



## **RIDASCREEN® Гистамин**

**Арт. No. R1601**

Иммуноферментный метод для количественного  
определения гистамина

Анализ *in vitro*

Хранить при 2-8°C

Пожалуйста, обращайтесь по вопросам технической поддержки и дополнительной информации к официальным дистрибьюторам на территории Вашей страны:

**Официальный дистрибьютор  
в России:**

**ООО "НеоТест"**

ул. Растопчина, 1Г, г. Владимир

+7 499 649 02 01

info@neo-test.ru

[www.neo-test.ru](http://www.neo-test.ru)

**Техническая поддержка**

support@neo-test.ru

+7 499 704 05 50



**Официальный дистрибьютор  
в Беларуси:**

**ОДО "КомПродСервис"**

ул. Филимонова, 25Г, г. Минск

+375 17 336 50 54

info@komprod.com

[www.komprod.com](http://www.komprod.com)

**Техническая поддержка**

support@komprod.com

+375 17 336 50 54



RIDA® и RIDASCREEN®

являются зарегистрированными торговыми марками R-Biopharm AG.

Производитель: R-Biopharm AG, Дармштадт, Германия

R-Biopharm AG имеет сертификат ISO 9001.

RIDA® and RIDASCREEN®

are registered trademarks of R-Biopharm AG

Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

# RIDASCREEN® Гистамин

## Описание

Тест-система Ridascreen® Гистамин (арт. R1601, 96 лунок / R1604, 48 лунок) является тест-системой для конкурентного иммуноферментного анализа и предназначена для количественного определения гистамина в продуктах питания.



Все реактивы для проведения ИФА, включая градуировочные растворы, содержатся в тест-наборе.

Один тест-набор рассчитан на проведение 96 либо 48 определений (включая градуировочные растворы)

Для оценки результатов необходим микропланшетный фотометр.

Пробоподготовка:	Зависит от образца (см. п. 9)
Время выполнения:	Подготовка проб (10 проб).....ок. 15 мин Выполнение теста (время инкубации).....90 мин Выполнение теста (время инкубации с шейкером)..70 мин
Предел обнаружения:	Вино игристое, белое, красное.....250 мкг/кг Молоко.....100 мкг/кг Сыр, рыба свежая и консервы.....2,5 мг/кг Рыбная мука.....10 мг/кг
Степень извлечения:	Вино игристое, белое, красное.....95% Молоко.....109% Сыр, рыба свежая и консервы.....100% Рыбная мука.....96%
Специфичность:	Гистамин.....100% 3-метил-гистамин.....ок. 0,01% Тирамин.....не опред. L-фенилаланин.....не опред. L-гистидин.....не опред. L-тирозин.....не опред. Триптамин.....не опред. 5-гидрокси-индол-уксусная кислота.....не опред. Серотонин.....не опред.

Для повышения качества оценки при выполнении процедур ИФА мы дополнительно ссылаемся на наше Руководство по надлежащей практике ИФА (GEP) в соответствующей версии. В них перечислены минимальные стандарты, касающиеся базовых условий при использовании тест-наборов R-Biopharm AG и проведении ИФА-анализа. Руководство можно найти, распечатать и загрузить с веб-сайта официального дистрибьютора:

ООО «Неотест», РФ	<a href="https://neo-test.ru/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf">https://neo-test.ru/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf</a>	
ОДО «КомПродСервис», РБ	<a href="https://komprod.com/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf">https://komprod.com/wp-content/uploads/2021/10/prakticheskoe-rukovodstvo-ifa-rus.pdf</a>	

## Сопутствующие товары

RIDASCREEN® Histamine (enzymatic) (Art. No. 1601)

### 1. Применение

Тест-система Ridascreen® Гистамин для конкурентного иммуноферментного анализа предназначена для количественного определения гистамина в белом, красном вине, игристом вине/шампанском, молоке, сыре, свежей рыбе, рыбных консервах, рыбной муке.

### 2. Общая информация

Гистамин является продуктом разложения гистидина, вызываемого ростом определенных бактерий в продуктах питания, богатых белком, таких как рыба, мясо, шампанское, вино, пиво. Количество образуемого гистамина зависит от вида бактерий, температуры и времени воздействия и может составлять более 1000 мг/кг. Рыба с высоким содержанием гистамина часто называется причиной отравления. Контроль качества должен минимизировать вероятность наличия рыбы, содержащей гистамин. Высококачественная рыба содержит менее 10 мг/кг гистамина. Предельно допустимый уровень содержания гистамина в рыбе и рыбной продукции составляет 100 мг/кг, в некоторых странах даже 50 мг/кг. В Швейцарии предельно допустимый уровень содержания гистамина в вине составляет 10 мг/л.

### 3. Принцип метода

После пробоподготовки гистамин дериватизируется путем ацилирования в N-ацил-гистамин. В конкурентном ИФА свободный ацилированный гистамин и иммобилизованный гистамин конкурируют за центра связывания антител.

После промывки вносятся ферментно маркированные вторичные антитела (конъюгат). Эти антитела связываются с комплексом антитело-гистамин. Несвязанные ферментно маркированные антитела удаляются во время промывки планшета.

В лунки дозируется субстрат и хромоген. Связанный с антителами конъюгат окрашивает хромоген в голубой цвет. Добавление стоп-реактанта меняет цвет раствора на желтый. Оптическая плотность измеряется при 450 нм, она обратно пропорциональна концентрации гистамина в пробе.

#### 4. Предоставляемые реагенты

Каждая тест-система содержит достаточное количество материалов для 96 анализов (включая стандарты):

Компонент	Цвет крышки	Формат	Объём
<b>Реагенты для ацилирования образцов</b>			
Планшет для ацилирования	-	Готов к использованию	96 лунок
Пробирки для ацилирования	-	Готовы к использованию	96 пробирок (пластиковых)
Стандарт 1	Белый	Готов к использованию	0 нг/мл 4 мл
Стандарт 2	Светло-жёлтый	Готов к использованию	0,5 нг/мл 4 мл
Стандарт 3	Светло-красный	Готов к использованию	1,5 нг/мл 4 мл
Стандарт 4	Чёрный	Готов к использованию	5,0 нг/мл 4 мл
Стандарт 5	Серый	Готов к использованию	15,0 нг/мл 4 мл
Стандарт 6	Чёрный	Готов к использованию	50,0 нг/мл 4 мл
Контроль 1	Желто-зеленый	Готов к использованию	Смотрите этикетку 4 мл
Контроль 2	Темно-красный	Готов к использованию	Смотрите этикетку 4 мл
Реагент для ацилирования	Зелёный	Готов к использованию	3 мл
Буфер для ацилирования	Коричневый	Готов к использованию, красный	22 мл
<b>Реагенты для иммуноферментного анализа</b>			
Микротитровальный планшет		Готов к использованию	96 лунок
Промывочный буфер	Розовый	Концентрат	10x 20 мл
Конъюгат	Красный	Готов к использованию	12 мл
Антитела	Синий	Готов к использованию	12 мл
Субстрат/Хромоген	Чёрный	Готов к использованию	12 мл
Стоп-реагент	Серый	Готов к использованию	12 мл

## **5. Необходимые, но не предоставленные материалы**

### **5.1. Оборудование:**

- микропланшетный фотометр (450 нм)
- перчатки
- весы
- гомогенизатор, мельница
- центрифуга + пробирки для центрифуги
- шейкер (вортекс)
- градуированные пипетки, цилиндры
- пипет-дозаторы переменного объема 2-200 мкл и 200-1000 мкл
- для сокращения времени инкубации: шейкер для микротитровальных планшетов (амплитуда 3 мм, прим. 600 оборотов в минуту)

### **5.2. Реагенты:**

- дистиллированная или деионизированная вода
- для проб молока: 10 мМ фосфатный буфер с твином (0,05% твин 20), напр. Sigma P3563

## **6. Меры предосторожности для пользователей**

Тест должен проводиться только обученными сотрудниками лаборатории. Необходимо строго соблюдать инструкцию по применению. Этот набор может содержать опасные вещества. Примечания об опасности содержащихся веществ см. В соответствующих паспортах безопасности материалов (SDS) для этого продукта, доступных на сайте [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Не используйте повторно лунки планшетов. Используйте отдельные наконечники для пипеток для каждого стандарта и каждого экстракта образца, чтобы избежать перекрестного загрязнения. Обеспечьте надлежащую и ответственную утилизацию всех реагентов и материалов после их использования. При утилизации соблюдайте национальные правила.

## **7. Инструкции по хранению**

Реагенты хранить при температуре 2 - 8 °С. Компоненты тест-системы ни в коем случае не замораживать.

Не требуемые стрипы должны храниться с осушителем в плотно закрытом фольгированном пакете при температуре 2 - 8 °С.

Раствор субстрат/хромогена светочувствителен, поэтому при работе с ним следует избегать воздействия прямых солнечных лучей.

По истечении срока годности (смотри внешнюю этикетку теста) фирма не несет гарантии по качеству.

Замена отдельных реагентов на реагенты из наборов других партий не допускается.

## 8. Признаки непригодности реагентов

- Голубая окраска раствора субстрата/хромогена до внесения в лунки.
- Оптическая плотность меньше 0,9 ( $E_{450 \text{ нм}} < 0,9$ ) для градуировочного раствора 1.

## 9. Подготовка образцов

Пробирки для ацилирования и лунки для ацилирования предназначены для однократного использования, чтобы избежать контаминации.

Для подготовки проб следует использовать только пластиковые пробирки!

### 9.1 Игристое вино/шампанское, белое вино, красное вино

- развести 20 мкл вина в 10 мл дистиллированной воды
- использовать по 100 мкл на пробирку для ацилирования либо лунку планшета для ацилирования

### 9.2 Молоко

- 4 мл молока центрифугировать в режиме 10 мин / 3000 g / комнатная температура (20 - 25 °C), удалить слой жира
- развести 20 мкл обезжиренного молока в 4 мл фосфатного буфера (см. п.5.2)
- использовать по 100 мкл на пробирку для ацилирования либо лунку планшета для ацилирования

### 9.3 Сыр, рыба (свежая, рыбные консервы)

- гомогенизировать 10 г пробы
- 1 г гомогенизированной пробы развести в 9 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать
- центрифугировать в режиме 5 мин / 2500 g / комнатная температура (20 - 25 °C)
- удалить слой жира
- развести 1 мл надосадочной жидкости в 9 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать
- развести 200 мкл получившегося раствора в 9,8 мл дистиллированной воды
- использовать по 100 мкл на пробирку для ацилирования либо лунку планшета для ацилирования

### 9.4 Рыбная мука

- 1 г рыбной муки развести в 200 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать в течение 15 минут
- центрифугировать аликвоту в режиме 5 мин / 2500 g / комнатная температура (20 - 25 °C)

- развести 200 мкл надосадочной жидкости в 200 мл дистиллированной воды

- использовать по 100 мкл на пробирку для ацилирования либо лунку планшета для ацилирования

## **10. Проведение теста**

### **10.1. Подготовка теста**

Перед использованием тест-системы доведите температуру всех реагентов до комнатной (20 -25°C)

Моющий буфер поставляется в концентрированном виде (50x). Необходимое количество буфера (20-25°C) перед проведением подготовки проб разбавить дистиллированной водой в пропорции 1:50 (1+49) (напр., 10 мл концентрата + 490 мл дистиллированной воды). Раствор буфера хранить в течение 4 недель при температуре 2-8°C.

Реагент для ацилирования поставляется в готовом для использования виде, точка замерзания составляет 18,5°C. Для дальнейшего использования реагент для ацилирования должен быть в жидком, гомогенном виде без кристаллов. Реагент может храниться при комнатной температуре (20-25°C) либо должен быть согрет до комнатной температуры (20-25°C).

### **10.2. Проведение ацилирования**

Требуется аккуратное внесение реагентов в лунки, избегая брызг.

1. Анализ всех градуировочных растворов, контролей и проб должен проводиться в повторностях (арт. R1604, 48 лунок: В планшете для ацилирования использовать только 48 лунок (не все 96), т.к. планшет для ИФА содержит только 48 лунок). В протокол вносятся позиции градуировочных растворов и проб.

Альтернативно: разместить необходимое количество пробирок в планшете для ацилирования и использовать их для постановки реакции.

2. В соответствующие пробирки / лунки планшета для ацилирования вносят по 100 мкл градуировочных растворов, контролей и растворов проб.

3. В каждую пробирку / лунку планшета для ацилирования вносят по 25 мкл реагента для ацилирования

4. В каждую пробирку / лунку планшета для ацилирования вносят по 200 мкл буфера для ацилирования, осторожно перемешивают содержимое планшета и инкубируют в течение 15 минут при комнатной температуре (20-25°C)

5. Для постановки ИФА используют 25 мкл соответствующей пробы.

### **10.3 Проведение ИФА**

Требуется аккуратное внесение реагентов в лунки, избегая брызг.



Точность результатов теста зависит от равномерного промывания лунок. В процессе работы следует избегать высыхания лунок в перерывах между отдельными этапами работы.

1. В рамку микротитровального планшета помещают количество стрипов, необходимое для градуировочных растворов и проб в повторностях. В протокол вносятся позиции градуировочных растворов и проб.

2. В соответствующие лунки вносят по 25 мкл ацилированных градуировочных растворов, контролей и растворов проб.

3. В каждую лунку вносят по 100 мкл раствора анти-гистаминовых антител. Осторожно перемешивают содержимое планшета и инкубируют в течение 40 минут при комнатной температуре (20-25°C). Альтернативно: инкубация в течение 30 минут с использованием шейкера для микротитровальных планшетов (прим. 600 об/мин)

4. По окончании инкубации, жидкость из лунок выливают путем резкого переворачивания планшета, капельки жидкости, оставшиеся в лунках, удаляют путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. В каждую лунку вносят по 250 мкл моющего буфера (см. п. 9.1). Процедуру промывки лунок повторяют еще дважды.

5. В каждую лунку вносят по 100 мкл раствора конъюгата. Осторожно перемешивают содержимое планшета и инкубируют в течение 20 минут при комнатной температуре (20-25°C). Альтернативно: инкубация в течение 10 минут с использованием шейкера для микротитровальных планшетов (прим. 600 об/мин).



6. По окончании инкубации, жидкость из лунок выливают путем резкого переворачивания планшета, капельки жидкости, оставшиеся в лунках, удаляют путем энергичного троекратного постукивания рамки с лунками по столу, накрытому фильтровальной бумагой. В каждую лунку вносят по 250 мкл моющего буфера (см. п. 9.1). Процедуру промывки лунок повторяют еще дважды.

7. В лунки вносят по 100 мкл раствора субстрата/хромогена, аккуратно перемешивают содержимое и инкубируют в темноте в течение 15 минут при комнатной температуре (20-25 °C). Альтернативно: инкубация в течение 15 минут с использованием шейкера для микротитровальных планшетов (прим. 600 об/мин).

8. В лунки вносят по 100 мкл стоп-реагента и аккуратно перемешивают содержимое. В течение 10 минут после добавления стоп-реагента необходимо измерить оптическую плотность при 450 нм.

## 11. Результаты

Обработка результатов иммуноферментного анализа с использованием тест-систем RIDASCREEN® проводится с использованием специального программного обеспечения RIDA® SOFT Win (Артикул № Z9996). Программное обеспечение RIDA® SOFT Win и инструкцию к нему Вы можете бесплатно скачать на сайте официальных дистрибьюторов:

ООО «Неотест», Россия	<a href="https://neo-test.ru/programmnoe-obespechenie/">https://neo-test.ru/programmnoe-obespechenie/</a>	
ОДО «КомПродСервис», Беларусь	<a href="https://komprod.com/programmnoe-obespechenie/">https://komprod.com/programmnoe-obespechenie/</a>	

Для Вид градуировочной кривой можно сопоставить с сертификатом качества на партию.

Концентрация гистамина в мкг/кг, определенная по градуировочной кривой, должна быть умножена на соответствующий фактор разведения. Фактор разведения зависит от вида пробоподготовки и приведен в следующей таблице:

Вид пробоподготовки	Проба	Фактор разведения
9.1	красное вино, белое вино, игристое вино/ шампанское	500
9.2	молоко	200
9.3	сыр, свежая рыба, рыбные консервы	5 000
9.4	рыбная мука	200 000

## 12. Ограничения метода

Неправильный вес анализируемого образца влияет на результаты измерения. Достаточная точность дается при колебании макс. +/- 1%. Рекомендуется дальнейшее разбавление и новое обнаружение образцов для значений оптической плотности ( $A_{450 \text{ нм}}$ ) > 0,4. В случае дальнейшего разведения необходимо учитывать фактор дополнительного разведения при расчете концентрации гистамина. Для настоящего ИФА только отдельные типовые пищевые продукты из разных групп продуктов могут быть валидированы из-за большого количества пищевых продуктов. При анализе непроверенной матрицы рекомендуется проверять результаты с помощью

спайков. Из-за множества видов пищи нельзя исключить матричный эффект. Это может привести к ложноположительным / повышенным результатам, но также уменьшить или подавить реакцию. Такие матричные эффекты не зависят от специфичности антитела, используемого в тесте, и могут быть обнаружены с помощью экспериментов со спайками. Пределы обнаружения и определения зависят от соответствующей матрицы пробы, степени обработки и метода экстракции.

### **13. Рекомендация**

Для обеспечения высоких аналитических характеристик мы рекомендуем:

- Соблюдать общие требования к обеспечению качества для лабораторий (например, выполнение двойных определений).

- Каждая лаборатория может принять решение о проведении теста с отдельными определениями после квалифицированного анализа управления рисками. Это не влияет на работу тестового набора. Однако следует отметить, что это увеличивает риск пропустить ошибки при выполнении теста (например, ошибки дозирования).

- Перед дозированием промойте наконечники пипеток стандартным экстрактом или экстрактом образца.

- Для контроля качества следует иметь при себе средства контроля испытаний.

- Контроли следует измерять с максимальным отклонением +/- 30% (в противном случае повторите анализ).

- Оптимальная температура для использования анализа – комнатная температура (20–25 ° C).

Данные соответствуют нашему нынешнему состоянию технологий и предоставляют информацию о наших продуктах и их использовании. R-Biopharm не дает никаких гарантий, явных или подразумеваемых, за исключением того, что материалы, из которых изготовлены ее продукты, имеют стандартное качество. Дефектные продукты будут заменены. Нет никаких гарантий товарной пригодности этого продукта или пригодности продукта для каких-либо целей. R-Биофарм не несет ответственности за любой ущерб, в том числе фактический или косвенный ущерб, или расходы, возникшие прямо или косвенно от использования этого продукта.