o regulamento e as normas locais.
- O material de origem humana utilizado na preparação do reagente foi testado e considerado não reactivo ao antigénio de superfície da Hepatite B (HBs Ag), aos anticorpos do vírus da Hepatite C (HCV) e aos anticorpos do vírus da Imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2). Dado que nenhum método de ensaio conhecido pode oferecer a segurança completa da ausência de agentes infecciosos, manusear os reagentes e as amostras dos doentes como potencialmente infecciosos.<sup>5</sup>
- A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Portanto, deixar fluir água em abundância nos tubos durante a eliminação de líquidos para prevenir a acumulação de azidas.<sup>6</sup>
- O ProClin 300 pode causar sensibilização cutânea. Evitar entornar ou salpicar este reagente sobre a pele ou as roupas. Em caso de contacto com este reagente, lavar com abundante água e sabão.
- Xi. Irritante: 0,6M de K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.



R 36/38: Irritante para os olhos e pele.

S 26-37: Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar luvas adequados.

- A Folha dos Dados de Segurança do Material (MSDS) está disponível a pedido.
- 

### **Colheita e preparação da amostra**

#### **Folato no soro ou no plasma (heparina)**

1. Soro e plasma (heparina) de indivíduos em jejum são as amostras recomendadas. Aconselha-se a proteger as amostras da luz para prevenir a degradação. Se o ensaio não for concluído imediatamente, refrigerar a amostra a 2–8°C. Se a amostra não estiver pronta dentro de oito horas ou no caso de amostras a serem expedidas, congelar a -20°C.<sup>7,8</sup>
2. Seguir as recomendações abaixo para manipular, analisar e armazenar amostras de sangue:<sup>9</sup>
  - Colher todas as amostras de sangue tomando as precauções habituais para a colheita venosa.
  - Deixar as amostras de soro coagularem completamente antes da centrifugação.
  - Manter as provetas sempre fechadas.
  - Dentro de duas horas após a centrifugação, transferir no mínimo 500 µL de amostra isenta de células para uma proveta de armazenamento. Tapar imediatamente a proveta com a rolha, apertando bem.
  - A Beckman Coulter, Inc. informa que as amostras congeladas podem ser armazenadas até a seis meses antes de serem testadas.
  - As amostras podem ser descongeladas somente uma vez.
3. Seguir as instruções abaixo para preparar as amostras:
  - Certificar-se de que a fibrina e a matéria celular residuais tenham sido removidas antes da análise.
  - Para a centrifugação, seguir as instruções do fabricante das provetas de colheita de sangue.
4. Cada laboratório deve determinar a aceitabilidade das próprias provetas de colheita de sangue e dos produtos de separação do soro. Estes produtos podem variar entre fabricantes diferentes e, às vezes, de um lote para o outro.
5. Não utilizar amostras hemolisadas. O nível de folato nos eritrócitos é muito maior do que o de soro ou plasma (heparina), levando a resultados falsamente elevados.

#### **Folato nos eritrócitos**

1. Recolher amostras de sangue integral em provetas contendo EDTA ou heparina. Determinar e registrar o hematócrito para utilizá-lo nos cálculos. A amostra deve ser armazenada a 2–8°C por no máximo 4 horas antes de preparar o hemolisado.
  2. Reconstituir o recipiente de agente lisante Access Red Blood Cell Folate Lysing Agent (N° Cat. A14206) com 100 mL de água deionizada. Deixar repousar até estar completamente dissolvido, no mínimo por 40 minutos. Agitar delicadamente para misturar antes do uso. A solução pode ser armazenada a 2–8°C até a 2 semanas. Deixar a solução atingir a temperatura ambiente antes de cada uso.
  3. Inverter delicadamente a amostra de sangue integral várias vezes para misturá-la bem e combinar 50 µL do sangue integral com 1 mL do agente lisante.
  4. Inverter delicadamente a mistura várias vezes e deixá-la repousar a temperatura ambiente protegida da luz por no mínimo 90 minutos. Após 90 minutos, testar o hemolisado dentro de 1,5 horas ou congelá-lo a -70°C para armazenamento ou expedição. O hemolisado pode ser armazenado a -70°C até a 30 dias. Em alternativa, o hemolisado pode ser armazenado a -20°C até a 30 dias; todavia, pode constar no resultado uma redução (normalmente, menos de 10% ) do folato presente no hemolisado de eritrócitos.
  5. Para analisar hemolisados congelados, descongelar e deixar a amostra atingir a temperatura ambiente protegida da luz. Misturar a amostra invertendo a proveta várias vezes e testar dentro de 1,5 horas.
- 

### **Materiais fornecidos**

- R1 Kits de reagentes Access Folate
-

**Materiais necessários mas não fornecidos**

1. Calibradores: Access Folate Calibrators  
Fornecido em zero e aproximadamente 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; e 20,0 ng/mL (2,3; 5,7; 11,3; 22,7; e 45,3 nmol/L).  
Nº Cat. A14207
  2. Materiais do Controlo de Qualidade (QC): material de controlo disponível no mercado.
  3. Substrato: Access Substrate  
Nº Cat. 81906
  4. Tampão de lavagem: Access Wash Buffer  
Nº Cat. 81907 (Access, Access 2, SYNCHRON LX®i)  
Nº Cat. 8547197 (UniCel® DxI)
  5. Agente lisante: Access Red Blood Cell Folate Lysing Agent  
Nº Cat. A14206
  6. Calibrador: Access Folate Calibrator S0  
Nº Cat. 33016
- 

**Comentários sobre o procedimento**

1. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para uma descrição específica da instalação, inicialização, princípios de funcionamento, características de desempenho do sistema, instruções de funcionamento, procedimentos de calibração, limitações operacionais e precauções, riscos, manutenção e solução de problemas.
  2. Misturar o conteúdo das embalagens novas (vedadas) de reagentes invertendo delicadamente a embalagem várias vezes antes de carregá-la no equipamento. Não inverter embalagens abertas (perfuradas).
  3. Usar cinqüenta cinco (55) µL de amostra para cada determinação além dos volumes mortos do recipiente da amostra e do sistema. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para o volume mínimo de amostra necessário.
  4. A unidade de medida padrão do sistema para indicar os resultados das amostras é ng/mL. Para mudar essas unidades de medida para o Sistema Internacional de Unidades (unidades do SI), nmol/L, consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda. Para converter as concentrações manualmente para o Sistema Internacional, multiplicar ng/mL pelo factor de multiplicação 2,266.<sup>8</sup>
- 

**Procedimento**

Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para obter informações sobre a gestão das amostras, a configuração dos testes, a solicitação de testes e a visualização dos resultados dos testes.

Utilizar **FOL2** como nome do teste para as amostras de soro ou plasma (heparina) e **RBC2** como nome do teste para os hemolisados de eritrócitos. A mesma embalagem de reagentes é utilizada para ambos os tipos de amostra.

---

**Detalhes de calibração**

Para todos os testes, é necessário ter uma curva de calibração activa. Para o ensaio Access Folate, a calibração é necessária a cada 28 dias. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para obter informações sobre os métodos de calibração, a configuração de calibradores, a introdução de solicitações de testes dos calibradores e a visualização de dados de calibração.

---

**Controlo de qualidade**

Os materiais de controlo de qualidade simulam as características das amostras dos doentes e são fundamentais para a monitorização do desempenho do sistema de análises imunoquímicas. Dado que as amostras podem ser analisadas a qualquer momento utilizando um formato de “acesso aleatório” em vez dum formato “por lote”, é aconselhável utilizar os materiais de controlo de qualidade a cada 24 horas.<sup>10</sup> Utilizar materiais de controlo de qualidade disponíveis no mercado que cubram pelo menos dois níveis de analito. Seguir as instruções do fabricante para a reconstituição e o armazenamento. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores médios e limites aceitáveis para garantir um desempenho adequado dos testes. Os resultados do controlo de qualidade que não estiverem dentro dos limites aceitáveis, podem

indicar resultados de testes não válidos. Examinar todos os resultados dos testes obtidos desde o último ponto de teste de controlo de qualidade aceitável para este analito. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para informações sobre como visualizar os resultados do controlo de qualidade.

---

**Resultados** Os resultados dos testes dos doentes são determinados automaticamente pelo software do sistema utilizando um modelo matemático de curva logística de quatro parâmetros ponderada (4PLC). A quantidade de analito na amostra é determinada a partir da produção de luz medida através dos dados de calibração armazenados no sistema. Os resultados dos testes dos doentes podem ser visualizados através do ecrã apropriado. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para as instruções completas sobre como visualizar os resultados das amostras.

Empregar o procedimento seguinte para calcular os resultados de folato nos eritrócitos:

1. Multiplicar o resultado do hemolisado de folato nos eritrócitos por 21 para corrigir a diluição 1:21 realizada durante a preparação do hemolisado.
2. Dividir este resultado pelo hematócrito do paciente.

$$\text{Folato nos eritrócitos (ng/mL)} = \frac{\text{folato hemolisado} \times 21}{(\text{hematócrito}/100)}$$

**Exemplo:**

Valor do folato no hemolisado = 3,5 ng/mL

Hematócrito = 40%

$$\text{Folato nos eritrócitos (ng/mL)} = \frac{3,5 \text{ ng/mL} \times 21}{(40/100)} = \frac{73,5}{0,4}$$

Folato nos eritrócitos (ng/mL) = 184 ng/mL de eritrócitos empacotados

O cálculo acima pressupõe que o valor de folato no soro ou no plasma (heparina) é baixo em relação ao valor de folato nos eritrócitos. Às vezes, isto não acontece. Usar o cálculo abaixo quando o folato no soro ou no plasma (heparina) for elevado e o folato nos eritrócitos for baixo:

$$\text{Folato nos eritrócitos (ng/mL)} = \frac{(\text{folato hemolisado} \times 21) - [\text{folato no soro} \times (1 - \text{hematócrito}/100)]}{(\text{hematócrito}/100)}$$

**Exemplo:**

Valor de folato no hemolisado = 3,5 ng/mL

Valor de folato no soro ou no plasma (heparina) = 18 ng/mL

Hematócrito = 40%

$$\text{Folato nos eritrócitos (ng/mL)} = \frac{(3,5 \times 21) - [18 \times (1 - 40/100)]}{(40/100)} = \frac{62,7}{0,4}$$

Folato nos eritrócitos (ng/mL) = 157 ng/mL de eritrócitos empacotados

---

## Limitações do procedimento

### 1. Folato no soro ou no plasma (heparina)

As amostras podem ser medidas com exactidão dentro do intervalo de análise compreendido entre o limite mínimo de detecção e o valor mais alto do calibrador (aproximadamente 0,5–20,0 ng/mL [1,1–45,3 nmol/L]).

- Se uma amostra contém uma quantidade menor que o limite mínimo de detecção para o ensaio, registar os resultados como menores que aquele valor (por ex., < 0,5 ng/mL [< 1,1 nmol/L]).
- Se uma amostra contém uma quantidade maior que o valor estabelecido do calibrador mais alto Access Folate Calibrator (S5), registar os resultados como maiores que aquele valor (por ex., > 20 ng/mL [> 45,3 nmol/L]). Em alternativa, diluir um volume de amostra com um volume do calibrador Access Folate Calibrator S0 (zero), também disponível como Access Folate Calibrator S0 N° Cat. 33016. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para as instruções sobre a introdução duma diluição de amostra numa solicitação de teste. O sistema mostra os resultados adaptados à diluição.

### 2. Folato nos eritrócitos

Se um hemolisado de eritrócitos for > 20,0 ng/mL, calcular o valor mínimo usando a equação indicada acima. Indicar o resultado como maior do que este valor mínimo. Em alternativa, diluir um volume de hemolisado de eritrócitos com um volume de agente lisante Access Red Blood Cell Folate Lysing Agent (N° Cat. A14206). Após testar o hemolisado diluído, multiplicar o valor calculado pelo factor de diluição dois, ou consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para instruções pormenorizadas sobre a análise de amostras pré-diluídas. Utilizar o valor corrigido para recalcular os eritrócitos empacotados em ng/mL através da equação indicada acima.

### 3. Nos ensaios que utilizam anticorpos, existe a possibilidade de interferência dos anticorpos heterófilos contidos na amostra do doente. Os doentes que estão regularmente em contacto com animais ou que tenham sido submetidos a imunoterapia ou a técnicas de diagnóstico que utilizam imunoglobulinas ou fragmentos de imunoglobulinas podem produzir anticorpos, por ex. HAMA, que interferem com os imunoenaios. Para além disso, outros anticorpos heterófilos, tais como os anticorpos humanos anti-cabra, podem estar presentes nas amostras dos doentes.<sup>11,12</sup>

Tais anticorpos interferentes podem produzir resultados errados. Os resultados de doentes suspeitos de ter estes anticorpos devem ser avaliados com cuidado.

### 4. Os resultados do Access Folate devem ser interpretados baseando-se no quadro clínico geral do doente, incluindo: os sintomas, a anamnese clínica, os dados de outros testes e outras informações apropriadas.

## Valores esperados

1. Cada laboratório deve estabelecer os próprios intervalos de referência para garantir uma representação adequada das populações específicas. Os intervalos de referência provenientes de diversas populações demonstram níveis maiores de folato em comparação com os dados históricos, graças à integração de ácido fólico nos alimentos.<sup>13,14,15,16,17</sup>
2. **Folato sérico:** Para estabelecer os intervalos de variação esperados, foram testados soros provenientes de 120 indivíduos sadios dos Estados Unidos. Os valores normais variaram de 3,56 para mais de 20,0 ng/mL (de 8,07 a > 45,3 nmol/L). Uma avaliação não-paramétrica com nível de confiança a 95% forneceu os seguintes intervalos:

| Unidades | Intervalo de referência |
|----------|-------------------------|
| ng/mL    | > 5,21                  |
| nmol/L   | > 11,81                 |

3. **Folato nos eritrócitos:** Para estabelecer um intervalo de variação esperado, foram testadas amostras de sangue integral provenientes de 120 indivíduos sadios dos Estados Unidos. Os valores normais variaram de 191 ng/mL a > 933 ng/mL de eritrócitos empacotados (de 433 a > 2114 nmol/L). Uma estimativa não paramétrica a 95% de nível de confiança forneceu as seguintes faixas:

| Unidades (eritrócitos empacotados) | Intervalo de referência |
|------------------------------------|-------------------------|
| ng/mL                              | > 237                   |
| nmol/L                             | > 537                   |

**Nota: os valores esperados de folato e folato nos eritrócitos devem apenas ser considerados como referência. Os dados foram obtidos de indivíduos americanos saudáveis e não podem ser aplicados a países/populações onde não ocorre a adição de ácido fólico aos alimentos.**

### Características específicas de desempenho

#### Comparação de métodos

Uma comparação entre 190 valores de folato sérico utilizando o ensaio Access Folate (N° Cat. A14208) e o teste Access Folate (formulação anterior N° Cat. 33010) do Sistema de Imunoensaio Access forneceu os seguintes dados estatísticos aplicando os cálculos de Deming:

| n   | N° Cat. 33010<br>Média (ng/mL)<br>(Intervalo de variação) | N° Cat. A14208<br>Média (ng/mL)<br>(Intervalo de variação) | Intercepção<br>(ng/mL) | Inclinação | Coefficiente de correlação<br>(r) |
|-----|---|--|------------------------|------------|-----------------------------------|
| 190 | 9,82<br>(0,56–20)   | 9,47<br>(0,53–20)  | 0,026                  | 0,962      | 0,987                             |

Uma comparação entre 21 amostras emparelhadas de soro e plasma (heparina) utilizando o kit de ensaio Access Folate forneceu os seguintes dados estatísticos aplicando os cálculos de Deming:

| n  | Intervalo de observações<br>(ng/mL) | Intercepção<br>(ng/mL) | Inclinação | Coefficiente de correlação<br>(r) |
|----|-------------------------------------|------------------------|------------|-----------------------------------|
| 21 | 6,71–18,96                          | 0,472                  | 0,955      | 0,981                             |

Uma comparação entre 164 valores de folato nos eritrócitos utilizando o teste Access Folate (N° Cat. A14208) e o teste Access Folate (formulação anterior N° Cat. 33010) do Sistema de Imunoensaio Access forneceu os seguintes dados estatísticos aplicando os cálculos de Deming:

| n   | N° Cat. 33010<br>Média<br>(ng/mL de eritrócitos<br>tamponados)<br>(Intervalo de variação) | N° Cat. A14208<br>Média<br>(ng/mL de eritrócitos<br>tamponados)<br>(Intervalo de variação) | Intercepção<br>(ng/mL de eritrócitos<br>tamponados) | Inclinação | Coefficiente de correlação<br>(r) |
|-----|---|--|---|------------|-----------------------------------|
| 164 | 542<br>(84–1186)  | 490<br>(126–1029)  | 15,93   | 0,874      | 0,917                             |

Uma comparação entre 22 amostras emparelhadas de sangue integral com EDTA e Heparina utilizando o kit de ensaio Access Folate forneceu os seguintes dados estatísticos aplicando os cálculos de Deming:

| n  | Intervalo de observações*<br>(ng/mL) | Intercepção*<br>(ng/mL) | Inclinação | Coefficiente de correlação<br>(r) |
|----|--------------------------------------|-------------------------|------------|-----------------------------------|
| 22 | 9.95–18.26                           | -0.069                  | 1.016      | 0.997                             |

\*Estes não são correctos para o factor de diluição e o hematócrito.

### Recuperação da diluição (linearidade)

A diluição volumétrica de 2 amostras séricas contendo vários níveis de ácido fólico com o calibrador Access Folate Calibrator S0 (zero) forneceu os seguintes dados:

| Amostra 1 (%)          | Concentração esperada (ng/mL) | Concentração determinada (ng/mL) | Recuperação (%) |
|------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------|
| Pura                   | N/A                           | 12,3                             | N/A             |
| 80                     | 9,8                           | 9,45                             | 96              |
| 60                     | 7,4                           | 7,29                             | 99              |
| 40                     | 4,9                           | 4,74                             | 96              |
| 20                     | 2,5                           | 2,66                             | 108             |
| 10                     | 1,25                          | 1,56                             | 127             |
| Recuperação média em % |                               |                                  | 105             |

| Amostra 2 (%)          | Concentração esperada (ng/mL) | Concentração determinada (ng/mL) | Recuperação (%) |
|------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------|
| Pura                   | N/A                           | 17,6                             | N/A             |
| 80                     | 14                            | 14,3                             | 102             |
| 60                     | 10,5                          | 11,1                             | 105             |
| 40                     | 7,0                           | 7,58                             | 108             |
| 20                     | 3,5                           | 4,08                             | 116             |
| 10                     | 1,8                           | 2,24                             | 127             |
| Recuperação média em % |                               |                                  | 112             |

### Imprecisão

O teste de folato no soro mostra uma imprecisão total abaixo de 15% da faixa do ensaio. Um estudo realizado com material de controlo de origem humana disponível no comércio e preparado internamente, incluindo um total de 40 ensaios, 2 replicados por ensaio, em 20 dias, forneceu os seguintes dados calculados consoante as directrizes NCCLS EP5-A:<sup>18</sup>

| Amostra | Média (n=80) (ng/mL) | DP total (ng/mL) | Intra-execução (%CV) | Inter-execução (%CV) | Imprecisão total (%CV) |
|---------|----------------------|------------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| Baixo   | 3,78                 | 0,20             | 4,39                 | 2,78                 | 5,20                   |
| Médio   | 6,46                 | 0,26             | 3,01                 | 2,71                 | 4,05                   |
| Alto    | 15,7                 | 0,52             | 2,78                 | 1,84                 | 3,33                   |
| QC1     | 2,35                 | 0,13             | 4,30                 | 3,45                 | 5,51                   |
| QC2     | 6,05                 | 0,29             | 4,55                 | 4,84                 | 4,84                   |
| QC3     | 11,2                 | 0,41             | 2,86                 | 2,27                 | 3,65                   |

O teste de folato nos eritrócitos mostra uma imprecisão total abaixo de 15% da faixa do ensaio. Um estudo realizado com material de controlo de origem humana disponível no comércio e preparado internamente, incluindo um total de 40 ensaios, 2 replicados por ensaio, em 20 dias, forneceu os seguintes dados calculados consoante as directrizes NCCLS EP5-A:<sup>18</sup>

| Amostra | Média* (n=80) (ng/mL) | DP total (ng/mL) | Intra-execução (%CV) | Inter-execução (%CV) | Imprecisão total (%CV) |
|---------|-----------------------|------------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| Baixo   | 3,83                  | 0,20             | 4,32                 | 3,04                 | 5,28                   |
| Médio   | 9,98                  | 0,38             | 3,05                 | 2,34                 | 3,85                   |
| Alto    | 14,6                  | 0,57             | 2,59                 | 2,90                 | 3,89                   |
| QC1     | 2,58                  | 0,12             | 3,60                 | 2,99                 | 4,69                   |
| QC2     | 9,48                  | 0,40             | 2,29                 | 4,18                 | 4,18                   |
| QC3     | 16,3                  | 0,64             | 3,25                 | 2,18                 | 3,91                   |

\* Estes não são correctos para o factor de diluição e o hematócrito.

### **Especificidade analítica/Interferências**

Amostras contendo até a 10 mg/dL (171 µmol/L) de bilirrubina e amostras lipêmicas contendo o equivalente a 1800 mg/dL (20,32 mmol/L) de trioleína, bem como amostras com 5 g/dL (50 g/L) de albumina humana adicionada à albumina endógena presente nas amostras não afetam a concentração de folato testado.

A tabela abaixo descreve a reactividade cruzada do ensaio com substâncias que têm estrutura semelhante à do folato. Os analitos foram adicionados a amostras séricas.

| <b>Substância</b> | <b>Analito adicionado</b> | <b>Reatividade cruzada (%)</b> |
|-------------------|---------------------------|--------------------------------|
| Aminiopterina     | 500 ng/mL                 | 0,2                            |
| Fenitona          | 100 µg/mL                 | < 0,1                          |
| Metptrexato       | 100 ng/mL                 | < 0,1                          |
| Ácido folínico    | 100 ng/mL                 | < 1,0                          |

### **Sensibilidade analítica**

O nível mínimo detectável de ácido fólico distinguível de zero (calibrador Access Folate Calibrator S0) com 95% de confiança é 0,5 ng/mL (1,1 nmol/L). Este valor é determinado através do processamento dum curva de calibração completa de seis pontos, controlos e 10 replicados do calibrador zero em testes múltiplos. O valor de sensibilidade analítica é interpolado a partir da curva no ponto que representa dois desvios padrão do sinal do calibrador zero.

---

## FOLATE CALIBRATORS

**REF** A14207

**Finalidade prevista** Os calibradores Access Folate Calibrators são utilizados para calibrar o ensaio Access Folate para a determinação quantitativa dos níveis de ácido fólico no soro, no plasma (heparina) ou nos eritrócitos humanos utilizando os Sistemas de Imunoensaio Access.

**Resumo e explicação do produto** A calibração dum ensaio quantitativo é o processo pelo qual as amostras com concentrações conhecidas de analito (por ex., calibradores de ensaio) são testadas como amostras de doentes a fim de medir a sua resposta. A relação matemática entre as respostas medidas e as concentrações conhecidas de analito define a curva de calibração. Esta relação matemática, ou curva de calibração, é utilizada para converter as medições URL (Unidade Relativa de Luz) de amostras de doentes em concentrações quantitativas específicas de analito.

**Rastreabilidade** A substância a ser medida (analito) nos calibradores Access Folate Calibrators tem como referência material de referência da Farmacopeia Americana (USP). O processo de rastreabilidade baseia-se na norma EN ISO 17511.

Os valores atribuídos foram estabelecidos usando amostras representativas deste lote de calibrador e são específicos para as metodologias de ensaio dos reagentes Access. Os valores atribuídos por outras metodologias podem ser diferentes. Tais diferenças, se presentes, podem ser causadas por desvios sistemáticos entre os métodos.

**Informações sobre o produto** Calibradores Access Folate Calibrators  
Nº Cat. A14207: S0-S5, 4,0 mL/recipiente

- Fornecidos prontos para utilizar.
- Armazenar a -20°C. Não descongelar mais de uma vez.
- Misturar o conteúdo invertendo delicadamente antes da utilização. Evitar a formação de bolhas.
- Estável até ao vencimento do prazo de validade marcado no rótulo quando armazenado a -20°C.
- Estável por três meses quando armazenado a 2-10°C.
- Uma possível degradação pode ser indicada por valores de controlo fora do intervalo de variação.
- Consultar o cartão de calibração para as concentrações exactas.

|                              |   |
|------------------------------|---|
| <b>S0:</b>                   | Matriz tamponada com albumina sérica humana (HSA), surfactante, < 0,1% de azida sódica e 0,25% de ProClin** 300. Contém 0,0 ng/mL (nmol/L) de folato.   |
| <b>S1, S2, S3, S4, S5:</b>   | Folato (ácido pteroilglutâmico) em matriz tamponada com concentrações de aproximadamente 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 ng/mL (2,3; 5,7; 11,3; 22,7 e 45,3 nmol/L), respectivamente, com HSA, surfactante, < 0,1% de azida sódica e 0,25% de ProClin 300. |
| <b>Cartão de calibração:</b> | 1   |

**Avisos e precauções**

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- O material de origem humana utilizado na preparação do reagente foi testado e considerado não reactivo ao antigénio de superfície da Hepatite B (HBs Ag), aos anticorpos do vírus da Hepatite C (HCV) e aos anticorpos do vírus da Imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2). Dado que nenhum método de ensaio conhecido pode oferecer a segurança completa da ausência de agentes infecciosos, manusear os reagentes e as amostras dos doentes como potencialmente infecciosos.<sup>5</sup>
- A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Portanto, deixar fluir água em abundância nos tubos durante a eliminação de líquidos para prevenir a acumulação de azidas.<sup>6</sup>
- Xi. Irritante: ProClin 300 0,25%.



R 43: Pode provocar uma sensibilização em contacto com a pele.  
S 28-37: Em caso de contacto com a pele, lavar imediata e abundantemente com água e sabão. Usar luvas apropriadas.

- A Folha dos Dados de Segurança do Material (MSDS) está disponível a pedido.

---

**Procedimento**

Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o sistema de Ajuda para obter informações sobre os métodos de calibração, a configuração de calibradores, a introdução de solicitações de testes dos calibradores e a visualização de dados de calibração. É necessária uma única curva de calibração (FOL2). As amostras de soro ou plasma (heparina) serão analisadas sob o nome de teste FOL2. Os hemolisados de eritrócitos serão analisados sob o nome de teste RBC2 que utiliza a curva de calibração e a embalagem FOL2.

---

**Detalhes da calibração**

Os calibradores Access Folate Calibrators são fornecidos em seis concentrações – zero e aproximadamente 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0 ng/mL – preparados gravimetricamente a partir de ácido fólico purificado e matriz tamponada contendo HSA. Os dados de calibração do ensaio são válidos por 28 dias.

Os calibradores são analisados em duplicado.

---

**Limitações do procedimento**

Se forem notados sinais de contaminação microbiana ou excesso de turvação num reagente, rejeitar o recipiente.

---

## RED BLOOD CELL FOLATE LYSING AGENT

**REF** A14206

**Finalidade prevista** Para a preparação de hemolisados de eritrócitos no ensaio Access Folate.

**Informações sobre o produto** Access Red Blood Cell Folate Lysing Agent  
N° Cat. A14206: 2 recipientes; 2 x 100 mL; 1 mL/teste

- Armazenar os frascos não abertos à temperatura ambiente.
- Os frascos abertos reconstituídos devem ser armazenados a 2-8°C.

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| <b>Conteúdo do recipiente</b> | Ácido ascórbico (aproximadamente 150 mg). Com cada recipiente, prepara-se 100 mL de solução de ácido ascórbico a 0,15 %. 1 mL/teste. |
|-------------------------------|--|

**Avisos e precauções** • Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

### Procedimento Preparação do hemolisado de eritrócitos

1. Recolher amostras de sangue integral em provetas contendo EDTA ou heparina. Determinar e registar o hematócrito para utilizá-lo nos cálculos. A amostra deve ser armazenada a 2-8°C por no máximo 4 horas antes de preparar o hemolisado.
2. Reconstituir o recipiente de agente lisante Access Red Blood Cell Folate Lysing Agent com 100 mL de água deionizada. Deixar repousar até estar completamente dissolvido, no mínimo por 40 minutos. Para misturar, inverter 10 vezes antes do uso. A solução pode ser armazenada a 2-8°C até a 2 semanas. Deixar a solução atingir a temperatura ambiente antes de cada uso.
3. Inverter delicadamente a amostra de sangue integral várias vezes para misturá-la bem e combinar 50 µL do sangue integral com 1 mL do agente lisante.
4. Inverter delicadamente a mistura várias vezes e deixá-la repousar a temperatura ambiente protegida da luz por no mínimo 90 minutos. Após 90 minutos, testar o hemolisado dentro de 1,5 horas ou congelá-lo a -70° para armazenamento ou expedição. O hemolisado pode ser armazenado a -70° até a 30 dias. Em alternativa, o hemolisado pode ser armazenado a -20°C até a 30 dias; todavia, pode constar no resultado uma redução (normalmente, menos de 10%) do folato presente no hemolisado de eritrócitos.
5. Para analisar hemolisados congelados, descongelar e deixar a amostra atingir a temperatura ambiente protegida da luz. Misturar a amostra invertendo a proveta várias vezes e testar dentro de 1,5 horas.

## FOLATE CALIBRATOR S0

**REF** 33016

**Finalidade prevista** O calibrador Access Folate Calibrator S0 é utilizado juntamente com o ensaio Access Folate para diluir as amostras dos doentes contendo concentrações de analito maiores que o calibrador S5 específico para aquele analito.

**Resumo e explicação do produto** O nível de analito nas amostras dos doentes podem exceder os níveis do calibrador S5 específico. Se for necessário um valor quantitativo, será preciso diluir a amostras a fim de determinar a concentração de analito.

**Informações sobre o produto** Calibrador Access Folate Calibrator S0

Nº Cat. 33016: 4 mL/recipiente

- Fornecido pronto para utilizar.
- Armazenar a -20°C. Não descongelar mais de uma vez.
- Misturar invertendo delicadamente antes da utilização. Evitar a formação de bolhas.
- Estável até ao vencimento do prazo de validade marcado no rótulo do recipiente quando armazenado a -20°C.
- Estável por três meses quando armazenado a 2–10°C.

|            |   |
|------------|---|
| <b>S0:</b> | Matriz tamponada com albumina sérica humana (HSA), surfactante, < 0,1% de azida sódica e 0,25% de ProClin** 300. Contém 0,0 ng/mL (nmol/L) de folato. |
|------------|---|

**Avisos e precauções**

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- O material de origem humana utilizado na preparação do reagente foi testado e considerado não reactivo ao antígeno de superfície da Hepatite B (HBs Ag), aos anticorpos do vírus da Hepatite C (HCV) e aos anticorpos do vírus da Imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2). Dado que nenhum método de ensaio conhecido pode oferecer a segurança completa da ausência de agentes infecciosos, manusear os reagentes e as amostras dos doentes como potencialmente infecciosos.<sup>5</sup>
- A azida sódica pode reagir com as canalizações de chumbo ou cobre formando azidas metálicas altamente explosivas. Portanto, deixar fluir água em abundância nos tubos durante a eliminação de líquidos para prevenir a acumulação de azidas.<sup>6</sup>
- Xi. Irritante: ProClin 300 0,25%.



R 43: Pode provocar uma sensibilização em contacto com a pele.  
S 28-37: Em caso de contacto com a pele, lavar imediata e abundantemente com água e sabão. Usar luvas apropriadas.

- A Folha dos Dados de Segurança do Material (MSDS) está disponível a pedido.

**Procedimento**

As amostras podem ser medidas com exactidão dentro do intervalo analítico compreendido entre o limite mínimo de detecção e o valor do calibrador mais alto do ensaio específico. Se uma amostra contém uma quantidade de analito maior que o valor estabelecido do calibrador S5, diluir a amostra seguindo as instruções de diluição contidas no folheto do kit sob “Limitações do Procedimento” na secção reagentes. Consultar os respectivos manuais de sistema e/ou o

sistema de Ajuda para as instruções sobre a introdução duma diluição de amostra numa solicitação de teste.

---

**Limitações do procedimento**

Se forem notados sinais de contaminação microbiana ou excesso de turvação no reagente, rejeitar o recipiente.

---

## Referências

- 1 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.
- 2 Chanarin I. Megaloblastic anaemia, cobalamin and folate, J Clin Pathol, 1987; 40: 978-984.
- 3 Herbert V. In Modern nutrition in health and disease, 1973; 221-244. Edited by Goodhart RS and Shils ME. Philadelphia, PA: Lea and Febiger.
- 4 Hoffbrand AV, Newcombe BFA and Mollin DL. Method of assay of red cell activity and the value of the assay as a test for folate deficiency, J Clin Pathol, 1966; 19: 17-28.
- 5 HHS Publication, 4th ed., May 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Available <http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl4/bmbl4toc.htm>
- 6 DHHS (NIOSH) Publication No. 78-127, August 1976. Current Intelligence Bulletin 13 - Explosive Azide Hazard. Available <http://www.cdc.gov/niosh>.
- 7 Mastropaolo W, Wilson MA. Effect of light on serum B12 and folate stability. Clinical Chemistry, 1993; 5: 913.
- 8 Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical chemistry, 2nd edition, 1994; W.B. Saunders Co: 2056.
- 9 Approved Guideline – Procedures for the handling and processing of blood specimens, H18-A2. 1999. National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- 10 Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory quality management: QC & QA. ASCP Press, Chicago, IL, 1989.
- 11 Kricka, L. Interferences in immunoassays – still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037.
- 12 Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.
- 13 CDC, Folate status in women of childbearing age, by race/ethnicity – United States, 1999–2000. MMWR 2002 Sep 13; 51 (36): 808-810.
- 14 Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. New England Journal of Medicine 1999; 340 (19): 1449-1454.
- 15 Choumenkovitch SF, Jacques PF, Nadeau MR, Wilson PW, Rosenberg, Selhub J. Folic acid fortification increases red blood cell folate concentrations in the Framingham study. Journal of Nutrition 2001; 131 (12): 3277-3280.
- 16 Cuskelly GJ, McNutty H, Scott JM. Fortification with low amounts of folic acid makes significant difference in the folate status in young women: implications for prevention of neural tube defects. American Journal Clinical Nutrition 1999; 70 (2): 234-239.
- 17 Wiltshire EJ, Couper JJ. Improved folate status in children and adolescents during voluntary fortification of food with folate. Journal Pediatric Child Health 2005; 40 (1-2): 44-47.
- 18 Approved Guideline – Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices, EP5-A. 1999; 19:2 Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Access, SYNCHRON LX, UniCel, DxI e o logotipo Beckman Coulter são marcas registradas da Beckman Coulter, Inc.

\*Lumi-Phos é uma marca registrada da Lumigen, Inc.

\*\*ProClin é uma marca registrada da Companhia Rohm e Haas ou de suas subsidiárias e filiais.



Fabricado por:  
Beckman Coulter, Inc.  
4300 N. Harbor Blvd.  
Fullerton, CA 92835 U.S.A.

輸入販売元:  
ベックマン・コールター株式会社  
〒105-0001  
東京都港区虎ノ門 3-5-1

Impresso nos Estados Unidos da América  
Fabricado nos Estados Unidos da América  
Revisado em Julho 2005



Beckman Coulter Ireland Inc.  
Mervue Business Park,  
Mervue, Galway,  
Ireland 353 91 774068

生产商: 贝克曼库尔特有限公司,  
美国加利福尼亚州富勒顿市, 邮编: 92835,  
电话: (001) 714-871-4848

