

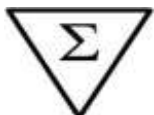


## ІНСТРУКЦІЯ з медичного використання Гістамін ІФА

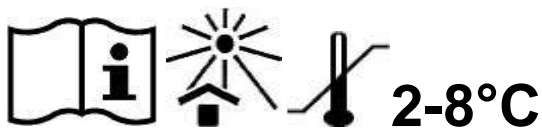
Імуноферментний аналіз для кількісного визначення гістаміну в людській плазми, сечі і ЕДТА цільній крові. Для дослідження супернатанту клітинної культури.

REF

RE59221



12x8



IBL INTERNATIONAL GMBH

Flughafenstrasse 52a Телефон: +49 (0) 40-53 28 91-0 IBL@IBL-International.com

D-22335 Гамбург, Німеччина Факс: +49 (0) 40-53 28 91-11 www.IBL-International.com

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

## 1. ВИКОРИСТАННЯ

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення гістаміну в плазмі людини, сечі та ЕДТА цільній крові. Для дослідження супернатанту клітинної культури.

## 2. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ТА ПОЯСНЕННЯ

У людини гістамін ( $\beta$ -імідазолізеламін) є найважливішим посередником і в основному міститься у вихідній фазі анафілактичної реакції ("негайний тип" алергії). Гістамін отримують ферментативно декарбоксилюванням гістидину. У організмі гістамін присутній майже у всіх тканинах, і він переважно зберігається в метахроматичній гранулі тучних клітин і базофільних лейкоцитів. Він присутній в неактивній зв'язаній формі і вивільнюється лише за необхідності. Як і деякі інші медіатори, гістамін не тільки опосередковує різні клінічні симптоми анафілаксії, але також індукує ряд ефектів, які спрямовані в напрямку припинення анафілактичної реакції. Біологічна дія гістаміну в тканині гарантується трьома різними рецепторами поверхні, тобто H1, H2 і H3 рецепторами. Клінічний інтерес до визначення гістаміну - кількісне визначення вивільнення гістаміну з базофільних лейкоцитів при алергії «безпосереднього типу», а також кількості гістаміну, яка присутня в різних рідинах організму (плазмі, сечі, супернатанті клітинної культури) після введення алергену.

IBL пропонує додаткові реагенти для проведення випробування на вивільнення гістаміну в гепаринізованій цільній крові (REF RE95000).

## 3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ.

Твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA) на основі принципу конкуренції. Невідома кількість антигену, присутнього в зразку, і фіксована кількість ферменту, міченого антигеном, конкурують за сайти зв'язування антитіл, нанесених на лунки. Після інкубації лунки промивають для зупинки реакції конкуренції. Після реакції субстрату інтенсивність розробленого кольору обернено пропорційна кількості антигену у зразку. Результати зразків можна визначити безпосередньо з використанням стандартної кривої.

## 4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

1. Тільки для діагностики in-vitro. Тільки для професійного використання.
2. Перед початком аналізу прочитайте інструкцію повністю і ретельно. Використовуйте дійсну версію інструкції, вкладеної в пакет, що входить до набору. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
3. У випадку серйозного пошкодження упаковки набору, будь ласка, зв'яжіться з IBL або Вашим постачальником у письмовій формі, не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти в тестових прогонах, але зберігання їх безпечно для вирішення проблем, пов'язаних із скаргою.
4. Беріть до уваги лоту та термін придатності. Не змішуйте реагенти різних партій. Не використовуйте реагенти з простроченим терміном придатності.
5. Дотримуйтеся належної лабораторної практики та рекомендацій з безпеки. Носіть лабораторні халати, одноразові латексні рукавички та захисні окуляри, де це необхідно.
6. Реагенти цього набору, що містять небезпечний матеріал, можуть викликати подразнення очей і шкіри. Див. МАТЕРІАЛИ НАДАНІ та етикетки для деталей. Інформаційні листи з техніки безпеки для цього продукту доступні на сторінці IBLHomePage або за запитом безпосередньо від IBL.
7. Хімічні речовини та підготовлені або використані реагенти повинні розглядатися як небезпечні відходи відповідно до національного законодавства з біологічної небезпеки та правил безпеки.
8. Персонал прибиральників повинен керуватися фаховими керівництвами щодо можливих небезпек та поводження з ними.

9. Уникайте контакту з стоп - розчином. Це може викликати подразнення шкіри та опіки.
10. Деякі реагенти містять азид натрію (NaN<sub>3</sub>) як консервант. У разі контакту з очима або шкірою, промийте негайно з водою. NaN<sub>3</sub> може реагувати з свинцевим та мідним водопроводом, утворюючи вибухонебезпечні азиди металів.
- Утилізуючи реагенти, промийте їх великим об'ємом води, щоб уникнути накопичення азиду.
11. Всі реагенти цього набору, що містять людську сироватку або плазму, були випробувані і були визнані негативними для анти-ВІЛ I / II, HBsAg і анти-HCV. Однак присутність цих або інших інфекційних агентів не може бути виключено. З цієї причини реагенти слід розглядати як потенційні біологічні небезпеки у використанні та для утилізації.

## 5. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір постачається при температурі навколишнього середовища і його слід зберігати при температурі 2-8 ° С. Тримайте подалі від тепла чи прямого сонячного світла. Інформація щодо зберігання і стабільності зразків і приготованих реагентів викладено у відповідних розділах.

Стріпи мікрпланшета стабільні до терміну придатності набору в розпечатаному, але щільно закритому пакеті, коли зберігають при 2-8 ° С.

## 6. Збір та зберігання зразків

### Плазма (ЕДТА, гепарин)

Слід дотримуватися звичайних запобіжних заходів для венепункції. Важливо зберегти цілісність хімічної речовини зразка крові з моменту її збирання до її аналізу. Не використовуйте грубо гемолітичні, жовтяничні або сильно ліпемічні зразки. Зразки, що з'являються мутними, повинні бути центрифуговані перед нанесенням для видалення будь-якого матеріалу із твердими частинками.

|              |            |                          |                          |  |
|--------------|------------|--------------------------|--------------------------|--|
| зберігання   | 2-8 °С     | ≤20 °С<br>(аліквотовані) | ≤70 °С<br>(аліквотовані) | Тримайте подалі від нагрівання або прямого сонячного проміння. Уникайте повторних циклів заморожування-відтавання. Транспортуйте зразки в замороженому вигляді |
| стабільність | 5<br>годин | 3 місяці                 | 2 роки                   |  |

### Сеча

Можна використовувати як спонтанну, так і 24-годинну сечу. Загальний обсяг сечі виділяється протягом 24 годинного періоду слід збирати і змішувати в одну пляшку, що містить 10-15 мл 6 N HCl в якості консерванту.

Визначити загальний обсяг для розрахунку результатів. Змішують і центрифугують зразки перед використанням в аналізі.

|              |           |            |                   |  |
|--------------|-----------|------------|-------------------|--|
|              | спонтанне | підкислене |                   | Тримайте подалі від нагрівання або прямого сонячного проміння. Уникайте повторних циклів заморожування-відтавання. Транспортуйте зразки в замороженому вигляді |
| зберігання   | 2-8°C     | 2-8°C      | ≤-20°C (аліквоти) |  |
| стабільність | 8 год     | 3 дні      | 6 місяців         |  |

### Супернатанти клітинної культури

Супернатанти клітинної культури можна використовувати без спеціальних підготовчих заходів. Культуральні середовища клітин можуть містити гістамін у більш високих кількостях.

### Цільна кров

Загальний гістамін в ЕДТА цільній крові. Додаткові реагенти можна замовити окремо від IBL: Гіпотонічне середовище REF: KSHI771, буфер вивільнення REF: KSHI751

Вивільнення гістаміну здійснюється з гепаринізованою цільною кров'ю лише для дослідження. Більш детальну інформацію можна знайти в інструкціях щодо вивільнення гістаміну (REF RE95000).

## 7. МАТЕРІАЛИ НАДАНІ

Реагенти, що постачаються з цим набором, достатні для 96 окремих визначень або до 48 дублікатів в плазмі і сечі.

| Кількість | Символ                 | компонент  |
|-----------|------------------------|--|
| 1x12x8    | <b>MTP</b>             | <b>Мікропланшет</b><br>Розборні стріпи<br>Покритий анти-кролячою анти сироваткою (коза)  |
| 1x7 мл    | <b>ANTISERUM</b>       | <b>Анти сироватка гістамін</b><br>Синього кольору. Готовий до використання.<br>Містить: Антисерум (кролик), буфер Tris, 0.01% тимеросал.   |
| 1x100 мл  | <b>ENZCONJ CONC</b>    | <b>Ферментний кон'югат концентрат (200x)</b><br>Містить : гістамін, кон'югований до пероксидази  |
| 7x1,0 мл  | <b>CAL P A-G</b>       | <b>Стандарти плазми A-G</b><br>0,0, 0,35; 1.1; 4,0; 14; 50; 150 нг / мл<br>Готовий до використання. Для калібрування зразків плазми.<br>Стандарт А = Розріджувач для зразків плазми.<br>Містить: гістамін, людська плазма. |
| 2x1,0 мл  | <b>CONTROL P 1+2</b>   | <b>Контролі плазми 1 + 2</b><br>Готові до використання. Містить: Гістамін, людська плазма.<br>Концентрації / прийнятні діапазони див. сертифікат КЯ.   |
| 1x2,0 мл  | <b>CAL U/C A</b>       | <b>Сеча / Стандарти культури клітин А</b><br>0 нг / мл<br>Готовий до використання. Для калібрування зразків сечі та клітинної культури. Стандартний вміст: 0,1 М HCl.  |
| 5x0,25 мл | <b>CAL U/C B-F</b>     | <b>Стандарти сечі / культури клітин B-F</b><br>2,7; 8.1; 24.3; 73; 219 нг / мл<br>Готовий до використання. Для калібрування зразків сечі та клітинної культури. Стандартний вміст:<br>Гістамін, 0,1 М HCl.                 |
| 2x0,25 мл | <b>CONTROL U/C 1+2</b> | <b>Сеча / культура клітин контролі 1 + 2</b><br>Готовий до використання.<br>Містить: Гістамін, людська сеча (підкислена). Концентрації / допустимі діапазони див. сертифікат КЯ.   |
| 1x2,25 мл | <b>ACYLREAG</b>        | <b>Ацилюючий реагент</b><br>Готовий до використання. Містить: DMF  |
| 1x60 мл   | <b>ASSAYBUF CONC</b>   | <b>Буфер аналізу концентрат (5x)</b><br>Містить: Tris буфер, Tween, BSA, 0,05% тимеросал   |
| 1x50 мл   | <b>WASHBUF CONC</b>    | <b>Концентрат буфера для промивання (20x)</b><br>Містить: фосфатний буфер, Tween, 0,1% тимеросал.  |
| 1x11 мл   | <b>INDICATORBUF</b>    | <b>Індикаторний буфер.</b><br>Пурпурового кольору. Готовий до використання. Містить: Трис-буфер, фенол червоний (зміна кольору при pH <7,5), 0,01% тимеросалу  |
| 1x15 мл   | <b>TMB SUBS</b>        | <b>ТМБ розчин субстрату .</b><br>Готовий до використання.<br>Містить: ТМБ, Буфер, стабілізатори  |
| 1x15 мл   | <b>TMB STOP</b>        | <b>ТМБ стоп розчин</b><br>Готовий до використання. 1 М H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .  |
| 1x15 мл   | <b>FOIL</b>            | <b>Клейова фольга</b>  |

## 8. НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, АЛЕ НЕ НАДАНІ

1. Мікропіпетки (Multipette Eppendorf або подібні пристрої, <3% CV). Обсяг: 10; 20; 50; 100; 1000 мкл
2. Одноразові поліпропіленові пробірки, одноразові скляні пробірки, (12 x 75 мм) або 96-глибоко-луночний **планшет ацилювання** (можна замовити окремо від IBL: REF ACYLPLATE: KENP711)
3. Сійка для пробірок
4. Орбітальний шейкер (500 об / хв)
5. Вихровий змішувач
6. 8-канальна мікропіпетка з резервуарами для реагентів
7. Промивна пляшка, автоматизована або напівавтоматична система промивки мікропланшетів
8. Рідер мікропланшетів пластин, здатний зчитувати поглинання при 450 нм (референтна довжина хвилі 600-650 нм)
9. Бідістильована або дейонізована вода
10. Паперові рушники, наконечники піпеток і таймер.

## 9. ПРОЦЕДУРА ПРИМІТКИ

1. Будь-яке неправильне поводження з зразками або модифікація процедури тестування можуть вплинути на результати. Вказані обсяги прокапування, час інкубації, температура і етапи попередньої обробки виконуються строго згідно з інструкцією. Використовуйте лише калібровані піпетки та пристрої.
2. Після початку аналізу всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої приготовлені у відповідний час. Дозволити всім реагентам і зразкам досягти кімнатної температури (18-25 ° C) і обережно прокрутити кожний флакон з рідким реагентом і зразок перед використанням. Змішують реагенти без спінювання.
3. Уникайте забруднення реагентів, піпеток і лунок / пробірок. Використовуйте нові пластикові одноразові наконечники для піпеток для кожного компоненту і зразку. Не змінюйте ковпачки. Завжди закривайте не використовувані флакони. Не використовуйте повторно лунки / пробірки або реагенти.
4. Деякі компоненти містять  $\leq 250$  мкл розчину. Будьте обережні, щоб розчин був повністю на дні флакона перед відкриттям.
5. Рекомендується визначати зразки у двох примірниках, щоб можна було визначити потенційні помилки прокапування.
6. Використовуйте схему прокапування для перевірки відповідного розташування пластин.
7. Час інкубації впливає на результати. Всі лунки повинні бути оброблені в однакових послідовності, порядку і часу. Рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку для прокапування розчинів у всі лунки.
8. Важливим є промивання мікропланшета. Неправильно промиті лунки дадуть помилкові результати. Рекомендується використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну систему промивання мікропланшетів. Не дозволяйте лункам висихати між інкубаціями. Не подряпайте лунки під час полоскання та аспірації.  
Промити та наповнити всі реактиви обережно. Під час полоскання переконайтеся, що всі лунки заповнені точно промивним буфером, і що в лунках відсутні залишки.
9. Вологість впливає на покриті лунки / пробірки. Не відкривайте пакет до кімнатної температури. Невикористані лунки / пробірки повинні бути негайно повернуті в герметичний пакет, включаючи осушувач.

## 10. ПЕРЕД-ТЕСТОВІ ІНСТРУКЦІЇ НАЛАШТУВАННЯ



Вміст набору для 96 визначень можна розділити на 3 окремі прогони.

**Нижче наведені обсяги для одного прогону з 4 смугами (32 визначення).**

### 10.1. Приготування ліофілізованих або концентрованих компонентів

| Розбавити / розчинити | компонент |  | розчинник | Співвідношення | зауваження | Зберігання | Стабільність |
|-----------------------|-----------|--|-----------|----------------|------------|------------|--------------|
|                       | т         |  |           |                |            |            |              |

|            |                 |               |                          |       |  |         |         |
|------------|-----------------|---------------|--------------------------|-------|--|---------|---------|
| 20 мл      | <b>ASSAYBUF</b> | Додати 100 мл | Бідистильована вода      | 1:5   |  | 2-8°C   | 2 тижня |
| 15 мл      | <b>WASHBUF</b>  | Додати 300 мл | Бідистильована вода      | 1:20  | Розчинити кристали при 18-25 °C                      | 2-8°C   | 4 тижня |
| 10 мкл (*) | <b>ENZCONJ</b>  | з 2 мл        | Розведений буфер аналізу | 1:200 | Приготувати свіжим і використовувати тільки один раз | 18-25°C | 30 хв   |

(\*) Перед розведенням переконайтеся, що рідина не залишиться в пробці.

### 10.2. Розведення зразків

Зразки з очікуваною концентрацією, що перевищують найвищий стандарт, повинні бути розведені до ацилювання з відповідними носіями:

Сеча: 0,1 М HCl.

Плазма: розчинник зразка (REF: KENP771), не наданий в наборі.

### 10.3. Ацилювання зразків

При обробці великої кількості зразків ми рекомендуємо необов'язково ацилювання в 96-глибоколуночним Планшеті ацилювання. (можна замовити окремо від IBL згідно REF: ACYLPLATE KENP711) Неможливо визначити ацильовані зразки сечі або клітинної культури з використання кривої стандарту плазми або визначення ацильованих зразків плазми шляхом використання стандартної кривої сеча / культура клітин.

Примітка: Ацильовані зразки можуть зберігатися при температурі 2-8 ° C протягом ночі або краще при -20 ° C протягом до 2 дн.

#### 10.3.1. Ацилювання в одноразових пробірках.

Наступна процедура повинна виконуватися у двох варіантах:

##### Плазма

1. Внесіть 100 мкл кожного стандарту плазми, контролю плазми і плазми пацієнта у відповідні пробірки.
2. Внесіть 100 мкл індикаторного буфера в кожную пробірку. Змішайте віхровим змішувачем.
3. Внесіть 20 мкл реагенту ацилювання в кожную пробірку. Змішайте віхровим змішувачем кожную пробірку відразу після прокапування.
4. Накрийте пробірки. Інкують 30 хв при КТ (18-25 ° C).
5. Прокапайте 750 мкл розбавленого буфера для аналізу в кожную пробірку. Змішайте віхровим змішувачем.

##### Сеча, супернатанти клітинної культури

1. Прокапайте 50 мкл кожного стандарту культури сечі / клітини, контролю сечі / клітинної культури та сечі пацієнта /проби клітинної культури у відповідні пробірки.
2. Введіть 50 мкл індикаторного буфера в кожную пробірку. Змішайте віхровим змішувачем. Якщо індикатор стає безбарвним, то рН розчин занадто низький і зразок містить занадто багато кислоти. У цьому випадку додають ще 50 мкл Індикаторного буферу, поки розчин не стане червонуватим.
3. Внесіть 10 мкл ацилюючого реагенту в кожную пробірку. Змішайте віхровим змішувачем відразу після прокапування.
4. Накрийте пробірки. Інкують 30 хв при КТ (18-25 ° C).
5. Введіть 2000 мкл розбавленого буфера для аналізу в кожную пробірку. Змішайте віхровим змішувачем ретельно.

##### Цільна кров (загальний гістамін)

1. Прокапайте 50 мкл кожного зразка цільної крові EDTA в скляні пробірки.
2. Прокапайте в кожную пробірку 950 мкл гіпотонічного середовища.
3. Інкують 60 хвилин при 37 ° C у водяній бані.

Супернатанти відповідних зразків можна зберігати при температурі 2-8 ° C протягом одного дня. Для

тривалого зберігання до одного тижня заморожують при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Уникайте повторних циклів розморожування та заморожування.

4. Змішайте віхровим змішувачем. Витягнути 100 мкл для стадії ацилювання ELISA-гістаміну і прокапати у відповідні скляні пробірки.
5. Внесіть 50 мкл кожного стандарту плазми з 50 мкл буфера вивільнення у відповідні скляні пробірки.
6. Внесіть 50 мкл кожного контролю плазми з 50 мкл буфера вивільнення у відповідні скляні пробірки.
7. Введіть 100 мкл індикаторного буфера в кожен пробірку. Змішайте віхровим змішувачем.
8. Внесіть 20 мкл реагенту ацилювання в кожен пробірку. Змішайте віхровим змішувачем кожен пробірку відразу після прокапування.
9. Накрийте пробірки. Інкують 30 хв при КТ ( $18-25^{\circ}\text{C}$ ).
10. Прокапайте 750 мкл розбавленого буфера для аналізу в кожен пробірку. Змішайте віхровим змішувачем.

### **10.3.2. Альтернативна версія ацилювання в 96-глибоко луночному ацилюючому планшеті.**

96-глибоко-луночний Ацилюючий мікропланшет не можна повторно використовувати.

Використовуйте тільки один раз!

Наступна процедура повинна виконуватися у двох варіантах:

#### **Плазма**

1. Внесіть 100 мкл кожного стандарту плазми, контролю плазми і плазми пацієнта у відповідні лунки 96-глибоко-луночного Ацилюючого планшета.
2. Внесіть 100 мкл індикаторного буфера в кожен лунку. Коротко змішайте вміст, обережно струшуючи пластину.
3. Внесіть 20 мкл ацилюючого реагенту в кожен лунку. Коротко змішайте вміст, обережно струшуючи пластину.
4. Накрийте пластину клейкою фольгою. Інкують 30 хв при КТ ( $18-25^{\circ}\text{C}$ ).
5. Введіть 750 мкл розбавленого буфера аналізу в кожен лунку.
6. Змішайте ацильовані стандарти, контролі та зразки 8-канальною мікропіпеткою і перенесіть його до мікропланшета (див. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ).

#### **Сеча ,Супернатанти клітинної культури**

1. Прокапайте 50 мкл кожного стандарту сечі /стандарту клітинної культури, сечі / контролю клітинної культури та сечі пацієнта /зразка клітинної культури у відповідні лунки 96-глибоко-луночного планшета ацилювання.
2. Прокапайте 50 мкл індикаторного буфера в кожен лунку. Коротко змішайте вміст, обережно струшуючи пластину. Якщо індикатор стає безбарвним, рН розчину занадто низький і зразок містить занадто багато кислоти. У цьому випадку додають ще 50 мкл індикаторного буфера, поки розчин не стане червонуватим.
3. Покапайте 10 мкл ацилюючого реагенту в кожен лунку. Коротко змішайте вміст, обережно струшуючи пластину.
4. Накрийте пластину клейкою фольгою. Інкують 30 хв при КТ ( $18-25^{\circ}\text{C}$ ).
5. Введіть 2000 мкл розведеного буфера для аналізу в кожен лунку.
6. Змішайте ацильовані стандарти, контролі та зразки з 8-канальною мікропіпеткою і перенесіть їх до мікропланшета (див. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ).

### **11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ**

1. Прокапайте 50 мкл кожного ацильованого стандарту, ацильованого контролю і ацильованого зразка пацієнта до відповідних лунок мікропланшета.
  2. Введіть 50 мкл свіжоприготованого ферментного кон'югату в кожен лунку.
  3. Внесіть в кожен лунку 50 мкл гістамінної антисироватки.
  4. Накрийте планшет клейкою фольгою. Інкують 3 год при КТ ( $18-25^{\circ}\text{C}$ ) на орбітальному шейкері (500 об / хв).
  5. Зніміть клейку фольгу. Видаляють інкубаційний розчин. Промийте планшет 4 x 250 мл розбавленим буфером для промивання.
- Видаліть надлишок розчину, натиснувши перевернутою пластиною на паперовий рушник.
6. Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо є, 8-канальну мікропіпетку.

Прокапування слід проводити в ті ж часові інтервали для субстрату і стоп-розчину. Використовуйте позитивне заміщення і уникайте утворення повітряних бульбашок.

7. Внесіть 100 мкл субстратного розчину ТМБ в кожную лунку.

8. **Плазма:** інкубуйте 40 хв при КТ (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).

Сеча / супернатант клітинної культури: інкубуйте 20 хвилин при КТ (18-25 ° С) на орбітальному шейкері (500 об / хв).

9. Припиніть реакцію субстрату, додавши 100 мкл ТМБ стоп-розчину в кожную лунку. Коротко змішайте вміст, обережно струшуючи планшет.

10. Вимірюють оптичну густину фотометром при 450 нм (референтна довжина хвилі: 600-650 нм) протягом 15 хв після прокапування стоп-розчину.

## 12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати випробувань є дійсними лише в тому випадку, якщо випробування було виконано відповідно до інструкцій. До того ж користувачі повинні суворо дотримуватися правил НЛП (Належної лабораторної практики) або відповідних стандартів / законів. Користувач та / або лабораторія повинна мати підтверджену систему для встановлення діагнозу відповідно до НЛП. Всі контролі набору повинні знаходитися в допустимих межах, як зазначено на етикетках і сертифікаті КЯ. Якщо критерії не виконані, виконання не є дійсним і має бути повторене. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки для подальшого контролю.

Рекомендується брати участь у відповідних випробуваннях з оцінки якості.

У разі виникнення будь-яких відхилень необхідно підтвердити наступні технічні питання: Термін придатності (підготовлених) реактивів, умови зберігання, піпетки, пристрої, умови інкубації та методи промивання.

## 13. РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Отримані ОГ стандартів (вісь у, лінійні) наносять на графік щодо їх концентрації (вісь х, логарифмічна) або на напів-логарифмічному графічному папері або з використанням автоматизованого методу.

Добру відповідність забезпечує кубічний сплайн, 4 параметри Логістики або Logit-Log.

Для розрахунку стандартної кривої застосовують кожен сигнал стандартів (в разі явних відхилень даних одного з двох повторів від очікуваного допустимо використовувати більш акуратне значення).

Концентрацію зразків можна зчитувати безпосередньо зі стандартної кривої.

У випадку розведених зразків значення повинні бути помножені на відповідний коефіцієнт розведення.

Зразки, що показують концентрації вище найвищого стандарту, повинні бути розведені, як описано в ПЕРЕД-ТЕСТОВІЙ ІНСТРУКЦІЇ З НАЛАШТУВАННЯ і переаналізовані.

Розрахунок 24 год екскрецію для кожної проби сечі:  $\text{мкг} / 24 \text{ год} = \text{мкг} / \text{л} \times \text{л} / 24 \text{ год}$

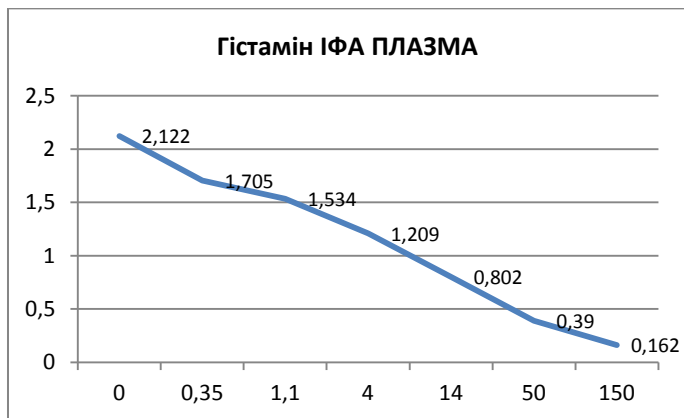
Конверсія:

$\text{Гістамін (нг / мл)} \times 8,997 = \text{нмоль / л}$

### Типова калібрувальна крива плазми

(Приклад. Не використовуйте для розрахунку!)

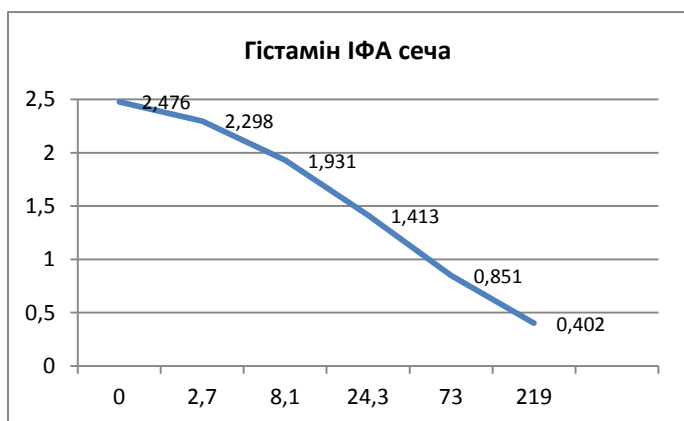
| стандарт | Гістамін (нг/мл) | ОГ (середнє) | Ог/ОГ макс(%) |
|----------|------------------|--------------|---------------|
| A        | 0.0              | 2.122        | 100           |
| B        | 0.35             | 1.705        | 80.3          |
| C        | 1.1              | 1.534        | 72.3          |
| D        | 4.0              | 1.209        | 57.0          |
| E        | 14               | 0.802        | 37.8          |
| F        | 50               | 0.390        | 18.4          |
| G        | 150              | 0.162        | 7.6           |



#### Типова крива калібрування сечі

(Приклад. Не використовуйте для розрахунку!)

| стандарт | Гістамін (нг/мл) | ОГ (середнє) | ОГ/ОГ макс (%) |
|----------|------------------|--------------|----------------|
| A        | 0,00             | 2,476        | 100            |
| B        | 2,7              | 2,298        | 92,8           |
| C        | 8,1              | 1,931        | 78,0           |
| D        | 24,3             | 1,413        | 57,0           |
| E        | 73,0             | 0,851        | 34,3           |
| F        | 219              | 0,402        | 16,2           |



#### 14. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Результати поодиночі не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Вони повинні бути скорельовані з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами. Очевидно здорові суб'єкти показують такі значення: (95% )

|             |                                     |
|-------------|-------------------------------------|
| плазма      | 0,2-1,0 нг/мл                       |
| сеча        | 5-56 мкг/день (24 год)              |
|             | 8-53 мкг/г креатинін (спонтанічний) |
| Цільна кров | < 60 нг/мл                          |

Рекомендується кожній лабораторії встановити свій власний діапазон нормальних значень.

#### 15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Збір та зберігання зразків мають значний вплив на результати тестування. Див ЗРАЗКИ І ЗБЕРІГАННЯ для деталей.

Для перехресної реактивності див.ЕФЕКТИВНІСТЬ.

Наступні компоненти крові не мають значного впливу (+/- 20% від очікуваного) на результати

тестування до зазначених нижче концентрацій:

Гемоглобін 5 мг / мл

Білірубін 1 мг / мл

Тригліцериди 30 мг / мл

## 16. ЕФЕКТИВНІСТЬ

|  |                   |                                     |   |                                |
|--|-------------------|-------------------------------------|---|--------------------------------|
| Аналітична специфічність (перехресна реактивність) | речовина          | Перехресна реактивність             | Перехресна реактивність інших речовин аналізована <0,005% |                                |
|  | N-ацетіл гістамін | 0,34                                |   |                                |
|  | 3-метіл гістамін  | 0,09                                |   |                                |
| Аналітична чутливість (межа виявлення)             | плазма            | 0,02 нг/мл                          | Середній сигнал нульовий стандарт -2 середніх відхилення  |                                |
|  | сеча              | 1,3 нг/мл                           |   |                                |
| Точність   |                   | Діапазон (нг/мл)                    | CV (%)  |                                |
| внутрианалітична                                   | плазма            | 0,5-85                              | 2,2-13,8  |                                |
|  | сеча              | 6,2-178                             | 3,7-6,6   |                                |
| міжаналітична                                      | плазма            | 7,6-86                              | 6,0-9,2   |                                |
|  | сеча              | 5,2-155                             | 7,1-12,8  |                                |
| лінійність   |                   | Діапазон (нг/мл)                    | Серійне розведення до                                     | Діапазон (%)                   |
|  | плазма            | 16,5-129                            | 1:8   | 100-112                        |
|  | сеча              | 2,0-135                             | 1:64  | 83-117                         |
| відновлення  |                   | Середнє(%)                          | Діапазон (%)  | % відновлення після збагачення |
|  | плазма            | 105                                 | 90-116  |                                |
|  | сеча              | 99                                  | 83-117  |                                |
| Порівняння методів Аналіз конкурент А              | плазма            | IBL-аналіз = $0.95 \times A - 0.04$ |   | $r = 0.99; n = 24$             |
| Порівняння методів Аналіз конкурент А              | сеча              | IBL-аналіз = $0.77 \times A + 2.86$ |   | $r = 0.88; n = 26$             |
| Порівняння методів Аналіз конкурент В              | плазма            | IBL-аналіз = $0.56 \times B + 0.01$ |   | $r = 0.99; n = 20$             |
| Порівняння методів Аналіз конкурент В              | сеча              | IBL-аналіз = $0.68 \times B + 11.3$ |   | $r = 0.99; n = 24$             |

## 17. ЛІТЕРАТУРА

- Miyazaki, D. Nakamura, T. Toda, M. Ono S. et al. Macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$  as a costimulatory signal for mast cell-mediated immediate hypersensitivity reactions. J. Clinical Investigation Vol. 115, No 2 Feb. (2005), 434-442. Address: University College London, UK.
- Brown, Simon G A, Wiese Michael, Blackmann Konrad: Ant venom Immunotherapy: a double-blind, placebo-controlled, crossover trial. The Lancet, Vol 361, March 22 1001-1006 (2003) Address: Royal Hobart Hospital, Tasmania, Australia
- Matsumoto, Jun and Matsuda Hajime: Mast-cell dependent histamine release after praziquantel

treatment of Schistosoma Japonicum infection: implications for chemotherapy-related adverse effects.

Parasitol Res 88; 888-893 (2002) Address: Dokkyo University of Medicine, Mibu, Japan

4. Matsumoto, Jun: Adverse effects of praziquantel treatment of Schistosoma japonicum infection: involvement of host anaphylactic reactions induced by parasite antigen release. International Journal for

Parasitology 32, 461-471, (2002) Address: Dokkyo University of Medicine, Mibu, Japan

5. Ching-Hsiang Hsu, Kaw-Yan Chua, Mi-Hua Tao, Yih-Loong Lai, Heuy-Dong Wu, Shau-Ku Huang & Kue-









Hsiung Hsieh (1996). Immunophrophylaxis of allergen- induced immunoglobulin E synthesis and airway

hyperresponsiveness in vivo by genetic immunization. Nature Medicine, Volume 2, Number 5, May (1996): 540-544. Address: Kue-Hsiung Hsieh, Chang Gung Children's Hospital, Taiwan, Republic of China

6. Demoly P., Lebel B., et al "Predictive capacity of histamine release for the diagnosis of drug allergy".

Allergy 54 (1999) 500-506.

### УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

|   |  |
|---|--|
| <b>REF</b>  | № Кат.:  |
| <b>LOT</b>  | № Партії:  |
|    | Використати до:  |
|   | Кількість тестів:  |
| <b>CONC</b>   | Концентрат   |
| <b>LYO</b>  | Ліофілізований   |
| <b>IVD</b>  | 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 продукта. 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

Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург,  
Німеччина

Тел .: + 49 (0) 40 532891 -0 Факс: -11

Е-МАІЛ: IBL@IBL-International.com

WEB: <http://www.IBL-International.com>