

(a) آماده سازی باید تنها در **لوله شیشه‌ای استفاده نشده** انجام گیرد (از لوله پلاستیکی، شیشه‌ای اسید واش و یا شیشه‌ای شسته شده با آب مقطر استفاده نگردد).

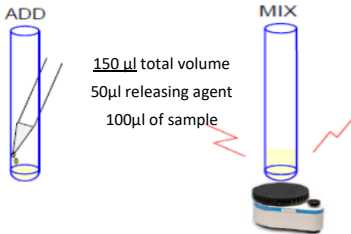
(b) هنگام آماده سازی وجود دستگاه **ور تکس لوله** الزامی است.

(c) نمونه‌های بیماران با **غلظت بالاتر از حد نرمال پروتئین**، باید با رقت ۱:۱ با محلول نرمال سالین رقیق شوند.
توجه: ایجاد لخته در لوله‌های آماده شده می‌تواند به دلیل عدم رعایت یکی از موارد فوق باشد.



A. حجم 100 µl از نمونه بیمار داخل لوله شیشه‌ای بریزید. (کالیبراتورها و کنترل‌ها آماده مصرف می‌باشند و احتیاج به استخراج ندارند)
I. نوک سمپلر را در تماس با دیواره و نزدیک به انتهای لوله قرار داده و محتویات آن را تخلیه نمایید.

B. حجم 50 µl از محلول آماده شده Stabilizing/Releasing را به لوله شیشه‌ای اضافه کنید.



(برای آماده سازی محلول Stabilizing/Releasing بخش آماده سازی معرف‌ها در بروشور را مطالعه بفرمایید.)

I. نوک سمپلر را در تماس با دیواره و نزدیک به انتهای لوله قرار داده و محتویات آن را به آرامی بالای نمونه‌ها تخلیه نمایید. برای جلوگیری از آلودگی، بهتر است برای هر لوله نوک سمپلر تعویض گردد.

II. بلافاصله بعد از اضافه کردن محلول Stabilizing/Releasing به هر لوله، لوله را روی ورتکس برای ۳-۵ ثانیه مخلوط نمایید. بهتر است این عمل برای هر لوله ۳ بار انجام شود (۳ × ۳-۵ ثانیه).

III. قبل از اضافه شدن محلول Stabilizing/Releasing به لوله بعدی، حتماً لوله قبلی ورتکس شود.

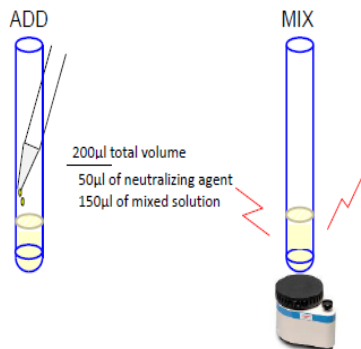
| تعداد چاهک | Stabilizing | Releasing |
|------------|-------------|-----------|
| 8 | 10 λ | 390 λ |
| 16 | 20 λ | 780 λ |
| 24 | 30 λ | 1170 λ |
| 32 | 40 λ | 1560 λ |
| 40 | 50 λ | 1950 λ |
| 48 | 60 λ | 2340 λ |
| 56 | 70 λ | 2730 λ |
| 64 | 80 λ | 3120 λ |
| 72 | 90 λ | 3510 λ |
| 80 | 100 λ | 3900 λ |
| 88 | 110 λ | 4290 λ |
| 96 | 120 λ | 4680 λ |

توجه: جدول روبرو محاسبه حجم لازم از محلول‌های Stabilizing و Releasing به ازای تعداد چاهک‌ها را نشان می‌دهد.



C. 15 دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید.

I. الزامی می‌باشد که شروع زمان انکوباسیون از آماده سازی اولین لوله صورت گیرد.



D. حجم 50 µl از محلول Neutralizing را داخل لوله‌ها اضافه کنید.

I. نوک سمپلر را در تماس با دیواره و نزدیک به انتهای لوله قرار داده و محتویات آن را به آرامی بالای محلول موجود در لوله، تخلیه نمایید. برای جلوگیری از آلودگی، بهتر است برای هر لوله نوک سمپلر تعویض گردد.

II. بلافاصله بعد از اضافه کردن Neutralizing به هر لوله، لوله را روی ورتکس برای ۳-۵ ثانیه مخلوط نمایید. بهتر است این عمل برای هر لوله ۳ بار انجام شود (۳ × ۳-۵ ثانیه)

III. قبل از اضافه شدن محلول Neutralizing به لوله بعدی، حتماً لوله قبلی ورتکس شود.

E. 5 دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردد.

MONOKIT

کیت اندازه‌گیری Folate در سرم انسان
Folate ELISA Kit 96t
Cat. No: 6534-96 / Rev: B3 (1402/12/05)

مقدمه:

فولات (Folate) که به‌عنوان ویتامین B9 نیز شناخته می‌شود در فرایندهای زیستی متعدد و مهمی مانند سنتز اسیدهای نوکلئیک، رشد لوله عصبی جنین و عملکرد طبیعی سلول‌های خونی مؤثر است. سطح نرمال فولات خون نیازمند جذب طبیعی آن در روده و رژیم غذایی مناسب است. در شرایط کمبود اولیه ویتامین B12، توانایی سلول‌ها در دریافت فولات مختل می‌شود و در چنین شرایطی درمان با ویتامین B12 ضروری است. بررسی میزان فولات در حاملگی، ارزیابی اختلالات همولیتیک و آنمی مگالوبلاستیک اهمیت دارد. کمبود فولات در ۳۳ درصد از زنان حامله، بسیاری از الکلی‌ها و بیماری‌های سلیاک و کرون مشاهده می‌شود. سطوح افزایش یافته سرمی فولیک اسید ممکن است در بیماران با آنمی وخیم دیده شود. حیطة کاربرد این کیت، اندازه‌گیری غلظت فولات در سرم انسان می‌باشد.

اصول آزمایش:

این تست بر پایه الایزای رقابتی طراحی شده است. بی‌حرکت‌سازی کمپلکس‌های ایمنی توسط واکنش بین استرپتاویدین تثبیت شده در کف چاهک و آنتی‌بادی بیوتینیل‌شده صورت می‌پذیرد. نمونه‌های سرم و کالیبراتور (حاوی آنتی‌ژن آزاد و غیرکونژوگه)، فولات کونژوگه با آنزیم HRP و آنتی‌بادی بیوتینیل‌شده ضد فولات به چاهک‌ها اضافه می‌شوند. آنتی‌ژن‌ها برای اتصال به آنتی‌بادی ضد فولات بیوتینیل‌شده که به استرپتاویدین کف چاهک متصل شده است با یکدیگر رقابت می‌کنند. پس از تخلیه و شستشوی چاهک، با افزودن محلول رنگزا (سوبسترای آنزیم HRP) و سپس محلول متوقف‌کننده، محصول نهایی تولید می‌شود که بیشترین میزان جذب نوری را در طول موج ۴۵۰ نانومتر دارد. میزان رنگ و در نتیجه شدت جذب نوری با غلظت فولات در نمونه و یا کالیبراتورها ارتباط معکوس دارد. در نهایت غلظت فولات در هر نمونه به کمک منحنی استاندارد محاسبه می‌گردد.

محتویات کیت:

- ۱) میکروپلیت ۹۶ تستی حاوی استرپتاویدین تثبیت شده.
- ۲) کالیبراتورها (Folate Cal A-F)، شش ویال با غلظت‌های ۰، ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۵ ng/mL.
- ۳) کونژوگه آنزیمی (Folate Enzyme Conjugate): یک ویال ۶ میلی‌لیتری حاوی آنتی‌ژن متصل به آنزیم HRP در بافر.

- ۴) کونژوگه بیوتینی (Folate Biotin Conjugate): یک ویال ۶ میلی‌لیتری حاوی آنتی‌بادی بیوتینیل‌شده در بافر.
 - ۵) محلول آزادکننده (Folate Releasing Agent): یک ویال ۱۳ میلی‌لیتری.
 - ۶) محلول پایدارکننده (Folate Stabilizing Agent): یک ویال ۰/۷ میلی‌لیتری.
 - ۷) بافر خنثی‌کننده (Folate Neutralizing Buffer): یک ویال ۶ میلی‌لیتری.
 - ۸) محلول شستشو (Wash Solution-50X): یک ویال ۲۰ میلی‌لیتری.
 - ۹) محلول رنگزا (Substrate Solution): یک ویال ۱۲ میلی‌لیتری.
 - ۱۰) محلول متوقف‌کننده واکنش (Stop Solution): یک ویال ۱۲ میلی‌لیتری.
 - ۱۱) محلول کنترل (Folate Control) ویال(های) ۰/۵ میلی‌لیتری.
 - ۱۲) برجسب مخصوص پلیت: یک ورق.
 - توجه ۱: کلیه محلول‌ها در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شوند. محلول متوقف‌کننده در دمای اتاق نیز قابل نگهداری است.
 - توجه ۲: مقادیر کنترل(ها) در برگه COA درج شده است.
- مواد و وسایل مورد نیاز که در کیت موجود نمی‌باشند:**
- ۱) دستگاه خوانش گر پلیت دارای فیلتر ۴۵۰ و ۶۳۰ نانومتر (فیلتر مرجع).
 - ۲) سمپلر کالیبره.
 - ۳) آب مقطر دیونیزه.

احتیاط در استفاده از کیت:

- ۱) محتویات این کیت برای استفاده در همین کیت تعبیه گردیده است؛ لذا از استفاده مشترک با سایر کیت‌ها و یا شماره‌های ساخت دیگر جداً خودداری نمایید.
- ۲) تمام محلول‌ها تا زمان انقضاء کیت پایدار هستند. از محلول‌هایی که تاریخ انقضاء آن‌ها گذشته است استفاده نشود.
- ۳) توجه فرمایید که محلول‌ها در معرض نور مستقیم قرار نگیرند.
- ۴) محتویات این کیت با منشأ انسانی از نظر منفی بودن HIV1/2، HCV و HbsAg بررسی شده‌اند؛ ولی تشخیص قطعی در مورد منفی بودن تمام عوامل عفونی بیماری‌زا با استفاده از روش‌های متداول آزمایشگاهی امکان پذیر نیست. بنابراین با توجه به احتمال آلودگی و بیماری‌زایی محتویات کیت، تمام مراحل آزمایش باید مطابق با دستورالعمل‌های ایمنی انجام شوند.
- ۵) استفاده از دستکش و عینک در هنگام کار الزامی است و در هنگام کار با کیت دقت فرمایید که محتویات آن بر روی صورت یا سایر نقاط بدن ریخته نشود. از تماس مواد با دهان و سایر مخاط جلوگیری نمایید.
- ۶) نمونه بیماران، کنترل‌ها، چاهک‌ها و سر سمپلرهای استفاده شده باید به‌عنوان پسماندهای عفونی در نظر گرفته شوند و مطابق با الزامات دفع پسماندهای عفونی امحاء گردند.

جمع‌آوری، آماده‌سازی و نگهداری نمونه:

- ۱) نمونه مناسب برای این آزمایش سرم است. ناشتا بودن فرد به هنگام نمونه‌گیری در درستی نتایج به‌دست آمده تأثیرگذار خواهد بود. نمونه خون با استفاده از تکنیک استاندارد خون‌گیری سیاهرگی تهیه شود و سرم بعد از لخته شدن کامل خون (۳۰ تا ۶۰ دقیقه) از سلول‌های خونی جدا گردد. حتی الامکان از نمونه‌های ایکتریک، لیپمیک و همولیز استفاده نشود.
- ۲) در افرادی که دوز بالای بیوتین ($>5 \text{ mg/day}$) را دریافت می‌کنند، نمونه‌گیری باید حداقل ۸ ساعت پس از دریافت آخرین دوز بیوتین انجام شود.
- ۳) درب ظرف نمونه‌ها باید کاملاً بسته باشد. نمونه‌ها تا ۲ روز در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد و حداکثر تا ۲ روز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری و استفاده هستند. از منجمد و ذوب کردن مکرر نمونه‌ها خودداری کنید.

آماده‌سازی و نگهداری معرف‌ها:

- ۱) آماده‌سازی و نگهداری محلول شستشو: حجم ۲۰ میلی‌لیتر از محلول شستشو (50X) را به ۹۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه اضافه و پس از آماده‌سازی در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری کنید. در صورت مشاهده رسوب در محلول شستشو، آن را در بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دهید تا رسوب حل شود. در صورت مشاهده کدورت در محلول شستشو، از مصرف آن خودداری کنید.
 - ۲) آماده‌سازی محلول استخراج: محلول‌های پایدارکننده و آزادکننده را با نسبت ۱:۳۹ مخلوط نمایید (به‌عنوان مثال، ۱۰۰ میکرولیتر محلول پایدارکننده به ۳/۹ میلی‌لیتر محلول آزادکننده اضافه نمایید) توصیه می‌شود که این محلول قبل از مصرف و به مقدار نیاز تهیه شود.
 - ۳) استخراج نمونه: به تعداد نمونه‌های بیمار لوله آزمایش شیشه‌ای تهیه نمایید. به هر لوله $100 \mu\text{l}$ از نمونه و $50 \mu\text{l}$ از محلول استخراج آماده مصرف اضافه کرده و پس از مخلوط کردن (سه بار ورتکس هر بار به‌مدت ۳ تا ۵ ثانیه) به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید. سپس $50 \mu\text{l}$ از بافر خنثی‌کننده اضافه کنید. لوله‌ها را پس از مخلوط کردن (سه بار ورتکس هر بار به‌مدت ۳ تا ۵ ثانیه) به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید.
- نکته: کالیبراتورها و کنترل‌ها آماده مصرف می‌باشند و احتیاج به استخراج ندارند.

روش انجام آزمایش:

- قبل از شروع آزمایش مطمئن شوید که تمام اجزاء کیت و نمونه‌ها به دمای اتاق (۲۲ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد) رسیده‌اند. کالیبراتورها، کنترل‌ها و نمونه‌ها را با ۵ بار سر و ته کردن به آرامی یکنواخت نمایید.
- ۱) تعداد چاهک‌های مورد نیاز برای انجام تست را بردارید و بقیه چاهک‌ها را همراه رطوبت‌گیر در کیسه آلومینیومی قرار دهید، درب آن را بسته و در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمایید.









- ۲) حجم ۵۰ میکرولیتر از کالیبراتورها، کنترل و نمونه‌های استخراج شده را در چاهک‌های مورد نظر بریزید. بهتر است که از هر نمونه یا کالیبراتور به‌صورت دوتایی (دوپلیکیت) در چاهک‌ها ریخته شود.
- ۳) حجم ۵۰ میکرولیتر از محلول کونژوگه آنزیمی به هر چاهک اضافه کنید و پلیت را به مدت ۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید.
- ۴) حجم ۵۰ میکرولیتر از محلول کونژوگه بیوتینی به هر چاهک اضافه کنید و پلیت را به مدت ۳۰ ثانیه روی سطح میز به آرامی تکان دهید.
- ۵) چاهک‌ها را با برجسب مخصوص پلیت بیوشانید و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه نمایید.
- ۶) محتویات چاهک‌ها را با وارونه کردن یا اسپیراسیون تخلیه کنید. سپس چاهک‌ها را ۳ مرتبه و هر مرتبه با ۳۰۰ میکرولیتر محلول شستشوی آماده شده، (بخش آماده‌سازی معرف‌ها را مطالعه فرمایید) بشویید. اگر شستشو به‌صورت دستی انجام می‌شود در انتهای شستشو به آرامی پلیت را بر روی دستمال رطوبت‌گیر بزنید. به‌منظور انجام شستشوی مناسب و استاندارد چاهک‌ها، مطابق با فیلم قرار داده شده در وب‌سایت شرکت اقدام نمایید.
- ۷) حجم ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رنگزا درون تمام چاهک‌ها بریزید و پلیت را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه کنید. از تکان دادن پلیت در این مرحله خودداری نمایید.
- ۸) حجم ۵۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده به کلیه چاهک‌ها اضافه کنید و پلیت را به مدت ۲۰ ثانیه به آرامی تکان دهید تا رنگ آبی آن به زرد تبدیل شود.
- ۹) مقدار جذب نوری را برای هر چاهک در طول موج ۴۵۰ نانومتر حداکثر تا ۱۵ دقیقه بعد از متوقف کردن واکنش بخوانید (از طول موج رفرانس ۶۲۰ تا ۶۳۰ نانومتر استفاده کنید). در این آزمایش محاسبه غلظت به روش Point to Point و 4PL (یا Logic-log) قابل اجرا است؛ در صورت استفاده از روش 4PL غلظت کالیبراتور A را عددی کوچک (به‌عنوان مثال 0.01 ng/mL) در نظر بگیرید. میزان جذب و نمودار کالیبراتورهای این کیت به‌عنوان نمونه ارائه شده است.

| Calibrators | Well Number | OD | Mean OD | Conc. (ng/mL) |
|-------------|-------------|-------|---------|---------------|
| Cal. A | A1 | 2.567 | 2.585 | 0 |
| | B1 | 2.604 | | |
| Cal. B | C1 | 1.986 | 2.053 | 1 |
| | D1 | 2.121 | | |
| Cal. C | E1 | 1.584 | 1.560 | 2.5 |
| | F1 | 1.537 | | |
| Cal. D | G1 | 1.218 | 1.198 | 5 |
| | H1 | 1.178 | | |
| Cal. E | A2 | 0.815 | 0.789 | 10 |
| | B2 | 0.763 | | |
| Cal. F | C2 | 0.384 | 0.396 | 25 |
| | D2 | 0.409 | | |

1. <http://www.samantajhiz.com/Support.aspx>

Shelf Stability Test: بررسی پایداری ۸ عدد کیت به مدت ۲ سال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ارزیابی نتایج به صورت هر سه ماه یک بار می‌باشد. مطالعات مختلف بررسی پایداری نشان می‌دهد که کیت مورد نظر در زمان‌های مشخص شده پایدار است. معیار پذیرش در آزمایش‌های مربوط به تعیین پایداری، تغییر نتایج کمتر از ۲۰ درصد است.

علائم استفاده شده در پرچسب کالاها

| | |
|---|------------------------------------|
|  | Manufacturer |
|  | Use-by date |
|  | Batch code |
|  | In vitro diagnostic medical device |
|  | Own brand Labeling |
|  | Contains sufficient for tests |
|  | Temperature limit |
|  | Date of manufacture |

References:

- Pagana KD. Mosby's manual of diagnostic and laboratory tests. Elsevier Health Sciences; Nov 8, (2013).
- Shane B, Tamura T, Stokstad ER. Folate assay: a comparison of radioassay and microbiological methods. Clinica Chimica Acta. 100 (1): 9-13. Jan 1, (1980).
- Millbank L, Davis RE, Rawlins M, Waters AH. Automation of the assay of folate in serum and whole blood. Journal of clinical pathology. 23 (1):54-9. Feb 1, (1970).

در صورت بروز هرگونه مشکل خواهشمند است با شماره‌های مندرج بر روی جعبه (بخش پشتیبانی) تماس بگیرید.

۴) بررسی درستی-آزمون خطی بودن (Linearity)

در این تست، غلظت Folate در رقت‌های مختلف نمونه سرم برای تعیین خطی بودن کیت اندازه‌گیری شد. معیار پذیرش در این آزمایش $Bias < 19.20\%$ است.

| No. | Sample (ng/mL) | 1/2 | 1/4 | 1/8 | 1/16 |
|-----|----------------|--------|------|------|------|
| | | % Bias | | | |
| 1 | 1.24 | -1.2 | 2.2 | 2.8 | -3 |
| 2 | 4.39 | 0.9 | -1.6 | -1.7 | -2.8 |
| 3 | 12.47 | 1.1 | 2.0 | -2.5 | -3.0 |

۵) بررسی درستی-مقایسه روش‌ها (Comparison of Methods)

جهت بررسی درستی نتایج این کیت، میزان Folate در ۱۰۰ نمونه سرم با مقادیر پایین، نرمال و بالا اندازه‌گیری شد و نتایج آن با کیت مرجع مقایسه و ضریب همبستگی بین نتایج به دست آمده از دو کیت، بر اساس روش پیرسون، 0.995 محاسبه گردید. معیار پذیرش برای این آزمایش به صورت زیر تعریف شده است:

$$0.9 \leq \text{Pearson Correlation Coefficient} \leq 1.0$$

۶) بررسی تداخلات (Interference)

بر اساس فرمول زیر، درصد تداخلات رایج در سنجش Folate مورد ارزیابی قرار گرفت:

$$\% \text{ تداخل} = \frac{\text{میانگین غلظت قبل از افزودن آنالیت مداخله گر} - \text{میانگین غلظت بعد از افزودن آنالیت}}{\text{میانگین غلظت مداخله گر}} \times 100$$

بر اساس نتایج به دست آمده هموگلوبین تا 250 ، بیلی‌روبین تا 15 و تری‌گلیسرید تا 250 میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تأثیری بر نتیجه سنجش ندارد.

۷) بررسی حساسیت (Sensitivity)

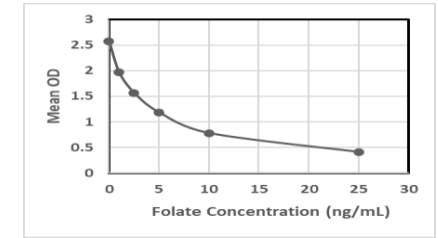
حساسیت کیت بر اساس Limit of Detection (LOD) و Limit of Blank (LOB) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد و برابر با 0.52 ng/mL تعیین گردید.

$$\begin{aligned} \text{LOD} &= \text{LOB} + 1.645 \text{ SDs} \\ \text{LOB} &= \text{Mean} + 1.645 \text{ Sdb} \end{aligned}$$

(s: Diluted sample & b: Blank)

۸) بررسی پایداری (Stability)

Accelerated Stability Test: بررسی پایداری کیت به مدت ۴ هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد.
In Use Stability Test: بررسی پایداری کیت پس از باز کردن درب محلول‌ها، به مدت ۸ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد.



مقادیر مورد انتظار برای تست الایزای Folate

شرکت تولیدکننده کیت، مقادیر مورد انتظار برای این تست را به قرار زیر مشخص کرده است. اگرچه، این مقادیر برای آنالیت مورد نظر باید توسط آزمایشگاه تعیین گردد.

| | |
|--|------------------------|
| جمعیت بالغین نرمال | $>3.0 \text{ (ng/mL)}$ |
| $1 \text{ ng/mL} = 2.266 \text{ nmol/L}$ | |

پارامترهای کنترل کیفی

۱) بررسی دقت-آزمون دقت درون‌دور (Within Run)

دقت درون‌دور با ارزیابی تکرارپذیری نتایج حاصل از سه نمونه سرم با غلظت‌های متفاوت و سه سطح کنترل در یک نوبت‌کاری (۲۰ بار تکرار برای هر نمونه) بررسی شد. معیار پذیرش در این آزمایش $CV < 12\%$ است.

| Sample/Control | 1 | 2 | 3 | Ctrl. 1 | Ctrl. 2 | Ctrl. 3 |
|----------------|------|------|-------|---------|---------|---------|
| No. of Repeats | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Mean (ng/mL) | 1.13 | 7.69 | 11.48 | 3.24 | 7.31 | 18.17 |
| SD (ng/mL) | 0.06 | 0.33 | 0.46 | 0.15 | 0.31 | 0.75 |
| CV (%) | 5.3 | 4.3 | 4.0 | 4.6 | 4.2 | 4.1 |

۲) بررسی دقت-آزمون دقت بین‌دور (Between Run)

دقت بین‌دور با ارزیابی تجدیدپذیری نتایج حاصل از سه نمونه سرم با غلظت‌های متفاوت و سه سطح کنترل در ۴ نوبت‌کاری (۵ بار تکرار برای هر نمونه در هر نوبت‌کاری) بررسی شد. معیار پذیرش در این آزمایش $CV < 12\%$ است.

| Sample/Control | 1 | 2 | 3 | Ctrl. 1 | Ctrl. 2 | Ctrl. 3 |
|----------------|------|------|-------|---------|---------|---------|
| No. of Repeats | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| Mean (ng/mL) | 2.04 | 6.92 | 12.38 | 3.13 | 7.16 | 18.04 |
| SD (ng/mL) | 0.11 | 0.37 | 0.6 | 0.14 | 0.31 | 0.75 |
| CV (%) | 5.4 | 5.3 | 4.8 | 4.5 | 4.3 | 4.2 |

۳) بررسی درستی-آزمون بازیابی (Recovery)

در این آزمایش به ازاء هر آزمون، دو نمونه سرم به نسبت مساوی با یکدیگر ترکیب گردیده و سطح Folate در ترکیب به دست آمده اندازه‌گیری شد. معیار پذیرش در این آزمایش، $Bias < 19.20\%$ نسبت به نتیجه مورد انتظار است.

| No. | Sample (ng/mL) | Added (ng/mL) | Exp. (ng/mL) | Obs. (ng/mL) | % Rec. |
|-----|----------------|---------------|--------------|--------------|--------|
| 1 | 2.45 | 8.41 | 5.43 | 5.74 | 105.7 |
| 2 | 13.26 | 7.45 | 10.35 | 10.41 | 100.6 |
| 3 | 6.45 | 11.24 | 8.84 | 8.51 | 96.3 |