

 IMMULITE[®]
2000

Folic Acid

DPC[®]

IMMULITE® 2000 Folic Acid

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of folic acid in serum, heparinized plasma or ascorbic acid-treated whole blood, as an aid in clinical diagnosis and treatment of anemia.

Catalog Number: **L2KFO2** (200 tests),
L2KFO6 (600 tests)

Test Code: **FOL** Color: **Orange**

CDC Analyte Identifier Code: 1907
CDC Test System Identifier Code: 10418
CLIA Complexity Category: Moderate

Summary and Explanation

Folic acid (folate) and vitamin B12 are nutrients essential to hematopoiesis.¹ Megaloblastic anemia is almost always due to lack of one of these two vitamins.¹ Circulating folate levels are usually normal or elevated in vitamin B12 deficiency, but red cell folate levels are frequently low in this condition.²

Folate deficiency is commonly encountered as a result of dietary deficiency (as in alcoholism) or increased demand for this vitamin (as in pregnancy).^{1,3} Unlike vitamin B12, folate is a heat-labile vitamin susceptible to loss by prolonged cooking. Accordingly, the prevalence of folate deficiency exhibits major demographic variations, apparently reflecting differences in dietary and culinary habits.⁴

Circulating folate levels, being strongly influenced by recent intake, are unreliable as an index to tissue stores.^{2,5,6} Thus, folate levels measured in serum or plasma may be normal in the face of folate deficiency. Conversely, circulating levels may be low long before tissue stores have been exhausted.^{2,6} Accordingly, it is important to measure red cell folate levels whenever serum or plasma levels are measured.^{5,7,8}

Principle of the Procedure

Competitive immunoassay.

The IMMULITE 2000 performs a 2-cycle, on-board sample treatment of patient serum, plasma or ascorbic acid-treated whole blood (for measuring red cell folate). Sample, along with ligand-labeled folic acid, is first treated with dithiothreitol (DTT), in a reaction tube containing no bead, and then with sodium hydroxide/ potassium cyanide (NaOH/KCN), in a second treatment cycle. The treated sample is transferred to a second reaction tube containing a murine anti-folate binding protein antibody-coated polystyrene bead and folate binding protein (FBP). During a 30-minute incubation, folic acid released from binding proteins in the patient sample competes with ligand-labeled folic acid for binding with FBP. The bead is washed and alkaline phosphatase labeled anti-ligand is added. During the final 30-minute incubation, the alkaline phosphatase labeled anti-ligand binds to the ligand-labeled folate that was bound to the bead during the first incubation. The unbound enzyme conjugate is removed by centrifugal wash. Substrate is added and the procedure continues as described for typical immunoassays in the Operator's Manual.

Incubation Cycles: 4 × 30 minutes. 2 test positions per assay: 1 sample treatment cup; 1 immunoreaction cup.

Cycles 1 and 2: Alkaline denaturation of endogenous binding proteins.

Cycles 3 and 4: Protein binding and Immunoreaction.

Folic Acid/Vitamin B12 Panel: To achieve maximum assay throughput, patient samples for folic acid and vitamin B12 should be run alternately, beginning with a folic acid sample. See Operator's Manual on creating a panel.

Specimen Collection

Patient must be in a fasting state.¹⁰

For whole blood and red cell folic acid determinations, use fresh heparinized or EDTA whole blood. The patient's hematocrit must be known in order to translate whole blood into red cell folic acid results, which are expressed as nanograms per milliliter (ng/mL) of packed red blood cells. Moreover, to calculate the red cell folic acid result exactly, the

patient's serum folic acid level must also be known.

EDTA plasma should not be used as a sample type.

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed serum samples are inappropriate for analysis.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 Folic Acid has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Serum or Heparinized Plasma

Volume Required: 50 µL serum or plasma

Storage: 8 hours at 2–8°C, or 6–8 weeks at –20°C.¹² Avoid excessive exposure to direct light.

Whole Blood (*Red Cell Folic Acid*)

Volume Required: 100 µL *fresh* heparinized or EDTA whole blood (for preparation of hemolysates).

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large

volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chloramphenicol, at concentrations less than 0.1 g/dL has been added as a preservative. Chloramphenicol is known to cause cancer; this disclosure is required by the state of California.

NaOH/KCN: Solution contains cyanide. Avoid all bodily contact.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

Folic Acid Bead Pack (L2FO12)

With barcode. 200 beads, coated with murine monoclonal anti-folic acid binding protein. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KFO2: 1 pack. **L2KFO6:** 3 packs.

Folic Acid “A” Reagent Wedge (L2FOA2)

With barcodes. Wedges (labeled “A”), each containing 15 mL dithiothreitol (DTT) in buffer, 18.1 mL ligand-labeled folic acid in buffer, and 15 mL NaOH/KCN (NH₄CN) in buffer, with preservative. Prior to opening, stable at 2–8°C until expiration date. *After opening*, stable at 2–8°C for 14 days.

L2KFO2: 3 wedges. **L2KFO6:** 6 wedges.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

Folic Acid “D” Reagent Wedge (L2FOD2)

With barcodes. Wedges (labeled “D”) containing 11.5 mL folate binding protein in buffer; 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to anti-ligand in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KFO2: 1 wedge. **L2KFO6:** 3 wedges.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

Folic Acid Adjustors (LFOL, LFOH)

Two vials (Low and High) of lyophilized folic acid in a human protein-based matrix, with preservative. Reconstitute each vial with **3.0 mL** sterile distilled water, and mix by gentle inversion. Stable at 2–8°C for 30 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KFO2: 2 sets. **L2KFO6:** 2 sets.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

Vitamin B12/Folic Acid Sample Diluent (L2FVZ)

For running red blood cell folic acid, and for on-board dilution of high serum samples. 25 mL of concentrated (ready-to-use), vitamin B12/folic acid-free human protein-based matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader.

L2FVZ: 3 labels

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

L2ZT: 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Sample Diluent Tube Caps

Ascorbic Acid: Freshly prepared 0.1% solution

CON6: Tri-level, multi-constituent control

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes; controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions,

adjustment, assay and quality control procedures.

Both Reagent Wedge A (L2FOA2) and Reagent Wedge D (L2FOD2) must be loaded onto the instrument prior to assay.

Recommended Adjustment Interval:
4 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of folic acid.

Preparation of Hemolysates: Collect the whole blood sample and determine the hematocrit. Lyse the cells in the sample by preparing a 1-in-5 dilution of the sample (fully suspended) in *freshly* prepared 0.1% ascorbic acid solution (i.e., mix 100 µL of whole blood with 400 µL of 0.1% ascorbic acid). Do not use sodium ascorbate.⁹ Vortex and let stand for 40 – 180 minutes at room temperature (15–28°C) in the dark.¹⁰

Storage of Hemolysates: 3 hours at 2–8°C, or 2 weeks at –20°C.^{10,11} Avoid excessive exposure to direct light.

Following the incubation period, place the treated patient sample onto a sample rack. Make sure the Vitamin B12/Folic Acid Sample Diluent (L2FVZ) is loaded onto the sample rack. When ordering Folic Acid for hemolysates, you must order the test as an on-board dilution (X5), as well as a manual dilution (X5, to account for the ascorbic acid treatment). See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for Dilution of samples and Manual Dilutions.

Calculations

Whole Blood Results

Whole blood folic acid results will be displayed with on-board and manual dilution factors automatically applied.

(Note: The IMMULITE 2000 accounts for both the 1-in-5 on-board dilution made with the sample diluent and the off-line 1-in-5 manual dilution made with ascorbic acid.)

Red Cell Results

For an approximate measure of the packed red cell folic acid, in ng/mL, multiply the whole blood folic acid concentration (R) by 100/H, where H is the hematocrit *in percent*.

$$\text{Red Cell Folic Acid} \approx R \times (100 / H)$$

Strictly speaking, the serum folic acid contribution should be subtracted from the whole blood folic acid concentration before multiplying by $100/H$. Using the patient's serum folic acid level S , the exact equation is:

$$\text{Red Cell Folic Acid} = (R - [S \times (100 - H) / 100]) \times (100 / H)$$

The term in the square brackets is, however, in most cases so small compared to the term R that it may be justifiably neglected.

Expected Values

Because folic acid levels are strongly influenced by diet and dietary supplementation, population-based reference limits can show marked demographic differences. In the United States, for example, fortification of enriched grain products, as required by the Food and Drug Administration since 1996, has led to an estimated doubling of the mean plasma folate level among subjects not using vitamin supplements,¹³ and a decrease in the prevalence of low folate levels, i.e. levels below 3 ng/mL (7 nmol/L).¹³ Fortification programs can be expected to have a similar impact on whole blood and red cell folate levels, which are better measures of tissue stores.

Based on its relationship to DPC's IMMULITE Folic Acid (see Method Comparison), the assay can be expected to have the same reference limits. Note: the reference range study on which the IMMULITE Folic Acid limits are based was performed in the US prior to the FDA fortification requirements.

Serum Folic Acid	3 – >15 ng/mL (6 – >34 nmol/L)
Whole Blood Folic Acid	43 – 295 ng/mL (97 – 668 nmol/L)
Red Cell Folic Acid	93 – 641 ng/mL (212 – 1,453 nmol/L)

Laboratories should establish the appropriateness of adopting these reference ranges.

Limitations

The folate binding protein employed in the Reagent Wedge crossreacts to some extent with the "anti-folate" drug methotrexate (MTX), a compound used in the chemotherapy of cancer. (See "Specificity" section.) Since high-dose infusions of methotrexate may result in circulating levels of 45,000 ng/mL initially and levels in the order of 2,000 ng/mL 48 hours later, the kit should not be used for folic acid measurements on patients currently receiving the drug. Moreover, great caution must be exercised when interpreting folic acid levels on patients who have recently undergone therapy with methotrexate or any other drug with a similar structure.

Folic acid results near the lower limit of normal should be interpreted with caution.¹⁰

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:
ng/mL \times 2.266 \rightarrow nmol/L

Reportable Range: 1 – 15 ng/mL
(2.3 – 34 nmol/L).

Analytical Sensitivity: 0.8 ng/mL
(1.8 nmol/L).

Intraassay Precision: Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

Interassay Precision: Statistics were calculated for samples assayed in 12 different runs. (See "Interassay Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with three folic acid solutions (20, 70 and 180 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for folic acid. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Hemolyzed samples are unsuitable for serum folate determinations.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 5,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 9 volunteers into plain, heparinized and Becton Dickinson SST[®] vacutainer tubes. By linear regression:

(Heparin) = 1.05 (Serum) – 0.36 ng/mL
r = 0.996

(SST) = 0.98 (Plain Tubes) – 0.06 ng/mL
r = 0.997

Means:

16 ng/mL (Serum)
16 ng/mL (Heparin)
15 ng/mL (SST)

Method Comparison (Serum): The assay was compared to DPC's IMMULITE Folic Acid on 143 serum samples (Concentration range: approximately 1.2 to 14.7 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.95 (IML) – 0.46 ng/mL
r = 0.978

Means:

7.5 ng/mL (IMMULITE 2000)
8.5 ng/mL (IMMULITE)

Method Comparison (Hemolysates):
The assay was compared to DPC's

IMMULITE Folic acid on 49 samples (Concentration range: approximately 46 to 260 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.18 (IML) – 29 ng/mL
r = 0.981

Means:

128 ng/mL (IMMULITE 2000)
134 ng/mL (IMMULITE)

References

1) Herbert V. The nutritional anemias. *Hosp Pract* 1980 Mar;15(3):65-83,87-9. 2) Lindenbaum J. Status of laboratory testing in the diagnosis of megaloblastic anemia. *Blood* 1983;61:624-7. 3) Colman N. The radioisotopic investigation of anemia. *Ligand Quarterly* 1981 Fall;4(3):24-30. 4) Grasbeck R. Biochemistry and clinical chemistry of vitamin B12 transport and the related diseases. *Clin Biochem* 1984;17:99-107. 5) Cooper BA. Folic Acid: its metabolism and utilization. *Clin Biochem* 1984;17:95-8. 6) McNeely MDD. Folic Acid assay. In: Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Chemistry*. St. Louis: CV Mosby, 1984: 1402-6. 7) Allen RH. Clinical role and current status of serum cobalamin (vitamin B12) assays. *Ligand Quarterly* 1981 Fall;4(3):37-44,67. 8) Chen I-W, et al. B12. In: Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Chemistry*. St. Louis: CV Mosby, 1984: 1396-1400. 9) Netteland B, Bakke OM. Inadequate sample preparation as a source of error in determination of erythrocyte folate by competitive binding radioassay. *Clin Chem* 1977;23:1505-6. 10) Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994:2056. 11) Kubasik NP, Graham M, Sine HE. Storage and stability of folate and vitamin B-12 in plasma and blood samples. *Clinica Chimica Acta* 1979;95:147-149. 12) Tietz NW, editor. *Clinical guide to laboratory tests*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995:246. 13) Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, et al. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *New Engl J Med* 1999;340:1449-54.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

The Quality System of Diagnostic Products Corporation is registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

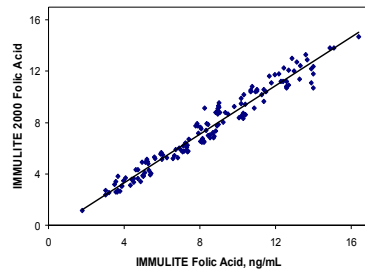
Intraassay Precision (ng/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	1.6	0.11	6.9%
2	7.0	0.29	4.1%
3	10	0.24	2.4%

Interassay Precision (ng/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	1.6	0.14	8.8%
2	7.4	0.42	5.7%
3	11	0.57	5.2%

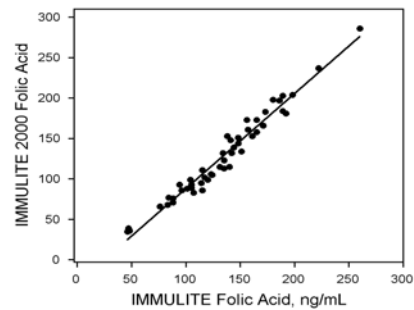
Method Comparison (Serum)



$$(IML\ 2000) = 0.95 (IML) - 0.46\ \text{ng/mL}$$

$$r = 0.978$$

Method Comparison (Hemolysates)



$$(IML\ 2000) = 1.18 (IML) - 29\ \text{ng/mL}$$

$$r = 0.981$$

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	6.68	—	—
	4 in 8	3.45	3.34	103%
	2 in 8	1.78	1.67	107%
	1 in 8	1.03	<1.00	—
2	8 in 8	7.08	—	—
	4 in 8	3.68	3.54	104%
	2 in 8	1.84	1.77	104%
	1 in 8	<1.00	<1.00	—
3	8 in 8	7.96	—	—
	4 in 8	4.14	3.98	104%
	2 in 8	2.26	1.99	114%
	1 in 8	1.13	1.00	113%
4	8 in 8	11.3	—	—
	4 in 8	5.99	5.64	106%
	2 in 8	3.14	2.82	111%
	1 in 8	1.54	1.41	109%

Specificity (ng/mL)

Compound ¹	ng/mL Added ²	% Cross reactivity ³
Methotrexate	100	0.9%

Recovery (ng/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	4.55	—	
	A	5.58	5.35	104%
	B	8.04	7.75	104%
	C	13.2	13.5	98%
2	—	4.74	—	
	A	5.53	5.53	100%
	B	8.01	7.93	101%
	C	13.3	13.7	97%
3	—	7.06	—	
	A	7.84	7.74	101%
	B	10.2	10.1	101%
	C	>15	>15	—
4	—	7.99	—	
	A	8.52	8.62	99%
	B	11.0	11.0	100%
	C	>15	>15	—
5	—	8.37	—	
	A	8.76	8.98	98%
	B	11.3	11.4	99%
	C	16.4	17.2	95%
6	—	11.6	—	
	A	12.7	12.1	105%
	B	>15	14.5	—
	C	>15	>15	—

Deutsch. Intraassay Precision: ¹Mittelwert, ²SD (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** ¹Mittelwert, ²SD (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Probe, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugewetzte Menge, ³% Kreuzreaktivität. **Method Comparison:** Folic Acid: Folsäure.

Español. Intraassay Precision: ¹Media, ²DS, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Media, ²DS, ³CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³% Reacción cruzada. **Method Comparison:** Folic Acid: Acido Fólico.

Français. Intraassay Precision: ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:**

¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A.

Specificity: ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croisée%. **Method Comparison:** Folic Acid: Acide Folique.

Italiano. Intraassay Precision: ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision:** ¹Media, ²SD (Deviazione Standard), ³CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Percentuale di Crossreattività. **Method Comparison:** Folic Acid: Acido Folico.

Português. Intraassay Precision: ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Interassay Precision:** ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Porcentagem de reação cruzada. **Method Comparison:** Folic Acid: Ácido Fólico.

Deutsch

Folsäure - IMMULITE 2000

Anwendung: Für in-vitro-diagnostische Tests mit dem Analysegerät IMMULITE 2000 – zur quantitativen Messung von Folsäure im Serum, Heparin-Plasma oder Ascorbinsäure behandeltem Vollblut, als Hilfestellung zur klinischen Diagnose und Therapie von Anämien.

Artikelnummern: **L2KFO2** (200 tests), **L2KFO6** (600 tests)

Testcode: **FOL** Farbe: **orange**

Klinische Relevanz

Folsäure und Vitamin B12 sind essentielle Faktoren der Hämatopoese. ¹Eine megaloblastäre Anämie ist in fast allen Fällen auf den Mangel eines dieser beiden Vitamine zurückzuführen. Dabei sind bei Vitamin B12-Mangel die zirkulierenden Serumspiegel der Folsäure meist normal oder erhöht, wogegen die Erythrozyten-Folsäure meist erniedrigte Spiegel zeigt. ²

Folsäuremangel kann als Ergebnis eines diätarischen Mangels (z.B. Alkoholismus) oder durch einen erhöhten Bedarf dieses Vitamins (z.B. Schwangerschaft) auftreten. ^{1,3} Im Gegensatz zum Vitamin

B12 ist Folsäure ein hitze-labiles Vitamin, das bei der Nahrungszubereitung durch zu langes Kochen zerstört wird. Dementsprechend unterliegt die Prävalenz eines Folsäure-Mangels im wesentlichen demographischen, ernährungsbedingten Einflüssen.⁴

Da die zirkulierenden Folsäurespiegel von der aktuellen Zufuhr dieses Vitamins abhängig sind, sind sie als Index für die Gewebespeicher ungeeignet.^{2,5,6,8} Daher können die Folsäurespiegel im Serum oder Plasma bei Folsäuremangel normal sein. Umgekehrt können die zirkulierenden Folsäurespiegel schon lange erniedrigt sein, bevor die Speicher erschöpft sind.^{2,6} Daher ist es wichtig, immer gemeinsam mit den Folsäurespiegeln im Serum oder Plasma die Erythrozyten-Folsäure zu messen.^{5,7,8}

Methodik

Kompetitiver Immunassay.

Der IMMULITE 2000 verfügt über ein automatisches Zweischrittverfahren zur Probenbehandlung von Patientenserum, Plasma oder mit Ascorbinsäure behandeltem Vollblut (zur Bestimmung der Erythrozyten-Folsäure). Die Probe wird zunächst zusammen mit ligandmarkierter Folsäure und mit Dithiothreitol (DTT) in einem Reaktionsröhrchen ohne Kugel und dann in einem zweiten Zyklus mit Natriumhydroxid/Kaliumcyanid (NaOH/KCN) vorbehandelt. Die vorbehandelte Probe wird in ein zweites Reaktionsröhrchen überführt, das eine Polystyrol-Kugel – beschichtet mit spezifischen monoklonalen anti-Folsäure-Bindungsprotein-Antikörpern (Maus) – sowie folatbindendes Protein (FBP) enthält. In einer 30 minütigen Inkubationsphase bindet die von den Bindungsproteinen freigesetzte Folsäure kompetitiv mit der ligandmarkierten Folsäure an das FBP. Nach einem Waschschrift wird mit alkalischer Phosphatase markierter Antiligand zugefügt. In der abschließenden 30-minütigen Inkubationsphase bindet sich der mit alkalischer Phosphatase markierte Antiligand an das ligandmarkierte Folat, das während der ersten Inkubation an die Festphase gebunden wurde. Das ungebundene Enzymkonjugat wird durch einen zentrifugalen Waschschrift entfernt. Nach Zugabe von Substrat wird das

Verfahren entsprechend der in der Bedienungsanleitung für normale Immunoassays gegebenen Beschreibung fortgesetzt.

Inkubationszyklen: 4 × 30 min. 2

Testpositionen pro Test:

1 Probenvorbereitungsröhrchen;

1 Teströhrchen.

Zyklus 1 und 2: Alkalische Denaturierung von endogenen Bindungsproteinen.

Zyklus 3 und 4: Proteinbindung und Immunreaktion.

Kombinierte Folsäure / Vitamin B12-

Bestimmung: Um einen maximalen Testdurchsatz zu gewährleisten, sollten die Patientenproben für Folsäure und Vitamin B12 abwechselnd gefahren werden, wobei mit einer Folsäureprobe zu beginnen ist. Siehe die Angaben in der Betriebsanleitung, wie ein *Probenpanel* zu erstellen ist.

Probengewinnung

Patient muss nüchtern sein.¹⁰

Für die Bestimmung der Folsäure im Vollblut oder in den Erythrozyten frisches Heparin- oder EDTA-Vollblut verwenden. Der Hämatokrit der Patienten muss bekannt sein, um die Ergebnisse der Vollblut-Folsäure in Erythrozyten-Werte umzurechnen, die dann in Nanogramm pro Milliliter (ng/ml) Erythrozytenkonzentrat dargestellt werden. Um die Erythrozyten-Folsäure genau zu berechnen zu können, muss der Folsäure-Spiegel im Serum bekannt sein.

EDTA-Plasma ist als Probenart nicht geeignet.

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Die Verwendung von hämolysierten Serumproben ist nicht empfehlenswert.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-

therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 Folsäure sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Serum oder Heparinplasma

Benötigtes Probenvolumen: 50 µl Serum oder Plasma

Probenstabilität: 8 Stunden bei 2–8°C, oder 6-8 Wochen bei –20°C.¹² Folsäure ist stark Einwirkung von Licht auf die Proben zu vermeiden !

Vollblut (Erythrozyten-Folsäure)

Benötigtes Probenvolumen: 100 µl (*frisch*) heparinisiertes oder EDTA Vollblut (Zur Präparation derHämolsate).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Alle Reagenzien sind unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften zu entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chloramphenicol wurde mit einer Konzentration von weniger als (<0,1 g/dl) als Konservierungsmittel zugesetzt. Chloramphenicol gilt als cancerogen; dieser Hinweis wird durch Vorgaben des Staates Kalifornien erforderlich.

Die Borat-KCN-Pufferlösung enthält Zyanid. Es ist äußerste Vorsicht geboten. Jeder körperliche Kontakt mit diesem Reagens ist zu vermeiden!

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile der Testpackung sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung benötigt.

Folsäure Kugel-Container (L2FO12)

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit monoklonalem, gegen folsäurebindendes Protein gerichtetem Antikörper (Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KFO2: 1 Container

L2KFO6: 3 Container.

Folsäure-Reagenzbehälter A (L2FOA2)

Mit Barcode. Enthält 15 ml Dithiothreitol (DTT) in Pufferlösung, 18,1 ml ligandmarkierte Folsäure in Pufferlösung und 15 ml NaOH/KCN (NHCN) in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Vor dem Öffnen bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. *Nach Öffnen* stabil bei 2–8°C für 14 Tage.

L2KFO2: 3 Behälter

L2KFO6: 6 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

Folsäure-Reagenzbehälter D (L2FOD2)

Mit Barcode. Enthält 11,5 ml folatbindendes Protein in Pufferlösung und 11,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertem Anti-

Ligand in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KFO2: 1 Behälter

L2KFO6: 3 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

Folsäure- Kalibratoren (LFOL, LFOH)

Zwei Flaschen (niedrig und hoch) mit lyophilisierter Folsäure in einer humanen Proteinmatrix (mit Konservierungsmittel). Rekonstitution einer jeden Flasche mit **3,0 ml** sterilen destilliertem Wasser, gut mischen bis zur Lösung des Lyophilisats. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

L2KFO2: 2 Sets

L2KFO6: 2 Sets.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf die Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Vitamin B12/Folsäure Probenverdünner (L2FVZ)

Zur Bestimmung der Erythrozyten-Folsäure, und für die on-board Verdünnung von Serumproben mit hohen Folsäure/ Vitamin B12- Konzentrationen. Enthält 25 ml einer konzentrierten (gebrauchsfertig), Vitamin B12/Folsäure-freien humanen Proteinmatrix, mit Konservierungsmittel. Stabil bei 2–8°C für 30 Tage nach Öffnen, oder für 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C.

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett so auf ein 16 × 100 mm Teströhrchen kleben, dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

L2FVZ: 3 Etiketten.

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

L2ZT: 250 Teströhrchen (16 × 100 mm) für die Probenverdünnung

L2ZC: 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

Ascorbinsäure: Frisch hergestellte 0,1% - ige Lösung

CON6: Multikomponentenkontrolle in drei Konzentrationen.

Ebenfalls benötigt werden destilliertes oder entionisiertes Wasser, Teströhrchen, Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Hinweise zur Vorbereitung, täglichen Inbetriebnahme des Systems, der Kalibrierung sowie Verfahren zur Test- und Qualitätskontrolle entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

Beachten Sie, dass zur Durchführung dieses Tests beide Reagenzbehälter (A:L2FOA2 und D:L2FOD2) auf das Karussell geladen werden müssen.

Empfohlenes Kalibrationsintervall: 4 Wochen.

Proben zur Qualitätskontrolle: Kontrollen oder Seren mit Folsäure in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

Präparation der Hämolyse: Es ist Vollblut zu entnehmen und der Hämatokrit (Hk) zu bestimmen. Die Zelllyse erfolgt durch eine 1-in-5 Verdünnung der Probe (voll suspendiert) mit *frisch* hergestellter 0,1%-iger Ascorbinsäurelösung (z.B., mischen von 100 µl Vollblut mit 400 µl 0,1%-iger Ascorbinsäurelösung). Kein Natriumascorbat benutzen! Vortexmischen und 40 – 180 Minuten bei Raumtemperatur (15–28°C) im Dunklen stehen lassen.¹⁰

Lagerung der Hämolyse: 3 Stunden bei 2–8°C, oder 2 Wochen bei –20°C.^{10,11} Direkte Sonneneinstrahlung vermeiden.

Nach der Inkubationszeit werden die vorbehandelten Patientenproben in einem Probenträger plaziert. Es ist sicherzustellen, daß Vitamin B12/Folsäure Probenverdünner (L2FVZ) ebenfalls auf Probenträger plaziert wird. Wenn eine Bestimmung der Folsäure im Hämolyat angefordert wird, muß der Test als eine on-board Verdünnung (X5) eingegeben werden, wie auch für eine manuelle Verdünnung (X5, wie bei der Probenvorbehandlung mit Ascorbinsäure beschrieben). Ausführliche Informationen im IMMULITE 2000 Handbuch unter Probenverdünnung und manueller Verdünnung.

Berechnung

Folsäure im Vollblut

Die Konzentrationen der Folsäure im Vollblut werden nach Eingabe des Verdünnungsfaktors der on-board Verdünnung oder der manuellen Verdünnung automatisch angegeben.

(Achtung: Auf dem IMMULITE 2000 ist sowohl eine automatische 1-in-5 on-board Verdünnung mit Folsäure Probenverdünner und eine manuelle 1-in-5 Verdünnung mit Ascorbinsäure möglich.)

Erythrozytenfolsäure

Für die Berechnung der Erythrozytenfolsäure (in gepackten roten Blutzellen) in ng/ml, ist die Konzentration der Folsäure im Vollblut (R) mit 100/H, (H ist der Hämatocrit in Prozent) zu multiplizieren:

$$\text{Erythrozytenfolsäure} \approx R \times (100 / H)$$

Für eine genaue Berechnung muß die Folsäure im Serum von der Folsäure im Vollblut subtrahiert werden, bevor mit 100/H multipliziert wird. Bei Berücksichtigung der Folsäure im Serum (S) lautet die exakte Formel:

$$\text{ng Folsäure / ml gepackte Erythrozyten} = (R - [S \times (100 - H) / 100]) \times (100 / H)$$

Der Wert in der eckigen Klammer ist meist im Vergleich zu R so klein, daß er vernachlässigt werden kann.

Referenzwerte

Da die Folsäurespiegel sehr stark von der Ernährung oder Nahrungsmittelzusätzen abhängig ist, können lokal evaluierte

Referenzwerte deutliche Differenzen zeigen. In den USA erfolgt nach Vorgaben der FDA seit 1996 ein Folsäurezusatz zu verschiedenen Getreideprodukten. Diese Vorgehensweise hat dazu geführt, dass Personen mit dieser Ernährung einen doppelt zu hohen Plasmafolsäurespiegel zeigen, als Personen, ohne Vitaminzusatz in den Lebensmitteln.¹³ Die Prävalenz erniedrigter Folsäurespiegel <3 ng/ml (7 nmol/l) nahm deutlich ab.¹³ Es ist davon auszugehen, dass Programme mit einer Folsäureanreicherung von Lebensmitteln den gleichen Effekt auf die Erythrozyten- und Vollblutfolsäure haben. Die Bestimmung des Erythrozyten oder Vollblut Folsäure ist ein besseres Maß für die im Gewebe gespeicherte Folsäure als die Folsäurebestimmung im Plasma.

Basierend auf der Korrelation zum IMMULITE Folsäure Assay der DPC (siehe "Method Comparison") wurden folgende Referenzwerte ermittelt: (Achtung: Die Referenzwertstudie für die IMMULITE Folsäure erfolgte in den USA nach den Richtlinien der FDA.)

Serum-Folsäure	3 – >15 ng/ml (6 – >34 nmol/l)
Vollblut-Folsäure	43 – 295 ng/ml (97 – 668 nmol/l)
Erythrozyten-Folsäure	93 – 641 ng/ml (212 – 1 453 nmol/l)

Da Referenzwerte von der Auswahl des Probandenkollektivs und von regionalen Gegebenheiten abhängig sind, sollte jedes Labor eigene Referenzwerte ermitteln.

Grenzen der Methode

Eine zu beachtende Kreuzreaktivität besteht zu Methotrexat (MTX), das in der Chemotherapie von Karzinomen eingesetzt wird. Da nach Beginn der Methotrexat-Infusion hohe Initialspiegel von bis zu 45 000 ng/ml bzw. von ca. 2 000 ng/ml 48 Stunden nach Infusion üblich sind, kann bei Patienten unter MTX-Therapie oder Therapie mit Medikamenten mit ähnlicher Struktur dieser Test zur Folsäurebestimmung nicht eingesetzt werden!

Folsäurekonzentrationen an der unteren Grenze des Referenzbereiches sind mit Vorsicht zu interpretieren.¹⁰

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind in nmol/l angegeben. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben - aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernden Zusätzen ermittelt.)

Umrechnungsfaktor:

ng/ml \times 2,266 \rightarrow nmol/l

Messbereich: 1 – 15 ng/ml

(2,3 – 34 nmol/l).

Analytische Sensitivität: 0,8 ng/ml (1,8 nmol/l).

Präzision im einzelnen Testansatz

(intraassay): Die Bestimmung der intraassay-Präzision erfolgte in einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle „Intraassay-Präzision“).

Präzision zwischen Testansätzen

(interassay): Die Bestimmung der interassay-Präzision erfolgte in 12 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle „Interassay-Präzision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearität“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben wurden mit drei unterschiedlichen Folsäure-Lösungen (20, 70 und 180 ng/ml) 1:19 versetzt. (Repräsentative

Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Der verwendete Antikörper ist hochspezifisch für Folsäure (siehe Tabelle „Spezifität“).

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämolytische Proben sind für die Bestimmung der Folsäure nicht geeignet.

Lipämie: Triglyceride haben in Konzentrationen bis zu 5 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probenotyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 9 Freiwilligen in Röhrchen ohne Additiva, in Heparin- und Becton Dickinson SST[®] Vacutainer-Röhrchen gesammelt. Es wurde folgende lineare Regression ermittelt:

(Heparin) = 1,05 (Serum) – 0,36 ng/ml
r = 0,996

(SST) = 0,98 (einfachen Röhrchen) – 0,06 ng/ml
r = 0,997

Mittelwerte:

16 ng/ml (Serum)
16 ng/ml (Heparin)
15 ng/ml (SST)

Methodenvergleich (Serum): Der Assay wurde anhand von 143 Serumproben (Konzentrationsbereich: ca. 1,2 – 14,7 ng/ml, siehe Grafik) mit dem IMMULITE Folsäure Assay von DPC verglichen. Es wurde folgende lineare Regression ermittelt:

(IML 2000) = 0,95 (IML) – 0,46 ng/ml
r = 0,978

Mittelwerte:

7,5 ng/ml (IMMULITE 2000)
8,5 ng/ml (IMMULITE)

Methodenvergleich (Hämolytate): Der Assay wurde anhand von 49 Proben (Konzentrationsbereich: ca. 46 – 260 ng/ml, siehe Grafik) mit dem IMMULITE Folsäure Assay von DPC verglichen. Es wurde folgende lineare Regression ermittelt:

(IML 2000) = 1,18 (IML) – 29 ng/ml
r = 0,981

Mittelwerte:
128 ng/ml (IMMULITE 2000)
134 ng/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Das Qualitätssystem der Diagnostic Products Corporation ist nach ISO 13485:2003 registriert.

Español

Acido Fólico

Utilidad del análisis: Para diagnóstico *in vitro*, empleado con el Analizador IMMULITE 2000, — para la cuantificación de ácido fólico en suero, plasma heparinizado o sangre tratada con ácido ascórbico, como una ayuda en el diagnóstico y tratamiento de la anemia.

Referencia: **L2KFO2** (200 tests),
L2KFO6 (600 tests)

Código del Test: **FOL**

Código de Color: **Naranja**

Resumen y Explicación del Test

El Acido Fólico (folato) y la vitamina B12 son nutrientes esenciales para la hematopoyesis.¹ La anemia Megaloblastica es debida casi siempre a la falta de una de esas dos vitaminas.¹ Los niveles de folato son normales o elevados en la deficiencia de la de vitamina B12, pero el folato de las células rojas es frecuentemente bajo en esta condición.²

Usualmente, la deficiencia de folato es el resultado de una dieta deficiente (como en el alcoholismo) ó una demanda incrementada (como en el embarazo).^{1,3} A diferencia de la vitamina B12, el folato es una vitamina termo-lábil susceptible de verse afectada mediante calentamiento prolongado. De acuerdo a esto, la prevalencia de la deficiencia de folato presenta variaciones demográficas, aparentemente asociadas a las diferencias en la dieta y hábitos culinarios.⁴

Los niveles de folato, influidos por una ingesta reciente, no son apropiados como

índice para evaluar la reserva tisular.^{2,5,6} Por esta razón, los niveles de folato en suero y plasma pueden ser normales en la deficiencia de folato. De modo contrario, los niveles pueden permanecer bajos antes de que las reservas tisulares hayan sido agotadas.^{2,6} De acuerdo a esto, es importante cuantificar el valor del folato en las células rojas siempre que se mida los niveles en suero o plasma.^{5,7,8}

Principio del análisis

Ensayo Competitivo

El ensayo IMMULITE 2000 realiza un tratamiento de 2- ciclos, sobre las muestras de suero, plasma o sangre tratada con ácido ascórbico (para medir el folato de los eritrocitos) que van a analizarse. Las muestras, junto con ácido fólico marcado con ligando, se trata primero con ditiotreitól (DTT), en un tubo de reacción que no contiene ninguna bola, y luego con hidróxido sódico/ cianuro de potasio (NaOH/KCN); en un segundo ciclo de tratamiento, la muestra se transfiere a un segundo tubo de reacción que contiene una bola de poliestireno recubierta de anticuerpos murino anti- proteína de unión a folato y proteína de unión a folato (FBP). Durante una incubación de 30 minutos, el ácido fólico se libera de las proteínas de unión en las muestras del paciente y compete con el ácido fólico marcado con ligando para unirse a FBP. Se lava la bola y se añade anti-ligando marcado con fosfatasa alcalina. Durante una incubación final de 30 minutos, el antiligando marcado con fosfatasa alcalina se une a folato marcado con ligando que se había unido durante la primera incubación. El conjugado de enzima no unida es eliminada por un lavado en la centrifugadora. Después se añade sustrato y el procedimiento continua como se describió en los inmunoensayos típicos en el Manual del Operador.

Ciclos de incubación: 4 × 30 minutos. 2 posiciones para análisis por ensayo. 1 posición para el tratamiento de la muestra; 1 posición para la inmunoreacción.

Ciclos 1 y 2: Desnaturalización alcalina de las proteínas de unión endógenas.

Ciclos 3 y 4: Unión a proteínas e inmunoreacción.

Panel de Acido fólico/Vitamina B12:

Para conseguir el máximo rendimiento del ensayo, deben ejecutarse alternativamente las muestras del paciente para ácido fólico y vitamina B12, comenzando con la muestra de ácido fólico. Vea el Manual del Operador para crear el panel.

Recogida de la muestra

El paciente debe estar en ayunas.¹⁰

Para las determinaciones de ácido fólico intraeritrocitario, utilizar sangre entera heparinizada o con EDTA. Debe conocerse el hematocrito del paciente para transformar los resultados de sangre entera a intraeritrocitario, que se expresan en nanogramos por mililitro (ng/ml). Además, para calcular exactamente los resultados intraeritrocitario, debe saberse también el nivel de ácido fólico sérico.

El plasma con EDTA no debería ser usado como muestra.

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

No se recomienda el uso de muestras de suero hemolizadas.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Acido Fólico IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativos.

Suero o Plasma Heparinizado

Volumen de Muestra: 50 µL Suero o plasma

Conservación: 8 horas a 2–8°C, o 6–8 semanas a a –20°C.¹² Evitar la exposición excesiva de las muestras a luz directa.

Sangre total (Acido fólico intraeritrocitario)

100 µL de sangre total (*frescas*) con heparina o EDTA (para la preparación de los hemolizados).

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las canerías de cobre y plomo.

Se ha añadido cloranfenicol, a concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Se sabe que el cloranfenicol produce cáncer (esta información es necesaria comunicarla al estado de California).

NaOH/KCN: La solución contiene cianuro. Evite cualquier contacto con la superficie corporal.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de Acido fólico (L2FO12)

Con códigos de barras. 200 bolas recubiertas con anticuerpo murino

monoclonal anti-proteína de unión a folato. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KFO2: 1 cartucho

L2KFO6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo “A” de Acido fólico (L2FOA2)

Con códigos de barras. Cuñas de reactivo (etiquetados como “A”) que contienen cada una 15 ml ditiotreitól (DTT), en solución tampón, 18,1 ml de ácido fólico marcado con ligando, en solución tampón, 15 ml de NaOH/KCN (NH₄CN), en solución tampón, con conservante. Antes de su apertura, estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Una vez abierto, es estable entre 2–8°C durante 14 días estabilidad.

L2KFO2: 3 viales

L2KFO6: 6 viales.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Vial de reactivo “D” de Acido fólico (L2FOD2)

Con códigos de barras. Cuñas (etiquetadas como “D”), que contienen cada una 11,5 ml de proteína de unión a folato, en solución tampón, 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada a conjugada anti-ligando, en una solución tampón, con conservante. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KFO2: 1 vial

L2KFO6: 3 viales.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de Acido fólico (LFOL, LFOH)

Dos viales, (Low y High), conteniendo diferentes concentraciones de Acido fólico liofilizada en una matriz de proteína humana, con conservante. Reconstituir cada vial con **3,0 ml** de agua destilada estéril y mezclar agitando suavemente por inversión. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución, o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

L2KFO2: 2 juegos

L2KFO6: 2 juegos.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente para muestras de Vitamina B12/Acido fólico (L2FVZ)

Necesario para el ensayo del ácido fólico en células rojas y para las diluciones automáticas de muestras séricas elevadas. 25 ml de concentrado (listo para ser utilizado), libre de vitamina B12/ácido fólico en una matriz de suero humano con conservante. Estable entre 2–8°C durante 30 días después de su apertura, ó durante 6 meses (alícuotado) a –20°C.

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.

L2FVZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

L2ZT: 250 Tubos De Prueba Del Diluyente De la Muestra (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Casquillos Del Tubo Del Diluyente De la Muestra

Ascorbic Acid: solución fresca preparada al 0,1% Freshly prepared 0,1% solution

CON6: control multiconstituyente de tres niveles.

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Tenga en cuenta que hay que cargar los viales de reactivos A (L2FOA2) y D (L2FOD2) en el carrusel para ejecutar este ensayo.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas.

Muestras de Control de calidad: Use controles o pools de muestras con dos niveles diferentes como mínimo de ácido fólico, (bajo y alto).

Preparación de Hemolizados: Recoger la sangre completa y determinar el valor del hematocrito. Lisar las células preparando una dilución 1 en 5 de la muestra (totalmente suspendida) en una solución fresca de ácido ascórbico al 0,1% (e.j. mezclar 100 µl de sangre completa con 400 µl de ácido ascórbico al 0,1%). No utilizar ascorbato sódico⁹. Agitar en un Vortex y dejar entre 40–180 minutos a temperatura ambiente (15–28°C) y en oscuridad.¹⁰

Conservación de los Hemolizados: 3 horas entre 2–8°C, o 2 semanas a –20°C.^{10,11,12} evitar la exposición excesiva a la luz directa.

Tras la incubación, colocar la muestra del paciente tratada en la gradilla de muestras. Asegurarse de que el diluyente de muestras B12/Folic Acid Sample Diluent (L2FVZ) se encuentra colocado en la gradilla de muestras. Cuando se solicite el ácido fólico para los hemolizados, se debe programar el test con una dilución automática (X5), así como una dilución manual (X5), para tener en cuenta el tratamiento con ácido ascórbico. Consultar el manual de usuario para las diluciones de muestras y para las diluciones manuales.

Calculos

Resultados en Sangre Completa

Los resultados de ácido fólico en Sangre Completa son mostrados automáticamente con los factores de dilución manual y automática ya incluidos (Advertencia: El IMMULITE 2000 tiene en cuenta la dilución automática 1 en 5 y la dilución externa manual realizada con el ácido ascórbico.)

Resultados en Células Rojas

Para una medida apropiada de ácido fólico contenido en las células rojas, en ng/ml, multiplicar la concentración de ácido fólico en sangre completa (R) por 100/H, donde H es el valor del hematocrito expresado *en porcentaje*:

$$\text{Ácido fólico en células rojas} \approx R \times (100 / H)$$

Estrictamente hablando, la contribución del ácido fólico sérico debería ser sustraída de la concentración de ácido fólico en sangre completa antes de multiplicar por 100/H. Utilizando los niveles de ácido fólico en el suero del paciente S, la ecuación exacta es:

$$\text{Ácido fólico de Células Rojas} = (R - [S \times (100 - H) / 100]) \times (100 / H)$$

El término entre corchetes en la mayoría de los casos es tan pequeño comparado con el término R que puede ser despreciado.

Valores esperados

Debido a que los valores de ácido fólico están muy influidos por la dieta y por los suplementos dietéticos, los límites de referencia basados en la población pueden mostrar marcadas diferencias demográficas. En los Estados Unidos, por ejemplo, el enriquecimiento de los cereales requerido por la Food and Drug Administration desde 1996, ha conducido al doble del valor de la media de folato en plasma con respecto a los sujetos que no tomaban suplemento vitamínico,¹³ y a un decremento en la prevalencia de niveles bajos de folato, e.j. niveles por debajo 3 ng/ml (7 nmol/l).¹³ Es de esperar que los programas de enriquecimiento tengan similar impacto en los niveles de folato en sangre completa y células rojas, más apropiados para medir las reservas tisulares

Basado en su relación con el método de DPC Solid Phase No Boil Dualcount (ver comparación de métodos), se espera que el ensayo tenga los siguientes rangos de referencia. Advertencia : el estudio del rango de normalidad del método Dualcount fue realizado en US antes del programa de enriquecimiento prescrito por la FDA.

Acido fólico en suero	3 – >15 ng/ml (6 – >34 nmol/l)
Acido fólico en sangre entera	43 – 295 ng/ml (97 – 668 nmol/l)
Acido fólico en eritrocitos	93 – 641 ng/ml (212 – 1 453 nmol/l)

Los laboratorios deberán establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

Las proteínas de unión al folato utilizada en el reactivo presenta reactividad cruzada con el "anti-folato" methotrexate (MTX) un componente utilizado en quimioterapia para el tratamiento del cáncer. (ver el apartado de especificidad). Ya que las elevadas dosis de methotrexate aplicadas pueden conducir inicialmente a niveles circulantes de 45 000 ng/ml y del orden de 2 000 ng/ml 48 horas más tarde, el kit no debe ser utilizado para cuantificar acido fólico en pacientes en tratamiento con esta droga. Además se debe interpretar con cautela los niveles de ácido fólico en aquellos pacientes que hayan sido sometidos a tratamiento con methotrexate ó cualquier otra droga con similar estructura.

Los resultados cerca del límite de detección debería ser interpretado con cautela.¹⁰

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación).

Factor de Conversión:

ng/ml × 2,266 → nmol/l

Rango informable: 1 – 15 ng/ml
(2,3 to 34 nmol/l).

Sensibilidad: 0,8 ng/ml
(1,8 nmol/l).

Precisión intraensayo (dentro de una tanda): Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Véase la tabla "Precisión intraensayo").

Precisión entre ensayos (de una tanda a otra): Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 12 tomas distintas. (Véase la tabla de "Precisión entre ensayos").

Linealidad: las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linealidad" para resultados representativos).

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de acido fólico (20, 70 y 180 ng/ml). (Ver la tabla "Recuperación" para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para SHBG. (Véase la tabla "Especificidad").

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemolisis: las muestras hemolizadas no son adecuadas para la determinación de folato sérico.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 5 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: para evaluar el efecto de los diferentes tipos de

muestras alternativos, se recogió sangre de 9 voluntarios en tubos normales, tubos con Heparina y tubos vacutainer SST® de Becton Dickinson. Por regresión lineal:

(Heparina) = 1,05 (Suero) – 0,36 ng/ml
r = 0,996

(SST) = 0,98 (tubos simples) – 0,06 ng/ml
r = 0,997

Medias:

16 ng/ml (Suero)
16 ng/ml (Heparina)
15 ng/ml (SST)

Método de Comparación (Suero): el ensayo fue comparado frente al Ácido Fólico IMMULITE de DPC en 143 muestras séricas (El rango de concentración aproximado es 1,2 a 14,7 ng/ml. Ver gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,95 (IML) – 0,46 ng/ml
r = 0,978

Medias:

7,5 ng/ml (IMMULITE 2000)
8,5 ng/ml (IMMULITE)

Método de Comparación

(Hemolizados): El ensayo fue comparado frente al Ácido Fólico IMMULITE de DPC en 49 muestras (el rango de concentración aproximado es 46 to 260 ng/ml. Ver gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,18 (IML) – 29 ng/ml
r = 0,981

Medias:

128 ng/ml (IMMULITE 2000)
134 ng/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Contactéese con su Distribuidor Nacional.

El Sistema de Calidad de Diagnostic Products Corporation está registrado para la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 Acide Folique

Domaine d'utilisation : Dosage quantitatif de l'acide folique dans le sérum, le plasma hépariné ou le sang total additionné d'acide ascorbique. Réserve à un usage diagnostique *in vitro* avec l'analyseur IMMULITE 2000, ce test

constitue une aide pour le diagnostic clinique et le traitement de l'anémie.

Référence catalogue :

L2KFO2 (200 tests), **L2KFO6** (600 tests)

Code produit : **FOL** Code couleur: **Orange**

Introduction

L'acide folique et la vitamine B12 sont des substances nutritives essentielles pour l'hématopoïèse.¹ L'anémie mégalo-blastique est presque toujours due à l'absence de l'une de ces deux vitamines.¹ Les taux d'acide folique circulants sont habituellement normaux ou élevés lors d'une carence en vitamine B12, alors que dans ce cas les taux de folates érythrocytaires sont souvent bas.²

Un déficit en acide folique résulte couramment d'une carence alimentaire (comme dans l'alcoolisme) ou d'un besoin accru de cette vitamine (comme lors de la grossesse).^{1,3} Contrairement à la vitamine B12, l'acide folique est une vitamine labile à la température susceptible d'être détruite lors de la cuisson prolongée des aliments. Ceci explique que la prévalence de la carence en acide folique montre de grandes variations démographiques, reflétant clairement des différences dans les régimes alimentaires et les habitudes culinaires.⁴

Les taux circulants d'acide folique, étant fortement influencés par une ingestion récente, ne sont pas un indicateur fiable des réserves tissulaires.^{2,5,6} Ainsi, les taux d'acide folique mesurés dans le sérum ou le plasma peuvent être normaux lors d'une carence en acide folique.^{2,6} A l'inverse des taux circulants abaissés peuvent être obtenus bien avant l'élimination des réserves tissulaires. Il est ainsi important de déterminer les taux de folate dans les globules rouges même si les dosages sériques ou plasmatiques ont été réalisés.^{5,7,8}

Principe du test

Immunodosage par compétition.

L'IMMULITE 2000 réalise automatiquement un traitement en deux temps de l'échantillon clinique de sérum, de plasma ou de sang total additionné d'acide ascorbique (pour la mesure du folate des globules rouges). L'échantillon, de même que l'acide folique marqué avec le ligand,

est tout d'abord traité par le dithiothréitol (DTT) dans un tube à essai ne contenant aucune bille, puis avec de la soude/ du cyanure de potassium (NaOH/ KCN), dans une seconde phase. L'échantillon traité est transféré dans un second tube à réaction contenant une bille de polystyrène revêtue d'anticorps murin anti-protéine porteuse de folate et de protéine porteuse du folate (FBP). Au cours des 30 minutes d'incubation, l'acide folique libéré par les protéines porteuses présentes dans l'échantillon entre en compétition avec l'acide folique marqué avec le ligand pour les sites de liaison de la FBP. La bille est lavée et de l'anti-ligand marqué à la phosphatase alcaline est ajouté. Lors de la dernière incubation de 30 minutes, l'anti-ligand marqué à la phosphatase alcaline se lie au folate marqué avec le ligand qui a réagi avec la bille au cours de la première incubation. Le conjugué enzymatique non-lié est éliminé par un lavage accompagné de centrifugation. Le substrat est ajouté et le protocole est poursuivi comme expliqué dans le manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000.

Cycles d'incubation : 4 × 30 minutes. 2 emplacements par dosage : 1 cupule pour le traitement de l'échantillon ; 1 cupule pour la réaction immunologique.

Cycles 1 et 2 : dénaturation alcaline des protéines porteuses endogènes.

Cycles 3 et 4 : protéines porteuses et réaction immunologique.

Panel acide folique/ vitamine B12 : pour une productivité maximale, passer les échantillons cliniques pour l'acide folique ou la vitamine B12 l'un après l'autre, en commençant par l'échantillon acide folique. Se reporter au manuel d'utilisation pour générer un panel.

Recueil des échantillons

Le patient doit être à jeun.¹⁰

Pour le sang total et les dosages érythrocytaires, utiliser du sang total frais hépariné ou EDTA. L'hématocrite du patient devra être connu afin de transcrire les résultats obtenus dans le sang total en résultats d'acide folique érythrocytaire (exprimé en ng/ml). De plus afin d'avoir un résultat érythrocytaire précis, il est important de connaître également le taux sérique d'acide folique du patient.

Les échantillons ne doivent pas être des plasmas EDTA.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Les sérums hémolysés ne conviennent pas au dosage.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret Acide Folique IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Sérum ou plasma hépariné

Volume nécessaire : 50 µl de sérum ou de plasma.

Conservation : Stable 8 heures à +2°C/+8°C ou 6–8 semaines à -20°C.¹² Eviter l'exposition prolongée des échantillons à la lumière directe.

Sang total (*acide folique érythrocytaire*)

Volume nécessaire : 100 µl (*frais*) de sang total hépariné ou EDTA.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2°C/+8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement

infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Du chloramphénicol, à des concentrations ne dépassant pas 0,1 g/dl, a été ajouté comme conservateur. Le chloramphénicol pouvant être cause de cancer, cette notification est demandée par l'Etat de Californie.

NaOH/ KCN : la solution contient du cyanure. Eviter tout contact avec la peau.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes Acide Folique (L2FO12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'anticorps monoclonal murin spécifique de protéine porteuse de l'acide folique. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KFO2: 1 cartouche
L2KFO6: 3 cartouches.

Cartouche-Réactif « A » Acide Folique (L2FOA2)

Ave code-barre. Cartouches (étiquetée "A"), contenant chacune 15 ml de tampon diithiothréitol (DTT), 18,1 ml de tampon acide folique marqué avec le ligand, 15 ml de tampon NaOH/ KCN (NHCN), avec conservateur. Avant ouverture, stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date d'expiration. *Après ouverture*, stable à +2°C/+8°C pendant 14 jours.

L2KFO2: 3 cartouches

L2KFO6: 6 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Cartouche-Réactif « D » Acide Folique (L2FOD2)

Avec code-barre. Cartouches (étiquetées "D"), contenant 11,5 ml de protéine porteuse de l'acide folique, 11,5 ml d'anti-ligand marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KFO2: 1 cartouche
L2KFO6: 3 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs Acide Folique (LFOL, LFOH)

2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») lyophilisés contenant de l'acide folique dans une matrice protéique humaine, avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec 3,0 ml d'eau distillée stérile et mélanger doucement. Stables à +2°C/+8°C pendant 30 jours après reconstitution ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

L2KFO2: 2 jeux
L2KFO6: 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon acide folique/ vitamine B12 (L2FVZ)

Pour le dosage de l'acide folique érythrocytaire et pour la dilution à bord

des échantillons sériques de concentration élevée. 25 ml de concentré (prêt à l'emploi) de matrice protéique humaine sans vitamine B12 ni acide folique avec conservateur. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette appropriée sur un tube de 16 x 100 mm de façon que le code-barre puisse être lu par le lecteur de l'appareil.

L2FVZ : 3 étiquettes

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

L2ZT : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 x 100 mm)

L2ZC : 250 Bouchons pour tubes de diluants

Acide ascorbique: Solution à 0,1% fraîchement préparée

CON6 : Contrôle multiparamétrique à trois niveaux

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation IMMULITE 2000.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Noter que les deux flacons-réactifs A (L2FOA2) et flacons-réactifs D (L2FOD2) doivent être placés sur le carrousel pour réaliser ce dosage.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité :

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) d'acide folique.

Préparation des hémolysats: Prélever l'échantillon de sang total. Déterminer et conserver l'hématocrite. Lyser les cellules de l'échantillon en diluant l'échantillon au 1/5 dans une solution d'acide ascorbique à 0,1% *fraîchement* préparée (ex : mélanger 100 µl d'échantillon avec 400 µl d'acide ascorbique à 0,1%). Ne pas utiliser d'ascorbate de sodium.⁹ Vortexer et laisser 40 à 180 minutes à température ambiante (+15°C/+28°C) à l'obscurité.¹⁰

Conservation des hémolysats : 3 heures à +2°C/+ 8°C ou 2 semaines à -20°C.^{10,11} Eviter l'exposition prolongée des échantillons à la lumière directe.

Après le temps d'incubation, déposer l'échantillon prétraité sur le portoir échantillons. S'assurer que le diluant Vitamine B12/Acide folique est chargé sur le portoir échantillons. Lors de la programmation d'un test acide folique pour les hémolysats, demander une dilution à bord (X5), saisir aussi une dilution manuelle (X5, pour prendre en compte le prétraitement avec l'acide ascorbique). Se reporter au Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE 2000 pour la dilution des échantillons et les dilutions manuelles.

Calculs

Résultats pour le sang total

Les résultats d'acide folique sur sang total sont affichés avec les facteurs de dilution à bord et manuel automatiquement calculés.

(Note: L'IMMULITE 2000 prend en compte à la fois la dilution à bord au 1/5 réalisée avec le diluant échantillon et la dilution manuelle au 1/5 réalisée avec l'acide ascorbique.)

Résultats pour les globules rouges

Pour déterminer la concentration approximative dans les globules rouges (en ng/ml), multiplier la concentration d'acide folique dans le sang total par le facteur 100/H (H : hématocrite en pourcentage).

Concentration d'acide folique dans les globules rouges = $R \times (100 / H)$

Pour plus de précision la concentration sérique d'acide folique doit être soustraite de la concentration en acide folique du sang total avant de multiplier par (100/H).

En utilisant la valeur S pour la concentration d'acide folique sérique l'équation devient :

$$\text{Concentration d'acide folique érythrocytaire} = R - [S \times (100 - H) / 100] \times (100 / H)$$

La valeur entre parenthèses peut généralement être négligée par rapport au terme R dans la plupart des cas.

Valeurs attendues

Du fait que les taux circulants d'acide folique sont fortement influencés par les régimes alimentaires, les valeurs de références peuvent être différentes en fonction des populations démographiques étudiées. Aux Etats-Unis par exemple, l'enrichissement des produits en céréales, recommandé par la Food and Drug Administration depuis 1996, a conduit à un doublement des valeurs moyennes chez des sujets ne prenant pas de suppléments vitaminés et donc à une diminution des taux bas en acide folique, c'est à dire inférieurs à 3 ng/ml (7 nmol/l).¹³ Ce programme d'enrichissement peut avoir un impact similaire sur les taux d'acide folique dans le sang total et les globules rouges, qui sont des meilleurs marqueurs des réserves.

Basé sur ces considérations, le test, Solid Phase No Boil Dualcount de DPC (voir méthode de comparaison), donne les valeurs de référence suivantes : Noter que les études faites pour déterminer le domaine normal du test Dualcount, ont été menées aux U.S avant les recommandations de la FDA.

Acide folique sérique	3 – >15 ng/ml (6 – >34 nmol/l)
Acide folique dans le sang total	43 – 295 ng/ml (97 – 668 nmol/l)
Acide folique dans les globules rouges	93 – 641 ng/ml (212 – 1 453 nmol/l)

Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales.

Limites

La protéine porteuse de l'acide folique utilisée dans le flacon réactif réagit avec un médicament "anti-folate", le méthotrexate (MTX), utilisé lors de

chimiothérapies anti-cancéreuses. Des injections de fortes doses de MTX peuvent conduire à des taux circulants d'environ 45 000 ng/ml initialement et de 2 000 ng/ml après 48 heures. La trousse IMMULITE® Acide folique ne doit donc pas être utilisée pour des patients suivants de tels traitements. De plus, tous les résultats d'acide folique obtenus chez des patients ayant reçus récemment un traitement au MTX ou tout autre médicament de structure similaire doivent être analysés avec précaution.

Les résultats d'acide folique proche de la limite basse des valeurs normales doivent être interprétés avec précaution.¹⁰

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation).

Facteur de conversion :
ng/ml x 2,266 → nmol/l.

Domaine de mesure : 1 – 15 ng/ml
(2,3 – 34 nmol/l).

Sensibilité analytique : 0,8 ng/ml
(1,8 nmol/l).

Précision intra-essai : les valeurs ont été établies pour chacun des échantillons à partir de 20 doublets dosés au cours d'une même série. (Voir le tableau « Intraassay Precision ».)

Précision inter-essais : les valeurs ont été établies pour chacun des échantillons dosés dans 12 séries différentes. (Voir le tableau « Interassay Precision ».)

Linéarité : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions acide folique (20, 70 et 180 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de l'acide folique. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : les échantillons hémolysés ne sont pas utilisables pour une détermination du folate sérique.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 5 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons: pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 9 volontaires ont été prélevés sur tubes secs, héparinés et sur tubes vacutainer SST® Becton Dickinson. Par régression linéaire :

(Hépariné) = 1,05 (Sérum) – 0,36 ng/ml
r = 0,996

(SST) = 0,98 (tubes ordinaires) – 0,06 ng/ml
r = 0,997

Moyennes:
16 ng/ml (Sérum)
16 ng/ml (Hépariné)
15 ng/ml (SST)

Comparaison de méthode (Sérums)

Le dosage a été comparé au test IMMULITE Acide folique de DPC sur 143 échantillons sériques (dont les concentrations allaient de 1,2 à 14,7 ng/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire:

(IML 2000) = 0,95 (IML) – 0,46 ng/ml
r = 0,978

Moyennes :
7,5 ng/ml (IMMULITE 2000)
8,5 ng/ml (IMMULITE)

Comparaison de méthode (Hémolysats)

Le dosage a été comparé au test IMMULITE Acide folique de DPC sur 49 échantillons (dont les concentrations allaient d'environ 46 à 260 ng/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire:

(IML 2000) = 1,18 (IML) – 29 ng/ml
r = 0,981

Moyennes :
128 ng/ml (IMMULITE 2000)
134 ng/ml (IMMULITE)

Assistance technique

En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes

Le système d'assurance qualité de DPC est certifié ISO 13485 (2003).

Italiano

Acido Folico

Uso: Per prove diagnostiche in vitro con l'analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'acido folico nel siero, nel plasma eparinizzato o nel sangue intero trattato con acido ascorbico, quale ausilio nella diagnosi clinica e nel trattamento dell'anemia.

Numero di codice: **L2KFO2** (200 test),
L2KFO6 (600 test)

Codice del Test: **FOL** Colore: **Arancione**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'acido folico (folato) e la vitamina B₁₂ sono sostanze nutrienti essenziali per l'ematopoiesi.¹ L'anemia megaloblastica è quasi sempre dovuta alla mancanza di una di queste due vitamine.¹ Di solito i livelli circolanti di folati sono normali o elevati nella carenza di vitamina B₁₂, ma frequentemente i livelli di folati nei globuli rossi sono bassi in questa circostanza.²

La mancanza di folato si riscontra normalmente quale conseguenza di carenze nella dieta (come nell'alcolismo)

o in casi in cui si ha una maggiore richiesta di questa vitamina (come durante la gravidanza).^{1,3} Diversamente dalla vitamina B₁₂, il folato è una vitamina labile al calore, suscettibile alla cottura prolungata dei cibi. Per questo motivo, la mancanza di folato è indice di variazioni demografiche, rispecchiando apparentemente differenze nelle abitudini dietarie e culinarie.⁴

I livelli circolanti di folato, essendo fortemente influenzati dall'assunzione di cibo, non sono attendibili come indice di conservazione nei tessuti.^{2,5,6} Per questo motivo, i livelli di folato misurati nel siero e nel plasma possono essere normali anche quando è presente una carenza dello stesso. D'altro canto, i livelli circolanti possono essere bassi molto prima che i residui nei tessuti siano scomparsi.^{2,6} Per questo motivo, è importante misurare i livelli di folato anche nei globuli rossi quando li si misura nel siero e nel plasma.^{5,7,8}

Principio della Procedura

Immunoprova competitiva.

L'IMMULITE 2000 effettua un trattamento a due cicli del campione di siero, di plasma o sangue intero trattato con acido ascorbico (per la misurazione del folato nei globuli rossi). Il campione, insieme all'acido folico marcato con ligando, viene prima trattato con ditiotreitolo (DTT), in una provetta di reazione priva di sferetta, e poi con cianuro di potassio/idrossido di sodio (NaOH/KCN), in un secondo ciclo di trattamento. Il campione trattato viene trasferito in una seconda provetta di reazione che contiene una sferetta di polistirene coattata con un anticorpo murino anti proteina legante il folato ed una proteina legante il folato (FBP). Durante l'incubazione di 30 minuti, l'acido folico rilasciato dalle proteine leganti nel campione del paziente compete con l'acido folico marcato con ligando per il legame con l'FBP. La sferetta viene poi lavata e viene aggiunto l'anti-ligando marcato con fosfatasi alcalina. Durante l'incubazione finale di 30 minuti, l'anti-ligando marcato con fosfatasi alcalina si lega al folato marcato con ligando adesivo alla sferetta durante la prima incubazione. Il coniugato enzimatico non legato viene rimosso mediante centrifugazione. Viene aggiunto il substrato e la procedura continua come descritto per i normali

immunodosaggi previsti nel manuale dell'Operatore.

Cicli d'incubazione: 4 × 30 minuti.

2 posizioni del test per dosaggio: 1 vassoio porta campioni; 1 vassoio di reazione.

Cicli 1 e 2: denaturazione alcalina delle proteine endogene leganti.

Cicli 3 e 4: Legame delle proteine e immunoreazione.

Pannello dell'acido folico / Vitamina

B12: Per ottenere i risultati, le analisi dei campioni dei pazienti per l'acido folico e la vitamina B12 devono essere eseguite alternativamente iniziando con il campione dell'acido folico. Vedere il manuale dell'operatore per la creazione di un pannello.

Prelievo dei Campioni

Il paziente deve essere a stomaco vuoto.¹⁰

Per le determinazioni di acido folico nel sangue intero e nei globuli rossi, utilizzare sangue fresco intero eparinizzato o EDTA. E' necessario conoscere l'ematocrito del paziente per tradurre i risultati di acido folico del sangue intero in risultati nei globuli rossi, che sono espressi in nanogrammi per millilitro (ng/mL) di globuli rossi impaccati. Inoltre, per calcolare in maniera precisa i risultati dell'acido folico nei globuli rossi, è necessario conoscere anche il livello di acido folico nel siero.

I campioni di plasma EDTA non devono essere utilizzati.

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

Non utilizzare campioni di siero emolizzati.

La centrifugazione dei campioni del siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le

coffret Acido Folico IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Echantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Campioni di siero o plasma Eparinizzato

Volume Richiesto: 50 µL di siero o plasma

Conservazione: 8 ore a 2–8°C, o 6-8 settimane a –20°C.¹² Evitare l'esposizione eccessiva alla luce solare.

Sangue Intero (Acido folico nei globuli rossi)

Volume Richiesto: 100 µL (*freschi*) di sangue intero, eparinizzato o EDTA (per la preparazione di emolisati).

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

A concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL, è stato aggiunto Cloranfenicolo come conservante. Il Cloranfenicolo è un noto cancerogeno; tale informazione è prescritta dallo stato della California

NaOH/KCN: La soluzione contiene cianuro. Evitare il contatto con il corpo.

Substrato Chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica.)

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Biglie Acido Folico (L2FO12)

Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale anti proteina legante l'acido folico. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KFO2: 1 confezione

L2KFO6: 3 confezioni.

Porta reagente "A" Acido Folico (L2FOA2)

Con codice a barre. Porta reagenti (etichettati "A"), ciascuno contenente 15 mL di ditiotreitolo (DTT) in un tampone, 18,1 mL di acido folico marcato con ligando in un tampone, 15 mL di NaOH/KCN (NH₄CN) in un tampone, con conservanti. Prima dell'apertura, stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. *Dopo l'apertura*, stabile a 2–8°C per 14 giorni.

L2KFO2: 3 porta reagenti

L2KFO6: 6 porta reagenti.

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Porta reagente "D" Acido Folico (L2FOD2)

Con codice a barre. Porta reagenti (contrassegnati con la "D") ciascuno contenente 11,5 mL di proteina legante il folato in un tampone, 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con anti-ligando in un tampone, con conservanti. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KFO2: 1 porta reagente

L2KFO6: 3 porta reagenti

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Calibratori Acido Folico (LFOL, LFOH)

Due fiale (bassa ed alta) di acido folico liofilo in una matrice umana a base proteica, con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **3,0 mL** di acqua sterile distillata, poi mescolare agitando *delicatamente* o mediante inversione. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la ricostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KFO2: 2 set

L2KFO6: 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

Diluyente per Campioni della Vitamina B12/Acido folico (L2FVZ)

Per testare l'acido folico nei globuli rossi e per le diluizioni interne di campioni elevati di siero, utilizzare 25 mL di una matrice umana concentrata a base proteica priva di vitamina B12/acido folico (pronta all'uso), con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura o per 6 mesi (aliquotata) a –20°C.

Vengono Fornite Le provette da utilizzarsi con il diluyente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 × 100 mm cosicché i codici a barre possano essere letti dal lettore interno

L2FVZ: 3 etichette

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

L2ZT: 250 Provette (16 × 100 mm) per Diluyente del Campione

L2ZC: 250 Tappini per Provette per Diluyente del Campione

Acido Ascorbico: Una soluzione appena preparata allo 0,1%

CON6: 3 livelli, controllo multicostituito

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di

manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore dell'IMMULITE 2000.

Vedere il manuale dello strumento IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, allestimento, diluizioni, calibrazioni, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

I due porta reagenti A (L2FOA2) ed il porta reagenti D (L2FOD2) devono essere caricati sul carosello per eseguire questo dosaggio.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
4 settimane.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di acido folico.

Preparazione degli Emolisati: Prelevare i campioni di sangue intero e determinare l'ematocrito. Lisare le cellule nel campione preparando una diluizione 1:5 del campione (completamente sospesa) in una soluzione appena preparata di acido ascorbico allo 0,1% (ad es., mescolare 100 µL di sangue intero con 400 µL di acido ascorbico allo 0,1%). Non utilizzare ascorbato di sodio.⁹ Vortexare e lasciar riposare per 40 – 180 minuti a temperatura ambiente (15–28°C) al buio.¹⁰

Conservazione degli Emolisati: 3 ore a 2–8°C, or 2 settimane a –20°C.^{10,11} Evitare l'esposizione eccessiva alla luce diretta.

Dopo il periodo di incubazione, collocare il campione del paziente trattato in un rack. Assicurarsi che il Diluyente del Campione Vitamina B12/Acido Folico (L2FVZ) sia caricato sul rack. Quando si imposta l'Acido Folico per gli emolisati, occorre impostare il test con una diluizione interna (X5), o con una diluizione manuale (X5, per tener conto del trattamento con acido ascorbico). Vedi Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000 per la diluizione dei campioni e per le Diluizioni Manuali.

Calcoli

Risultati del Sangue Intero

I risultati dell'acido folico con il sangue intero verranno visualizzati con fattori di diluizione interni e manuali applicati automaticamente.

(Nota: L'IMMULITE 2000 registra sia la diluizione interna 1:5 effettuata con il diluente del campione che la diluizione 1:5 manuale off-line effettuata con l'acido ascorbico.)

Risultati dei Globuli Rossi

Per la misurazione approssimativa dell'acido folico nei globuli rossi compattati, in ng/mL, moltiplicare la concentrazione di acido folico nel sangue intero (R) per $100/H$, dove H è l'ematocrito in percentuale:

$$\text{Acido Folico nei Globuli Rossi} \approx R \times (100 / H)$$

Cioè, la percentuale di acido folico nel siero deve essere sottratta dalla concentrazione di acido folico nel sangue intero prima di moltiplicare per $100/H$. Utilizzare il livello di acido folico nel siero S, l'equazione esatta è:

$$\text{Acido Folico nei Globuli Rossi} = (R - [S \times (100 - H) / 100]) \times (100 / H)$$

Il termine nelle parentesi quadrate è, tuttavia, nella maggior parte dei casi così piccolo paragonato al termine R che può essere giustamente tralasciato.

Valori Attesi

Poiché i livelli di acido folico vengono influenzati in maniera considerevole dalla dieta e dagli integratori alimentari, i limiti di riferimento basati sulla popolazione possono evidenziare differenze demografiche piuttosto rilevanti. Negli Stati Uniti, ad esempio, l'aggiunta di vitamine ai farinacei, cosiccome previsto dal Food and Drug Administration fin dal 1996, ha determinato un aumento fino a livelli doppi della concentrazione media di folati nella popolazione normale che non fa uso di integratori vitaminici¹³ e un decremento della prevalenza di livelli di folati bassi ad es.: livelli inferiori a 3 ng/mL (7 nmol/L).¹³ Ci si attende che i programmi di aggiunta di vitamine ai cibi, abbiano un impatto simile sul sangue intero e sui livelli di folati nei globuli rossi che costituiscono un indicatore migliore delle riserve presenti nei tessuti.

Sulla base del suo rapporto con il dosaggio dell'Acido Folico DPC IMMULITE (vedi Comparazione dei Metodi), ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento. Nota:

lo studio sul range di riferimento sul quale si basano i limiti del dosaggio IMMULITE Acido Folico è stato effettuato negli Stati Uniti prima del programma di aggiunta di vitamine ai cibi previsto dall'FDA.

Acido folico nel siero	3 – >15 ng/mL (6 – >34 nmol/L)
Acido folico nel sangue intero	43 – 295 ng/mL (97 – 668 nmol/L)
Acido folico nei globuli rossi	93 – 641 ng/mL (212 – 1 453 nmol/L)

I laboratori dovrebbero stabilire l'appropriatezza di adottare tali range di riferimento.

Limitazioni

La proteina legante il folato impiegata nel Porta Reagenti crossreagisce con il farmaco metotrexato (MTX) "anti-folato", un composto utilizzato nel trattamento chemioterapico del cancro. (Vedi la sezione Specificity). Siccome le infusioni di metotrexato a dosi elevate possono causare iniziali livelli circolanti di 45 000 ng/mL e livelli dell'ordine di circa 2 000 ng/mL 48 ore dopo, il kit non dovrebbe essere utilizzato per la misurazione dell'acido folico in pazienti cui viene somministrato il farmaco. Inoltre, è necessario essere molto prudenti nell'interpretazione dei livelli di acido folico in pazienti che sono stati recentemente sottoposti a terapia con metotrexato o con un altro farmaco a struttura simile.

E' necessario essere prudenti anche nell'interpretazione dei risultati di acido folico prossimi al limite inferiore del range di normalità.¹⁰

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni

potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedere le tabelle ed i grafici per i dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in ng/mL. (Se non diversamente previsto, tutti i risultati sono stati generati con campioni di siero raccolti in tubi senza barriere di gel o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Fattore di Conversione:

ng/mL \times 2,266 \rightarrow nmol/L

Range di Riferimento: 1 – 15 ng/mL (2,3 – 34 nmol/L).

Sensibilità Analitica: 0,8 ng/mL (1,8 nmol/L).

Precisione intraprove (Entro la stessa esecuzione): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 replicati in un'unica seduta (Vedere la tabella "Intraassay Precision").

Precisione interprove (Da un'esecuzione all'altra): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 12 sedute diverse. (Vedere la tabella "Interassay Precision").

Linearità: I campioni sono stati provati sotto varie diluzioni (Vedere la tabella "Linearità per i dati rappresentativi").

Ricupero: Sono stati analizzati i campioni etichettati da 1 a 19 con tre soluzioni di acido folico (20, 70 e 180 ng/mL). (Vedere la tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per l'acido folico. (Vedere la tabella "Specificity")

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: I campioni emolizzati non sono idonei per le determinazioni del folato nel siero.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 5 000 mg/dL non ha

nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 9 volontari in provette semplici, eparinizzate e Becton Dickinson vacutainer SST[®]. Mediante regressione lineare:

(Eparina) = 1,05 (Siero) – 0,36 ng/mL
r = 0,996

(SST) = 0,98 (tubi semplici) – 0,06 ng/mL
r = 0,997

Valore medio:
16 ng/mL (Siero)
16 ng/mL (Eparina)
15 ng/mL (SST)

Paragone dei Metodi (Campioni di siero): La prova è stata paragonata all'Acido Folico DPC su 143 campioni di siero (Gamma di concentrazione: da 1,2 a 14,7 ng/mL circa. Vedere la grafica.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,95 (IML) – 0,46 ng/mL
r = 0,978

Valore Medio:
7,5 ng/mL (IMMULITE 2000)
8,5 ng/mL (IMMULITE)

Paragone dei Metodi (Emolizzati): La prova è stata paragonata al dosaggio dell'Acido Folico DPC IMMULITE su 49 campioni (Gamma di concentrazione: da 46 a 260 ng/mL circa. Vedere la grafica.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 1,18 (IML) – 29 ng/mL
r = 0,981

Valore Medio:
128 ng/mL (IMMULITE 2000)
134 ng/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Il Sistema Qualità della Diagnostic Products Corporation è certificato secondo le norme ISO 13485:2003.

Português

Ácido Fólico

Utilização: Para o doseamento quantitativo de ácido fólico em soro,

plasma heparinizado ou sangue total tratado com ácido ascórbico, no diagnóstico *in vitro* em conjunto com o analisador IMMULITE 2000, como auxílio para o diagnóstico clínico e tratamento de anemia.

Números de catálogo:
L2KFO2 (200 testes),
L2KFO6 (600 testes)

Código do teste: **FOL** Cor: **Laranja**

Sumário e explicação do teste

O ácido fólico (folato) e a vitamina B₁₂ são nutrientes essenciais para a hematopoiese.¹ A anemia megaloblástica é quase sempre causada pela ausência de uma destas duas vitaminas.¹ Níveis de folato circulante são geralmente normais ou elevados na deficiência de vitamina B₁₂, mas os níveis de folato nas hemácias são frequentemente baixos nesta condição.²

A deficiência de folato é normalmente observada em consequência de uma dieta deficiente (como no caso de alcoolismo) ou carência crescente desta vitamina (como na gravidez).^{1,3} Ao contrário da vitamina B₁₂, o folato é uma vitamina afectada pelo calor, susceptível a perda de acção se os alimentos forem cozinhados tempo demais. Consequentemente, a prevalência de deficiência de folato apresenta importantes variações demográficas, reflectindo aparentemente diferenças em hábitos culinários e de dieta.⁴

Os níveis de folato circulante, por serem fortemente influenciados pela ingestão de alimentos recente, não são fiáveis como índice de armazenamento nos tecidos.^{2,5,6} Desta forma, os níveis de folato medidos em soro ou plasma podem ser normais mesmo em face de deficiência de folato. Inversamente, os níveis circulantes podem estar baixos muito antes do depósito em tecido ter sido esgotado.^{2,6} Consequentemente, é também importante medir os níveis de folato nas hemácias sempre que níveis de soro ou plasma forem medidos.^{5,7,8}

Princípio do procedimento

Imunoensaio competitivo.

O IMMULITE 2000 realiza um tratamento de amostra no aparelho de 2 ciclos do

soro, plasma ou sangue total tratado com ácido ascórbico (para medir folato de hemácias) do doente. A amostra, juntamente com o ácido fólico marcado com ligante, é primeiro tratada com ditiotreitól (DTT), num tubo de reacção sem esfera, e depois com cianeto de potássio/hidróxido de sódio (NãOH/KCN), num segundo ciclo de tratamento. A amostra tratada é transferida para um segundo tubo de reacção com uma esfera de poliestireno revestida com anticorpo de proteína ligante anti-folato monoclonal e uma proteína ligante de folato (FBP). Durante a incubação de 30 minutos, o ácido fólico libertado das proteínas ligantes na amostra do doente compete com o ácido fólico marcado com ligante para ligar com o FBP. A esfera é lavada e fosfatase alcalina marcada com anti-ligante é adicionada. Durante os 30 minutos da incubação final, a fosfatase alcalina marcada com anti-ligante liga-se ao folato marcado com ligante que estava ligado à esfera durante a primeira incubação. A enzima não ligada conjugada é removida por lavagem centrífuga. O substrato é adicionado e o procedimento continua como descrito para imunoensaios típicos no Manual do Operador.

Ciclos de incubação: 4 × 30 minutos. 2 posições de teste por ensaio: 1 cuvete de amostra de tratamento; 1 cuvete de imunoreacção.

Ciclos 1 e 2: Desnaturação alcalina das proteínas ligantes endógenas.

Ciclos 3 e 4: Ligação da proteínas e imunoreacção.

Painel de Acido Fólico / Vitamina B12:

Para alcançar o máximo rendimento de doseamento, as amostras de doentes para ácido fólico e vitamina B12 devem ser executadas alternadamente, começando por uma amostra de ácido fólico. Ver o Manual do Operador sobre como criar um painel.

Colheita

Nota: Os doentes devem estar em jejum.¹⁰

Para determinações de ácido fólico no sangue total e em hemácias, use sangue total fresco heparinizado ou EDTA. O hematócrito do doente deve ser conhecido para traduzir o sangue total em resultados de ácido fólico nas hemácias, que são expressos em nanogramas por

mililitro (ng/mL) de hemácias tamponizadas. Além disso, para calcular exactamente o resultado de ácido fólico nas hemácias, o nível de ácido fólico no soro do doente também deve ser conhecido.

O plasma EDTA não deve ser usado como um tipo de amostra.

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

As amostras de soro hemolizadas são impróprias para análise.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Ácido Fólico não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Soro ou Plasma Heparinizado

Volume necessário : 50 µL de soro or plasma

Armazenamento: 8 horas a 2–8°C, ou 6-8 semanas a –20°C.¹² Evitar a exposição excessiva à luz directa.

Sangue total (ácido fólico dos glóbulos vermelhos)

Volume Necessário: 100 µL (*frestras*) de sangue total heparinizado ou com EDTA (para a preparação de hemolisados).

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio, com concentrações menores que 0,1 g/dL, foi adicionada a certos componentes como conservante. Ao eliminar, dilua com grandes volumes de água para evitar a acumulação de azidas metálicas explosivas em canalizações de chumbo e cobre.

Foi adicionado Clorafenicol em concentrações inferiores a 0,1 g/dL, como conservante. O Clorafenicol é conhecido como causa de cancro; esta divulgação é exigida pelo estado da Califórnia.

NãoH/KCN: Solução contém cianeto. Evite qualquer contacto corporal.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos:

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessários para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Ácido Fólico (L2FO12)

Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com proteína de ligação com anti-ácido fólico monoclonal de rato. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KFO2: 1 embalagem

L2KFO6: 3 embalagens.

Embalagem de reagentes "A" de Ácido Fólico (L2FOA2)

Com código de barras. Embalagens rotuladas com "A" cada contendo 15 mL de ditiotreitól (DTT) tamponizado, 18,1 mL de ácido fólico marcado com ligante, tamponizado, 15 mL de NãoH/KCN (NHCN) tamponizado, com conservante. Antes de abrir é Estável até a data de validade a 2–8°C. Depois de abrir estável

a 2–8°C por 14 dias.

L2KFO2: 3 embalagens

L2KFO6: 6 embalagens.

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas na tampa do reagente.

Embalagem de reagentes “D” de Ácido Fólico (L2FOD2)

Com código de barras. Embalagens rotuladas com “D” contendo 11,5 mL de proteína de ligação de folato tamponizada, 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com anti-ligante tamponizado, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KFO2: 1 embalagem

L2KFO6: 3 embalagens.

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas na tampa do reagente.

Ajustes de Ácido Fólico (LFOL, LFOH)

Dois frascos (nível alto e baixo) de ácido fólico liofilizado numa matriz baseada em proteína humana, com conservante.

Reconstitua cada frasco com **3,0 mL** de água destilada estéril. Misture por inversão ou movimentos lentos. Estável, após a reconstituição, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KFO2: 2 conjuntos

L2KFO6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o “kit”) em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluyente de Amostras de Vitamina B12/ácido fólico (L2FVZ)

Para ser utilizado na determinação do ácido fólico nos eritrócitos, e para diluições no aparelho de amostras elevadas. 25 mL de concentrado (pronto a

usar) livre de vitamina B12 e ácido fólico em matriz humana de base proteica com conservante. Estável a 2–8°C por 30 dias após abrir, ou 6 meses aliquotado a –20°C.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluyente. Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 × 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

L2FVZ: 3 etiquetas

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

L2ZT: 250 Tubos de diluyente da amostra (16 × 100 mm)

L2ZC: 250 Tampas para tubos de diluyente da amostra

Acido Ascórbico: Solução preparada de fresco a 0,1%.

CON6: Controlo multiparamétrico de três níveis.

Também necessário

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada; controlos.

Procedimento de doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Consulte o Manual do Operador de IMMULITE 2000 para instruções sobre preparação, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Repare que as Embalagens de Reagente A (L2FOA2) e Embalagens de Reagente D (L2FOD2) devem ser colocadas no carrossel para executar este doseamento.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
4 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:
utilize controlos ou “pools” com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de ácido fólico.

Preparação dos Hemolisados: Collher a amostra de sangue total e determine o hematócrito, lise as células na amostra preparando uma diluição 1 para 5 da amostra (em suspensão total) numa solução preparada de fresco de 0,1% ácido ascórbico (ex. misturando 100 µL de sangue total com 400 µL a 0,1% de ácido ascórbico). Não usar ascorbato de sódio.⁹ Vortexar e deixar estar por 40 – 180 minutos à temperatura ambiente (15–28°C) no escuro.¹⁰

Armazenamento dos hemolisados : 3 horas a 2–8°C, ou 2 semanas a –20°C.^{10,11} Evitar exposição excessiva à luz directa.

Após o período de incubação colocar a amostra tratada numa rack de amostras. Verifique que o diluente de amostras de Vitamina B12/ Ácido fólico (L2FVZ) está no aparelho. Quando pedir Ácido fólico para os hemolisados de solicitar o teste com uma diluição de (X5) a bordo bem como uma diluição manual (X5), devido ao tratamento com o ácido ascórbico). Ver o manual de instruções do IMMULITE 2000 para diluições de amostras e diluições manuais.

Cálculos

Resultados no sangue total

Os resultados de ácido fólico no sangue total aparecem já com os valores das diluições no aparelho e manuais calculados.

(Nota: O IMMULITE 2000 leva em conta tanto a diluição a bordo com o diluente de amostras 1 para 5, bem como a diluição 1 para 5 com o ácido ascórbico (manual).

Resultados nos eritrócitos

Para um doseamento aproximado do ácido fólico das células vermelhas em ng/mL, multiplique o valor da concentração do sangue total (R) por 100/H, onde H é a percentagem de hematócrito.

$$\text{Ácido fólico dos eritrócitos} \approx R \times (100 / H)$$

A concentração de ácido fólico no soro deveria ser subtraída pela concentração de ácido fólico no sangue total antes de ser multiplicada por 100/H. Usando a concentração de ácido fólico do soro do doente S, a equação exata é:

$$\text{Ácido fólico nos eritrócitos} = (R - [S \times (100 - H) / 100]) \times (100 / H)$$

Os valores contudo são tão semelhantes que geralmente não se utiliza em rotina.

Valores de Referência

Devido aos valores de ácido fólico serem fortemente influenciados pela dieta e suplementos dietéticos, os valores de referência podem variar com para vários tipos de populações. Nos EUA por exemplo a dieta suplementar requerida pela FDA desde 1996, levou a que os indivíduos que não a utilizaram apresentassem metade dos valores de folato plasmático do que os restantes e prevalência de baixos níveis de folatos abaixo 3 ng/mL (7 nmol/L).¹³ É de prever que programas de fortificação tenham um impacto semelhante nos níveis em sangue total e de folato em hemácias, que são considerados como melhores medidas de armazenamento em tecido.

Com base na sua relação com o doseamento de Fase Sólida sem fervura Dualcount da DPC (veja Comparação de Métodos), prevê-se que o doseamento tenha os seguintes limites de referência. Note: O estudo de valores normais da Dualcount foi levado a cabo nos Estados Unidos antes dos requerimentos de fortificação terem sido postos em vigor pela FDA (Food and Drug Administration).

Ácido fólico em soro	3 – >15 ng/mL (6 – >34 nmol/L)
Ácido fólico em sangue total	43 – 295 ng/mL (97 – 668 nmol/L)
Ácido fólico em hemácias	93 – 641 ng/mL (212 – 1 453 nmol/L)

Os laboratórios devem estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

A proteína de ligação de folato empregue na embalagem de reagente apresenta uma certa reactividade cruzada ao medicamento "anti-folato" metotrexato (MTX), um composto utilizado na quimioterapia para o tratamento de cancro. (Veja a secção de Especificidade.) Já que infusões de altas doses de metotrexato podem resultar em níveis circulantes de 45 000 ng/mL inicialmente

e níveis na ordem de 2 000 ng/mL, 48 horas depois, assim, o kit não deve ser usado para medições de ácido fólico em doentes a receber este medicamento. Além disso, deve ser praticado extremo cuidado ao interpretar níveis de ácido fólico em doentes que se submeteram recentemente à terapia com metotrexato ou qualquer outro medicamento com estrutura semelhante.

Os resultados de Ácido fólico próximos do limite inferior devem ser interpretados com cuidado.¹⁰

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

Factor de conversão:

ng/mL \times 2,266 \rightarrow nmol/L

Zona de Trabalho: 1 – 15 ng/mL (2,3 – 34 nmol/L).

Sensibilidade Analítica: 0,8 ng/mL (1,8 nmol/L).

Precisão Intra-ensaio (Entre ensaio):

Estatísticas foram calculadas para amostras dos resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Ver a tabela de "Precisão entre ensaio")

Precisão Inter-ensaio (Ensaio a ensaio): Estatísticas foram calculadas para amostras doseadas em 12 ensaios diferentes. (Ver a tabela de "Precisão entre ensaios").

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: Às amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções ácido fólico (20, 70 e 180 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para ácido fólico (Ver tabela de "Especificidade".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: Amostras hemolisadas são inadequadas para determinações de folato em soro.

Lipemia: A presença de trigliceridos em concentrações até 5 000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternativas, foi colhido sangue de 9 voluntários em tubos secos, com heparinizados e tubos de vacum SST[®] da Becton Dickinson. Por regressão linear:

(Heparina) = 1,05 (Soro) – 0,36 ng/mL
r = 0,996

(SST) = 0,98 (tubos simples) – 0,06 ng/mL
r = 0,997

Médias:

16 ng/mL (Soro)
16 ng/mL (Heparina)
15 ng/mL (SST)

Comparação de Métodos (Amostras de Soro): O ensaio foi comparado com o Kit da DPC de Ácido Fólico IMMULITE em 143 amostras de soro (Valores de concentração de 1,2 a 14,7 ng/mL. Ver gráfico) Por regressão linear:

(IML 2000) = 0,95 (IML) – 0,46 ng/mL
r = 0,978

Médias:

7,5 ng/mL (IMMULITE 2000)
8,5 ng/mL (IMMULITE)

Comparação de Métodos

(Hemolisados): O ensaio foi comparado ao Kit da DPC de Ácido Fólico IMMULITE em 49 amostras (Valores de concentração de 46 a 260 ng/mL. Vêr gráfico) Por regressão linear:

$(IML\ 2000) = 1,18 (IML) - 29\ ng/mL$

$r = 0,981$

Médias:

128 ng/mL (IMMULITE 2000)

134 ng/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica:

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

O Sistema de Qualidade da Diagnostic Products Corporation está registado sob ISO 13485:2003.



Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2006-02-22

PIL2KFO – 14



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00