

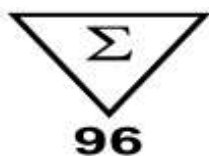
Будь ласка, використовуйте тільки дійсну версію Інструкції з користування,  
що надається разом із набором

Інструкція з експлуатації

Гістамін ELISA

# BA E 1000

# IVD



## **1. Введення**

### **1.1 Призначення та принцип тесту**

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення гістаміну в плазмі та сечі.

У поєднанні з додатковим набором вивільнення гістаміну (для деталей зверніться до місцевого постачальника), аналіз може бути використаний для вимірювання вивільнення гістаміну в гепаринізованій цільній крові.

У першій частині процедури гістамін кількісно ацилюють. В подальшому конкурентний набір ІФА використовується в форматі мікропланшета. Антиген зв'язується з твердою фазою мікропланшета. Ацильовані концентрації аналіту в стандартах, контролях і зразках і тверда фаза зв'язаного аналіту конкурують за фіксовану кількість сайтів зв'язування антитіл. Після того, як система перебуває в рівновазі, вільний антиген і вільний комплекс антиген-антитіло видаляються промиванням. Антитіло, пов'язане з твердою фазою, виявляють кон'югатом анти-козячого IgG-пероксидази з використанням ТМБ в якості субстрату. Реакцію контролюють при 450 нм.

Кількісне визначення невідомих зразків досягається шляхом порівняння їх поглинання зі стандартною кривою, приготованою з відомими стандартними концентраціями.

### **1.2. Клінічне застосування**

Гістамін належить до біогенних амінів і синтезується декарбоксілюванням з амінокислоти гістидін. Він синтезується тучними клітинами, базофілами, тромбоцитами, гістамінергічними нейронами і ентерохромафіном клітин, де він зберігається внутрішньоклітинно в везикулах і вивільняється при стимуляції.

Гістамін діє шляхом зв'язування з його 4 рецепторами (H1R, H2R, H3R і H4R) на клітинах-мішенях в різних тканинах. Це викликає скорочення клітин гладких м'язів, вазодилатацію, підвищення проникності судин і секреції слизу, тахікардію, зміну артеріального тиску та аритмію.

У людини гістамін є одним з найважливіших медіаторів і бере участь у початковій фазі анафілактичної реакції (алергія "негайного типу").

Клінічний інтерес представляє також кількісна оцінка вивільнення гістаміну від базофільних лейкоцитів при алергії.

Терапевтичні наслідки ніколи не повинні ґрунтуватися лише на лабораторних результатах, навіть якщо всі результати випробувань є в угіді з пунктами, як зазначено у пункті «Керівництво та попередження про процедурні застереження». Будь-який лабораторний результат є лише частиною загальної клінічної картини пацієнта.

Тільки в тих випадках, коли лабораторні результати знаходяться в прийнятному узгодженні з загальною клінічною картиною, результат пацієнта може бути використаний для терапевтичних наслідків.

Результат тесту поодиночі ніколи не повинен бути єдиним визначальним чинником для отримання будь-яких терапевтичних наслідків.

## **2. Процедурні застереження, керівництво, попередження та обмеження**

### **2.1 Заходи безпеки, рекомендації та попередження**

(1) Цей комплект призначений тільки для професійного використання. Користувачі повинні мати глибоке розуміння цього протоколу для успішного використання цього набору. Тільки тестова інструкція, що надається з набором, є дійсною і повинна бути використана для виконання аналізу. Надійна робота буде досягнута лише строгим та ретельним дотриманням наданої інструкції.

(2) Цей аналіз був підтверджений для певних видів зразків, як зазначено в Інструкції для використання (див. Розділ 1). За будь-яке використання цього набору, яке не відповідає

інструкції з експлуатації, несе відповідальність користувач і виробник не може нести відповідальність.

- (3) Необхідно дотримуватися принципів належної лабораторної практики (НЛП).
- (4) Щоб зменшити вплив потенційно шкідливих речовин, носити лабораторний одяг, одноразові захисні рукавички та захисні окуляри, де це необхідно.
- (5) Всі реагенти і зразки набору повинні бути доведені до кімнатної температури і обережно, але ретельно змішані перед використанням. Уникайте повторного заморожування та відтавання реагентів та зразків.
- (6) Для розведення або відновлення використовуйте дейонізовану, дистильовану або ультра-чисту воду.
- (7) Мікропланшет містить стріпи, що відламуються. Невикористані лунки повинні зберігатися при температурі від 2 ° C до 8 ° C у герметичному пакеті з осушувачем і використовуватися в передбаченому тримачу.
- (8) Дуже рекомендується дублювати визначення зразка, щоб мати можливість ідентифікувати потенційні помилки прокапування.
- (9) Після початку аналізу всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої готуються готовими у відповідний час.
- (10) Час інкубації впливає на результати. Всі лунки повинні бути оброблені в тому ж порядку і інтервалі часу.
- (11) Щоб уникнути перехресного забруднення реагентів, використовуйте нові наконечники для одноразових піпеток для дозування кожного реагенту, зразку, стандарту і контролю.
- (12) Стандартна крива повинна бути встановлена для кожного циклу.
- (13) Контроль повинен бути включений в кожний цикл і підпадає під встановлені межі довіри. Межі довіри перелічені в Звіті з контролю якості, наданому разом з набором.
- (14) Не змішуйте компоненти набору з різними номерами партії в тесті і не використовуйте реагенти за межами терміну придатності, як показано на етикетках набору.
- (15) Уникайте контакту зі стоп-розчином, що містить 0,25 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Це може викликати подразнення шкіри та опіки. У випадку попадання на очі або шкіру негайно промити водою.
- (16) Субстрат ТМБ надає подразнюючу дію на шкіру та слизову оболонку. У разі можливого контакту, вимийте очі з великою кількістю води і шкіру з милом і великою кількістю води. Вимийте забруднені об'єкти раніше їх повторного використання.
- (17) Інформацію про небезпечні речовини, що входять до комплекту, див. У Паспорті безпеки (SDS). Паспорт безпеки цього продукту доступний безпосередньо на сайті виробника або по запиті.
- (18) Очікувані контрольні значення, наведені в цій інструкції з випробування, є лише показовими. Рекомендується кожній лабораторії встановити власні контрольні інтервали.
- (19) Результати, отримані з цим тестовим набором, не повинні розглядатися як єдина причина для будь-яких терапевтичних наслідків, але мають бути пов'язані з іншими діагностичними тестами та клінічними спостереженнями.
- (20) Реагенти набору повинні розглядатися як небезпечні відходи і утилізуватися відповідно до національних правил.

## **2.2 Обмеження**

Будь-яка невідповідна обробка зразків або модифікація цього тесту може вплинути на результати.

### **2.2.1 Впливаючі речовини**

#### **Плазма**

Зразки, що містять преципітати або нитки фібрину, або гемолітичні або ліпемічні, можуть

викликати неточність результатів.

#### **24-годинна сеча**

Зверніть увагу на підготовку зразка! Якщо відсоток кінцевої концентрації кислоти занадто високий, це буде призводити до неправильних результатів для зразків сечі.

#### **2.2.2 Вплив ліків**

Не існує відомих речовин (препаратів), які при вживанні впливають на вимірювання рівня гістаміну у зразку.

#### **2.2.3 Ефект високої дози-«Хук»-ефект**

У цьому тесті не спостерігали «Хук»- ефекту.

### **3. Зберігання і стабільність**

Зберігайте невідкриті реагенти при температурі 2-8 ° С до закінчення терміну придатності. Не використовуйте компоненти після закінчення терміну дії на етикетці комплекту. Після відкриття реагенти стабільні протягом 1 місяця при зберіганні при 2 - 8 ° С. Після відкриття багаторазового пакету, слід обережно запечатати його знову з осушувачем.

### **4. Матеріали**

#### **4.1 Зміст комплекту**

**ВА D-0090 FOILS Клейка фольга** - Готова до використання

Зміст: Клейка плівка в пакеті, що закривається

Обсяг: 1 x 4 фольги

**ВА E-0030 WASH CONC 50x Концентрат буфера для промивання - концентрований 50x**

Зміст: Буфер з неіонним детергентом і фізіологічним рН

Об'єм: 1 x 20 мл / флакон, світло-фіолетовий ковпачок

**ВА D-0024 REAC-PLATE Реакційний планшет** - Готова до використання

Зміст: 1 x 96-лунковий планшет, порожній у закритому пакеті

**ВА E-1040 CONJUGATE Ферментний кон'югат** - готовий до використання

Зміст: Віслюкові антикозяхі імуноглобуліни, кон'юговані з пероксидазою

Об'єм: 1 x 12 мл / флакон, червоний ковпачок

**ВА E-0055 SUBSTRATE Субстрат** - Готовий до використання

Зміст: Хромогенний субстрат, що містить тетраметилбензидин, субстратний буфер і пероксид водню

Об'єм: 1 x 12 мл / чорний флакон, чорний ковпачок

**ВА E-0080 STOP SOLN Стоп-розчин** - Готовий до використання

Вміст: 0,25 М сірчаної кислоти

Об'єм: 1 x 12 мл / флакон, світло-сірий ковпачок

Небезпеки



ідентифікація:

H290 Може бути корозійним для металів.

H314 Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей.

**BA E-1031 HIS Стріпи мікропланшету гістаміну** - готові до використання

Зміст: 1 x 96 лунок (12x8) попередньо покритий антигеном мікропланшет в герметичному пакеті з осушувачем.

**BA E-1010 HIS-AS Гістамінна антисироватка** - Готовий до використання

Зміст: Козяче антигістамінное антитіло, синього кольору

Об'єм: 1 x 12 мл / флакон, синій ковпачок

**Стандарти та контролю** - Готові до використання

Кат номер	компонент	Колір/ковпачок	Концентрація нг/мл	Концентрація нмоль/л	Обсяг/ флакон
BA E 1001	СТАНДАРТ А	білий	0	0	4 мл
BA E 1002	СТАНДАРТ В	світло жовтий	0,5	4,5	4 мл
BA E 1003	СТАНДАРТ С	помаранчовий	1,5	13,5	4 мл
BA E 1004	СТАНДАРТ D	темно синій	5	45	4 мл
BA E 1005	СТАНДАРТ Е	світло сірий	15	135	4 мл
BA E 1006	СТАНДАРТ F	чорний	50	450	4 мл
BA E 1051	КОНТРОЛЬ 1	світло зелений	Зверніться до звіту з контролю якості для очікуваного значення та прийнятного діапазону!		4 мл
BA E 1052	КОНТРОЛЬ 2	темно червоний			4 мл

Конверсія: гістамін (нг / мл) x 9 = гістамін (нмоль / л)

Зміст: Кислотний буфер збагачений з певною кількістю гістаміну

**BA E-1011 ACYL buff Буфер ацилювання** - Готовий до використання

Зміст: TRIS-буфер, що містить консервант, що не містить ртуті

Обсяг: 1 x 4 мл / флакон, рожевий ковпачок

**BA E-1012 Acyl Reag реагент ацилювання** - ліофілізований

Зміст: Ліофілізований реагент ацилювання

Об'єм: 2 флакона, фіолетовий ковпачок

**BA E-0085 Acyl Solv Розчинник ацилювання**- Готовий до використання

Зміст: Органічний розчинник

Об'єм: 1 x 5 мл / флакон, коричнева кришка

Небезпеки



ідентифікація:

H225 Сильно горюча рідина і пари.

**4.2 Додаткові матеріали та обладнання, необхідні, але не надані в комплекті**

- калібровані точні піпетки для дозування обсягів від 10 до 300 мкл; 1,25 мл
- Пристрій для миття мікропланшетів (ручний, напівавтоматичний або автоматизований)
- рідер ELISA, здатний зчитувати поглинання при 450 нм і, якщо можливо, 620 - 650 нм
- Шейкер для мікропланшетів (амплітуда струшування 3 мм; приблизно 600 об / хв)
- Абсорбуючий матеріал (паперовий рушник)
- Вода (деіонізована, дистильована або ультра-чиста)
- віхровий міксер

## **5. Збір і зберігання зразків**

Загалом слід уникати повторного заморожування і відтавання зразків.

### **Плазма**

Цільну кров слід збирати венепункцією у центрифужні пробірки, що містять ЕДТА як антикоагулянт (наприклад, Monovette™ або Vacuette™ для плазми) і центрифугують згідно інструкцій виробника при кімнатній температурі відразу після збору.

Гемолітичні і особливо липемічні зразки не повинні використовуватися для аналізу.

Зберігання: до 6 годин при температурі 2-8 ° С, протягом тривалого періоду (до 6 місяців) при -20 ° С.

### **Сеча**

Можна використовувати спонтанну сечу або 24-годинну сечу, зібрану в пляшці, що містить 10 - 15 мл 6 М НСІ.

Якщо використовується 24-годинна сеча, запишіть загальний обсяг зібраної сечі.

Зберігання: до 6 годин при температурі 2-8 ° С, протягом більш тривалого періоду (до 6 місяців) при -20 ° С.

Уникайте впливу прямих сонячних променів.

### **Цільна кров**

Вивільнення гістаміну здійснюється з гепаринізованої цільної крові. Для отримання додаткової інформації зверніться до інструкції щодо використання додаткового набору Гістамін вивільнення (для деталей зверніться до місцевого постачальника).

## **6. Процедура аналізу**

Дозвольте всім реагентам і зразкам досягти кімнатної температури і ретельно перемішайте шляхом м'якого перевертання перед використанням. Рекомендується дублювати визначення. Рекомендується нумерувати стріпи мікропланшета перед використанням, щоб уникнути будь-якого змішування.

Зв'язування антитіла і ферментних кон'югатів і активність використовуваного ферменту залежить від температури, і значення поглинання можуть змінюватися, якщо не використовується термостат. Чим вище температура, тим більше буде значення поглинання. Різний час інкубації має схожі впливи на поглинання. Оптимальна температура при проведенні ферментного імунологічного аналізу становить від 20 до 25 ° С.

### **6.1 Підготовка реагентів**

#### **Буфер для промивання**

Розбавити 20 мл концентрат промивного буфера з водою (дейонізованою, дистильованою або ультра-чистою) до кінцевого об'єму 1000 мл.

Зберігання: 1 місяць при 2 - 8 ° С

#### **Розчин ацилювання**

Розчиняють кожен флакон реагенту ацилювання (ВА Е-1012) з 2 мл розчинника ацилювання (ВА Е-0085). Будь ласка, переконайтеся, що він повністю розчинився перед використанням. Якщо потрібно більше 2 мл, об'єднайте вміст окремих флаконів і ретельно перемішайте.

Зберігання: 1 місяць при 2 - 8 ° С

#### **Стріпи мікропланшета гістамін**

У рідкісних випадках залишки блокуючого і стабілізуючого реагенту можна побачити в лунках як маленькі білі крапки або лінії. Ці залишки не впливають на якість продукту.

### **6.2 Підготовка зразків і ацилювання**

1. Прокапати 25 мкл стандартів, контролів і зразків плазми, 10 мкл зразків сечі, або 50 мкл

супернатанту від аналізу вивільнення \* у відповідні лунки реакційної пластини.

2. Додають 25 мкл ацилюючого буфера до всіх лунок.
3. Додайте до всіх лунок 25 мкл ацилюючого розчину (див. 6.1).
4. Інкубуйте протягом 45 хв при КТ (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв).
5. Додайте до всіх лунок по 100 мкл води (дейонізованої, дистильованої або ультра-чистої).
6. Інкубуйте протягом 15 хв при КТ (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв).

Візьміть 25 мкл приготованих стандартів, контролів і зразків для ІФА-гістаміну

\* Для аналізу вивільнення додатковий комплект вивільнення гістаміну (для деталей зверніться до місцевого постачальника) повинен бути використаний.

### 6.3 Гістамін ІФА

1. Прокапати 25 мкл ацильованих стандартів, контролів і зразків у відповідні лунки Мікропланшету гістаміну.
2. Прокапати 100 мкл гістамінної антисироватки у всі лунки і накрийте пласкет клейкою фольгою.
3. Інкубуйте протягом 3 год при КТ (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв).  
Альтернативно: коротко струсіть стріпи мікропланшету гістамін вручну та інкубуйте протягом 20 - 25 год при 2 - 8 ° С.
4. Зніміть фольгу. Видаліть або аспіруйте вміст лунок. Планшет промивають 4 х додаванням 300 мкл промивного буфера, видаляючи вміст і просушуючи кожен раз, постукуванням перевернутим планшетом об абсорбуючий матеріал.
5. Введіть 100 мкл кон'югату ферменту у всі лунки.
6. Інкубуйте протягом 30 хв при КТ (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв).
7. Видаліть або аспіруйте вміст лунок. Пластину промивають 4 х додаванням 300 мкл буфера для промивання, видаляючи вміст і просушуючи кожен раз, натискаючи перевернутою пластиною на абсорбуючий матеріал.
8. Прокапайте 100 мкл субстрату у всі лунки і інкубуйте протягом 20 - 30 хв при КТ (20 - 25 ° С) на шейкері (приблизно 600 об / хв). Уникайте впливу прямих сонячних променів!
9. Додайте 100 мкл стоп-розчину в кожен лунку і струсіть мікропланшет, щоб забезпечити гомогенність розподілу розчину.
10. Зчитують поглинання розчину в лунках протягом 10 хвилин, використовуючи пристрій для читання мікропланшетів 450 нм (за наявності референтної довжини хвилі від 620 до 650 нм).

### 7. Розрахунок результатів

Діапазон вимірювання	гістамін	
	плазма	0,12-50 нг/мл
	сеча	0,3-125 нг/мл

Стандартну криву отримують, наносячи показання поглинання (обчислюють середнє поглинання) стандартів (лінійна, вісь у) проти відповідних концентрацій стандартів (логарифмічна, вісь х).

Використовують нелінійну регресію для підгонки кривої (наприклад, сплайн, 4 параметр, акіма).

*Цей аналіз є конкурентним аналізом. Це означає: значення ОГ зменшуються зі збільшенням концентрації аналіту. Значення ОГ, знайдені нижче стандартної кривої, відповідають високим концентраціям аналіту в зразку і повинні бути повідомлені як позитивні.*

#### **Зразки та контролі плазми:**

Концентрації **зразків плазми** і **контролі** можна зчитувати безпосередньо зі стандартної

кривої.

### Зразки сечі:

Зчитані концентрації гістаміну в сечі повинні бути помножені на 2,5

Загальна кількість гістаміну, виділеного з сечею протягом 24 год, розраховується наступним чином:

$$\text{мкг} / 24\text{г} = \text{мкг} / \text{л} \times \text{л} / 24\text{г}$$

### Перетворення

$$\text{Гістамін (нг / мл)} \times 9 = \text{гістамін (нмоль / л)}$$

### Очікувані референтні значення

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія визначала свої власні референтні значення.

плазма	24 год-сеча	Спонтанічна сеча
0,2-1,0 нг/мл	5-53 мкг/д	10-50 мкг/г креатинін

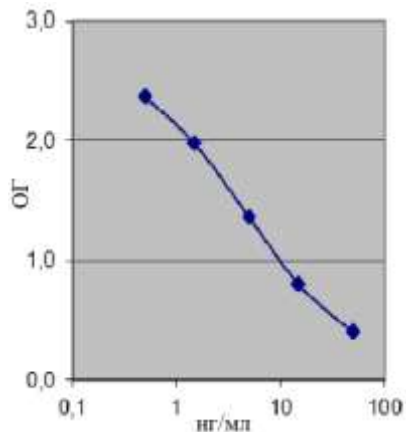
### 7.1 Контроль якості

Рекомендується використовувати контрольні зразки відповідно до національних правил.

Використовуйте контролі як нормальних, так і патологічних рівнів. Набір або інші комерційно доступні засоби, контролі повинні потрапляти у встановлені межі довіри. Межі довіри для контролів вказані в КЯ-сертифікаті.

### 7.2 Типова стандартна крива

Приклад, не використовуйте для розрахунку



## 8. ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛІЗУ

Аналітична чутливість Межа виявлення	Гістамін	
	Чутливість плазми	0,18 нг/мл
	Чутливість сечі	0,22 нг/мл

Аналітична чутливість Межа кількісного виявлення	Гістамін	
	Чутливість плазми	0,29 нг/мл
	Чутливість сечі	0,96 нг/мл

Аналітична специфічність (перехресна реактивність)	Речовина	Перехресна реактивність (%)
	Гістамін	100
	3-метіл-гістамін	0,1
	Тірамін	0,01
	L- фенілаланін	< 0.001



	L- гестидін	< 0.001
	L- тирозін	< 0.001
	Триптамін	< 0.001
	5-гідроксі-індол-оцтова кислота	< 0.001
	Серотонін	< 0.001

Точність							
Внутріаналітична							
	зразок	Діапазон (нг/мл)	CV (%)		зразок	Діапазон (нг/мл)	CV (%)
Гістамін сечі	1	9,7 ±1,5	15	Гістамін плазми	1	1,2±0,2	16
	2	18,6 ±2,4	13		2	5,0±0,6	12
Міжаналітична							
	зразок	Діапазон (нг/мл)	CV (%)		зразок	Діапазон (нг/мл)	CV (%)
Гістамін сечі	1	8,2±0,9	11	Гістамін плазма	1	0,29±0,07	25
	2	12,8±1,7	13		2	3,1±0,2	8
	3	42,2±6,0	14		3	5,5±0,8	15

Линійність		діапазон	Серійне розведення до	Діапазон (%)
	сеча	4,3-69,8 нг/мл	1:21	90-124
	плазма	0,7-7,9 нг/мл	1:10	85-106

Відновлення		діапазон	Серійне розведення до	Діапазон (%)
	сеча	14,0-105 нг/мл	109	101-119
	плазма	0,4-6,4 нг/мл	84	78-89

Метод порівняння VS інші PIA	Сеча	PIA = 0.9 IFA – 3.1	r = 0.97; n = 29
	Плазма	PIA = 1.0 IFA – 0.4	r = 0.99; n = 49

## 9. ЛІТЕРАТУРА

- (1) Yagci et al. TCTP/HRF pathway and angiogenesis: A feasible intercourse in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia Research*, 37:665-670 (2013)
- (2) Coulson et al. Paracetamol (acetaminophen) attenuates in vitro mast cell and peripheral blood mononucleocyte cell histamine release induced by N-acetylcysteine. *Clinical Toxicology*, 48(2):111-114 (2010)
- (3) Rovere et al. Histamine and Selenium in Lung Cancer. *Anticancer Research*, 26: 2937-2942 (2006)
- (4) Miyazaki et al. Macrophage inflammatory protein-1alpha as a costimulatory signal for mast cell-mediated immediate hypersensitivity reactions. *J Clin Invest*, 115(2): 434-442 (2005)
- (5) Brown, S. G. et al. Ant venom immunotherapy: a double-blind, placebo-controlled, crossover trial. *Lancet*, 361(9362): 1001-1006 (2003)
- (6) Matsumoto, J. Adverse effects of praziquantel treatment of *Schistosoma japonicum* infection:

involvement of host anaphylactic reactions induced by parasite antigen release. Int J Parasitol, 32(4): 461-471 (2002)

(7) Matsumoto, J. and H. Matsuda. Mast-cell-dependent histamine release after praziquantel treatment of Schistosoma japonicum infection: implications for chemotherapy-related adverse effects. Parasitol Res, 88(10): 888-893

(8) Hsu, C. H. et al. Immunoprophylaxis of allergen-induced immunoglobulin E synthesis and airway hyperresponsiveness in vivo by genetic immunization. Nat Med, 2(5): 540-544

(9) Demoly P. et al. Predictive capacity of histamine release for the diagnosis of drug allergy. Allergy, 54(5): 500-506 (1999)

#### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

 Температура зберігання	 Виробник	 Містить достатньо <N> випробувань
 Дата закінчення строку дії	<b>LOT</b> Код партії	<b>IVD</b> Тільки для діагностики в лабораторних умовах!
 Зверніться до інструкції з використання	<b>CONT</b> Зміст	<b>CE</b> Маркування
Небезпека	REF Каталожний номер	RUO тільки для дослідницьких цілей