

Аналіз слини на альфа-амілазу

Імуноферментний аналіз для визначення активності альфа-амілази в слині людини.

REF

RE80111



96



2-8°C

EU:

IVD



Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19
А, оф. 1, тел. (044) 288-82-98, info@ivset.com.ua, www.ivset.ua



IBL INTERNATIONAL GMBH

Flughafenstrasse 52a D-
22335 Гамбург, Німеччина

Телефон: +49 (0)40-53 28
91-0
Факс: +49 (0)40-53 28 91-
11

IBL@IBL-International.com
www.IBL-International.com

1. ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

Імуноферментний аналіз для визначення активності альфа-амілази в слині людини.

2. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ТА ПОЯСНЕННЯ

Вимірювання активності альфа-амілази в слині корисно в області психобіології стресу. Багато досліджень показали, що активність альфа-амілази в слині корелює з активністю симпатoadреналової медулярної системи. Вільний кортизол слини є встановленим неінвазивним маркером активності гіпоталамуса гіпофіза надниркових залоз (HPA). Тепер альфа-амілаза слини, здається, є таким добре охарактеризованим маркером слини для активності симпато - надниркової мозкової системи (SAM). Альфа-амілаза слини також, здається, пов'язана з хронічним стресом, посттравматичним стресовим розладом, поведінкою, когнітивними функціями та здоров'ям. Крім того, підвищення рівня альфа-амілази в слині може бути викликано препаратами, що активують СНС (наприклад, йохімбін), і попереджено бета-блокаторами (наприклад, пропанолол).

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Цей аналіз є рідко-фазним імуноферментним аналізом. Альфа-амілаза слини метаболізує специфічно субстрат. Інтенсивність забарвлення пропорційна активності альфа-амілази в зразку. Результати проб можна визначити безпосередньо за допомогою стандартної кривої.

4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

1. Тільки для діагностики in vitro. Тільки для професійного використання.
2. Перед початком аналізу повністю і уважно прочитайте інструкцію. Використовуйте дійсну версію інструкції, яка входить до набору. Будьте впевнені, що все зрозуміли.
3. У разі серйозного пошкодження упаковки комплекту, будь ласка, зв'яжіться з IBL або своїм постачальником у письмовій формі не пізніше одного тижня після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти під час тестових запусків, але захищайте їх від проблем, пов'язаних зі скаргами.
4. Дотримуйтесь номера партії та терміну придатності. Не змішуйте реагенти різних партій. Не використовуйте прострочені реагенти.
5. Дотримуйтесь належної лабораторної практики та правил безпеки. Одягайте лабораторні халати, одноразові латексні рукавички та захисні окуляри, де це необхідно.
6. Реагенти цього набору, що містять небезпечні речовини, можуть викликати подразнення очей та шкіри. Детальніше див. МАТЕРІАЛИ, ПОСТАВЛЯЮТЬСЯ та етикетки. Листи даних про безпеку матеріалів для цього продукту доступні на домашній сторінці IBL або за запитом безпосередньо в IBL.
7. Хімічні речовини та підготовлені чи використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національних інструкцій або правил щодо біологічної небезпеки та безпеки.
8. Персонал, що прибирає, повинен керуватися професіоналами щодо потенційної небезпеки та поводження.
9. Деякі реагенти містять азид натрію (NaN_3) як консерванти. У разі потрапляння в очі або шкіру негайно промити водою. NaN_3 може вступати в реакцію зі свинцевими та мідними трубами з утворенням вибухонебезпечних азидів металів. Утилізуючи реагенти, промийте їх великою кількістю води, щоб уникнути накопичення азиду.

5. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір поставляється при температурі навколишнього середовища та зберігається при температурі 2-8 °C. Зберігати подалі від тепла або прямих сонячних променів. Зберігання та стабільність зразків та підготовлених реагентів зазначено у відповідних розділах.

6. Збір та зберігання зразків**Слина**

Пацієнт не повинен їсти, пити, жувати жуйки або чистити зуби протягом 30 хв до забору проби. В іншому випадку ретельно прополощіть рот холодною водою за 5 хв до забору проби. Не відбирайте зразки, якщо є захворювання порожнини рота, запалення або ураження (зараження крові).

Слину можна зібрати у відповідний пристрій для відбору проб. Необхідно зібрати не менше 0,5 мл рідини.

Слина Потік можна стимулювати, розжовуючи шматочок парафільму. Рекомендується заморожувати зразки при -20°C перед лабораторним дослідженням. Після розморожування перемішайте та центрифугуйте 10 хв при 2000 – 3000 об для видалення твердих частинок.

**Подбайте про те, щоб зразки слини були візуально в порядку.
(Червонуватого кольору вказує на забруднення кров'ю)**

Зберігання	18 – 25 °C	2 – 8 °C	$\leq -20^{\circ}\text{C}$ (аліквоти)
Стабільність	1 день	28 днів	≥ 6 місяців

7. МАТЕРІАЛИ НАДАНІ

Кількість	символ	Компонент
1 x 12 x 8		Мікропланшет Розбірні стріпи.
3 x 200 мкл		Стандарт запасний, ліофілізований Містить: альфа-амілазу слини людини. Референтний метод калібрування: фотометр. Точні концентрації дивіться на етикетках флаконів або в сертифікаті контролю якості.
2 x 3 x 200 мкл	 	Контроль 1+2, ліофілізований Містить: альфа-амілазу слини людини. Референтний метод калібрування: фотометр. Точні концентрації дивіться на етикетках флаконів або в сертифікаті контролю якості.
1 x 40 мл	 	Буфер для зразків, концентрат (10x) Містить: PBS, BSA, стабілізатори.
1 x 21 мл		Розчин субстрату Готовий до використання. Містить: CNPG3, стабілізатори.

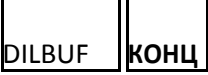
8. МАТЕРІАЛИ ПОТРІБНІ, АЛЕ НЕ НАДАНІ

1. Мікропіпетки (Multipette Eppendorf або подібні пристрої, $< 3\%$ CV). Обсяг: 10; 100; 200; 1000 мкл
2. Одноразові пробірки для розведення зразків
3. 8-канальна мікропіпетка з резервуарами для реагентів
4. Рідер для мікропланшетів, здатний зчитувати поглинання при 405 нм (референтна довжина хвилі 600-650 нм)
5. Бідистильована або дейонізована вода
6. Паперові рушники, наконечники для піпеток і таймер
7. Вихровий змішувач


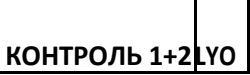
9. ПРИМІТКИ ДО ПРОЦЕДУРИ

1. Будь-яке неправильне поводження зі зразками або модифікація процедури тестування може вплинути на результати. Зазначені об'єми піпетування, час інкубації, температури та етапи попередньої обробки повинні виконуватися строго відповідно до інструкцій. Використовуйте тільки калібровані піпетки та прилади.
2. Після того, як тест було розпочато, усі кроки слід виконати без перерв. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої підготовлені у відповідний час. Дайте всім реагентам і зразкам досягти кімнатної температури (18-25 °C) і обережно перемішайте кожен флакон з рідким реагентом і зразком перед використанням. Змішувати реагенти без утворення піни.
3. Уникайте забруднення реагентів, піпеток і лунок/пробірок. Використовуйте нові одноразові пластикові наконечники для піпеток для кожного компонента та зразка. Не міняйте ковпачки місцями. Завжди закупорювати невикористані флакони. Не використовуйте повторно лунки/пробірки чи реагенти.
4. Рекомендується визначати зразки в двох примірниках, щоб мати можливість ідентифікувати потенційні помилки піпетування.
5. Використовуйте схему піпетування, щоб перевірити відповідне розташування планшетів.
6. Час інкубації впливає на результати. Усі лунки слід обробляти в однаковій послідовності та в однаковій часовій послідовності. Для піпетування розчинів у всі лунки рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку.
7. Альфа-амілаза міститься в поті та слині. Будь ласка, надягайте рукавички під час аналізу і не піпетуйте ротом.

10. ІНСТРУКЦІЯ З НАЛАШТУВАННЯ ПЕРЕДТЕСТОВА**10.1. Приготування концентрованих компонентів**

Компонент	Відношення	Розріджувач	Зауваження	Зберігання	Стабільність
Буфер для зразків 	1:10	бідист. вода	нап рик лад 10 мл буфера для зразків + 90 мл бідист. вода Перемішати без утворення піни.	2-8°C	4 тижні

10.2. Приготування ліофілізованих компонентів

Компонент	з	Розріджувач	Зауваження	Зберігання	Стабільність
	200 мкл	Розведений зразок	Дати постояти 15 хв.	2-8°C	7 днів
	200 мкл	буфер	Перемішати без утворення піни.	2-8°C	7 днів

10.3. Підготовка стандартів

Відновлений стандарт необхідно розбавити до 1:301. Це стандарт 1. Тоді серійне розведення цього розчину дозволяє отримати стандарти різних концентрацій. Наступний приклад показує, як отримати стандартну криву з 5 точками калібрування.

Ім'я	Відношення	Розріджувач	Зауваження	Розрахунок Од/мл
Стандарт 1	1:301	Розведений зразок буфер	10 мкл відновленого вихідного стандарту + 3 мл розведеного буфера для зразків Добре перемішайте перед подальшим розведенням.	Дивіться етикетку наприклад: 400 Од/мл
Стандарт 2	1:2	Розведений зразок буфер	100 мкл Стандарт 1 + 100 мкл розведеного буфера для зразків Добре перемішайте перед подальшим розведенням.	наприклад: 200 Од/мл
Стандарт 3	1:2	Розведений зразок буфер	100 мкл Стандарт 2 + 100 мкл розведеного буфера для зразків Добре перемішайте перед подальшим розведенням.	наприклад: 100 Од/мл
Стандарт 4	1:2	Розведений зразок буфер	100 мкл Стандарт 3 + 100 мкл розведеного буфера для зразків Добре перемішайте перед подальшим розведенням.	наприклад: 50 Од/мл
Стандарт 5	-	Розведений зразок буфер	Тільки розведений буфер для зразка	0 Од/мл

10.4. Попереднє розведення контролю та зразків

Зразки необхідно попередньо розвести до 1:301 наступним чином:

	Відношення	Розріджувач	Зауваження
Зразок	1:301	Розведений зразок буфер	наприклад: 10 мкл зразка (слини) + 3 мл розведеного буфера для зразка. Після розведення добре перемішати!
контролі	1:301	Розведений зразок буфер	наприклад: 10 мкл контролю (відновленого) + 3 мл розведеного буфера для зразків. Після розведення добре перемішати!

Зразки, що містять концентрації вище найвищого стандарту, повинні бути додатково розведені.

11. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

1.	Внесіть піпеткою 10 мкл кожного попередньо розведеного стандарту, попередньо розведеного контролю та попередньо розведеного зразка у відповідні лунки мікротитраційного планшета.
2.	Внесіть піпеткою 200 мкл розчину субстрату в кожну лунку. Ретельно струсіть планшет.
3.	Для додавання розчину субстрату, якщо є, використовуйте 8-канальну мікропіпетку. Використовуйте позитивне зміщення та уникайте утворення бульбашок повітря.
4.	Інкубувати 3 хв при кімнатній температурі (18-25°C).
5.	Вимірювання 1:Виміряти оптичну густина (ОГ) за допомогою фотометра при 405 нм (Референтна довжина хвилі: 600-690 нм).
6.	Під час інкубації альфа-амілаза, що міститься в зразку, метаболізує саме субстрат. Важливо отримати хорошу диференціацію між стандартами. Проте ОГ найвищого стандарту, отриманого для другого вимірювання, не повинна перевищувати 2900. Слідкуйте за розробкою ОГ в різний час, щоб уникнути перевиконання. Це особливо доречно у випадку високої кімнатної температури. На результати активності альфа-амілази це не вплине!
7.	Інкубуйте ще 5 хв (загальний час інкубації 8 хв) при кімнатній температурі (18-25°C). У разі високої кімнатної температури або першого використання аналізу рекомендується додатково виміряти планшет через 3 хв (загальний час інкубації 6 хв).
8.	Вимір 2:Виміряти оптичну густина (ОГ) за допомогою фотометра при 405 нм (Довідник-довжина хвилі: 600-690 нм).

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати тесту дійсні лише в тому випадку, якщо тест було проведено відповідно до інструкцій. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватися правил НЛП (Належної лабораторної практики) або інших застосовних стандартів/законів. Усі контролю набору повинні знаходитися в прийнятних діапазонах, як зазначено в сертифікаті контролю якості. Якщо критерії не виконуються, запуск недійсний і його слід повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки в якості додаткового контролю.

У разі будь-якого відхилення необхідно довести наступні технічні проблеми: терміни придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, прилади, умови інкубації та методи промивання.

13. РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Обчисліть дельта ОГ для кожного стандарту, контролю та зразка, віднявши ОГ «Вимірювання 1» від ОГ «Вимірювання 2».

Отриману дельта ОГ стандартів (вісь Y, лінійна) наносять на графік проти їх концентрації (вісь x, логарифмічний) або на напівлогарифмічному міліметровому папері, або за допомогою автоматизованого методу. Гарне прилягання забезпечується кубічним сплайном, 4 параметрами Logisitsc або Logit-Log.

Для розрахунку стандартної кривої застосовуйте кожну дельта ОГ стандартів (один очевидний викид дублікатів може бути опущено, і можна використовувати більш правдоподібне єдине значення).

Активність альфа-амілази зразків і контролю можна зчитувати безпосередньо зі стандартної кривої.

Результати зразків більш високого попереднього розведення необхідно помножити на коефіцієнт розведення.

Зразки, що показують концентрації вище найвищого стандарту, необхідно розвести, як описано в ІНСТРУКЦІЯХ З НАЛАШТУВАННЯ ПЕРЕДТЕСТУВАННЯ, та повторно проаналізувати.

Ви можете зв'язатися з IBL за допомогою в підрахунку результатів.

Результати виражаються в Од/мл. Щоб перевести в міжнародну систему одиниць (CI), будь ласка, помножьте на коефіцієнт 0,01667. Потім результати будуть виражені в nKat/L.









14. ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИКОНАННЯ

Точність	Середня активність	CV	CV	Н
	(Од/мл)	(Од/мл)	(%)	
В-аналізі	47,0 – 166	1,7 – 3,8	3.7 – 2.3	20
Між аналізами	34,7 – 260	2,2 – 18,0	6.2 – 6.9	20
Лінійність	Зразок слина	Розведення	Виміряна активність (Од/мл)	Відновлення (%)
	1	1:1	9.7	-
		1:1,5	9.8	101
		1:2.3	9.9	102
		1:3.4	9.8	101
		1:5.1	10.6	110
	2	1:1	50.5	-
		1:1,5	51.0	101
		1:2.3	51.1	101
		1:3.4	49.3	98
		1:5.1	48.6	96
	3	1:1	289.5	-
		1:1,5	284.6	98
		1:2.3	288.5	100
		1:3.4	287.6	99
1:5.1		292.6	101	
Відновлення	Ендогенна активність (Од/мл)	Додана активність (Од/мл)	Виміряна активність (Од/мл)	Відновлення (%)
	Слина 1 (25,5)	225,0	232.9	93
		112.5	124.8	90
		56.3	73.6	90
	Слина 2 (38,9)	225,0	252.4	96
		112.5	452.5	101
		56.3	95,0	100
	Слина 3 (107.1)	225,0	308,0	93
		112.5	200.4	91
		56.3	155.3	95
Метод Порівняння	IVL = 1,0198 x комерційно доступний ферментний аналіз – 5,0515			r = 0,997 n = 24

15. ЛІТЕРАТУРА

1. DIN EN ISO 18153:2003, «Медичні пристрої для діагностики in vitro – Вимірювання кількостей у біологічних зразках – Метрологічне відстеження значень каталітичної концентрації ферменту, призначеного для калібраторів та контрольних матеріалів».
2. Емілі С. Вінн-Дін, Гарольд Девід, Джеральд Сіглер, Родріго Чавес; «Розробка прямого аналізу на альфа-амілазу»; Clin. хім. 34/10, 2005-2008 (1988)
3. Жан-П'єр Бретодьер, Роберт Рей, Патрісія Дрейк, Анн Вассо, Мішель Байі «Придатність контрольних матеріалів для визначення активності альфа-амілази»; Clin. хім. 27/6, 806-815 (1981)
4. Г. Губерн, Ф. Каналяс, Ф. Дж. Гелла; «Визначення активності альфа-амілази: порівняння методів та дослідження змінності кількох контрольних матеріалів»; Clin. хім. 41, 435-438 (1995)
5. Урс М. Натер, Ніколас Роледер, Вольф Шлоц, Ульріке Елерт, Клеменс Кіршбаум; «Детермінанти добового перебігу альфа-амілази слини»; Психонейроендокринологія 32, 392-401 (2007)
6. Даніела Шуфс, Діана Пройс, Олівер Т. Вольф; «Психосоціальний стрес викликає порушення робочої пам'яті в парадигмі n-back»; Психонейроендокринологія 33, 643–653, (2008)
7. Том Сміт, Генрі Отгаар, Інгрід Кандел, Олівер Т. Вольф; "Правда чи неправда? На пам'ять по-різному впливають спричинені стресом підвищення кортизолу та симпатична активність при консолідації та пошуку»; Психонейроендокринологія 33, 1378—1386 (2008)
8. Катрін Старке, Олівер Вольф; «Випереджаючий стрес впливає на прийняття рішень за явних умов ризику»; Поведінкова нейронаука, 122/6, 1352–1360 (2008)
9. Норіясу Такай, Масакі Ямагучі, Тошіакі Арагакі, Кенджі Ето, Кенджі Учіхаші та Ясуо Нісікава; «Гендерно-специфічні відмінності у відповідях біомаркерів слини на гострий психологічний стрес»; Нью-Йоркська академія наук 1098: 510–515 (2007)
10. Анда ван Штегерен, Ніколас Роледер, Вальтер Евераерда та Олівер Т. Вольф; «Альфа-амілаза слини як маркер адренергічної активності під час стресу: Вплив бетаблокади»; Психонейроендокринологія 31, 137–141 (2006)
11. Ульріке Елерт, Катя Ерні, Гундула Хебіш та Урс Натер; «Рівні α -амілази у слині після виклику йохімбіну у здорових чоловіків»; Журнал клінічної ендокринології та метаболізму 91(12):5130–5133


16. УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати поодаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред'явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.

ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОВОГО (-ИХ) НАБОРУ(ІВ) . ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH	Тел .:	+ 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11	17.
	Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург,	E-MAIL:	IBL@IBL-International.com	18.
	Німеччина	WEB:	http://www.IBL-International.com	19.
				20.
				21.

22. Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд.19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua