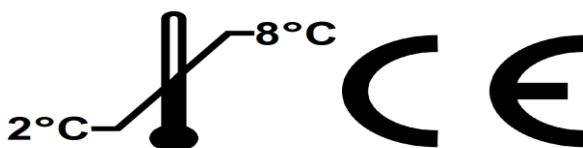
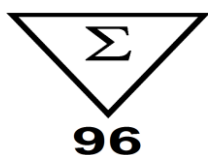


Вивільнення гістаміну (додатковий комплект)

BA E 1100

IVD



Уповноважений представник: ТОВ «НОВАМЕДЛАЙН», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@novamedline.com, www.novamedline.com

1. Введення

1.1 Передбачуване використання та принцип аналізу

Додатковий набір для кількісного визначення вивільнення гістаміну з гепаринізованої цільної крові (цей набір повинен використовуватися в поєднанні з гістаміном ІФА, для отримання детальної інформації зверніться до місцевої організації - постачальника).

У людини гістамін (β -імідазол етиламін) є найважливішим медіатором і ініціює фазу анафілактичної реакції (алергія «негайного типу»). Гістамін виробляється ферментом декарбоксілювання гістидину. В організмі гістамін присутній майже у всіх тканинах, причому в основному зберігається в метакроматичних гранулах тучних клітин і базофільних лейкоцитах. Він присутній у неактивній зв'язаній формі і вивільняється лише за потреби.

Гістамін діє переважно на гладку мускулатуру та судини. У людях він відповідає за звуження бронхів, що виникає під час гострої фази. У судинах його звужуючий ефект обмежений венами, тоді як артеріоли розширені. Крім того, гістамін викликає скорочення клітин судинного ендотелію і збільшує проникність судин, тим самим дозволяючи вищим молекулярним речовинам перетекти в тканини.

Як і кілька інших медіаторів, гістамін не виключно опосередковує різні клінічні симптоми анафілаксії, але також викликає низку ефектів, які спрямовані на припинення реакції. Гістамін може

інгібувати вивільнення лізосомальних ферментів з поліморфноядерних лейкоцитів дегрануляцією тучних клітин і базофілів і отримання компонентів комплементу скрізь мононуклеарні фагоцити. Крім того, гістамін може активувати супресорні Т-клітини і, таким чином, може інгібувати виробництво IgE. Біологічна дія гістаміну в тканинах гарантується трьома різними поверхнями рецепторів, тобто H1, H2 і H3 рецепторами.

Клінічний інтерес у визначенні гістаміну представляє кількісне визначення вивільнення гістаміну з базофільних лейкоцитів при алергії «негайного типу», а також кількості гістаміну, яка присутні в різних рідинах організму (плазма, сеча, супернатанти клітинної культури) після введення алергену. Спочатку контакт організму з алергеном не призводить до ініціації вивільнення гістаміну. Спочатку, утворюються специфічні IgE-антитіла, які мігрують до тучних клітин і там вони зв'язуються з рецепторами. При другому контакті з алергеном, перетворення В-клітини в плазматичну клітинку більше не потрібно. Алерген безпосередньо переміщується до антитіл IgE, вже пов'язаних з тучними клітинами, і зв'язується з цими антитілами. Тучні клітини відповідають секрецією гістаміну зі своїх гранул.

Безпосереднє виявлення таких посередницьких речовин, як гістамін під час алергічної реакції, є не лише науковим інтересом, але, можливо, також має практичне значення у зв'язку з конкретною антагоністичною терапією.

Гепаринізовані зразки цільної крові інкубують з різними концентраціями підозрюваного алергену. Вивільнення гістаміну відбудеться при стимуляції базофільних гранулоцитів залежно від їх чутливості до алергену. Вивільнений гістамін у супернатанті згодом визначають за допомогою імуноферментного аналізу плазми, гістаміну ІФА, придбаного у зв'язку з цим набором. Це значення гістаміну пов'язане з 100% контролем (= Загальний гістамін) та бланк значенням (= Спонтанне вивільнення).

Визначення *in vitro* вивільнення гістаміну є чутливим та специфічним методом, а також придатним доповненням до рутинних діагностичних процедур, включаючи звичайне тестування шкіри та радіоалергосорбент тести (RAST) для визначення специфічних антитіл до IgE у сироватці крові з atopічними пацієнтами. Крім того, цей тест також виявляє "звільнення" клітин.

1.2 Клінічне застосування

Будь ласка, зверніться до інструкції по застосуванню гістамін ІФА, розділ 1.2.

2. Процедурні застереження, вказівки, попередження та обмеження

Будь ласка, зверніться до інструкції по застосуванню гістамін ІФА, розділ 2.

3. Зберігання та стабільність

Зберігайте незакриті реагенти при температурі 2 - 8 ° С до терміну придатності. Не використовуйте компоненти після закінчення терміну придатності, дата, зазначена на етикетках набору. Після відкриття реагенти стабільні протягом 1 місяця при зберіганні при 2 - 8 ° С.

Після відкриття пакету слід подбати про те, щоб знову щільно закрити пакет з осушувачем.

4. Матеріали

4.1 Зміст набору

ВА Е-1145 Анти-IgE-антисироватка- Концентрований

Зміст: Кролячі проти людини антитіла до IgE

Об'єм: 1 x 25 мкл / пробірка

ВА Е-1126 Буфер вивільнення - готовий до використання

надчистої), набір 10хрозведення готують за наступною схемою піпетування (приклад для 3 етапів розведення)

№	Розведення	Розчин алергену	Буфер вивільнення
1	10 ⁻¹	50 мкл вихідного розчину	450 мкл
2	10 ⁻²	50 мкл розчин №1	450 мкл
3	10 ⁻³	50 мкл розчин № 2	450 мкл

6.3 Протокол вивільнення гістаміну (приклад для 3 етапів розведення)

Для кожного алергену тестованого у пацієнта необхідно дотримуватися наступної схеми піпетування

Розведення	Алерген-розведення	Гепаринізована цільна кров	Буфер вивільнення	Анти IgE антисироватка
10 ⁻¹	200 мкл	200 мкл		
10 ⁻²	200 мкл	200 мкл		
10 ⁻³	200 мкл	200 мкл		
Спонтанне вивільнення		200 мкл	200 мкл	
Позитивний контроль		200 мкл		200 мкл

6.4. Схема прокапування вивільнення

	Вивільнення, викликане алергеном	Позитивний контроль	Спонтанне вивільнення	Загальний гістамін
Буфер вивільнення			200 мкл	360 мкл
Розведення алергену	200 мкл			
Анти IgE		200 мкл		
Гепаринізована цільна кров	200 мкл	200 мкл	200 мкл	40 мкл
ретельно перемішайте інкубують протягом 60 хв при 37 ° С				ретельно перемішайте інкубують протягом 10 хв при 90 ° С
Інкубуйте 10 хвилин на крижаній бані Центрифугувати протягом 10 хв при 700 x g (гальмо вимкнено) Візьміть 50 мкл для ацилювання				

Зберігання супернатанта

2-8 °С	-20 °С
1 доба	1 тиждень

6.5. Ацилювання

Ацилювання потрібно проводити з тестовим набором гістаміну ELISA, починаючи з глави 6 Процедура аналізу інструкції з тесту.

6.6 Гістамін ІФА

Кількісне визначення гістаміну повинно проводитися за допомогою тестового набору для гістаміну І7.

7. Розрахунок результатів .

Вимірюваний діапазон	Гістамін
	0,12-50 нг/мл
	108-450 нмоль/мл

Концентрації гістаміну у зразках тесту на вивільнення можна читати безпосередньо зі стандартної кривої гістамін ІФА.

Гістамін ІФА - це конкурентний аналіз. Це означає: значення ОГ зменшуються зі збільшенням концентрації аналіту. Значення ОГ, знайдені нижче стандартної кривої, відповідають високим концентраціям аналіту у зразку, і їх слід зазначити як позитивні.

Результати загального гістаміну необхідно **помножити на коефіцієнт 5**.

Концентрацію гістаміну при спонтанному вивільненні слід відняти від викликаного алергеном гістаміну.

Очікувані референтні значення

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія визначала власні контрольні значення.

Загальний гістамін	< 60 нг/мл
Спонтанний гістамін	<5% загального значення гістаміну
Позитивний контроль	>5% загального значення гістаміну
Вивільнення викликане алергеном	>5% загального значення гістаміну

7.1 Контроль якості

Дійсні межі довіри для контролів набору перераховані у звіті про контроль якості, включеному до набору.

8. Характеристики аналізу

Будь ласка, зверніться до інструкції по застосуванню гістаміну ІФА, глава 8.

9. Список літератури / Література

Будь ласка, зверніться до інструкції по застосуванню гістаміну ІФА, глава 9.

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