

**CHORUS
FOLATE**

REF 86402



DIESSE

DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (SI)
Italia



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS FOLATE

Per la determinazione quantitativa di folato nel siero umano

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

CHORUS FOLATE è un kit immunologico per la determinazione quantitativa automatizzata di folato.

Il test viene eseguito su siero umano, utilizzando un dispositivo monouso applicato allo strumento CHORUS TRIO.

Il kit, destinato a monitorare il livello di folato, rappresenta un aiuto alla diagnosi di carenza di folato.

Deve essere utilizzato esclusivamente da personale professionale di laboratorio.

2. INTRODUZIONE

Il folato, noto anche come vitamina B9 e folacina, è una delle vitamine del gruppo B. Il folato è necessario al corpo per produrre DNA e RNA e metabolizzare gli aminoacidi necessari per la divisione cellulare. Poiché gli esseri umani non possono produrre folato, è necessario nella dieta, rendendolo un nutriente essenziale. Il folato sotto forma di acido folico è usato per trattare l'anemia causata da carenza di folato, un tipo di anemia in cui i globuli rossi diventano anormalmente grandi. L'acido folico è anche usato come integratore dalle donne durante la gravidanza per ridurre il rischio di difetti del tubo neurale (NTD) nel bambino. Si ritiene che bassi livelli all'inizio della gravidanza siano la causa di oltre la metà dei bambini nati con NTD. L'integrazione a lungo termine con acido folico può aiutare individui con predisposizione a malattie cardiovascolari e ad alcune forme di cancro. Si teme che grandi quantità di acido folico supplementare possano nascondere la carenza di vitamina B12. L'acido folico e l'N-metiltetraidrofolato sono due forme comuni, quest'ultima è più stabile ed è presente in maggiore concentrazione nel siero. Le proteine leganti i folati sono responsabili del metabolismo dei folati e hanno anche la capacità di legare diversi derivati del folato tra cui l'acido folico e l'N-metiltetraidrofolato. Per eseguire il dosaggio del folato è necessaria un'estrazione per liberarlo dalle proteine a cui è normalmente legato.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo CHORUS FOLATE è pronto all'uso per la determinazione di folato nel siero umano, nello strumento Chorus TRIO.

Il test si basa su un metodo ELISA a competizione.

I pozzetti delle micropiastre sono streptavidina. Calibratore, controllo positivo e campioni vengono aggiunti a un dispositivo. Il campione e la proteina legante folato biotinilata vengono aggiunti in piastra e durante una prima incubazione avviene la formazione di un immunocomplesso tra il folato eventualmente presente nel siero e la proteina legante folato biotinilata che è a

sua volta in grado di legarsi alla streptavidina immobilizzata sulla fase solida.

Dopo una breve incubazione, il coniugato (contenente folato marcato con perossidasi) è aggiunto (questo ritardo permette di aumentare la sensibilità per i campioni a bassa concentrazione). Il coniugato compete con il folato presente nel siero in esame per i siti di legame alla proteina legante folato. Dopo il lavaggio per eliminare l'eccesso dei reattivi non legati, si aggiunge il substrato per la perossidasi. La reazione enzimatica viene interrotta aggiungendo la soluzione di arresto, che fa virare la soluzione al giallo. Il colore che si sviluppa è inversamente proporzionale alla quantità di folato presente nel campione del paziente.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati allo strumento Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in ng/ml.

4. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e hanno dato una risposta negativa per la presenza di HbsAg e per gli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 e anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Seguire tutte le precauzioni normalmente adottate nella pratica di laboratorio quando si maneggia materiale di origine umana.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti e smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Informazioni su salute e sicurezza

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (www.diesse.it).
5. Acidi neutralizzati e altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Per garantire una disinfezione efficace potrebbe essere necessaria un'esposizione di 30 minuti al sodio ipoclorito all'1%.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se nel versamento è presente un acido, asciugare la zona inquinata prima di usare il sodio ipoclorito. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti, compresi i guanti, devono essere smaltiti come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30 °C) per almeno 30 minuti e impiegare entro 60 minuti.

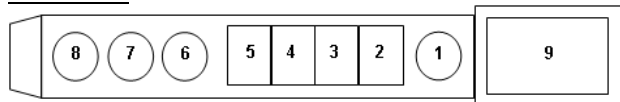
1. **Scartare i dispositivi con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso; non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'uso e il Manuale utente dello strumento.
L'utilizzo del kit è possibile solo con CHORUS TRIO con una versione aggiornata del software. Assicurarsi che il software installato sullo strumento sia una versione (Rel.) corrispondente o successiva a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito DIESSE
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Controllare che lo strumento Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del dispositivo al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Eventuali codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. L'utilizzo di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano contaminazione microbica può costituire fonte di errore.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.
12. **Controllare che lo strumento sia collegato al Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 9: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 8: Vuota

Posizione 7: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con streptavidina

Posizione 6: Vuota

Posizione 5: FOLATO BIOTINILATO

Contenuto: proteina legante il folato biotinilata, stabilizzata in tampone e conservante.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina e perossido di idrogeno stabilizzato in tampone.

Posizione 3: SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0.3 M

Posizione 2: CONIUGATO FOLATO

Contenuto: Folato marcato con perossidasi stabilizzato in tampone.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

in cui trasferire il campione.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta e prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2-8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.450 ml

Contenuto: Siero umano contenente folato e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.650 ml

Contenuto: Siero umano contenente folato e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

SAMPLE DILUENT/CONTROLLO NEGATIVO 1 x 1.100 ml

Contenuto: Siero umano non contenente folato e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Strumento Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Vortex
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl
- Guanti monouso
- Soluzione di sodio ipoclorito (5%)
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8 °C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione è necessario ripetere la calibrazione e controllare la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta del kit.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo l'apertura:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8 °C
CALIBRATORE	8 settimane a 2/8 °C
CONTROLLO POSITIVO	8 settimane a 2/8 °C
SAMPLE DILUENT	8 settimane a 2/8 °C

7. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per venipuntura e maneggiato con le precauzioni richieste nelle procedure standard di laboratorio.

Secondo la linea guida NCCLS CLSI H18-A3 i campioni di siero da analizzare devono essere coagulati prima della centrifugazione; la coagulazione spontanea e completa avviene normalmente entro 30-60 minuti a 22°C-25°C. Si raccomanda di separare fisicamente il siero, mediante centrifugazione, dal contatto con le cellule il più presto possibile con un limite di tempo massimo di 2 ore dal momento della raccolta.

Il siero fresco può essere mantenuto per 2 giorni a 2/8 °C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a temperature ≤ -20 °C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

La soluzione di estraente 1/40 (Stabilizing/Releasing) è stabile per 8 ore dalla preparazione.

Il campione estratto può essere utilizzato, se mantenuto a 4°C, entro 8 ore dall'estrazione.

Si raccomanda vivamente di evitare qualsiasi trattamento intenso dei campioni.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

Il test CHORUS FOLATE (REF. 86402) può essere eseguito contemporaneamente SOLO al kit CHORUS VIT B12 (REF.86400) e ai test CHORUS PROMONITOR.

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Preparare campioni, calibratore, controllo positivo e controllo negativo (quando necessario) utilizzando il prodotto CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) seguendo il protocollo di estrazione riportato nelle relative istruzioni per l'uso.
Il pretrattamento non può essere eseguito nello strumento CHORUS AUTOSAMPLER (REF 81210).
4. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo:

CAMPIONE	100 µl/dispositivo
CALIBRATORE	100 µl/dispositivo
CONTROLLO POSITIVO	100 µl/dispositivo

Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.

5. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il controllo positivo per verificare la correttezza dei risultati ottenuti, processandolo come indicato nel Manuale utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il controllo positivo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del controllo positivo continua a essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo strumento Chorus TRIO fornisce il risultato in ng/ml, calcolati in base a un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

11. LIMITAZIONI

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione: 2.0-20.0 ng/ml.

Per campioni > 20.0 ng/ml, ripetere il test diluendo il campione con Folate Sample Diluent/Negative Control fornito con il kit. Si consiglia di effettuare diluizioni 1:5 e 1:10 dei campioni fuori scala; successivamente procedere all'estrazione dei campioni prima dell'analisi.

13. RANGE DI RIFERIMENTO

Sono stati analizzati 120 campioni (53 uomini, 67 donne), appartenenti alla popolazione apparentemente sana, con età compresa tra 18 e 91 anni. Le donne in gravidanza sono state escluse.

L'intervallo di riferimento del kit Chorus FOLATE è 2.8-14.9 ng/ml.

Questi valori dovrebbero essere usati solo come linee guida.

Ciascun laboratorio dovrebbe studiare la trasferibilità dei valori attesi alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare il proprio intervallo di riferimento.

14. SPECIFICITÀ ANALITICA

Sono stati testati 3 campioni a concentrazione crescente di folato ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Bilirubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
Trigliceridi (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Emoglobina (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)
Fattore Reumatoide (44IU/ml-220IU/ml)

La presenza delle sostanze interferenti sopra elencate nel siero in esame non altera il risultato del test, ad esclusione dell'emoglobina e dei trigliceridi.

Sono stati testati 2 campioni con concentrazione di folato nel range di normalità, al quale sono state aggiunte concentrazioni crescenti di Biotina (0.5 ng/ml – 1000.0 ng/ml).

La presenza nel siero in esame di Biotina non altera il risultato del test per concentrazioni fino a 10 ng/ml. Concentrazioni più elevate di Biotina determinano risultati errati.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 179 campioni con un kit Diesse e un altro kit in commercio: i dati di correlazione sono riassunti nella seguente tabella:

Correlazione	r	IC 95%
Pearson	0.93	0.91-0.95
Spearman	0.90	0.86-0.92

I coefficienti di correlazione di Pearson e Spearman rispettivamente rientrano nei range di correlazione molto elevata.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (ng/ml)	CV%	Media (ng/ml)	CV%
1	11.3	7.3	11.3	8.8
2	5.1	5.7	7.6	13.6
3	4.6	5.9	4.7	14.5
4	3.9	4.6	4.9	12.7
5	2.2	8.3	2.9	13.3

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (ng/ml)	CV%	Media (ng/ml)	CV%
1	12.7	9.0	11.7	8.1
2	6.8	12.9	7.6	15.0
3	4.8	9.6	4.8	12.1
4	4.9	13.6	4.7	13.2
5	2.4	10.0	2.5	13.0

17. LINEARITÀ

La linearità del test è stata valutata utilizzando 3 campioni con concentrazioni note di folato. Sono state effettuate diluizioni seriali per ciascun campione, che hanno dimostrato la linearità del metodo tra 2.4-20.0 ng/ml.

18. ACCURATEZZA

L'accuratezza del test è stata valutata misurando lo Standard Internazionale Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (codice NIBSC 03/178). Tre lotti del kit sono stati testati su uno strumento. La media del recupero rispetto al valore atteso dello standard (5,3 ng/ml) è del 92%.

19. BIBLIOGRAFIA

1. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. Gene 2014;533(1):11-20.
2. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. Xenobiotica 2014;44(5):480-488.
3. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. Handb Clin Neurol 2014;120:927-43.
4. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Clinical Aspects and Laboratory. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6th edition 2011:41-42.
5. NCCLS CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS FOLATE

For the quantitative determination of folate in human serum

For *in vitro* diagnostic use only

1. USE

CHORUS FOLATE is an immunological kit for the automated quantitative determination of folate.

The test is conducted on human serum using a single-use device applied to the CHORUS TRIO instrument.

The kit, intended to monitor the level of folate, is an aid in the diagnosis of folate deficiency.

It must only be used by professional laboratory personnel.

2. INTRODUCTION

Folate, also known as vitamin B9 and folacin, is one of the B vitamins. Folate is needed by the body to make DNA and RNA and to metabolise the amino acids required for cell division. Since humans cannot produce folate, it is necessary in the diet, making it an essential nutrient. Folate in the form of folic acid is used to treat anaemia caused by folate deficiency, a type of anaemia in which red blood cells become abnormally large. Folic acid is also used by pregnant women as a supplement to reduce the risk of neural tube defects (NTDs) in the baby. Low levels in early pregnancy are thought to be the cause of over half of babies born with NTDs. Long-term folic acid supplementation can help individuals prone to cardiovascular disease and some forms of cancer. There are concerns that large amounts of supplemental folic acid may mask a vitamin B12 deficiency. Folic acid and N-methyltetrahydrofolate are two common forms, the latter is more stable and has a higher concentration in serum. Folate-binding proteins are responsible for the metabolism of folate and also have the ability to bind several folate derivatives including folic acid and N-methyltetrahydrofolate. Performing a folate assay requires an extraction to free it from the proteins to which it is normally bound.

3. METHOD PRINCIPLE

The CHORUS FOLATE device is ready to use for the determination of folate in human serum in the Chorus TRIO instrument.

The test is based on a competitive ELISA method.

The microplate wells are coated with streptavidin. The calibrator, positive control and samples are added to a device. The sample and the biotinylated folate-binding protein are added to a plate and an immunocomplex between any folate present in the serum and the biotinylated folate-binding protein is formed during a first incubation, which in turn binds to the immobilised streptavidin on the solid phase.

After a short incubation, the conjugate (containing folate marked with peroxidase) is added (this delay increases the sensitivity for low-concentration samples). The conjugate competes with the folate in the test serum for sites binding to the folate-binding

protein. After washing to eliminate the excess unbound reagents, the peroxidase substrate is added. The enzymatic reaction is stopped by adding the stop solution, which causes the solution to turn yellow. The colour that develops is inversely proportional to the amount of folate in the patient's sample.

The single-use devices contain all the reagents to perform the test when applied to the Chorus TRIO instrument.

The results are expressed in ng/ml.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin that have been tested and gave a negative response for the presence of HbsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. Since no diagnostic test can completely ensure the absence of infectious agents, any material of human origin must be considered to be potentially infectious material. Follow all the normally adopted laboratory precautions when handling material of human origin.

Disposal of residues: the serum samples, calibrators and strips used must be treated as infected residues and disposed of in accordance with the provisions of current laws.

Health and safety information

1. Do not pipette with your mouth.
2. Use disposable gloves and eye protection when handling samples.
3. Wash your hands thoroughly after inserting the devices into the Chorus TRIO instrument.
4. Refer to the Safety Data Sheet (www.diesse.it) for the safety characteristics of the reagents contained in the kit.
5. Neutralised acids and other liquid waste must be disinfected by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. An exposure of 30 minutes to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective disinfection.
6. Any spillage of potentially infectious materials must be immediately removed with absorbent paper and the contaminated area must be decontaminated, for example with 1% sodium hypochlorite, before continuing the work. If an acid is present in the spill, dry the contaminated area before using sodium hypochlorite. All materials used to decontaminate any spill, including gloves, must be disposed of as potentially infectious waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical warnings

Before use, bring the devices to be used to room temperature (18-30°C) for at least 30 minutes and use within 60 minutes.

1. **Discard the devices with blue coloured substrate (well 4).**
2. When adding the sample to the well, check that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check the actual presence of the reagents in the device and the integrity of the device itself; do not use devices that lack any reagents and/or have foreign bodies in the reaction well when visually inspected.

4. The devices must be used in conjunction with the Chorus TRIO instrument, strictly following the Instructions for Use and the User Manual of the instrument.

The kit can only be used with CHORUS TRIO with an updated version of the software. Make sure that the software installed on the instrument is a version (Rel.) equal to or later than the one shown in the table published on the Diesse website

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

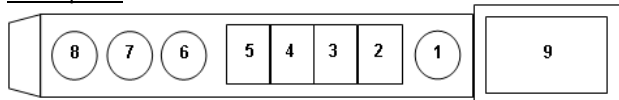
5. Check that the Chorus TRIO instrument is set correctly (see User Manual).
6. Do not alter the barcode on the grip of the device so that it can be correctly read by the instrument.
7. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage.
8. Any defective barcodes can be manually entered into the instrument (see User Manual).
9. Do not expose the devices to strong lighting or hypochlorite vapours during storage and use.
10. The use of heavily haemolysed, lipemic or icteric samples of serum that is not completely coagulated or samples with microbial contamination may be a source of error.
11. Do not use the device after its expiry date.
12. **Check that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packs of 6 devices each

Description:



Position 9: Space available for barcode label

Position 8: Empty

Position 7: MICROPLATE WELL

Coated with streptavidin

Position 6: Empty

Position 5: BIOTINYLATED FOLATE

Content: biotinylated folate binding protein, stabilised in buffer and preservative.

Position 4: TMB SUBSTRATE

Content: Tetramethylbenzidine and hydrogen peroxide stabilised in buffer.

Position 3: STOP SOLUTION

Content: 0.3 M sulphuric acid solution

Position 2: FOLATE CONJUGATE

Content: Folate marked with peroxidase stabilised in buffer

Position 1: EMPTY WELL

into which the sample will be transferred.

Use: bring a bag to room temperature, open the bag, take out the necessary devices; store the others in the bag containing the silica gel, let the air out and **seal** by pressing on the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.450 ml

Content: Human serum containing folate and preservative.

Liquid, ready to use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 0.650 ml

Content: Human serum containing folate and preservative.

Liquid, ready to use.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL 1 x 1.100 ml

Content: Human serum without folate and preservative.

Liquid, ready to use.

OTHER MATERIAL REQUIRED, BUT NOT SUPPLIED

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITISING SOLUTION **REF** 83604
- Chorus TRIO instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test tubes, etc.
- Vortex
- Micropipettes capable of accurately withdrawing volumes of 50-200 µl
- Disposable gloves
- Sodium hypochlorite solution (5%)
- Containers for the collection of potentially infectious materials

6. STORAGE METHOD AND REAGENT STABILITY

The reagents must be stored at 2-8°C. If the storage temperature is incorrect, the calibration must be repeated and the correctness of the result checked using the control serum (see section 9: Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

The reagents have limited stability after opening:

DEVICES	8 weeks at 2-8°C
CALIBRATOR	8 weeks at 2-8°C
POSITIVE CONTROL	8 weeks at 2-8°C
SAMPLE DILUENT	8 weeks at 2-8°C

7. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

The sample is serum obtained from blood collected by venous blood sampling and handled with the precautions required by standard laboratory procedures.

According to the NCCLS CLSI H18-A3 guideline, serum samples to be analysed should be coagulated before centrifugation; spontaneous and complete coagulation normally occurs within 30-60 minutes at 22°C-25°C. It is recommended to physically separate the serum, by centrifugation, from contact with the cells as soon as possible with a maximum time limit of 2 hours from the time of collection.

Fresh serum can be kept for 2 days at 2-8°C; for longer storage periods, freeze at temperatures ≤ -20°C.

The sample can undergo a maximum of 3 freeze-thaw cycles. The consequences of using other body fluids are unknown.

Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage. After thawing, carefully shake the sample before dosing.

The 1/40 extraction (Stabilising/Releasing) solution is stable for 8 hours after preparation.

The extracted sample can be used within 8 hours from extraction if kept at 4°C.

It is strongly recommended to avoid any intensive processing of the samples.

Sample quality can be seriously affected by microbial contamination which can lead to erroneous results.

8. PROCEDURE

The CHORUS FOLATE test (REF. 86402) can be performed simultaneously ONLY with the CHORUS VIT B12 kit (REF.86400) and with the CHORUS PROMONITOR tests.

1. Open the bag (side containing the snap closure), take the number of devices needed to perform the tests and store the others by closing the bag after letting the air out.
2. Visually check the status of the device according to the instructions in section 4 Analytical Warnings.
3. Prepare the samples, calibrator, positive control and negative control (when necessary) using the product CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF. 86500) according to the extraction protocol given in the relative Instructions for Use.
Pre-treatment cannot be performed in the CHORUS AUTOSAMPLER instrument (REF. 81210).
4. Dispense into well no. 1 of each device:

SAMPLE	100 µl/device
CALIBRATOR	100 µl/device
POSITIVE CONTROL	100 µl/device

For every batch change use one device for the calibrator.

5. Place the devices on the CHORUS TRIO instrument. Perform the calibration (if required) and the test as indicated in the instrument's User Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the positive control to verify the correctness of the result obtained, processing it as indicated in the instrument's User Manual. If the instrument indicates that the positive control has a value outside the acceptability limit, the calibration must be performed again. Previous results will be corrected automatically.

If the positive control result continues to be outside the acceptance range, contact Scientific Support.

Phone: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF RESULTS

The Chorus TRIO instrument provides the result in ng/ml calculated on the basis of a batch-dependent graph stored in the instrument.

11. LIMITATIONS

All values obtained require a careful interpretation without ever disregarding other indicators relating to the same patient. In fact, the test cannot be used on its own for a clinical diagnosis and the result obtained must always be evaluated together with data from the patient's medical history and/or from other diagnostic investigations.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 2.0-20.0 ng/ml.

For samples >20.0 ng/ml, repeat the test by diluting the sample with Folate Sample Diluent/Negative Control provided with the kit. It is advisable to make 1:5 and 1:10 dilutions of the off-scale samples; then proceed with extraction of the samples before analysis.

13. REFERENCE RANGE

120 samples (53 men, 67 women) from an apparently healthy population between the ages of 18 and 91 years were analysed. Pregnant women were excluded.

The reference range of the Chorus FOLATE kit is 2.8-14.9 ng/ml.

These values should only be used as guidelines.

Each laboratory should investigate whether the expected values can be transferred to their patient population and, if necessary, determine its own reference range.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples with increasing concentration of folate were tested, to which the following interferents were added:

Bilirubin (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglycerides (250 - 1500 mg/dl)
Haemoglobin (2.5 - 10 mg/ml)
Rheumatoid factor (44 - 220 IU/ml)

The presence of the above listed interfering substances in the serum under examination does not alter the test result, with the exception of haemoglobin and triglycerides.

2 samples with folate concentrations in the normal range were tested, to which increasing concentrations of Biotin (0.5 - 1000.0 ng/ml) were added.

The presence of Biotin in the serum under examination does not alter the test result at concentrations up to 10 ng/ml. Higher Biotin concentrations determine incorrect results.

15. COMPARISON STUDIES

In one trial, 179 samples were analysed with a Diesse kit and with another commercially available kit: the correlation data are summarised in the following table:

Correlation	r	95% CI
Pearson	0.93	0.91-0.95
Spearman	0.90	0.86-0.92

Pearson and Spearman's correlation coefficients respectively fall within the very high correlation ranges.

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within the session		Between sessions	
	Mean (ng/ml)	CV%	Mean (ng/ml)	CV%
1	11.3	7.3	11.3	8.8
2	5.1	5.7	7.6	13.6
3	4.6	5.9	4.7	14.5
4	3.9	4.6	4.9	12.7
5	2.2	8.3	2.9	13.3

Sample	Between batches		Between instruments	
	Mean (ng/ml)	CV%	Mean (ng/ml)	CV%
1	12.7	9.0	11.7	8.1
2	6.8	12.9	7.6	15.0

3	4.8	9.6	4.8	12.1
4	4.9	13.6	4.7	13.2
5	2.4	10.0	2.5	13.0

17. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated using 3 samples with known concentrations of folate. Serial dilutions were made for each sample, which demonstrated the linearity of the method between 2.4-20.0 ng/ml.

18. ACCURACY

The accuracy of the test was evaluated by measuring the International Standard Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (NIBSC code 03/178). Three kit batches were tested on one instrument. The mean recovery with respect to the expected standard value (5.3 ng/ml) is 92%.

19. BIBLIOGRAPHY

1. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. Gene 2014; 533(1): 11-20.
2. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. Xenobiotics 2014; 44(5): 480-488.
3. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. Handb Clin Neurol 2014; 120: 927-43.
4. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Clinical Aspects and Laboratory. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6th edition 2011: 41-42.
5. NCCLS CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline - Third Edition. Vol. 24, No. 38



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS FOLATE

Pro kvantitativní stanovení folátu v lidském séru

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

CHORUS FOLATE je imunologická souprava pro automatické kvantitativní stanovení folátu.

Test se provádí na lidském séru pomocí jednorázového nástroje aplikovaného na zařízení CHORUS TRIO.

Souprava určená ke sledování hladiny folátu je pomůckou při diagnostice nedostatku folátu.

Musí být používán výhradně odborným laboratorním personálem.

2. ÚVOD

Folát, známý také jako vitamin B9 a folacin, je jedním z vitaminů skupiny B. Foláty tělo potřebuje k tvorbě DNA a RNA a k metabolismu aminokyselin potřebných pro dělení buněk. Vzhledem k tomu, že si člověk foláty nedokáže vyrobit, je nezbytné je brát ze stravy, a proto patří mezi základní živiny. Folát ve formě kyseliny listové se používá k léčbě anémie způsobené nedostatkem folátu, což je typ anémie, při níž se červené krvinky stávají abnormálně velkými. Kyselina listová se také používá jako doplněk stravy pro ženy během těhotenství, aby se snížilo riziko defektů neurální trubice (NTD) u dítěte. Předpokládá se, že nízká hladina na začátku těhotenství je příčinou více než poloviny všech dětí narozených s NTD. Dlouhodobé podávání kyseliny listové může pomoci osobám s predispozicí ke kardiovaskulárním onemocněním a některým formám rakoviny. Existuje obava, že velké množství doplňkové kyseliny listové by mohlo skrýt nedostatek vitamínu B12. Kyselina listová a N-metyltetrahydrofolát jsou dvě běžné formy, z nichž ta druhá je stabilnější a v séru se vyskytuje ve vyšších koncentracích. Proteiny vázající foláty odpovídají za metabolismus folátů a mají také schopnost vázat různé deriváty folátu včetně kyseliny listové a N-metyltetrahydrofolátu. K provedení testu folátu je nutná extrakce, aby se uvolnil z proteinů, na které se normálně váže.

3. PRINCIP METODY

Nástroj CHORUS FOLATE je připraven k použití pro stanovení folátu v lidském séru, v zařízení CHORUS TRIO.

Test je založen na metodě kompetitivního testu ELISA.

Mikrotitrační jamky jsou potaženy streptavidinem. Kalibrátor, pozitivní kontrola a vzorky se vloží do nástroje. Vzorek a protein vázající biotinovaný folát jsou přidány na destičku a během počáteční inkubace se vytvoří imunokomplex mezi folátem případně přítomným v séru a proteinem vázajícím biotinovaný folát, který je následně schopný se vázat na streptavidin imobilizovaný na pevné fázi.

Po krátké inkubaci se přidá konjugát (obsahující folát značený peroxidázou) (tato prodleva zvyšuje citlivost u vzorků s nízkou koncentrací). Konjugát kompetuje s folátem přítomným v

testovaném séru o vazebná místa na protein vázající folát. Po promytí, aby se odstranila přebytečná nenavázaná činidla, se přidá substrát pro peroxidázu. Enzymatická reakce se zastaví přidáním zastavovacího roztoku, který roztok zbarví do žluta. Barva, která se vytvoří, je nepřímo úměrná množství folátu ve vzorku pacienta.

Jednorázové nástroje obsahují všechny reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny v ng/ml.

4. VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a shledány negativními na přítomnost HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že nejsou přítomna infekční činidla, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při manipulaci s materiálem lidského původu dodržujte veškerá preventivní opatření, která jsou běžně přijata v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat je v souladu s platnými zákony.

Informace o zdraví a bezpečnosti

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazeny jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v bezpečnostním listu (www.diesse.it).
5. Neutralizované kyseliny a jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro zajištění účinné dezinfekce může být vyžadováno 30minutové vystavení 1% chlornanu sodnému.
6. Případný rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Pokud je v rozlité látce kyselina, kontaminovanou oblast před použitím chlornanu sodného osušte. Všechny materiály použité k čištění případných potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevráťte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30 °C) alespoň po dobu 30 minut a použijte je do 60 minut.

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.

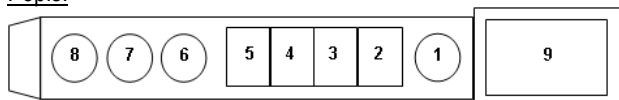
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost reagentů v nástroji a neporušenost samotného nástroje; nepoužívejte nástroje, v nichž při vizuální kontrole chybí nějaké reagenty a/nebo vykazují cizí tělesa v reakční jamce.
4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku zařízení.
Použití soupravy je možné pouze s CHORUS TRIO s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný na zařízení má verzi (Rel.) odpovídající nebo novější než tu, která je uvedena v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Zkontrolujte, zda je zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy nepoškozujte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním.
8. Případné defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz uživatelská příručka).
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků vykazujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
11. Nepoužívejte nástroj po uplynutí data spotřeby.
12. Zkontrolujte, zda je zařízení připojeno k Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení.

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích

Popis:



Pozice 9: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 8: Prázdna

Pozice 7: MIKROTRITRAČNÍ JAMKA

Potažena streptavidinem

Pozice 6: Prázdna

Pozice 5: BIOTINYLOVANÝ FOLÁT

Složení: protein vázající biotinylovaný folát, stabilizovaný pufrém a konzervační látka.

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin a peroxid vodíku stabilizovaný pufrém.

Pozice 3: ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

Pozice 2: KONJUGÁT FOLÁTU

Obsah: Pufrém stabilizovaný folát značený peroxidázou.

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

kamž se přenáší vzorek.

Použití: nechte stabilizovat jedno balení při pokojové teplotě, poté jej otevřete a vyjměte potřebné nástroje; ostatní vraťte do balení se silicovým gelem, vypustěte vzduch a balení

znovu neprodyšně **uzavřete** stisknutím uzávěru. Skladujte při teplotě 2-8 °C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR 1 x 0,450 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující folát a konzervační látku.

Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 0,650 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující folát a konzervační látku.

Tekutina připravená k použití.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

SAMPLE DILUENT/NEGATIVNÍ KONTROLA 1 x 1,100 ml

Obsah: Lidské sérum neobsahující folát a konzervační látku.

Tekutina připravená k použití.

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Zařízení Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Vortex
- Mikropipety pro přesný odběr objemu 50–200 µl
- Jednorázové rukavice
- Roztok chlornanu sodného (5%)
- Nádoby na potenciálně infekční materiál

6. ZPŮSOB SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagencie je nutné skladovat při teplotě 2/8 °C. Při nesprávné teplotě skladování je nutné opětovně provést kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz kapitola 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
POZITIVNÍ KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2/8 °C
SAMPLE DILUENT	8 týdnů při teplotě 2/8 °C

7. ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum získané z krve odebrané venepunkcí, s nímž je nakládáno za dodržení bezpečnostních opatření vyžadovaných standardními laboratorními postupy.

Podle pokynů NCCLS CLSI H18-A3 musí být vzorky séra určené k analýze před centrifugací koagulovány; spontánní a úplná koagulace obvykle proběhne během 30-60 minut při 22°C-25°C. Doporučuje se fyzicky oddělit sérum centrifugací od kontaktu s buňkami co nejdříve, maximálně však do 2 hodin od odběru. Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 2 dnů při teplotě 2/8°C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu ≤ -20 °C. Vzorek je možné rozmrazit maximálně třikrát. Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním. Rozmražený vzorek je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Extrakční roztok 1/40 (Stabilizing/Releasing) je stabilní po dobu 8 hodin po přípravě.

Extrahovaný vzorek lze použít, pokud je udržován při teplotě 4 °C, do 8 hodin po extrakci.

Důrazně se doporučuje vyvarovat se jakéhokoli intenzivního zpracování vzorků.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

Test CHORUS FOLATE (REF. 86402) lze provádět současně POUZE se soupravou CHORUS VIT B12 (REF.86400) a testy CHORUS PROMONITOR.

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte množství nástrojů požadované pro testy a poté, co z balení vytlačíte vzduch, je opět uzavřete.
2. Vizuálně zkontrolujte stav nástroje podle pokynů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Připravte vzorky, kalibrátor, pozitivní kontrolu a negativní kontrolu (je-li to nutné) pomocí výrobku CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) podle extrakčního protokolu uvedeného v příslušném návodu k použití. Předzpracování nelze provádět v zařízení CHORUS AUTOSAMPLER (REF 81210).
4. Do jamky č. 1 každého nástroje nadávkujte:

VZOREK	100 µl/nástroj
KALIBRÁTOR	100 µl/nástroj
POZITIVNÍ KONTROLA	100 µl/nástroj

Při každé změně šarže použijte nástroj pro kalibrátor.

5. Umístěte nástroje do zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle uživatelské příručky zařízení.

9. VALIDACE TESTU

Pomocí pozitivní kontroly ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v uživatelské příručce zařízení. Pokud zařízení hlásí, že pozitivní kontrola vykazuje hodnotu mimo přijatelné rozmezí, je zapotřebí znovu provést kalibraci. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek pozitivní kontroly i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte prosím oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
e-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v ng/ml, vypočítané na základě grafu podle šarží, který je uložen v paměti zařízení.

11. OMEZENÍ

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta. Test rozhodně nelze použít ke klinické diagnóze samostatně.

Výsledky testu je nutné vyhodnocovat společně s anamnézou pacienta a/nebo jinými klinickými diagnostickými vyhodnoceními.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 2,0-20,0 ng/ml.

U vzorků > 20,0 ng/ml zopakujte test zředěním vzorku pomocí Folate Sample Diluent/Negative Control dodávaným se soupravou. Doporučuje se provést ředění v poměru 1:5 a 1:10 vzorků mimo rozsah; poté proveďte extrakci vzorků před analýzou.

13. REFERENČNÍ ROZSAH

Bylo analyzováno 120 vzorků (53 mužů, 67 žen) patřících do zjevně zdravé populace ve věku od 18 do 91 let. Těhotné ženy byly vyloučeny.

Referenční rozsah soupravy Chorus FOLATE je 2,8-14,9 ng/ml.

Tyto hodnoty by měly být použity pouze jako vodítko.

Každá laboratoř by měla studovat přenositelnost očekávaných hodnot na vlastní populaci pacientů a v případě potřeby stanovit vlastní referenční rozmezí.

14. ANALYTICKÁ SPECIFITA

Byly testovány 3 vzorky s rostoucí koncentrací folátu, k nimž byly přidány následující interferenční látky:

Bilirubin (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglyceridy (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hemoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)
Revmatoidní faktor (44IU/ml – 220IU/ml)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu, s výjimkou hemoglobinu a triglyceridů.

Byly testovány 2 vzorky s koncentrací folátu v běžném rozmezí, k němuž byly přidány zvyšující se koncentrace biotinu (0,5 ng/ml – 1000,0 ng/ml).

Přítomnost biotinu v testovaném séru nemění výsledek testu pro koncentrace do 10 ng/ml. Vyšší koncentrace biotinu vedou k nesprávným výsledkům.

15. SROVNÁNÍ METOD

V experimentální studii bylo analyzováno 179 vzorků pomocí soupravy Diesse a dalšího komerčního testu: korelační údaje jsou shrnuty v následující tabulce:

Korelace	r	IC 95%
Pearson	0,93	0,91-0,95
Spearman	0,90	0,86-0,92

Pearsonův a Spearmanův korelační koeficient se pohybují v rozmezí velmi vysoké korelace.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (ng/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (ng/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	11,3	7,3	11,3	8,8
2	5,1	5,7	7,6	13,6
3	4,6	5,9	4,7	14,5

4	3,9	4,6	4,9	12,7
5	2,2	8,3	2,9	13,3

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (ng/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (ng/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	12,7	9,0	11,7	8,1
2	6,8	12,9	7,6	15,0
3	4,8	9,6	4,8	12,1
4	4,9	13,6	4,7	13,2
5	2,4	10,0	2,5	13,0

17. LINEARITA

Linearita testu byla hodnocena pomocí 3 vzorků se známými koncentracemi folátu. Pro každý vzorek byla provedena sériová ředění, která prokázala linearitu metody mezi 2,4-20,0 ng/ml.

18. PŘESNOST

Přesnost testu byla hodnocena měřením mezinárodního standardu Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (kód NIBSC 03/178). Tři šarže soupravy byly testovány na jednom zařízení. Průměrná výtěžnost ve srovnání s očekávanou hodnotou standardu (5,3 ng/ml) je 92 %.

19. BIBLIOGRAFIE

1. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. *Gene* 2014;533(1):11-20.
2. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *Xenobiotica* 2014;44(5):480-488.
3. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. *Handb Clin Neurol* 2014;120:927-43.
4. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Clinical Aspects and Laboratory. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6th edition 2011:41-42.
5. NCCLS CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38



GEBRAUCHSANWEISUNG

CHORUS FOLATE

Für die quantitative Bestimmung von Folat in Humanserum

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

CHORUS FOLATE ist ein immunologisches Kit für die automatisierte quantitative Folatbestimmung.

Der Test wird an Humanserum mit Hilfe eines Einweg-Testmoduls durchgeführt, das in Kombination mit dem Laboranalysator CHORUS TRIO verwendet wird.

Das Kit zur Überwachung des Folatspiegels dient der Diagnose eines Folatmangels.

Das Produkt darf ausschließlich von fachlich qualifiziertem Laborpersonal verwendet werden.

2. EINLEITUNG

Folat, auch als Vitamin B9 und Folicin bekannt, ist eines der B-Vitamine. Folat wird für den Körper benötigt, um DNA und RNA herzustellen und die Aminosäuren, die für die Zellteilung benötigt werden, zu verstoffwechseln. Da Menschen Folat nicht produzieren können, muss es mit der Ernährung aufgenommen werden, was sie zu einem unerlässlichen Nährstoff macht. Folat in Form von Folsäure wird verwendet, um Anämie zu behandeln, die durch Folatmangel verursacht wird – eine Art von Anämie, bei der die roten Blutkörperchen ungewöhnlich groß werden. Folsäure wird von Frauen auch als Nahrungsergänzung während der Schwangerschaft verwendet, um das Risiko von Neuralrohrdefekten (NTD) beim Baby zu reduzieren. Es wird angenommen, dass niedrige Werte zu Beginn der Schwangerschaft die Ursache von mehr als der Hälfte der Kinder mit NTD sind. Eine langfristige Supplementierung mit Folsäure kann Personen mit einer Veranlagung für Herz-Kreislauf-Erkrankungen und bestimmte Krebsarten helfen. Es wird befürchtet, dass große Mengen an zusätzlicher Folsäure einen Vitamin-B12-Mangel verschleiern können. Folsäure und N-Methyltetrahydrofolat sind zwei gängige Formen, wobei letztere stabiler ist und in höheren Konzentrationen im Serum vorliegt. Folatbindende Proteine sind für den Folsäurestoffwechsel verantwortlich und haben außerdem die Fähigkeit, verschiedene Folatderivate wie Folsäure und N-Methyltetrahydrofolat zu binden. Zur Durchführung der Folatdosierung ist eine Extraktion erforderlich, um das Folat von den Proteinen zu lösen, an die es normalerweise gebunden ist.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul CHORUS FOLATE ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Folat in Humanserum im Laboranalysator CHORUS TRIO.

Der Test basiert auf dem Prinzip des kompetitiven ELISA-Verfahrens.

Die Vertiefungen der Mikrotiterplatten sind mit Streptavidin beschichtet. Kalibrator, positive Kontrolle und Proben werden dem Testmodul hinzugefügt. Die Probe und das biotinylierte folatbindende Protein werden auf die Platte gegeben, und während einer ersten Inkubation bildet sich ein Immunkomplex zwischen dem im Serum vorhandenen Folat und dem biotinylierten folatbindenden Protein, das sich wiederum an das auf der festen Phase immobilisierte Streptavidin binden kann.

Nach einer kurzen Inkubation wird das Konjugat (das mit Peroxidase markiertes Folat enthält) hinzugefügt (diese Verzögerung gestattet die Erhöhung der Empfindlichkeit für Proben mit niedriger Konzentration). Das Konjugat konkurriert mit dem Folat im Testserum um Bindungsstellen für das folatbindende Protein. Nach dem Waschen wird Substrat für die Peroxidase zugegeben, um überschüssige nicht gebundene Reagenzien zu entfernen. Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe der Stopplösung, wodurch die Lösung gelb wird, gestoppt. Die sich entwickelnde Farbe ist umgekehrt proportional zur Menge des in der Patientenprobe vorhandenen Folats.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den CHORUS TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse werden in ng/ml angegeben.

4. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK BESTIMMT

Dieses Kit enthält Materialien menschlichen Ursprungs, die auf das Vorhandensein von HbsAg und Antikörpern gegen HIV-1, HIV-2 und HCV getestet wurden und eine negative Reaktion zeigten. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Befolgen Sie alle Vorsichtsmaßnahmen, die normalerweise in der Laborpraxis beim Umgang mit Materialien menschlichen Ursprungs getroffen werden.

Entsorgung der Abfälle: Die Serumproben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

Gesundheits- und Sicherheitsinformationen

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den CHORUS TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Kits beachten Sie bitte das Sicherheitsdatenblatt (www.diesse.it).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Zur Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion kann eine 30-minütige Exposition gegenüber 1 % Natriumhypochlorit erforderlich sein.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt

werden. Die verschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1%igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn Säure in der verschütteten Flüssigkeit enthalten ist, wischen Sie den verschmutzten Bereich ab, bevor Sie Natriumhypochlorit verwenden. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

Bringen Sie die zu verwendenden Testmodule vor Gebrauch mindestens 30 Minuten lang auf Raumtemperatur (18–30 °C) und verwenden Sie sie innerhalb von 60 Minuten.

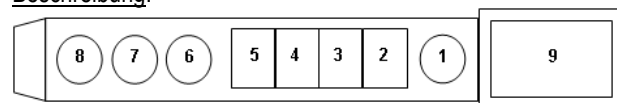
1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 4) aussortieren.
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren Sie, ob die Reagenzien im Testmodul enthalten sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem CHORUS TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanweisung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen. **Die Nutzung des Kits ist nur mit CHORUS TRIO und einer aktualisierten Softwareversion möglich. Stellen Sie sicher, dass es sich bei der auf dem Laboranalysator installierten Software um die in der Tabelle auf der Diesse-Website veröffentlichte oder eine höhere Version (Rel.) handelt**
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollieren Sie, ob der CHORUS TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Eventuelle unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Die Verwendung von stark hämolysierten, lipämischen, ikterischen Proben, von unvollständig koaguliertem Serum oder Proben mit mikrobieller Kontamination kann eine Fehlerquelle darstellen.
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
12. Prüfen Sie, ob der Laboranalysator an den Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004) angeschlossen ist.

5. BESTANDTEILE DES KITS UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Das Kit reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 9: Platz für Strichcode-Etikett

Position 8: Leer

Position 7: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Mit Streptavidin beschichtet

Position 6: Leer

Position 5: BIOTINYLIERTES FOLAT

Inhalt: biotinyliertes folatbindendes Protein, stabilisiert in Puffer und Konservierungsmittel.

Position 4: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin und in Puffer stabilisierter Wasserstoffperoxid.

Position 3: STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

Position 2: FOLATKONJUGAT

Inhalt: Mit Peroxidase markiertes, in Puffer stabilisiertes Folat.

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

für die Probe.

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurücklegen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss **versiegeln**. Bei 2–8 °C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR

1 x 0,450 ml

Inhalt: Humanserum, das Folat und Konservierungsmittel enthält.

Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE

1 x 0,650 ml

Inhalt: Humanserum, das Folat und Konservierungsmittel enthält.

Flüssig, gebrauchsfertig.

PROBENVERDÜNNUNGSMEDIUM/NEGATIVE KONTROLLE

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE KONTROLLE 1 x 1.100 ml

Inhalt: Humanserum, das kein Folat und keine Konservierungsmittel enthält.

Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- CHORUS TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Vortex-Mischer
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- Natriumhypochlorit-Lösung (5 %)
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe des Kontrollserums überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Etikett des Kits.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C
KALIBRATOR	8 Wochen bei 2–8 °C
POSITIVE KONTROLLE	8 Wochen bei 2–8 °C
PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL	8 Wochen bei 2–8 °C

7. SAMMLUNG UND LAGERUNG VON PROBEN

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, welches durch eine Punktion von Venen entnommen wurde und mit den für Standardlaborverfahren vorgeschriebenen Vorsichtsmaßnahmen behandelt wird.

Gemäß NCCLS CLSI Dokument H18-A3 müssen Serumproben für die Analyse vor der Zentrifugation koaguliert werden; die spontane und vollständige Koagulation erfolgt normalerweise innerhalb von 30–60 Minuten bei 22°C–25°C. Es wird empfohlen, das Serum durch Zentrifugation so schnell wie möglich von den Zellen zu trennen, mit einer maximalen Zeitspanne von 2 Stunden ab dem Zeitpunkt der Entnahme.

Das frische Serum kann bei 2/8 °C zwei Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei einer Temperatur von -20 °C eingefroren.

Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden. Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor der Dosierung sorgfältig durchmischen.

Die 1/40 Extraktionslösung (Stabilizing/Releasing) ist nach der Zubereitung 8 Stunden lang stabil.

Die extrahierte Probe kann, wenn sie bei 4 °C gehalten wird, innerhalb von 8 Stunden nach der Extraktion verwendet werden. Es wird dringend empfohlen, eine intensive Bearbeitung der Proben zu vermeiden.

Eine Mikrobenkontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinträchtigen und zu falschen Ergebnissen führen.

8. VORGEHENSWEISE

Der Testsatz CHORUS FOLATE (REF. 86402) kann gleichzeitig NUR mit dem Kit CHORUS VIT B12 (REF. 86400) und den CHORUS PROMONITOR Tests durchgeführt werden.

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.

3. Proben, Kalibrator, positive und negative Kontrolle (falls erforderlich) vorbereiten, wobei das Produkt CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) unter Befolgung des Extraktionsprotokolls in der jeweiligen Gebrauchsanweisung zu verwenden ist.

Die Vorbehandlung darf nicht im CHORUS AUTOSAMPLER Laboranalysator (REF 81210) durchgeführt werden.

4. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls geben:

PROBE	100 µl/Testmodul
KALIBRATOR	100 µl/Testmodul
POSITIVE KONTROLLE	100 µl/Testmodul

Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.

5. Die Testmodule in den CHORUS TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

9. TESTVALIDIERUNG

Zur Überprüfung der Richtigkeit der Testergebnisse die positive Kontrolle verwenden. Sie wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die positive Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis der positiven Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

E-Mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis in ng/ml, die aufgrund einer vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Grafik berechnet werden.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Sämtliche Ergebnisse bedürfen einer sorgfältigen Interpretation, in die andere Indikatoren desselben Patienten einzubeziehen sind. Der Test darf nämlich nicht als einziges Mittel für eine klinische Diagnose verwendet werden und die Ergebnisse müssen immer zusammen mit den Daten der Anamnese des Patienten und anderer diagnostischer Untersuchungen interpretiert werden.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 2,0–20,0 ng/ml.

Bei Proben > 20,0 ng/ml den Test wiederholen, indem die Probe mit dem im Kit enthaltenen Folate Sample Diluent/Negative Control verdünnt wird. Es empfiehlt sich, die außerhalb des Anzeigebereiches liegenden Proben im Verhältnis 1:5 und 1:10 zu verdünnen und die Proben vor der Analyse zu entnehmen.

13. REFERENZBEREICH

Es wurden 120 Proben (53 Männer, 67 Frauen) der offenbar gesunden Bevölkerung im Alter von 18 bis 91 Jahren analysiert. Schwangere Frauen wurden ausgeschlossen. Das Referenzintervall des Kits CHORUS FOLATE beträgt 2,8-14,9 ng/ml.

Diese Werte sollten nur als Leitlinien verwendet werden. Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der erwarteten Werte auf die eigene Patientenpopulation untersuchen und gegebenenfalls das Referenzintervall bestimmen.

14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 3 Proben mit ansteigenden Konzentrationen von Folat getestet, denen folgende Störsubstanzen beigefügt wurden:

Bilirubin (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglyceride (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hämoglobin (2,5 mg/ml–10 mg/ml)
Rheumafaktor (44IU/ml-220IU/ml)

Die Präsenz der oben genannten Störsubstanzen im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis, mit Ausnahme von Hämoglobin und Triglyceriden.

Es wurden 2 Proben mit Folat-Konzentration im Normalbereich getestet, denen ansteigende Biotin-Konzentrationen (0,5 ng/ml - 1000,0 ng/ml) zugesetzt wurden.

Die Präsenz von Biotin im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis in Konzentrationen bis zu 10 ng/ml. Höhere Biotin-Konzentrationen führen zu fehlerhaften Ergebnissen.

15. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 179 Proben mit dem Kit von Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert: Die Korrelationsdaten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Korrelation	r	95 % KI
Pearson	0,93	0,91-0,95
Spearman	0,90	0,86-0,92

Die Korrelationskoeffizienten von Pearson und Spearman liegen jeweils im sehr hohen Korrelationsbereich.

16. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (ng/ml)	VK %	Mittelwert (ng/ml)	VK %
1	11,3	7,3	11,3	8,8
2	5,1	5,7	7,6	13,6
3	4,6	5,9	4,7	14,5
4	3,9	4,6	4,9	12,7
5	2,2	8,3	2,9	13,3

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (ng/ml)	VK %	Mittelwert (ng/ml)	VK %
1	12,7	9,0	11,7	8,1
2	6,8	12,9	7,6	15,0
3	4,8	9,6	4,8	12,1
4	4,9	13,6	4,7	13,2
5	2,4	10,0	2,5	13,0

17. LINEARITÄT

Die Linearität des Assays wurde unter Verwendung von 3 Proben mit bekannten Konzentrationen von Folat bewertet. Für jede Probe wurden Verdünnungsreihen angefertigt, mit denen die Linearität der Methode von 2,4-20,0 ng/ml nachgewiesen wurde.

18. GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit des Tests wurde durch Messung des Internationalen Standards Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (Code NIBSC 03/178) bewertet. Drei Chargen des Kits wurden an einem Gerät getestet. Der Mittelwert der Wiederfindungsrate im Verhältnis zum erwarteten Wert des Standards (5,3 ng/ml) beträgt 92%.

19. LITERATUR

1. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. Gene 2014;533(1):11-20.
2. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. Xenobiotica 2014;44(5):480-488.
3. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. Handb Clin Neurol 2014;120:927-43.
4. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Clinical Aspects and Laboratory. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6th edition 2011:41-42.
5. NCCLS CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS FOLATE

Para la determinación cuantitativa de folato en suero humano

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

CHORUS FOLATE es un kit inmunológico para la determinación cuantitativa automatizada de folato.

La prueba se realiza en suero humano, utilizando un dispositivo desechable aplicado al equipo **CHORUS TRIO**.

El kit, destinado a controlar el nivel de folato, es una ayuda en el diagnóstico de la deficiencia de folato.

Para uso exclusivo de personal profesional de laboratorio.

2. INTRODUCCIÓN

El folato, también conocido como vitamina B9 y folacina, es una de las vitaminas del grupo B. El cuerpo necesita folato para producir ADN y ARN y metabolizar los aminoácidos necesarios para la división celular. Dado que el ser humano no puede producir folato, este es necesario en la dieta, lo que lo convierte en un nutriente esencial. El folato en forma de ácido fólico se utiliza para tratar la anemia causada por la deficiencia de folato, un tipo de anemia en la que los glóbulos rojos se vuelven anormalmente grandes. Las mujeres embarazadas también toman ácido fólico como suplemento para reducir el riesgo de defectos del tubo neural (DTN) en el bebé. Se cree que los niveles bajos de ácido fólico al principio del embarazo son la causa de que más de la mitad de los bebés nazcan con defectos del tubo neural. La suplementación a largo plazo con ácido fólico puede ayudar a las personas con predisposición a padecer enfermedades cardiovasculares y algunas formas de cáncer. Existe la preocupación de que grandes cantidades de suplementos de ácido fólico puedan ocultar la deficiencia de vitamina B12. El ácido fólico y el N-metiltetrahydrofolato son dos formas comunes, siendo este último más estable y se encuentra en mayor concentración en el suero. Las proteínas que se unen al folato son las responsables del metabolismo del folato y también tienen la capacidad de unirse a varios derivados del folato, incluido el ácido fólico y el N-metiltetrahydrofolato. Para realizar el ensayo de folato se requiere una extracción para liberarlo de las proteínas a las que normalmente está unido.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo **CHORUS FOLATE** está listo para su uso para la determinación de folato en suero humano, en el equipo **Chorus TRIO**.

La prueba se basa en un método de ELISA competitivo.

Los pocillos de las microplacas están recubiertos con estreptavidina. El calibrador, el control positivo y las muestras se añaden a un dispositivo. La muestra y la proteína de unión a folato biotinilada se añaden a la placa y, durante una primera incubación, se forma un inmunocomplejo entre el folato presente en el suero y la proteína de unión a folato biotinilada, que a su

vez es capaz de unirse a la estreptavidina inmovilizada en la fase sólida.

Después de una breve incubación, se agrega el conjugado (que contiene folato marcado con peroxidasa); este retraso permite aumentar la sensibilidad para muestras de baja concentración. El conjugado compite con el folato presente en el suero de prueba por los sitios de unión a la proteína de unión al folato. Tras el lavado para eliminar el exceso de reactivos que no se han unido, se añade el sustrato para peroxidasa. La reacción enzimática se detiene añadiendo la solución inhibidora, que hace que la solución adquiera un color amarillo. El color que aparece es inversamente proporcional a la cantidad de folato presente en la muestra del paciente.

Los dispositivos de un solo uso contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con el equipo **Chorus TRIO**.

Los resultados se expresan en ng/ml.

4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

SOLO PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado una respuesta negativa a la presencia de HbsAg y de anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Al manipular material de origen humano se deben seguir todas las precauciones dictadas por las buenas prácticas de laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y se deben desechar conforme a lo establecido en la legislación vigente.

Información sobre salud y seguridad

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo **Chorus TRIO**.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de seguridad (www.diesse.it).
5. Para desinfectar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Para garantizar una desinfección eficaz podría ser necesaria una exposición de 30 minutos a hipoclorito de sodio al 1 %.
6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si el material derramado contiene un ácido, secar el área contaminada antes de usar el hipoclorito de sodio. Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames, incluidos guantes, deberán desecharse como residuos potencialmente infecciosos. No utilizar el

autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar los dispositivos que se vayan a utilizar a temperatura ambiente (18-30 °C) durante al menos 30 minutos y utilizarlos en los 60 minutos siguientes.

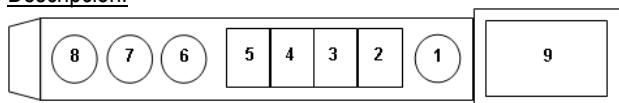
1. **Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuya perfectamente por el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y la integridad de este. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de algún reactivo o la presencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción cuando se inspeccionan visualmente.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de uso y el Manual del usuario del equipo.
El kit solo se puede utilizar con CHORUS TRIO con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión (Rel.) del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que se puede consultar en el sitio web de Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Comprobar que el equipo Chorus TRIO se haya configurado de manera correcta (ver el Manual del usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del dispositivo para asegurarse de que el equipo pueda leerlo correctamente.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el equipo esté conectado al Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



Posición 9: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 8: Vacía

Posición 7: POCILLO DE MICROPLACA
Recubierto con estreptavidina.

Posición 6: Vacía

Posición 5: FOLATO BIOTINILADO

Contenido: Proteína de unión al folato biotinilada, estabilizada en tampón y conservante.

Posición 4: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina y peróxido de hidrógeno estabilizado en tampón.

Posición 3: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0,3 M.

Posición 2: CONJUGADO DE FOLATO

Contenido: Folato marcado con peroxidasa estabilizado en tampón.

Posición 1: POCILLO VACÍO

donde se debe transferir la muestra.

Uso: Dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente, abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2-8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,450 ml

Contenido: Suero humano que contiene folato y conservante.
Líquido, listo para el uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 0,650 ml

Contenido: Suero humano que contiene folato y conservante.
Líquido, listo para el uso.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

DILUYENTE DE MUESTRAS/CONTROL NEGATIVO 1 x 1,100 ml

Contenido: Suero humano que no contiene folato y conservante.
Líquido, listo para el uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION [REF.] 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF.] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF.] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF.] 83604
- Equipo Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Vórtex
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5 %)
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos.

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2-8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado sea correcto mediante el suero de control (ver el capítulo 9: Validación de la prueba).

La fecha de caducidad está impresa en cada componente y en la etiqueta del kit.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada una vez que se abren:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2-8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2-8 °C
CONTROL POSITIVO	8 semanas a 2-8 °C
DILUYENTE	DE 8 semanas a 2-8 °C
MUESTRAS	

7. RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

La muestra consiste en suero obtenido de sangre extraída de la vena y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por los procedimientos estándar de laboratorio.

De acuerdo con la directriz NCCLS CLSI H18-A3, las muestras de suero que se van a analizar deben coagularse antes de la centrifugación; la coagulación espontánea y completa normalmente se produce en 30-60 minutos a 22-25 °C. Se recomienda separar físicamente el suero, por centrifugación, del contacto con las células lo antes posible con un límite de tiempo máximo de 2 horas desde el momento de la recogida.

El suero fresco se puede conservar a 2-8 °C durante 2 días; para conservaciones más largas congelar a temperaturas ≤ -20 °C.

La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces. No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

La solución de extracción 1/40 (Stabilizing/Releasing) es estable durante 8 horas después de la preparación.

La muestra extraída se puede utilizar, si se mantiene a 4 °C, dentro de las 8 horas siguientes a la extracción.

Se recomienda encarecidamente evitar cualquier procesamiento agresivo de las muestras.

La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, que puede conducir a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

La prueba CHORUS FOLATE (REF. 86402) se puede realizar simultáneamente SOLO con el kit CHORUS VIT B12 (REF. 86400) y con las pruebas CHORUS PROMONITOR.

1. Abrir la bolsa (por el lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
3. Preparar las muestras, el calibrador, el control positivo y el control negativo (cuando sea necesario) utilizando el producto CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF. 86500), siguiendo el protocolo de extracción que se indica en las instrucciones de uso correspondientes.
El pretratamiento no se puede realizar en el equipo CHORUS AUTOSAMPLER (REF. 81210).
4. Dispensar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo:

MUESTRA	100 µl/dispositivo
CALIBRADOR	100 µl/dispositivo
CONTROL POSITIVO	100 µl/dispositivo

Utilizar un dispositivo para el calibrador cada vez que se cambie de lote.

5. Introducir los dispositivos en el equipo Chorus TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual del usuario del equipo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el control positivo para verificar la validez de los resultados obtenidos, procesándolo según las indicaciones del Manual del usuario del equipo. Si el equipo indica que el control positivo tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario repetir la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

E-mail: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus TRIO calcula el resultado en función de un gráfico por lotes guardado en su memoria y proporciona el resultado en ng/ml.

11. LIMITACIONES

Todos los valores obtenidos deben interpretarse con atención, sin prescindir de otros indicadores del mismo paciente. Este test, de hecho, no debe ser la única prueba utilizada para el diagnóstico clínico. El resultado de la prueba se debe evaluar junto con los datos clínicos del paciente y/u otros procedimientos de diagnóstico.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración: 2,0-20,0 ng/ml.

Para muestras >20,0 ng/ml, repetir la prueba diluyendo la muestra con Folate Sample Diluent/Negative Control incluido en el kit. Se recomienda hacer diluciones 1:5 y 1:10 de las muestras fuera de escala; luego proceder con la extracción de las muestras antes del análisis.

13. RANGO DE REFERENCIA

Se analizaron 120 muestras (53 hombres, 67 mujeres), pertenecientes a una población aparentemente sana, con edades comprendidas entre 18 y 91 años. Se excluyeron las mujeres embarazadas.

El rango de referencia del kit Chorus FOLATE es de 2,8-14,9 ng/ml.

Estos valores se deben usar solo como orientación.

Cada laboratorio debe evaluar la transferibilidad de los valores esperados a su población de pacientes y, si es necesario, calcular su propio rango de referencia.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 3 muestras de concentración creciente de folato a las que se añadieron los siguientes interferentes:

Bilirrubina (4,5-45 mg/dl)
Triglicéridos (250-1500 mg/dl)
Hemoglobina (2,5-10 mg/ml)
Factor reumatoide (44-220 UI/ml)

La presencia de las mencionadas sustancias interferentes en el suero analizado no altera el resultado de la prueba, con exclusión de la hemoglobina y de los triglicéridos.

Se analizaron 2 muestras con concentración de folato en el rango de normalidad, a las que se añadieron concentraciones crecientes de biotina (0,5-1000,0 ng/ml).

La presencia de biotina en el suero analizado no altera el resultado de la prueba para concentraciones de hasta 10 ng/ml. Las concentraciones más altas de biotina conducen a resultados erróneos.

15. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 179 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial; los datos de correlación se resumen en la tabla siguiente:

Correlación	r	IC del 95 %
Pearson	0,93	0,91-0,95
Spearman	0,90	0,86-0,92

Los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman están dentro de los rangos de correlación muy alta.

16. PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

Muestra	Intraensayo		Interensayo	
	Media (ng/ml)	CV %	Media (ng/ml)	CV %
1	11,3	7,3	11,3	8,8
2	5,1	5,7	7,6	13,6
3	4,6	5,9	4,7	14,5
4	3,9	4,6	4,9	12,7
5	2,2	8,3	2,9	13,3

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (ng/ml)	CV %	Media (ng/ml)	CV %
1	12,7	9,0	11,7	8,1
2	6,8	12,9	7,6	15,0
3	4,8	9,6	4,8	12,1
4	4,9	13,6	4,7	13,2
5	2,4	10,0	2,5	13,0

17. LINEALIDAD

La linealidad del ensayo se evaluó utilizando 3 muestras con concentraciones conocidas de folato. Se realizaron diluciones seriadas para cada muestra, que demostraron la linealidad del método de 2,4 a 20,0 ng/ml.

18. PRECISIÓN

La precisión de la prueba se evaluó midiendo el estándar internacional Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (código NIBSC 03/178). Se probaron tres lotes del kit en un equipo. La recuperación media en comparación con el valor esperado del estándar (5,3 ng/ml) es del 92 %.

19. BIBLIOGRAFÍA

1. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. Gene 2014;533(1):11-20.
2. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. Xenobiotica 2014;44(5):480-488.

3. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. Handb Clin Neurol 2014;120:927-43.
4. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Clinical Aspects and Laboratory. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6th edition 2011:41-42.
5. NCCLS CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38.



MODE D'EMPLOI

CHORUS FOLATE

Pour la détermination quantitative du folate dans le sérum humain

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

CHORUS FOLATE est un kit immunologique pour la détermination quantitative automatisée du folate.

Le test est réalisé sur du sérum humain, à l'aide d'un dispositif à usage unique appliqué à l'instrument CHORUS TRIO.

Le kit, destiné au monitoring du niveau de folate, constitue une aide au diagnostic de la carence en folate.

Il doit être utilisé exclusivement par un personnel de laboratoire professionnel.

2. INTRODUCTION

Le folate, également connu sous le nom de vitamine B9 et de folacine, est l'une des vitamines du groupe B. L'organisme a besoin de folate pour fabriquer de l'ADN et de l'ARN et pour métaboliser les acides aminés nécessaires à la division cellulaire. Le folate ne pouvant pas être produit par l'homme, il devient indispensable à son alimentation, ce qui en fait un nutriment essentiel. Le folate sous forme d'acide folique sert au traitement de l'anémie causée par une carence en folate et caractérisée par des globules rouges anormalement gros. L'acide folique est également utilisé comme complément par les femmes enceintes afin de réduire le risque d'anomalies du tube neural (ATN) chez le bébé. On estime que de faibles niveaux en début de grossesse sont à l'origine de plus de la moitié des bébés nés avec des ATN. La supplémentation à long terme en acide folique peut aider les personnes ayant une prédisposition aux maladies cardiovasculaires et à certaines formes de cancer. Il est à craindre que de grandes quantités d'acide folique supplémentaire ne masquent une carence en vitamine B12. L'acide folique et le N-méthyltétrahydrofolate sont deux formes courantes, cette dernière étant plus stable avec une concentration plus élevée dans le sérum. Les protéines de liaison aux folates sont responsables du métabolisme des folates et ont également la capacité de lier plusieurs dérivés du folate, notamment l'acide folique et le N-méthyltétrahydrofolate. Pour effectuer le dosage du folate, il est nécessaire de procéder à une extraction afin de le libérer des protéines auxquelles il est normalement lié.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif CHORUS FOLATE est prêt à l'emploi pour la détermination du folate dans le sérum humain, dans l'instrument Chorus TRIO.

Le test se base sur une méthode ELISA par compétition.

Les puits des microplaques sont revêtus de streptavidine. Le calibrateur, le contrôle positif et les échantillons sont ajoutés à un dispositif. L'échantillon et la protéine de liaison de folate

biotinylée sont ajoutés à la plaque et lors d'une première incubation, un complexe immun se forme entre le folate éventuellement présent dans le sérum et la protéine de liaison de folate biotinylée qui est à son tour en mesure de se lier à la streptavidine immobilisée sur la phase solide.

À l'issue d'une brève incubation, le conjugué (contenant du folate marqué à la peroxydase) est ajouté (ce retard permet d'augmenter la sensibilité pour les échantillons à faible concentration). Le conjugué entre en compétition avec le folate dans le sérum à tester pour les sites de liaison à la protéine de liaison au folate. À l'issue du lavage pour éliminer l'excès de réactifs non liés, le substrat de peroxydase est ajouté. La réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de la solution d'arrêt, ce qui a pour effet de faire virer la solution au jaune. La couleur qui se développe est inversement proportionnelle à la quantité de folate présente dans l'échantillon du patient.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test lorsqu'ils sont appliqués à l'instrument Chorus TRIO.

Les résultats sont exprimés en ng/ml.

4. MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR LE DIAGNOSTIC *IN VITRO*

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et ont fourni une réponse négative quant à la présence de HBsAg et d'anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostique ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme potentiellement infectée. Suivre toutes les précautions normalement adoptées dans les pratiques de laboratoire lors de la manipulation de matière d'origine humaine.

Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les calibrateurs et les barrettes usagées doivent être traités comme étant des déchets contaminés et doivent être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Informations sur la santé et la sécurité

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants à usage unique et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'instrument Chorus TRIO.
4. Consulter la Fiche de sécurité (www.diesse.it) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
5. Les acides neutralisés et autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant un volume suffisant d'hypochlorite de sodium pour atteindre une concentration finale d'au moins 1 %. Une exposition de 30 minutes à l'hypochlorite de sodium à 1 % peut être nécessaire pour assurer une désinfection efficace.
6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium à 1 %, avant de continuer le travail. Si de l'acide est présent dans le déversement, essuyer la zone souillée

avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (y compris les gants), utilisé pour décontaminer les zones souillées par d'éventuels déversements, doit être éliminé comme un déchet potentiellement infecté. Ne pas mettre en autoclave du matériel contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant utilisation, amener les dispositifs à utiliser à la température ambiante (18-30 °C) pendant au moins 30 minutes et les utiliser dans les 60 minutes.

1. **Éliminer les dispositifs dont le substrat (puits 4) est coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puits.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité de ce dernier ; ne pas utiliser des dispositifs dont le contrôle visuel révèle l'absence d'un réactif quelconque et/ou la présence de corps étrangers dans le puits de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'appareil Chorus TRIO en suivant scrupuleusement les instructions d'utilisation et le manuel d'utilisation de l'instrument.
L'utilisation du kit n'est possible qu'avec CHORUS TRIO avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que le logiciel installé sur l'instrument est une version (Rel.) qui correspond ou est postérieure à celle qui est indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

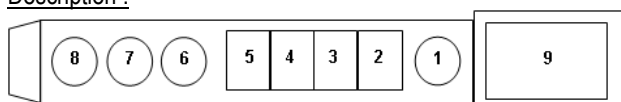
5. S'assurer que l'instrument Chorus TRIO est correctement réglé (voir le Manuel d'utilisation).
6. Ne pas modifier le code-barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Les éventuels codes-barres défectueux peuvent être saisis manuellement dans l'instrument (voir Manuel d'utilisation).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage intense ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. L'utilisation de sérum non complètement coagulé, fortement hémolysé, lipémique et icterique ou d'échantillons présentant une contamination microbienne peut constituer une source d'erreur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
12. **S'assurer que l'instrument est connecté au Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004).**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 emballages de 6 dispositifs chacun

Description :



Position 9 : Emplacement disponible pour l'étiquette avec code-barres

Position 8 : Vide

Position 7 : PUIITS DE MICROPLAQUE

Revêtu de streptavidine

Position 6 : Vide

Position 5 : FOLATE BIOTINYLÉ

Contenu : Protéine de liaison au folate biotinylée, stabilisée dans un tampon et un conservateur.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine et peroxyde d'hydrogène stabilisé par un tampon.

Position 3 : SOLUTION D'ARRÊT

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 2 : CONJUGUÉ DE FOLATE

Contenu : Folate marqué à la peroxydase et stabilisé par un tampon.

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'échantillon doit être transféré.

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires et remplacer ceux qui ne sont pas utilisés dans le sachet contenant le gel de silice ; chasser l'air et fermer **hermétiquement** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver entre 2 et 8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR 1 x 0,450 ml

Contenu : Sérum humain contenant du folate et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF 1 x 0,650 ml

Contenu : Sérum humain contenant du folate et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL
SAMPLE DILUENT/CONTRÔLE NÉGATIF 1 x 1,100 ml

Contenu : Sérum humain sans folate ni conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION [RÉF.] 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [RÉF.] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [RÉF.] 83609
- SANITIZING SOLUTION [RÉF.] 83604
- Instrument Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Verrerie standard de laboratoire : cylindres, tubes à essai, etc.
- Vortex
- Micropipettes en mesure de prélever avec précision des volumes de 50 à 200 µl
- Gants à usage unique
- Solution d'hypochlorite de sodium (5 %)
- Récipients pour la collecte de matières potentiellement infectées

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il est nécessaire de répéter le calibrage et de contrôler la fiabilité du résultat à l'aide de sérum de contrôle (voir chapitre 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette du kit.

Les réactifs offrent une stabilité limitée après ouverture :

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
CALIBRATEUR	8 semaines à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C
SAMPLE DILUENT	8 semaines à 2/8 °C

7. COLLECTE ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

L'échantillon consiste en du sérum obtenu à partir de sang prélevé par ponction veineuse et manipulé en prenant les précautions requises par les procédures standard de laboratoire. Selon la directive NCCLS CLSI H18-A3, les échantillons de sérum à analyser doivent être coagulés avant la centrifugation ; la coagulation spontanée et complète se produit normalement dans les 30 à 60 minutes à 22-25 °C. Il est recommandé de séparer physiquement le sérum, par centrifugation, du contact avec les cellules dès que possible et dans un temps maximum de 2 heures à compter du prélèvement.

Le sérum frais peut être conservé pendant 2 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à des températures ≤ -20 °C.

L'échantillon peut être décongelé jusqu'à un maximum de 3 fois. Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongélation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

La solution d'extraction 1/40 (Stabilizing/Releasing) est stable pendant 8 heures après la préparation.

L'échantillon extrait peut être utilisé, s'il est conservé à 4 °C, dans les 8 heures après l'extraction.

Il est vivement recommandé d'éviter tout traitement intensif des échantillons.

La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence d'une contamination microbienne susceptible de fausser les résultats.

8. PROCÉDURE

Le test CHORUS FOLATE (RÉF. 86402) peut être exécuté UNIQUEMENT en même temps que le kit CHORUS VIT B12 (RÉF.86400) et que les tests CHORUS PROMONITOR.

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), prélever le nombre de dispositifs nécessaires aux examens et conserver les autres dans le sachet après en avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au chapitre 4 « Précautions analytiques ».
3. Préparer les échantillons, le calibrateur, le contrôle positif et le contrôle négatif (si nécessaire) à l'aide du produit CHORUS VITAMIN EXTRACTION (RÉF. 86500) en suivant le protocole d'extraction indiqué dans les instructions d'utilisation correspondantes.
Le prétraitement ne peut pas être effectué dans l'instrument CHORUS AUTOSAMPLER (RÉF. 81210).
4. Distribuer dans le puits n°1 de chaque dispositif :

ÉCHANTILLON	100 µl / dispositif
CALIBRATEUR	100 µl / dispositif
CONTRÔLE POSITIF	100 µl / dispositif

Utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.

5. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si requis) et le test comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude des résultats obtenus, en le traitant comme indiqué dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument indique que le contrôle positif présente une valeur dépassant la limite d'acceptabilité, répéter le calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du contrôle positif dépasse encore les limites d'acceptabilité, contacter l'Assistance scientifique.

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

courriel : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'instrument Chorus TRIO fournit le résultat en ng/ml calculés sur la base d'un graphique dépendant du lot mémorisé dans l'instrument.

11. LIMITES

Toutes les valeurs obtenues requièrent une interprétation attentive prenant en compte d'autres indicateurs relatifs au patient. En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat du test doit toujours être évalué avec les données d'anamnèse du patient et/ou avec les données d'autres investigations diagnostiques.

12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage : 2,0-20,0 ng/ml.

Pour les échantillons > 20,0 ng/mL, répéter le test en diluant l'échantillon avec le Folate Sample Diluent/Negative Control qui est fourni avec le kit. Il est recommandé d'effectuer des dilutions à 1:5 et 1:10 des échantillons hors échelle ; procéder ensuite à l'extraction des échantillons avant l'analyse.

13. PLAGE DE RÉFÉRENCE

120 échantillons (53 hommes, 67 femmes), provenant d'une population apparemment saine, âgée de 18 à 91 ans, ont été analysés. Les femmes enceintes ont été exclues.

La plage de référence du kit Chorus FOLATE est de 2,8 à 14,9 ng/ml.

Ces valeurs ne doivent être utilisées qu'à titre indicatif.

Chaque laboratoire doit étudier la transférabilité des valeurs escomptées à sa propre population de patients et, si nécessaire, déterminer sa propre plage de référence.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

3 échantillons à concentration croissante de folate ont été testés, auxquels ont été ajoutées les substances interférentes suivantes :

Bilirubine (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
 Triglycérides (250 mg/dl - 1 500 mg/dl)
 Hémoglobine (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
 Facteur rhumatoïde (44 IU/ml - 220 IU/ml)

La présence des substances interférentes susmentionnées dans le sérum analysé n'altère pas le résultat du test, à l'exception de l'hémoglobine et des triglycérides.

2 échantillons ont été testés avec une concentration de folate comprise dans la plage normale, auxquels ont été ajoutées des concentrations croissantes de biotine (0,5 ng/ml - 1 000,0 ng/ml).

La présence de biotine dans le sérum analysé ne modifie pas le résultat du test pour des concentrations allant jusqu'à 10 ng/ml. Des concentrations plus élevées de biotine entraînent des résultats erronés.

15. ÉTUDES COMPARATIVES

Au cours d'une expérimentation, 179 échantillons ont été analysés avec un kit DIESSE et avec un autre kit disponible dans le commerce : les données de corrélation sont résumées dans le tableau suivant :

Corrélation	r	IC 95 %
Pearson	0,93	0,91-0,95
Spearman	0,90	0,86-0,92

Les coefficients de corrélation de Pearson et de Spearman se situent respectivement dans les plages de corrélation très élevée.

16. PRÉCISION ET RÉPÉTABILITÉ

Échantillon	Lors de la séance		Entre les séances	
	Moyenne (ng/ml)	CV %	Moyenne (ng/ml)	CV %
1	11,3	7,3	11,3	8,8
2	5,1	5,7	7,6	13,6
3	4,6	5,9	4,7	14,5
4	3,9	4,6	4,9	12,7
5	2,2	8,3	2,9	13,3

Échantillon	Entre les lots		Entre les instruments	
	Moyenne (ng/ml)	CV %	Moyenne (ng/ml)	CV %
1	12,7	9,0	11,7	8,1
2	6,8	12,9	7,6	15,0
3	4,8	9,6	4,8	12,1
4	4,9	13,6	4,7	13,2
5	2,4	10,0	2,5	13,0

17. LINÉARITÉ

La linéarité du test a été évaluée en utilisant 3 échantillons avec des concentrations connues de folate. Des dilutions en série ont été réalisées pour chaque échantillon, démontrant la linéarité de la méthode entre 2,4-20,0 ng/ml.

18. PRÉCISION

La précision du test a été évaluée en mesurant la norme internationale Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (code NIBSC 03/178). Trois lots du kit ont été testés sur un instrument. La récupération moyenne par rapport à la valeur escomptée de la norme (5,3 ng/ml) est de 92 %.

19. BIBLIOGRAPHIE

1. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate : Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. Gene 2014;533(1):11-20.
2. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. Xenobiotica 2014;44(5):480-488.
3. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. Handb Clin Neurol 2014;120:927-43.
4. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Aspects cliniques et laboratoire. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6th edition 2011:41-42.
5. NCCLS CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS FOLATE

Para a determinação quantitativa de folato em soro humano

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

CHORUS FOLATE é um kit imunológico para a determinação quantitativa automatizada de folato.

O teste é realizado em soro humano, utilizando um dispositivo de uso único ligado ao instrumento CHORUS TRIO.

O kit, concebido para monitorizar os níveis de folato, é uma ajuda no diagnóstico da deficiência de folato.

Só deve ser utilizado por pessoal profissional de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

O folato, também conhecido como vitamina B9 e folacina, é uma das vitaminas do complexo B. O folato é necessário para o organismo produzir ADN e ARN e metabolizar os aminoácidos necessários para a divisão celular. Uma vez que os humanos não podem produzir folato, este deve constar da dieta, tornando-o um nutriente essencial. O folato sob a forma de ácido fólico é utilizado para tratar a anemia causada por deficiência de folato, um tipo de anemia onde os glóbulos vermelhos se tornam anormalmente grandes. O ácido fólico é também utilizado como suplemento pelas mulheres durante a gravidez para reduzir o risco de defeitos do tubo neural (DTN) no bebé. Acredita-se que os baixos níveis no início da gravidez são a causa de mais de metade de todos os bebés nascidos com DTN. A suplementação a longo prazo com ácido fólico pode ajudar indivíduos com predisposição para doenças cardiovasculares e algumas formas de cancro. Existe a preocupação de que grandes quantidades de ácido fólico suplementar possam mascarar a deficiência de vitamina B12. O ácido fólico e o N-metiltetrahidrofolato são duas formas comuns, sendo a última mais estável e presente em concentrações mais elevadas no soro. As proteínas de ligação ao folato são responsáveis pelo metabolismo do folato e também têm a capacidade de ligar vários derivados do folato, incluindo o ácido fólico e o N-metiltetrahidrofolato. É necessária uma extração para libertar o folato das proteínas às quais está normalmente ligado.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo CHORUS FOLAT está pronto a ser utilizado para a determinação de folato em soro humano, no instrumento Chorus TRIO.

O teste é baseado num método ELISA de competição.

Os poços da microplaca são revestidos com estreptavidina. Calibrador, controlo positivo e amostras são adicionados a um dispositivo. A amostra e a proteína de ligação ao folato biotinizada são adicionados à placa e durante uma incubação inicial forma-se um imunocomplexo entre o folato eventualmente

presente no soro e proteína de ligação ao folato biotinizada, que por sua vez é capaz de se ligar à estreptavidina imobilizada na fase sólida.

Após uma breve incubação, é adicionado o conjugado (que contém folato marcado com peroxidase). Este atraso aumenta a sensibilidade para amostras de baixa concentração. O conjugado concorre com o folato presente no soro de teste para sítios de ligação à proteína ligante folato. Após a lavagem para remover o excesso de reagentes não ligados, é adicionado o substrato para a peroxidase. A reação enzimática é interrompida pela adição da solução de paragem, que torna a solução amarela. A cor que se desenvolve é inversamente proporcional à quantidade de folato presente na amostra do doente.

Os dispositivos de utilização única contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos Chorus TRIO.

Os resultados são expressos em ng/ml.

4. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e responderam negativamente à presença de HbsAg e DE anticorpos contra o HIV-1, HIV-2 e HCV. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infectado. Seguir todas as precauções normalmente adotadas na prática laboratorial ao manusear material de origem humana.

Eliminação dos resíduos: amostras de soro, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infectados e eliminados de acordo com a legislação em vigor.

Informação sobre saúde e segurança

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (www.diesse.it).
5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Pode ser necessária uma exposição de 30 minutos a hipoclorito de sódio a 1% para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infectado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se estiver presente ácido no derramamento, secar a área afetada antes de usar hipoclorito de sódio. Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infectados. Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

Antes da utilização, levar os dispositivos a utilizar até à temperatura ambiente (18-30 °C) durante pelo menos 30 minutos e utilizá-los dentro de 60 minutos.

1. **Eliminar os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.

O kit só pode ser utilizado com CHORUS TRIO com uma versão atualizada do software. Assegurar que o software instalado no instrumento é uma versão (Rel.) correspondente ou posterior à apresentada na tabela publicada no website da Diesse

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

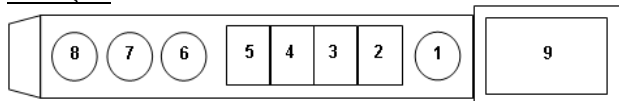
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras defeituosos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade.
12. **Verificar se o instrumento está ligado ao Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 9: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 8: Vazia

Posição 7: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com estreptavidina

Posição 6: Vazia

Posição 5: FOLATO BIOTINILADO

Conteúdo: proteína de ligação ao folato biotinilada, estabilizada em tampão e conservante.

Posição 4: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina e peróxido de hidrogénio estabilizado em tampão.

Posição 3: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 2: CONJUGADO DE FOLATO

Conteúdo: Folato marcado com peroxidase estabilizado em tampão.

Posição 1: POÇO VAZIO

onde transferir a amostra.

Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém gel de sílica, deixar sair o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR 1 x 0,450 ml

Conteúdo: Soro humano com folato e conservante.

Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 0,650 ml

Conteúdo: Soro humano com folato e conservante.

Líquido, pronto a usar.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL

SAMPLE DILUENT/CONTROLO NEGATIVO 1 x 1,100 ml

Conteúdo: Soro humano sem folato e conservante.

Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Instrumento Chorus TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Vortex
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio (5%)
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infetados

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8 °C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do soro de controlo (ver capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo do kit.

Após abertura os reagentes têm estabilidade limitada:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8 °C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas a 2/8 °C
DILUENTE DE AMOSTRA	8 semanas a 2/8 °C

7. RECOLHA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

O tipo de amostra é representado por soro, obtido de sangue colhido por venipuntura e manuseado de acordo com as precauções constantes dos procedimentos laboratoriais.

De acordo com as linhas de orientação NCCLS CLSI H18-A3, as amostras de soro para análise devem ser coaguladas antes da centrifugação; a coagulação espontânea e completa ocorre normalmente dentro de 30-60 minutos a 22 °C-25 °C. Recomenda-se separar fisicamente o soro, por centrifugação, do contacto com as células o mais cedo possível, com um limite máximo de 2 horas a partir do momento da colheita.

O soro fresco pode ser conservado durante 2 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a ≤ -20 °C.

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

A solução de extração de 1/40 (Stabilizing/Releasing) é estável durante 8 horas após a preparação.

A amostra extraída pode ser utilizada, se mantida a 4 °C, dentro de 8 horas após a extração.

É fortemente recomendado evitar qualquer tratamento intensivo de amostras.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação microbiana, que pode gerar resultados errados.

8. PROCEDIMENTO

O teste CHORUS FOLATE (REF. 86402) pode ser realizado simultaneamente APENAS com os testes CHORUS VIT B12 (REF.86400) e com o teste CHORUS PROMONITOR.

1. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Preparar amostras, calibrador, controlo positivo e controlo negativo (quando necessário) utilizando o produto CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) de acordo com o protocolo de extração nas instruções de utilização relevantes.
O pré-tratamento não pode ser realizado no CHORUS AUTOSAMPLER (REF 81210).
4. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo:

AMOSTRA	100 µl/dispositivo
CALIBRADOR	100 µl/dispositivo
CONTROLO POSITIVO	100 µl/dispositivo

A cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.

5. Introduzir os dispositivos no instrumento CHORUS TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste conforme indicado no Manual do Utilizador do instrumento

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o controlo positivo, para verificar a exatidão dos resultados obtidos, processando-o como indicado no Manual do Utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o controlo positivo tem um valor fora do limite de aceitabilidade, é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo positivo continuar a estar fora do intervalo de aceitabilidade, contactar a Assistência Científica.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O instrumento Chorus TRIO fornece o resultado expresso em ng/ml calculado com base num gráfico dependente do lote memorizado no instrumento.

11. LIMITAÇÕES

Todos os valores obtidos necessitam de uma interpretação cuidadosa que não prescindia de outros indicadores relativos ao mesmo doente. O teste, de facto, por si só não pode ser utilizado para um diagnóstico clínico definitivo. O resultado do teste deve ser sempre avaliado em conjunto com os dados provenientes da anamnese do doente e/ou com outros procedimentos diagnósticos.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração: 2,0-20,0 ng/ml.

Para amostras > 20,0 pg/ml, repetir o teste diluindo a amostra com Folate Sample Diluent/Negative Control fornecido com o kit. É aconselhável efetuar diluições 1:5 e 1:10 das amostras fora da escala; depois proceder à extração das amostras antes da análise.

13. INTERVALO DE REFERÊNCIA

Foram analisadas 120 amostras (53 homens, 67 mulheres) pertencentes a uma população aparentemente saudável, com idades compreendidas entre 18 e 91 anos. As mulheres grávidas foram excluídas.

O intervalo de referência do kit Chorus FOLATE é de 2,8-14,9 ng/ml.

Estes valores só devem ser utilizados como referência.

Cada laboratório deve estudar a transferibilidade dos valores esperados para a sua própria população de doentes e, se necessário, determinar o seu próprio intervalo de referência.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 3 amostras com concentrações crescentes de folato às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Bilirrubina (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglicéridos (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Hemoglobina (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
Factor Reumatoide (44 IU/ml-220 IU/ml)

A presença das substâncias interferentes acima enumeradas no soro em exame não afeta o resultado do teste, com exceção da hemoglobina e dos triglicéridos.

Foram testadas 2 amostras com uma concentração de folato no intervalo normal, à qual foram adicionadas concentrações crescentes de Biotina (0,5 ng/ml - 1000,0 ng/ml).

A presença de Biotina no soro em análise não altera o resultado do teste para concentrações até 10 ng/ml. Concentrações mais elevadas de Biotina levam a resultados incorretos.

15. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 179 amostras com um kit Diesse e com um outro kit disponível no mercado: os dados de correlação estão resumidos na tabela seguinte:

Correlação	r	IC 95%
Pearson	0,93	0,91-0,95
Spearman	0,90	0,86-0,92

Os coeficientes de correlação de Pearson e Spearman estão dentro dos intervalos de correlação muito elevados.

16. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (ng/ml)	CV%	Média (ng/ml)	CV%
1	11,3	7,3	11,3	8,8
2	5,1	5,7	7,6	13,6
3	4,6	5,9	4,7	14,5
4	3,9	4,6	4,9	12,7
5	2,2	8,3	2,9	13,3

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (ng/ml)	CV%	Média (ng/ml)	CV%
1	12,7	9,0	11,7	8,1
2	6,8	12,9	7,6	15,0
3	4,8	9,6	4,8	12,1
4	4,9	13,6	4,7	13,2
5	2,4	10,0	2,5	13,0

17. LINEARIDADE

A linearidade do teste foi avaliada usando 3 amostras com concentrações conhecidas de folato. Foram realizadas diluições em série para cada amostra, o que demonstrou a linearidade do método entre 2.4-20.0 ng/ml.

18. PRECISÃO

A precisão do teste foi avaliada através da medição do Padrão Internacional Vitamin B12, Serum Folate, HOLO TC (código NIBSC 03/178). Foram testados três lotes do kit num único instrumento. A recuperação média em relação ao valor esperado do padrão (5,3 ng/ml) é de 92%.

19. BIBLIOGRAFIA

1. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. Gene 2014;533(1):11-20.
2. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. Xenobiotica 2014;44(5):480-488.
3. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. Handb Clin Neurol 2014;120:927-43.
4. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Clinical Aspects and Laboratory. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6ª edição 2011:41-42.

5. NCCLS CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Diretriz Aprovada - Terceira Edição. Vol. 24 N.º 38



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS FOLATE

Pentru determinarea cantitativă a folatului în serul uman

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZARE

CHORUS FOLATE este un kit imunologic pentru determinarea cantitativă automatizată a folatului.

Testul se efectuează pe ser uman, folosind un dispozitiv de unică folosință aplicat la instrumentul CHORUS TRIO.

Kitul, destinat să monitorizeze nivelul de folat, este un ajutor în diagnosticarea carenței de folat.

Acesta trebuie utilizat numai de către personal profesionist de laborator.

2. INTRODUCERE

Folatul, cunoscut și sub denumirea de vitamina B9 și folacin, este una dintre vitaminele din grupa B. Folatul este necesar organismului pentru a produce ADN și ARN și pentru a metaboliza aminoacizii necesari diviziunii celulare. Deoarece organismul uman nu poate produce acid folic, acesta este necesar în dietă, ceea ce îl face un nutrient esențial. Folatul sub formă de acid folic este utilizat pentru a trata anemia cauzată de deficitul de folat, un tip de anemie în care globulele roșii devin anormal de mari. Acidul folic este utilizat de asemenea ca supliment de către femei în timpul sarcinii pentru a reduce riscul de defecte de tub neural (NTD) la copil. Nivelurile scăzute la începutul sarcinii sunt considerate a fi cauza a peste jumătate dintre copiii născuți cu NTD. Suplimentarea pe termen lung cu acid folic poate ajuta persoanele predispuse la boli cardiovasculare și la unele forme de cancer. Există îngrijorări cum că suplimentările cu cantități mari de acid folic pot ascunde o carență de vitamina B12. Acidul folic și N-metiltetrahidrofolatul sunt două forme comune, aceasta din urmă fiind mai stabilă și prezentă în concentrație mai mare în ser. Proteinele care leagă folatul sunt responsabile cu metabolismul folatilor și au, de asemenea, capacitatea de a lega diferiți derivați de folat, printre care acidul folic și N-metiltetrahidrofolatul. Pentru a efectua dozarea folatului este necesară o extragere pentru a-l elibera de proteinele de care este în mod normal legat.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul CHORUS FOLATE este gata de utilizare pentru determinarea folatului în serul uman, în instrumentul Chorus TRIO.

Testul se bazează pe o metoda ELISA de competiție.

Godeurile microplăcilor sunt streptavidină. Calibratorul, controlul pozitiv și probele sunt adăugate la un dispozitiv. Proba și proteina de legare a folatului biotinilat sunt adăugate pe placă și în timpul primei incubări are loc formarea unui complex imunitar între acidul folic care este eventual prezent în ser și proteina de legare a folatului biotinilat care este, la rândul său, capabil să se lege de streptavidina imobilizată la faza solidă.

După o scurtă incubare, se adaugă conjugatul (conținând folat marcat cu peroxidază) (această întârziere permite creșterea sensibilității pentru probele cu concentrație scăzută). Conjugatul concurează cu folatul prezent în serul examinat pentru locurile de legare la proteina care leagă folatul. După spălare, pentru a elimina excesul de reactivi nelegați, se adaugă substratul pentru peroxidază. Reacția enzimatică este întreruptă prin adăugarea soluției de stopare, care îngălbenește soluția. Culoarea care se dezvoltă este invers proporțională cu cantitatea de folat prezentă în proba pacientului.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului atunci când sunt aplicate pe instrumentul Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în ng/ml.

4. AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE *IN VITRO*

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și au generat un răspuns negativ pentru prezența HbsAg și pentru anticorpii împotriva HIV-1, HIV-2 și HCV. Deoarece niciun test de diagnostic nu poate oferi o asigurare completă privind lipsa agenților infecțioși, orice material de origine umană ar trebui considerat ca fiind potențial infectat. Respectați toate măsurile de precauție adoptate în mod normal în practica de laborator atunci când manipulați material de origine umană.

Eliminarea reziduurilor: probele de ser, calibratoarele și benzile folosite trebuie tratate ca reziduuri contaminate și trebuie eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Informații privind sănătatea și siguranța

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați probele.
3. Spălați-vă bine mâinile după introducerea dispozitivelor în instrumentul Chorus TRIO.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (www.diesse.it).
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu în volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Pentru a asigura o dezinfectare eficientă, ar putea fi necesară o expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu 1%.
6. Orice scurgeri de materiale potențial infectat trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă scurgerea conține un acid, uscați zona contaminată înainte de a utiliza hipocloritul de sodiu. Toate materialele utilizate pentru decontaminarea eventualelor scurgeri, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase. Nu introduceți în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, aduceți dispozitivele care urmează să fie utilizate la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 30 de minute și utilizați-le în interval de 60 de minute.

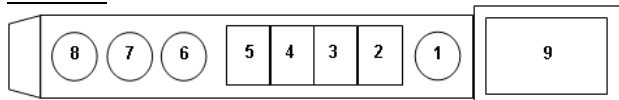
1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 4) colorat în albastru.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză; nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi și/sau corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul Chorus TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.
Utilizarea kitului este posibilă numai cu CHORUS TRIO cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument este o versiune (Ver.) corespunzătoare sau ulterioară celei prezentate în tabelul publicat pe site-ul Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Verificați dacă instrumentul Chorus TRIO este setat corect (vezi Manualul de utilizare).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
8. Eventualele coduri de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (vezi Manualul de utilizare).
9. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
10. Utilizarea de probe puternic hemolizate, lipemice, icterice, de ser incomplet coagulat sau de probe cu contaminare microbiană poate constitui o sursă de eroare.
11. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
12. **Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare de autoimunitate (Ref. 86004).**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări.

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 9: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 8: Goală

Poziția 7: GODEU DE MICROPLACĂ

Acoperit cu streptavidină

Poziția 6: Goală

Poziția 5: FOLAT BIOTINILAT

Conținut: Proteină biotinilată care leagă folatul, stabilizată în tampon și conservant.

Poziția 4: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidină și peroxid de hidrogen stabilizat în tampon.

Poziția 3: SOLUȚIE DE STOPARE

Conținut: soluție de acid sulfuric 0,3 M

Poziția 2: CONJUGAT DE FOLAT

Conținut: Folat marcat cu peroxidază stabilizat în tampon.

Poziția 1: GODEU GOL

în care trebuie transferată proba.

Utilizare: echilibrați o pungă la temperatura camerei, deschideți punga și scoateți dispozitivele necesare; introduceți-le pe celelalte la loc în punga care conține silicagel, lăsați aerul să iasă și **sigilați** apăsând pe închidere. A se păstra la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,450 ml

Conținut: Ser uman care conține folat și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 0,650 ml

Conținut: Ser uman care conține folat și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

SAMPLE DILUENT/NEGATIVE CONTROL 1 x 1,100 ml

SAMPLE DILUENT/CONTROL NEGATIV

Conținut: Ser uman care nu conține folat și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- CHORUS VITAMIN EXTRACTION **REF** 86500
- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- Instrumentul Chorus TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticla normală de laborator: cilindri, eprubete etc.
- Vortex
- Micropipete capabile să extragă cu precizie volume de 50-200 µl
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de hipoclorit de sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate

6. MODALITATEA DE PĂSTRARE ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie păstrați la 2/8°C. În cazul unei temperaturi incorecte de depozitare, este necesar să repetați calibrarea și să verificați corectitudinea rezultatului folosind serul de control (vezi capitolul 9: Validarea testului).

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta kitului.

Reactivii au o stabilitate limitată după deschidere:

DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8 °C
CALIBRATOR	8 săptămâni la 2/8 °C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8 °C
SAMPLE DILUENT	8 săptămâni la 2/8 °C

7. COLECTAREA ȘI DEPOZITAREA PROBELOR

Proba constă în serul obținut din sângele recoltat prin puncție venoasă și manipulat adoptând măsurile de precauție cerute în procedurile standard de laborator.

Conform ghidului NCCLS CLSI H18-A3, probele de ser care urmează să fie analizate trebuie coagulate înainte de centrifugare; coagularea spontană și completă are loc în mod normal în interval de 30-60 de minute la 22°C-25°C. Se recomandă separarea fizică a serului, prin centrifugare, de contactul cu celulele cât mai curând posibil cu un timp limită de maxim 2 ore de la momentul colectării.

Serul proaspăt se poate păstra timp de 2 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați-l la temperaturi ≤ -20 °C.

Proba poate fi supusă unui număr maxim de 3 decongelări. Consecințele utilizării altor fluide biologice nu sunt cunoscute.

Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor. După decongelare, agitați cu atenție proba înainte de dozare.

Soluția de extractant 1/40 (Stabilizing/Releasing) este stabilă timp de 8 ore după preparare.

Proba extrasă poate fi utilizată, dacă este păstrată la 4°C, în decurs de 8 ore de la extracție.

Se recomandă insistent să se evite orice tratament intensiv al probelor.

Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate conduce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA

Testul CHORUS FOLATE (REF. 86402) poate fi efectuat simultan NUMAI cu kitul CHORUS VIT B12 (REF.86400) și cu testele CHORUS PROMONITOR.

1. Deschideți punga (partea care conține sigiliul de presiune), scoateți numărul de dispozitive necesare efectuării testelor și păstrați-le pe celelalte închizând punga la loc după eliberarea aerului.
2. Verificați vizual starea dispozitivului conform indicațiilor din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Pregătiți probele, calibratorul, controlul pozitiv și controlul negativ (atunci când este necesar) utilizând produsul CHORUS VITAMIN EXTRACTION (REF 86500) urmând protocolul de extracție indicat în instrucțiunile de utilizare aferente.
Pretratarea nu poate fi efectuată în instrumentul CHORUS AUTOSAMPLER (REF 81210).
4. Distribuți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv:

PROBĂ	100 µl/dispozitiv
CALIBRATOR	100 µl/dispozitiv
CONTROL POZITIV	100 µl/dispozitiv

La fiecare schimbare de lot, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.

5. Introduceți dispozitivele pe instrumentul Chorus TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesar) și testarea după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați controlul pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatelor obținute, procesându-l după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul semnalează că controlul pozitiv are o valoare în afara limitei acceptabile, este necesar să se efectueze din nou calibrarea. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

Dacă rezultatul controlului pozitiv continuă să se încadreze în afara intervalului acceptabil, contactați Serviciul de asistență științifică.

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul CHORUS TRIO furnizează rezultatul în ng/ml, calculat pe baza unui grafic dependent de lot stocat în instrument.

11. LIMITĂRI

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă, care nu trebuie să facă abstracție de alți indicatori referitori la același pacient. De fapt, testul nu poate fi folosit singur pentru un diagnostic clinic iar rezultatul obținut trebuie să fie evaluat întotdeauna împreună cu datele obținute din anamneza pacientului și/sau din alte investigații diagnostice.

12. INTERVALUL DE CALIBRARE

Interval de calibrare: 2,0-20,0 ng/ml.

Pentru probe > 20,0 ng/ml, repetați testul diluând proba cu Folate Sample Diluent/Negative Control furnizat împreună cu kitul. Se recomandă efectuarea de diluții 1:5 și 1:10 ale probelor în afara scalei; apoi trebuie efectuată extragerea probelor înainte de analiză.

13. INTERVAL DE REFERINȚĂ

Au fost analizate 120 de probe (53 bărbați, 67 femei), aparținând populației aparent sănătoase, cu vârste cuprinse între 18 și 91 de ani. Femeile însărcinate au fost excluse.

Intervalul de referință al kitului Chorus FOLATE este 2,8-14,9 ng/ml.

Aceste valori trebuie folosite numai ca linii directoare.

Fiecare laborator trebuie să studieze transferabilitatea valorilor așteptate către propria populație de pacienți și, dacă este necesar, să își stabilească propriul interval de referință.

14. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 3 probe cu concentrație crescândă de folat la care s-au adăugat următorii interferenți:

Bilirubină (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
Trigliceride (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Hemoglobină (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
Factorul reumatoid (44UI/ml-220UI/ml)

Prezența substanțelor interferente enumerate mai sus în serul examinat nu modifică rezultatul testului, cu excepția hemoglobinei și a trigliceridelor.

Au fost testate 2 probe cu concentrația de folat în intervalul normal, la care s-au adăugat concentrații crescânde de Biotină (0,5 ng/ml – 1000,0 ng/ml).

Prezența Biotinei în serul examinat nu modifică rezultatul testului pentru concentrații de până la 10 ng/ml. Concentrații mai mari de Biotină generează rezultate eronate.

15. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment, au fost analizate 179 de probe cu un kit DIESSE și cu un alt kit din comerț: datele de corelare sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Corelare	r	IC 95%
Pearson	0,93	0,91-0,95
Spearman	0,90	0,86-0,92

Tel.: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

Coeficienții de corelație Pearson și respectiv Spearman se încadrează în intervalele de corelație foarte ridicată.

16. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În timpul ședinței		Între ședințe	
	Medie (ng/ml)	CV%	Medie (ng/ml)	CV%
1	11,3	7,3	11,3	8,8
2	5,1	5,7	7,6	13,6
3	4,6	5,9	4,7	14,5
4	3,9	4,6	4,9	12,7
5	2,2	8,3	2,9	13,3

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Medie (ng/ml)	CV%	Medie (ng/ml)	CV%
1	12,7	9,0	11,7	8,1
2	6,8	12,9	7,6	15,0
3	4,8	9,6	4,8	12,1
4	4,9	13,6	4,7	13,2
5	2,4	10,0	2,5	13,0

17. LINEARITATE

Linearitatea testului a fost evaluată folosind 3 probe cu concentrații cunoscute de folat. Au fost efectuate diluții în serie pentru fiecare probă, care au demonstrat linearitatea metodei de la 2,4-20,0 ng/ml.

18. PRECIZIE

Precizia testului a fost evaluată prin măsurarea Standardului Internațional de Vitamina B12, folat seric, HOLO TC (cod NIBSC 03/178). Au fost testate trei loturi ale kitului pe un singur instrument. Media recuperării raportat la valoarea așteptată a standardului 5,3 ng/ml) este de 92%.

19. BIBLIOGRAFIE

1. Nazki FH, Sameer AS, Ganaie BA. Folate: Metabolism, genes, polymorphisms and the associated diseases. *Gene* 2014;533(1):11-20.
2. Scaglione F, Panzavolta G. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *Xenobiotica* 2014;44(5):480-488.
3. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. *Handb Clin Neurol* 2014;120:927-43.
4. Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Clinical Aspects and Laboratory. Iron metabolism, Anemias. Springer Verlag, Wien, New York, 6th edition 2011:41-42.
5. NCCLS CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 nr. 38

	IT	Data di fabbricazione	ES	Fecha de fabricación
	EN	Date of manufacture	FR	Date de fabrication
	CS	Datum výroby	PT	Data de fabrico
	DE	Herstellungsdatum	RO	Data fabricatiei
	EL	Ημερομηνία Παραγωγής		
	IT	Utilizzare entro	ES	Fecha de caducidad
	EN	Use By	FR	Utiliser jusque
	CS	Použitelné do	PT	Prazo de validade
	DE	Verwendbar bis	RO	A se folosi pana la
	EL	Ημερομηνία λήξης		
	IT	Non riutilizzare	ES	No reutilizar
	EN	Do not reuse	FR	Ne pas réutiliser
	CS	Nepoužívejte opakovaně	PT	Não reutilizar
	DE	Nicht wieder verwenden	RO	A nu se refolosi
	EL	Μην κάνετε επαναληπτική χρήση		
	IT	Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	ES	Atención, ver instrucciones de uso
	EN	Caution, consult accompanying documents	FR	Attention voir notice d'instructions
	CS	Pozor, čtěte příložené dokumenty	PT	Atenção, consulte a documentação incluída
	DE	Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Atentie, consultați documentele însoțitoare
	EL	Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα		
	IT	Fabbricante	ES	Fabricante
	EN	Manufacturer	FR	Fabricant
	CS	Výrobce	PT	Fabricante
	DE	Hersteller	RO	Productator
	EL	Κατασκευαστής		
	IT	Contenuto sufficiente per "n" saggi	ES	Contenido suficiente para <n> ensayos
	EN	Contains sufficient for <n> tests	FR	Contenu suffisant pour "n" tests
	CS	Obsah stačí na <n> testů	PT	Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	DE	Inhalt reicht für „n“ Tests	RO	Continut sufficient pt <n> teste
	EL	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις		
	IT	Limiti di temperatura	ES	Límite de temperatura
	EN	Temperature limitation	FR	Limites de température
	CS	Teplotní omezení	PT	Limites de temperatura
	DE	Temperaturgrenzwerte	RO	Limita da temperatura
	EL	Περιορισμοί θερμοκρασίας		
	IT	Consultare le istruzioni per l'uso	ES	Consulte las instrucciones de uso
	EN	Consult Instructions for Use	FR	Consulter les instructions d'utilisation
	CS	Čtěte návod k použití	PT	Consulte as instruções de utilização
	DE	Die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Pentru a utiliza consultați instrucțiunile
	EL	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		
	IT	Rischio biologico	ES	Riesgo biológico
	EN	Biological risks	FR	Risques biologiques
	CS	Biologická rizika	PT	Risco biológico
	DE	Biologisches Risiko	RO	Risk biologic
	EL	Βιολογικοί κίνδυνοι		
REF	IT	Numero di catalogo	ES	Número de catálogo
	EN	Catalogue number	FR	Référence du catalogue
	CS	Katalogové číslo	PT	Referência de catálogo
	DE	Katalognummer	RO	Numar de catalog
	EL	Αριθμός καταλόγου		
IVD	IT	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN	In Vitro Diagnostic Medical Device	FR	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CS	Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro	PT	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	DE	Medizinisches In-vitro-Diagnostikum	RO	Dizpositiv medical pentru diagnosticare in vitro
	EL	Ιn Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν		
LOT	IT	Codice del lotto	ES	Código de lote
	EN	Batch code	FR	Code du lot
	CS	Kód šarže	PT	Código do lote
	DE	Chargennummer	RO	Lot
	EL	Αριθμός Παρτίδας		
CE	IT	Marcatura CE di conformità	ES	Marcado CE de conformidad
	EN	CE marking of conformity	FR	Marquage de conformité CE
	CS	Oznakowanie zgodności CE	PT	Marcação CE de conformidade
	DE	CE-Konformität Skennezeichnung	RO	Marcajul de conformitate CE
	EL	Σημανση συμμορφωση CE		