

- Підготуйте реагенти і використовуйте відразу після приготування. Викиньте невикористані реагенти, які залишилися та відходи відповідно до державних, федеральних та місцевих норм.
- Для того, щоб провести аналіз більше ніж один раз, переконайтесь, що реагенти зберігалися за умов, вказаних на етикетці. Приготуйте тільки відповідну кількість необхідну для кожного запуску. Набір можна використовувати до 4 разів протягом терміну придатності, зазначеного на етикетці.

7.1 Вода

- Вода [DIL] (для середовища[ASYMED], стандарт [STD] та контролю [CTRL 1, CTRL2])
- Натисніть на кришку і потягніть її назад до краю скла, а потім викрутіть весь ковпачок.

7.2 Підготовка контролів

- Ліофілізовані контролі [CTRL 1, CTRL2] ресуспендували кожен з 125 мкл води [DIL] з тестового набору, потім гомогенізували за допомогою вортексу.
- Після реконституції, контролі обробляються як зразки.
- Концентрація контролів змінюється від лоту до лоту і вказана в специфікації продукту.

7.3 Підготовка стандартної кривої

- Для підготовки стандартної кривої, необхідний концентрат стандарту. Щоб приготувати концентрат стандарту, ресуспендований ліофілізований стандарт [STD] з x мл (x = див. доданий протокол контролю якості для необхідного обсягу) води [DIL], яка постачається в наборі, потім гомогенізуйте за допомогою вортексу.
- Підготуйте стандартну криву у 6 стерильних реакційних трубках (1.5 – 2 мл об'єм) зі стандартного концентрату і води [DIL] дотримуючись схеми, зображеної у таблиці нижче:

Фолієва кислота	[мкг/л]	Вода DIL [мкл]	+	Концентрат стандарту[мкл]	=	Загальний об'єм [мкл]
Бланк:	0	450	+	0	=	450
Стандарт 1:	0.04	450	+	50	=	500
Стандарт 2:	0.08	400	+	100	=	500
Стандарт 3:	0.16	300	+	200	=	500
Стандарт 4:	0.24	200	+	300	=	500
Стандарт 5:	0.32	100	+	400	=	500

7.4 Підготовка стерильного середовища для аналізу

- Свіже стерильне середовище для аналізу потрібно підготувати перед кожним проведенням тесту.
- Вийміть ліофілізоване середовище для аналізу з мішка в пробірку для середовища кількісного виявлення, за допомогою пінцету і струшуючи його в середині пляшки. Потім вийміть чистий мішок осушувача і викиньте його.
- Додайте 10 мл води [DIL] та 1 мл буфера для обробки середовища [ASYMED] у пляшку для обробки середовища [ASYMED], щільно закрийте пляшку та потрусіть її. Цієї кількості достатньо для 6 мікротитрових стрипів.
- Нагрійте пляшку для середовища у водяній ванні при температурі 90°C - 100°C протягом 5 хв., добре потрусити щонайменше 2 рази протягом інкубаційного часу. Подбайте, щоб пляшка для середовища завжди була щільно закрита.
- Швидко охолодіть пляшку для середовища до < 30°C (при 2 °C – 8 °C протягом 10 хв).
- Профільтруйте середовище за допомогою одноразового шприца (10 мл) і 0,2 мкм PES-фільтра в стерильну пробірку для центрифуги (15 мл, наприклад, Falcon).
- Після цієї підготовки, стерильне середовище для аналізу може використовуватися у тесті.

7.5 Мікротитровий планшет [PLATE]

- Зберігайте мікротитровий планшет [PLATE] в алюмінієвій упаковці, яка містить пакет з осушувачем при температурі 2°C - 8°C.
- Мікротитровий планшет [PLATE] потрібно захищати від вологості та забруднення.
- Переконайтесь, що алюмінієва упаковка не пошкоджена.
- Обережно закрийте алюмінієву упаковку після відкриття.
- Щоб запобігти забрудненню, візьміть безпосередньо перед використанням лише ті мікротитраційні стрипи, які потрібні.

8. ЗБЕРІГАННЯ ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКА

- Використовуйте сироватку для аналізу.

- Зразки стабільні при температурі 2 °C - 8°C протягом 8 годин у темряві. Для довготривалого зберігання, зразки потрібно заморозити та зберігати при температурі -20°C.
- Гемолітичні зразки можуть дати помилкові результати тому не повинні використовуватися для аналізу. Ліпемічні зразки потрібно центрифугувати при 13 000 з перед тестуванням, щоб отримати сироватку без жиру, наскільки це можливо.
- Зразки потрібно центрифугувати (принаймні 5 хв при 10 000 об/хв) перед вимірюванням. Використовуйте отриманий супернатант у тесті.

8.1 Підготовка зразка

Додайте 100 мкл сироватки/контролю до 400 мкл розчину підготовленого зразка [SOL] (відношення 1:5), перемішати. Потім нагріти до 95°C до 30 хв, швидко охолодити (до 2°C - 8°C протягом 10 хв) та центрифугувати протягом 10 хв при 10 000 об/хв.

8.2 Розведення зразка

Візьміть 50 мкл зі супернатанту підготовленого зразка/контролю, додайте 700 мкл води [DIL] та перемішайте. Обробка зразка і розведення призводять до загального розведення 1:75 (= коефіцієнт розведення зразка).

9. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

9.1 Підготовка тесту

Візьміть з набору стільки мікротитраційних стрипів, скільки потрібно. Покладіть невикористані стрипи та будь-який невикористаний компонент тестового набору до оригінальної упаковки, потім в холодильник. Довести всі необхідні реагенти до кімнатної температури.

9.2 Процедура тестування

- o Візьміть з набору необхідну кількість мікротитрових стрипів і помістіть їх у другий штатив для мікротитрів [FRA].
- o Положіть 150 мкл стерильного середовища для аналізу у порожнину.
- o Додайте 150 мкл підготовлену стандартну криву, зразки та контролі у відповідні порожнини. Попередньо промийте кожний наконечник піпетки з розчином для стандарту, контролю або зразка відповідно.
- o Обережно закрийте планшет клейкою плівкою з фольги [FOL]. Важливо: порожнини потрібно герметично закривати, натиснувши на фольгу рукою!
- o Зберігайте при температурі **37°C** протягом **48 год** в інкубаторі.

9.3 Вимірювання

- o Натисніть на клейку плівку з фольги [FOL] знову рукою.
- o Переверніть мікропланшетну пластину [PLATE], поставте її на стільницю і добре струсіть мікроби.
- o Поверніть планшет знову [PLATE] та обережно зніміть клейку плівку з фольги [FOL]. Під час цього, закріпіть рукою стрипи у рамці, тому що фольга є дуже клейкою.
- o Видаліть бульбашки повітря в порожнинах за допомогою наконечника піпетки або голки.
- o Зчитайте каламутність у ELISA зчитувачі при E610 – 630 нм (альтернативно при E 540 – 550 нм).

Зверніть увагу

- Після 48 год інкубації, мікротитровий планшет [PLATE] можна зберігати максимум протягом 48 год у холодильнику перед вимірюванням каламутності.
- Щоб запобігти втраті часу через державні свята або вихідні дні, мікротитровий планшет [PLATE] також можна оцінити після 60 год інкубації.

10. ОЦІНЮВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Рекомендується використовувати 4-параметровий алгоритм для обчислення результатів. Коефіцієнт розведення зразків слід враховувати для оцінки даних.

Бланк повинен мати оптичну щільність < стандарт 1. Він служить оптичним контролем для виключення забруднень і не входить до розрахунку результатів.

10.1 Обчислення

Фолієва кислота у мкг/л = значення зі стандартної кривої x коефіцієнт розведення зразка (75)

Референтне значення для людської сироватки

На підставі досліджень зразків сироватки, очевидно здорових осіб (n = 74), оцінювалися наступні значення.

Фолієва кислота: 3.8 – 23.2 мкг/л

Зверніть увагу

Діапазон концентрації 3 – 24 мкг/л фолієвої кислоти покривається при розведенні зразка 1:75.

Рекомендується, щоб кожна лабораторія розробила свій власний діапазон норм, оскільки нормальні діапазони сильно залежать від вибору пацієнта. Зазначені вище значення призначені лише для орієнтації і можуть відрізнятися від інших опублікованих даних.

10.2 Контроль якості

Екстинкція найвищого стандарту має бути > 0,6.

Результати, отримані в результаті аналізу контрольних зразків, повинні бути оцінені щодо прийнятності. Результати для зразків можуть не бути дійсними, якщо в межах одного і того ж аналізу одне або більше значень контрольного зразка якості або найвищого стандарту знаходяться поза допустимими межами.

11. ОБМЕЖЕННЯ

Цільну кров не можна використовувати в аналізі.

12. РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Наступні робочі характеристики були зібрані з використанням людських зразків сироватки.

12.1 Точність та відтворюваність

В аналізі (n = 21)		
	Фолієва кислота [мкг/л]	КВ [%]
Зразок	12.69	4.70
Між аналізами (n = 3)		
	Фолієва кислота [мкг/л]	КВ [%]
зразок	12.24	5.68

12.2 Відновлення

Зразки 4 пацієнтів розводили по-різному (75, 150, 300), додали фолієву кислоту та проаналізували. Середні значення наведені нижче.

Зразок n=9	Середнє значення Вихідний зразок [мкг/л]	Додаток [мкг/л]	Фолієва кислота очікувана [мкг/л]	Фолієва кислота Виміряна [мкг/л]	Швидк. Відновл. [%]
A	8.2	5	13.2	13.8	112
		10	18.2	19.1	109
		15	23.2	24.8	111
Загал. швидкість відновлення [%]					111

Зразок n=8	Середнє значення Вихідний зразок [мкг/л]	Додаток [мкг/л]	Фолієва кислота очікувана [мкг/л]	Фолієва кислота Виміряна [мкг/л]	Швидк. Відновл. [%]
B	3.9	5	8.9	9.3	108
		10	13.9	14.3	104
		15	18.9	19.5	104
Загал. швидкість відновлення [%]					105

Зразок n=8	Середнє значення Вихідний зразок [мкг/л]	Додаток [мкг/л]	Фолієва кислота очікувана [мкг/л]	Фолієва кислота Виміряна [мкг/л]	Швидк. Відновл. [%]
C	4.4	5	9.4	9.6	104
		10	14.4	14.5	101
		15	19.4	20.0	104
Загал. швидкість відновлення [%]					103

Зразок n=9	Середнє значення зразок [мкг/л]	Додаток [мкг/л]	Фолієва кислота очікувана [мкг/л]	Фолієва кислота Виміряна [мкг/л]	Швидк. Відновл. [%]
D	5.1	5	10.1	10.6	110
		10	15.1	15.3	102
		15	20.1	20.6	103
Загал. швидкість відновлення [%]					105

12.3 Лінійність

Зразки 2 пацієнтів розбавляли і аналізували. Результати показані нижче.

Зразок	Розведення	Фолієва кислота очікуване [мкг/л]	Фолієва кислота визначене [мкг/л]
A	75	13.2	13.7
	150		14.0
	300		13.9
C	150	19.4	20.1
	300		20.7
	450		19.4

13 ПОСИЛАННЯ/ЛІТЕРАТУРА

- Obeid, R. & Herrmann, W., 2006. Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia. *FEBS letters*, 580(13), pp.2994–3005.
- Strohecker, R. & Henning, H., 1963. *Vitamin-Bestimmungen. Erprobte Methoden.* E. Merck AG, ed., Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie GmbH.
- Verhaar, M.C., Stroes, E. & Rabelink, T.J., 2002. Foliates and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 22(1), pp.6–13.

14 ЗАГАЛЬНІ ПРИМІТКИ ПРО ТЕСТ ТА ПРОЦЕДУРУ ТЕСТУ

- Цей аналіз був виготовлений і розподілений відповідно до керівних положень IVD 98/79 / EC.
- Всі реагенти в наборі призначені тільки для діагностики *in vitro*.
- Реагенти не можна використовувати після закінчення терміну придатності, який вказаний на етикетці.
- Не замінюйте різні номери лоту будь-якого компонента набору в рамках одного і того ж аналізу.
- Потрібно дотримуватися керівних положень медичної лабораторії.
- Час інкубації, температура інкубації та об'єми піпетування компонентів визначені виробником. Будь-яка зміна процедури випробування, яка не узгоджена з виробником, може вплинути на результати випробування. Тому DRG не може нести відповідальність за будь-які пошкодження, що виникли внаслідок неправильного використання.
- Контрольні зразки потрібно аналізувати в кожному запуску.
- Аналіз завжди потрібно проводити відповідно до вкладеного посібника.

СИМВОЛИ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ

Символ	Опис
	Європейської відповідності
	Прочитайте інструкцію щодо використання*
	Пристрій для діагностики <i>in vitro</i>
	№ в каталозі *
	№ партії*
	Достатньо для <n> тестів*
	Обмеження температури*
	Використати до *
	Виробник*
	Увага*
RUO	Тільки для дослідження
Distributed by	поширюється
Content	Вміст
Volume/No.	Об'єм/ №



УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ»
вул. Чорновола, 97
м. Івано-Франківськ, 76005
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.com

© Переклад на українську мову ТОВ «ДІАМЕБ»

