

Folate Reagent Kit

Instruções de Uso

Ref.: 4069

ANVISA 10009010494

REF 4069-50, 50 testes/kit

REF 4069-100, 100 testes/kit

Uso pretendido . Detecção quantitativa automática *in vitro* de folato em soro humano, utilizado para auxílio ao diagnóstico e monitoramento da deficiência de folato.

Uso profissional

[Somente para uso diagnóstico *in vitro*]

Analizador . Equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Resumo . O folato, também conhecido como ácido fólico, é um termo coletivo para um grupo de compostos estrutural e biologicamente semelhantes pertencentes à família da vitamina B. É um elemento essencial para a síntese de DNA humano, metabolismo de aminoácidos e regeneração de glóbulos vermelhos¹⁻². O folato é uma vitamina solúvel em água que serve como uma coenzima na transferência enzimática de um átomo de carbono em múltiplas vias metabólicas, e seu metabolismo é uma das reações bioquímicas mais cruciais nas células³. Em diferentes vias metabólicas, várias formas de metabólitos ativos de folato são produzidas devido à ação de diferentes enzimas, com 5-metilтетраidrofolato (5-mTHF) sendo a principal forma de folato circulante. Na via metabólica que liga o folato e a vitamina B, o metil é transferido do 5-mTHF para a vitamina B12⁴.

O corpo humano não consegue sintetizar folato por conta própria, então ele deve ser obtido por meio da dieta. Fatores como razões genéticas, ingestão insuficiente (resultante de uma dieta pobre em frutas e vegetais, perda excessiva devido a métodos de cozimento), utilização reduzida (devido à má absorção causada por doenças gastrointestinais, deficiência enzimática, intoxicação alcoólica ou uso de medicamentos anti-folato) ou aumento da demanda (em mulheres grávidas) podem levar à deficiência de folato¹. Os sintomas típicos da deficiência de folato incluem anemia macrocítica, caracterizada por sangue periférico e medula óssea anormais: aumento de hemácias ovais e segmentação excessiva de núcleos de neutrófilos. A medula óssea mostra uma aparência hiperplásica, com a série gigante de hemácias imaturas respondendo por 30% a 50% do total de células da medula óssea⁵. Como as deficiências de folato e vitamina B12 podem afetar a síntese de DNA, levando à anemia macrocítica, é necessário medir simultaneamente o folato e a vitamina B12 para determinar a causa da anemia⁶. Os níveis de folato no soro ou plasma refletem a ingestão recente de folato, enquanto o folato dentro das hemácias reflete com mais precisão os níveis de folato no tecido. A concentração diminuída de folato em hemácias está intimamente associada à anemia macrocítica.

Níveis anormais de folato ou deficiência de vitamina B12 também podem resultar em níveis elevados de homocisteína sérica. Estudos epidemiológicos indicam que a hiper-homocisteinemia está associada a

um risco aumentado de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares⁷. Além disso, níveis anormais de folato estão ligados a condições como tumores, defeitos do tubo neural, lábio leporino e fenda palatina, complicações no final da gravidez, bem como distúrbios neurodegenerativos e psiquiátricos⁸⁻⁹.

Princípio do teste . O ensaio Folate é um imunoensaio com princípio competitivo para determinação quantitativa de folato em amostras de soro humano usando a técnica de análise por quimioluminescência (CLIA). Na primeira etapa, o folato ligado é liberado por meio da incubação da amostra com o reagente de pré-tratamento 1 e 2.

Na segunda etapa, por meio da incubação da amostra pré-tratada, com as micropartículas paramagnéticas revestidas com estreptavidina e com a proteína de ligação ao folato biotinilada, é formado um complexo: proteína de ligação ao folato - folato.

Na terceira etapa, após a adição do conjugado folato marcado com acridina, os sítios ainda não ocupados da proteína de ligação ao folato são preenchidos, com a formação do complexo: proteína de ligação ao folato – conjugado folato marcado com acridina.

Finalmente, as soluções de Pre-Trigger e Trigger são adicionadas à reação, resultando numa reação quimioluminescente que é medida em Unidades Relativas de Luz (RLUs).

Existe uma relação indireta entre a quantidade de folato presente na amostra e as RLUs detectadas pelo equipamento automático dedicado aos reagentes de quimioluminescência da marca Labtest.

Os reagentes são calibrados por uma *Master Curve*, disponibilizada via e adaptada ao analisador por meio e 2 calibradores que acompanham o kit.

Reagentes

Reagentes – soluções de trabalho

REF	4069-50	4069-100
Testes por kit	50	100
RT 1	3,5 mL	6,0 mL
RT 2	3,5 mL	6,0 mL
M	3,5 mL	6,0 mL
PT 1	2,5 mL	4,0 mL
PT 2	2,5 mL	4,0 mL
PT 3	2,5 mL	4,0 mL
CAL 1	1,0 mL	1,0 mL
CAL 2	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 1	1,0 mL	1,5 mL
CONTROL 2	1,0 mL	1,5 mL
Tampas de silicone	6	6

R1 - Conjugado contendo folato marcado com acridina em tampão.

R2 - Folato biotilado em tampão com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.

M - Micropartículas revestidas com estreptavidina em tampão com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.

PT1 - Tampão, estabilizante e sal sulfonado.

PT2 - Solução alcalina.

PT3 - Tampão.

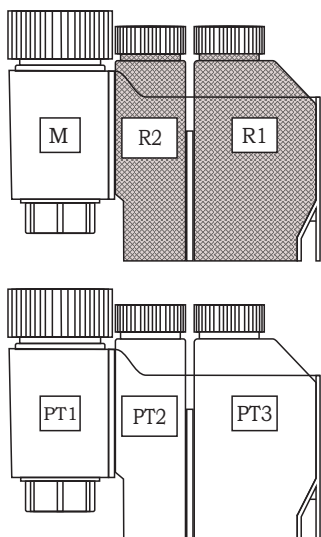
CAL 1 - Preparação liofilizada. Antígeno folato em tampão com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.

CAL 2 - Preparação liofilizada. Antígeno folato em tampão com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.

CONTROL 1 - Controle Positivo 1 (nível baixo): Preparação liofilizada. Antígeno folato em tampão TRIS com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.*

CONTROL 2 - Controle Positivo 2 (nível alto): Preparação liofilizada. Antígeno folato em tampão TRIS com estabilizadores de proteína. Conservante: agente antimicrobiano.*

* Para média e intervalo ver item Valores especificados para os controles.



Advertências e precauções

- Apenas para uso de diagnóstico *in vitro*.
- Tome os cuidados habituais de segurança necessários para manuseio de todos os reagentes de laboratório.
- O descarte de todo o material residual deve ser feito de acordo com as diretrizes locais.

- Ficha de segurança disponível no site: www.labtest.com.br
- Evite a formação de espuma em todos os reagentes e tipos de amostras (amostras, calibradores e controles).
- Não use após a data de validade.
- Siga as recomendações de modo exato para resultados corretos.
- Não misture lotes de reagentes.
- A rack deve ser mantida na posição vertical.
- Não separar o volume dos componentes PT1, PT2, PT3, R1, R2 e M do kit em aliquotas.

Precauções de segurança

Cuidado. Este produto exige a manipulação de amostras humanas. É recomendado que todos os materiais de origem humana sejam considerados potencialmente infecciosos. Biossegurança de nível 2 ou outras práticas de biossegurança apropriadas devem ser usadas para materiais que contenham ou que haja suspeita que contenham agentes infecciosos.

Manuseio dos reagentes

1. Não retirar os frascos dos reagentes da rack.
2. Antes de carregar os reagentes no equipamento, homogeneizar suavemente por inversão e inspecionar visualmente o fundo do Reagent M para garantir que todas as partículas foram ressuspendidas. Após a mistura, coloque o reagente na posição vertical por 1 hora antes de usar, para garantir que as bolhas que possam ter se formado se dissipem. As bolhas podem interferir na detecção do nível de reagente no frasco e causar aspiração insuficiente, afetando negativamente os resultados.
3. Substitua a tampa original dos reagentes PT1, PT2, PT3, R1, R2 e M pelas tampas de silicone antes de inserir a rack de reagentes no equipamento.
4. A rack deve ser mantida na posição vertical, durante a utilização e armazenamento do kit.
5. Homogeneizar suavemente os calibradores e controles antes do uso.
6. Amostras, calibradores e controles não devem exceder o tempo total de 2 horas destampados e fora de refrigeração, devido a possíveis efeitos de evaporação. Recomenda-se que logo após a pipetagem os mesmos sejam retirados do equipamento e retornados a sua condição de armazenamento padrão.

Preparação dos calibradores e controles. Dissolver cuidadosamente o conteúdo de cada calibrador ou frasco de controle adicionando a correta quantidade de água destilada ou deionizada. Manter o frasco em repouso fechado por 15 minutos para sua reconstituição. Misturar cuidadosamente, evitando a formação de espuma. Colocar os calibradores e controles na rack verde dedicada para frascos liofilizados e testar no equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência da marca Labtest.

Atenção: Nos casos em que sejam feitas aliquotas dos calibradores e controles reconstituídos, deve-se manter a embalagem original para a leitura do código de barras pelo equipamento. O volume da aliquota deve considerar o volume necessário por teste e o volume morto e/ou adicional descritos no manual do equipamento.

A quantidade de água destilada ou deionizada para reconstituição dos calibradores e controles é listada abaixo:

REF	4069-50	4069-100
CAL 1	1,0 mL	1,0 mL
CAL 2	1,0 mL	1,0 mL
CONTROL 1	1,0 mL	1,5 mL
CONTROL 2	1,0 mL	1,5 mL

Armazenamento e estabilidade . Não congele. Armazene o Folate Reagent Kit Ref. 4069 na posição vertical para garantir a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática antes do uso. Em caso de tombamento da rack de reagentes, realizar nova calibração e conferir a recuperação dos valores dos controles para garantir que o desempenho do produto não tenha sofrido alteração.

Estabilidade dos reagentes:

Fechado a 2 - 8 °C	até a data de validade apresentada
Aberto a 2 - 8 °C	60 dias
On board	45 dias

Os calibradores e controles liofilizados são estáveis até a data de vencimento indicada.

Estabilidade dos calibradores/controles reconstituídos:

Armazenado a 25 °C (± 5 °C)	8 horas
Armazenado a 2-8 °C	24 horas
Armazenado a -20 °C (± 5 °C)	45 dias (evite congelar ou descongelar por mais de 3 vezes)

Indicações de deterioração dos reagentes . A deterioração de reagentes pode ser indicada quando ocorrer um erro de calibração ou um valor de controle estiver fora da faixa especificada. Os resultados de testes associados são inválidos e as amostras devem ser testadas novamente. A recalibração do ensaio pode ser necessária.

Coleta e preparação de amostras . Utilizar soro. Estável por 8 horas a 20-25°C, 72 horas a 2-8°C, 28 dias a -20 °C (± 5°C) ou mais frio. Evite mais de 3 ciclos de congelamento/descongelamento. Amostras contendo precipitados devem ser centrifugadas antes da execução do ensaio. Para resultados exatos, amostras de soro devem estar sem fibrina, hemácias e outros materiais particulados. Amostras de soro de pacientes que receberam terapia anticoagulante ou trombolítica podem conter fibrina, devido à formação incompleta de coágulo.

Verifique se as amostras, calibradores e controles estão a 20-25°C antes da medição. Devido a possíveis efeitos de evaporação, amostras, calibradores e controles nos analisadores devem ser analisados/medidos em até 2 horas.

Procedimento

Materiais fornecidos . Consulte a seção “Reagentes – soluções de trabalho” para reagentes.

Materiais necessários e não fornecidos

1. Concentrated Wash Buffer Ref. 4001 ou Wash Buffer Ref.4100.
2. Trigger Solution Ref. 4002.

3. Pre-Trigger Solution Ref. 4003.
4. System Maintenance Fluid Ref. 4004.
5. Sample Diluent A Ref. 4060.
6. Água deionizada ou destilada.
7. Cubetas de reação para o equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Procedimento de ensaio . Todas as informações necessárias para a operação correta são lidas pelo equipamento a partir dos respectivos códigos de barras e *QR Code*. Para um melhor desempenho do ensaio, consulte o manual do usuário para obter instruções específicas do analisador.

Após a etapa de homogeneização e repouso de 1 hora insira os reagentes na bandeja de reagentes do analisador. O sistema regula automaticamente a temperatura dos reagentes.

O volume de amostra necessário para um teste é de 50 µL sem considerar o volume morto e volume adicional na pipetagem da amostra, descritos no manual do equipamento.

Calibração

Rastreabilidade: Este método é rastreável ao material de referência World Health Organization International Standard 03/178. Depois que uma calibração é aceita e armazenada, todas as amostras subsequentes podem ser testadas sem calibração adicional. Uma nova calibração deve ser executada nas seguintes condições:

- Um kit de reagente de um novo lote seja utilizado.
- Quando os controles da qualidade não atenderem os limites estabelecidos.
- Depois de 28 dias, quando utilizado o mesmo lote de reagente.
- Após a manutenção de peças ou subsistemas críticos, ou após a execução dos procedimentos de serviço no analisador.

Controle da qualidade . O requisito de controle recomendado para o ensaio Folate é que uma amostra simples de cada nível de controle seja testada uma vez a cada 24 horas a cada dia de uso. Os intervalos e limites de controle devem ser adaptados para cada requisito individual de laboratório. Os valores obtidos devem estar dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer medidas corretivas que devem ser tomadas, se os valores estiverem fora dos limites definidos. Se necessário, repita a medição das amostras envolvidas. Siga regulamentações governamentais e diretrizes locais aplicáveis para controle da qualidade, por exemplo “*Basic QC Practices*” (“Práticas básicas de CQ”), de James O. Westgard, para recomendações sobre práticas de controle da qualidade de laboratório.

Valores especificados para os controles . Os valores especificados para o CONTROL 1 e para o CONTROL 2 podem ser encontrados após a leitura de seu *QR Code*, presente na rack de reagente, pelo equipamento automático, dedicado aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest.

Para o equipamento Vercentra CS-1500: após a leitura da *QR Code*, deve-se clicar no ícone CTL, que é a interface de Controle da Qualidade, e selecionar o parâmetro a ser analisado. Para consultar o limite superior UL (*Upper Limit*), o inferior LL (*Lower Limit*) e a média (*Target*), deve-se

selecionar o nível e o lote de controle que será avaliado.
Para outros modelos de equipamentos, dedicados aos reagentes de quimioluminescência, da marca Labtest: consultar o manual do usuário.

Esses valores também podem ser encontrados no certificado de análise de cada lote do produto que está disponível no site www.labtest.com.br.

Resultados

Cálculos . O ensaio Folate utiliza um método de redução de dados com adequação de curva logística de 4 parâmetros (4 PLC) para gerar a calibração e os resultados.

Procedimentos de diluição de amostra . Amostras com concentrações de folato acima da faixa de medição podem ser diluídas com Sample Diluent A Ref. 4060. A diluição recomendada é 1:4 (automaticamente pelos analisadores ou manualmente).

Para uma diluição de 1:4, adicione 100 µL da amostra do paciente em 300 µL de Sample Diluent A Ref. 4060.

Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição.

Após a diluição pelos analisadores, o software considera automaticamente a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Limitações do procedimento

- Os resultados devem ser usados em conjunto com outros dados, por exemplo, sintomas, resultados de outros testes e impressões clínicas.
- Se os resultados de folato forem inconsistentes com evidências clínicas, testes adicionais são recomendados.
- A hemólise pode aumentar significativamente os valores de folato devido às altas concentrações de folato nos glóbulos vermelhos. Portanto, amostras hemolisadas não são adequadas para uso neste ensaio. As amostras para determinações de folato devem ser coletadas de pessoas em jejum.
- As amostras não devem ser coletadas de pacientes recebendo terapia com altas doses de biotina (> 5 mg/dia) até pelo menos 8 horas após a última administração de biotina.
- É contraindicado medir amostras de pacientes recebendo terapia com certos produtos farmacêuticos, por exemplo, metotrexato ou leucovorina, devido à reatividade cruzada da proteína de ligação ao folato com esses compostos.
- O valor do ensaio de folato deve ser usado em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico.

Características de desempenho . Dados representativos de desempenho são apresentados nesta seção. Os resultados obtidos em laboratórios individuais podem variar.

Limite inferior da medição . O limite de quantificação de 1,5 ng/mL foi obtido utilizando a menor concentração do analito que pode ser medida de forma reprodutível com um Coeficiente de Variação (CV) ≤ 20%.

Faixa de medição . 1,5-20 ng/mL (com base nas recomendações do CLSI EP06-A). Os valores abaixo do limite de detecção são reportados como < 1,5 ng/mL. Os valores acima da faixa de medição são

reportados como > 20 ng/mL.

Estudo de comparação de métodos .

O método proposto foi comparado com o método de tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	58	
Equação	Método Labtest = 0,988 x Método comparativo + 0,2455	
Coeficiente de correlação	0,9770	

Valores esperados . Os valores de folato foram encontrados em amostras de 129 indivíduos saudáveis testados: 3,24 – 19,82 ng/mL (95° percentil).

Cada laboratório deve investigar a transferibilidade dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar suas próprias faixas de referência.

Cada laboratório deve investigar a capacidade de transferência dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar seus próprios intervalos de referência.

Precisão . A precisão foi determinada utilizando o reagente Folate Reagent Kit Ref. 4069, amostras de soro humano agrupadas e controles, de acordo com o protocolo (EP15-A3) do CLSI (Instituto de Normas Clínicas e de Laboratório): as amostras foram testadas 5 vezes por dia por um período de 5 dias (n = 25). Repetibilidade CV ≤ 10 % e imprecisão intra-laboratorial ≤ 12%.

Interferência

O Folate Reagent Kit Ref. 4069 não apresentou interferência significativa das substâncias citadas a seguir:

Substância potencialmente interferente	Concentrações testadas
Bilirrubina	≤ 20 mg/dL
Triglicérides	≤ 3000 mg/dL

Especificidade analítica . Ao avaliar a especificidade analítica do Folate Reagent Kit Ref. 4069, o ensaio não apresentou interferência significativa das substâncias a seguir:

Substância potencialmente interferente	Concentração testada
Aminopterina	≤ 500 ng/mL
Ácido Folinico	≤ 100 ng/mL
Metotrexato	≤ 100 ng/mL

Referências

- Francesco, S., Giscardo, P. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. Xenobiotica 44(5), 480-488 (2014).
- Fakhira, H. N., Aga, S. S., Bashir, A. G. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. Gene 533 (1), 11-20

(2014).

3. Anne, S. T., Dean, R. A. Compartmentalization of Mammalian Folate-Mediated One-Carbon Metabolism. Annual Review of Nutrition 30, 57-81 (2010).
4. Aatish, M., Divika, S., Shilpa, T., et al. Effect of imbalance in folate and vitamin B12 in maternal/parental diet on global methylation and regulatory miRNAs. Nature-Scientific Reports 9, 17602 (2019).
5. Castellanos-Sinco, H. B., et al. Megaloblastic anaemia: Folic acid and vitamin B12 metabolism. Rev Med Hosp Gen Méx 78(3), 135-143 (2015).
6. Arduino, A. M. Folic acid, inflammation, and atherosclerosis: false hopes or the need for better trials? Clin Chim Acta 367(1-2), 11-19 (2006).
7. Ebara, S. Nutritional role of folate. Congenital anomalies 57(5), 138-141 (2017).
8. Jan, D. van G., Herbert, H., et al. Folic acid and primary prevention of neural tube defects: A review. Reproductive Toxicology 80, 73-84 (2018).
9. Reynolds, E. H. The neurology of folic acid deficiency. Handb Clin Neurol 120, 927-943 (2014).

Para informações sobre outras apresentações comerciais consulte o site www.labtest.com.br ou entre em contato com o SAC.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A Labtest Diagnóstica garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.



Labtest Diagnóstica S.A.

CNPJ: 16.516.296/0001-38

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600 - CEP: 33240-152

Lagoa Santa, Minas Gerais - Brasil - www.labtest.com.br

Serviço de Apoio ao Cliente | 0800 031 3411 (Ligação Gratuita)

e-mail: sac@labtest.com.br

Ref.: 171125(01)

Copyright by Labtest Diagnóstica S.A.
Reprodução sob prévia autorização

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro

Symbols used with IVD devices

	Conteúdo suficiente para < n > ensaios Contenido suficiente para < n > ensayos Sufficient content for < n > trials		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk
	Prazo de validade (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Fecha de expiración (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Expiration date (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Corrosivo Corrosivo Corrosive
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura límite (conservar a) Temperature limit (store at)		Tóxico Tóxico Poison
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Marca CE Marcado CE CE Mark
	Carcinogénico/mutagénico e/ou sensibilizante à respiração Carcinogénico/mutagénico y/o sensibilizante respiratorio Carcinogenic/mutagenic and/or respiratory sensitizer		Atenção Atención Attention
	Tóxico para os organismos aquáticos Tóxico para los organismos acuáticos Toxic for aquatic organisms		Data de fabricação Fecha de fabricación Date of manufacture
	Gases/líquidos combustíveis Gases/líquidos oxidantes Oxidizing gases/liquids		Fabricante Fabricante Manufacturer
	Substância inflamável Sustancia inflamable Flammable substance		Liofilizado Liofilizado Lyophilized
	Período após abertura Período post-abertura Period after-opening		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Produto de uso único Producto de un solo uso Single use product		Número do catálogo Número de catálogo Catalog Number
	Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control
	Material Calibrador/Padrão Material Calibrador/Estándar Calibrator/Standard Material		Controle negativo Control negativo Negative control
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In vitro diagnostic medical device		Controle positivo Control positivo Positive control
	Reagente contendo micropartículas Reactivo con micropartículas Reagent with microparticles		Reagente Reactivo Reagent
	Identificador único do dispositivo Identificador único del dispositivo Unique device identifier		Pré-Tratamento Pretratamiento Pre-Treatment
	Cartucho contendo reagente Cartucho que contiene reactivo Cartridge containing reagent		Instalar até Instalar hasta Install before

Ref.: 031125 |