



FD THAK[®]

Totale Histamin Abbaukapazität

FD THDC

**total histamin degradation
capacity**

Gebrauchsanweisung

Instructions for use

**Europäisches Patent / european patent
3 752 838 B1**

Cat. No. **FD-THAK-192**



FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Anwendungsbereich

Der **FD THAK / THDC** Test beruht auf einem Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zum quantitativen Nachweis der Histamin Abbaukapazität in der Serumprobe. Vorgesehen ist dieser Test in erster Linie zur *In-vitro*-diagnostischen Anwendung in Krankenhäusern oder medizinischen Fachlabors.

Diagnostische Bedeutung

Histamin wurde erstmals 1910 als endogene Substanz pharmakologisch beschrieben. Als biogenes Amin wird es aus der Aminosäure Histidin synthetisiert. Es ist ein wichtiger Mediator vieler biologischer Reaktionen im Körper, bekannt als Vermittler allergischer und pseudoallergischer Reaktionen.

Histamin wird im Körper nach derzeitigem Wissensstand hauptsächlich durch zwei verschiedene Wege metabolisiert. Ein direkter Gegenspieler des Histamins ist das Enzym Diaminoxidase (DAO). Ein zweiter intrazellulärer Weg der Regulation läuft über das Enzym Histamin-N-Methyltransferase (HNMT). Beide Systeme ergänzen sich, da die DAO mehr für die Regulation extrazellulär angefallenen Histamins zuständig ist und die HNMT für die intrazelluläre Regulation im Zytosol zuständig ist.

Der **THAK®** Test bestimmt erstmals die Abbaukapazität von Histamin in der Serumprobe, unabhängig von der Art des Abbaus. Dies ist insofern von Bedeutung, da diese Abbaukapazität die Problematik der Histamin-Intoleranz darstellt. Basale Histamin Konzentrationen in Serumproben zeigen hohe Konzentrationsschwankungen, umso wichtiger ist es deshalb die probenspezifische Histamin-Abbaukapazität zu bestimmen. Somit liefert der **FD THAK® / THDC** Elisa einen zuverlässigen Hinweis auf eine mögliche Histamin Intoleranz beim Patienten.

Die Durchführung des Tests verlangt keine Histamin Zufuhr oder Histamin Provokation beim Patienten. Der Patient kann sich sogar Histamin - frei ernähren und muss keine akuten Symptome nachweisen. Es erfolgt im Test eine *In-vitro* Provokation der Serumprobe.

Indikation

Bei der Histamin-Intoleranz reagiert der Körper mit Unverträglichkeitsreaktionen auf eine erhöhte Menge an Histamin. Histamin kommt als natürlicher Stoff im Körper vor, wird aber vor allem durch gereifte Lebensmittel u.a. altem Käse, Gepökeltem oder alkoholischen Getränken zugeführt. Die Unverträglichkeit wird durch einen Mangel an DAO und/oder HNMT verursacht und führt somit zu einem Ungleichgewicht zwischen Zufuhr und Abbau des Histamins.

Mögliche Symptome bei einer Aufnahme histaminreicher Nahrung sind u.a. Hautirritationen, Kopfschmerzen, Atembeschwerden, Probleme des Verdauungstraktes und Bluthochdruck. Da diese Symptome auch anderen Krankheitsbildern zuzuordnen sind, kann der **FD THAK® / THDC** eine Histamin-Intoleranz als Ursache für diese Beschwerden ausschließen oder konkretisieren.

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Testprinzip

Der **FD THAK® / THDC ELISA** Test basiert auf einer enzymatischen Farbreaktion und gehört somit zu den enzymatischen Immunabsorptionsverfahren (EIA). Der Test enthält Materialien, um die Histamin Abbaukapazität von Serumproben zu bestimmen.

Die Serumproben werden geteilt und in Einfach-Bestimmung in eine **Inkubationsplatte** pipettiert (Probereihe A).

Anschließend wird eine Histamin-Provokationslösung zugegeben.

Danach wird die **Inkubationsplatte mit Probenreihe A** für **24 h bei 37 °C inkubiert**.

Nach 24 h wird die Serumprobe in **Probereihe B** parallel zur Probenreihe A in die **Inkubationsplatte** pipettiert. Danach wird ebenfalls die gleiche Menge Histamin-Provokationslösung auf Probereihe B gegeben.

Beispielbelegung

Inkubationsplatte									
Probereihe A	Probereihe B	Probereihe A	Probereihe B	Probereihe A	Probereihe B	Probereihe A	Probereihe B	Probereihe A	Probereihe B

Probenreihen nebeneinander –
siehe Beispielbelegung 1, Seite 7

Inkubationsplatte									
			Probereihe A						
			Probereihe B						
			Probereihe A						
			Probereihe B						
			Probereihe A						
			Probereihe B						
			Probereihe A						
			Probereihe B						

Probenreihen untereinander –
siehe Beispielbelegung 2, Seite 8

Nach der Inkubation wird die Serumprobe modifiziert (acyliert) um das enthaltene Histamin zu N-Azyl-Histamin zu derivatisieren. Aus dieser Acylierung wird anschließend der ELISA durchgeführt, um die Abbaukapazität zu bestimmen.

Durch die Messung mit dem **FD THAK® / THDC ELISA** kann dann die Konzentration von Histamin in der Probe vor Provokation und nach Provokation ermittelt werden. Anschließend kann der prozentuale Abbau errechnet werden.

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Materialien

Art. Nr.	Bezeichnung	Kit Komponenten		Menge
BA E-0030	WASH-CONC 50x	ELISA – Waschpuffer-konzentrat; 50x konz.	1:50 Verdünnung	2 x 20 ml
BA E-0055	SUBSTRATE	Substrat	ready to use	2 x 12 ml
BA E-0080	STOP-SOLN	Stopplösung	ready to use	2 x 12 ml
BA E-1040	CONJUGATE	Konjugat	ready to use	2 x 12 ml
BA E-1210	HIS-AS	Histamin Antiserum	ready to use	2 x 12 ml
BA E-1711	ACYL-BUFF	Acylierungspuffer	ready to use	3 x 22 ml
FD E-1712	ACYL-REAG	Acylierungsreagenz – Temperatur beachten!	ready to use	2 x 3 ml
FD E-2001	STANDARD A	Standard A – 0 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2002	STANDARD B	Standard B – 5 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2003	STANDARD C	Standard C – 10 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2004	STANDARD D	Standard D – 15 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2005	STANDARD E	Standard E – 20 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2006	STANDARD F	Standard F – 40 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2031	96 HIS	Mikrotiterplatte, Anti-gen vorbeschichtet	ready to use	2 x 96 Wells
FD E-2051	CONTROL 1	Kontrolle 1	ready to use	1 x 4 ml
FD E-2052	CONTROL 2	Kontrolle 2	ready to use	1 x 4 ml
FD E-2060	PROVO SOLN	Provokationslösung	ready to use	2 x 55 ml
FD E-2090	FOILS	Noppendeckel	ready to use	1 Stück
FD E-2091	96 INCUBATION	Inkubationsplatte	ready to use	1x 96 Wells
FD E-2092	96 ACYLATION	Acylierungsplatte	ready to use	2x 96 Wells

Zusätzlich benötigte Materialien

- Handschuhe
- Uhr
- Pipetten (10-100, 100-1000 µl), Multipette
- 8-Kanal Mikropipette von Vorteil
- Inkubator Mikrotiterplatte 37°C
- Mikrotiterplatten Schüttler ggf. mit 37°C
- Mikrotiterplatten Photometer(450 nm)
- Deionisiertes Wasser
- Vortexer

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Gilt nur für den *In-vitro*-diagnostischen Gebrauch und für den professionellen Einsatz – GLP ist zu befolgen.
- Die Verpackung des Tests erst öffnen, wenn der Test tatsächlich durchgeführt wird - Den Test nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.
- Reagenzien unterschiedlicher Kits nicht mischen
- Alle Reagenzien enthalten geringe Mengen an Stabilisatoren - Schlucken und Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Tragen Sie persönliche Schutzausrüstung.
- Reagenzien und Proben sind potenziell gefährlich - Beachten Sie bei der Abfallentsorgung die jeweiligen örtlichen Vorschriften und nationalen Gesetze

Lagerung und Haltbarkeit

Die ungeöffneten Reagenzien sind bei 2 - 8 °C bis zum Verfallsdatum aufzubewahren. Die Reagenzien dürfen nach überschreiten des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden. Einmal geöffnet sind die Reagenzien 1 Monat stabil, wenn sie bei 2 – 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

Probenmaterial und Lagerung

Als Untersuchungsmaterial wird Serum eingesetzt:

- Nur frische, nicht inaktivierte Seren benutzen.
- Hyperlipämische, hämolytische, mikrobiell kontaminierte Proben und trübe Seren nicht verwenden (falsch positive/negative Ergebnisse).

Haltbarkeit und Behandlung der Seren:

- Serum – Verdünnungen immer frisch ansetzen
- Verschlussene Probengefäße
- Lagerung:
 - max. 3 Tage bei Raumtemperatur
 - 14 Tage bei 2 – 8°C
 - mehrere Monate bei – 20 °C
 - mehrere Jahre bei – 80 °C
- Mehrmaliges Auftauen sollte vermieden werden

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Hinweise zur Testdurchführung

1. Bei Abweichungen von der beschriebenen Testdurchführung oder fehlerhafter Handhabung der Proben können die Ergebnisse verfälscht werden. Die vorgeschriebenen Pipettiervolumina, Inkubationszeiten, Temperaturen und Vorbereitungsschritte sind unbedingt gemäß der Anleitung einzuhalten. Nur ordnungsgemäß gewartete und kalibrierte Geräte und Pipetten verwenden.
2. Die Arbeitsschritte sollten alle ohne Unterbrechung durchgeführt werden sobald mit der Testdurchführung begonnen wurde. Alle Reagenzien und Proben müssen auf Raumtemperatur (20 – 25°C) gebracht werden und vor Gebrauch vorsichtig ohne Schaumbildung gemischt werden.
3. Kontaminationen der Reagenzien, Pipetten und Wells/Röhrchen sind zu vermeiden. Neue Einmalpipettenspitzen für jede zu pipettierende Komponente und jede Probe verwenden. Die Deckel der Fläschchen nicht vertauschen. Nicht benötigte Fläschchen immer verschlossen halten. Wells/Röhrchen oder Reagenzien dürfen nicht wiederverwendet werden.
4. Wir empfehlen im ELISA Doppelbestimmungen durchzuführen, um eventuelle Pipettierfehler zu erkennen.
5. Es sollte ein Pipettierschema verwendet werden um die Identifikation der Standards und Proben auf der Platte zu gewährleisten.
6. Die Inkubationszeiten beeinflussen die Ergebnisse. Bei jedem Pipettierschritt sollten alle Wells in der gleichen Reihenfolge und im gleichen Zeittakt behandelt werden. Die Verwendung einer 8 – Kanalpipette und einer Multipette wird empfohlen.
7. **Die korrekte Durchführung der Waschschr**itte ist entscheidend. Ungenügend gewaschene Wells ergeben falsche Ergebnisse. Die Verwendung einer Multipette oder eines automatischen Waschsystems für Mikrotiterplatten wird empfohlen. Zwischen den Inkubationen die Wells nicht austrocknen lassen. Beim Waschen und Ausschütteln dürfen die beschichteten Wells nicht beschädigt werden. Alle Reagenzien müssen daher mit Vorsicht pipettiert werden. Beim Waschvorgang ist es wichtig, dass alle Wells vollständig und gleichmäßig mit Waschpuffer gefüllt werden und nach dem Ausschütteln kein Rückstand an Flüssigkeit zurück bleibt.
8. Feuchtigkeit beeinflusst die beschichteten Wells. Verpackung nicht öffnen bevor Raumtemperatur erreicht ist. Nicht benötigte Wells sofort in die Verpackung zurückgeben und gut verschließen.
9. Das Probenmaterial ist immer als potentiell infektiös zu betrachten. Probematerial immer ordnungsgemäß nach geltenden Vorschriften entsorgen.
10. **Die Inkubationsplatte muss vollständig und dicht mit dem Noppendeckel verschlossen werden**, um Verdunstungen bei der über Nacht Inkubation zu minimieren.
11. Platten und Riegel dürfen nicht mit anderen Kits (auch von der gleichen Lot) getauscht werden.

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Testdurchführung

Rekonstitution des Waschpufferkonzentrats

Der Waschpuffer ist 50-fach konzentriert, d.h. um eine gebrauchsfertige Lösung zu erhalten muss er 50-fach verdünnt werden (z.B. 980ml Aqua bidest + 20ml Waschpufferkonzentrat)

Lagerung: 1 Monat bei 2 – 8°C

Probenvorbereitung

Die zu messende Serumprobe vortexen und in 2 x 120 µl Aliquots **A** und **B** aufteilen

→ Probe **A** und **B**

Inkubation der Proben

- **100 µl Probe A** laut Belegung in die Inkubationsplatte pipettieren

Hier immer eine Reihe Proben pipettieren → Probenreihe A, und eine Reihe für Probenreihe B am nächsten Tag frei lassen (siehe Beispielbelegung)

- **500 µl Provokationslösung** zu **A** hinzugeben
- Inkubationsplatte mit Noppendeckel fest verschließen und bei **37°C** für **24 h inkubieren**. Es ist von Vorteil, wenn die Inkubationsplatte mit den Proben Probe bei **600 rpm** auf einem Schüttler inkubiert wird.

Probe B wird 24 h bei 4 - 8°C gelagert

- Probe B aus der Kühlung holen und auf RT bringen
- Noppendeckel **vorsichtig** abziehen und Platte 10 min abkühlen lassen
- **100 µl Probe B vortexen** und laut Belegung nach den 24 h in die Inkubationsplatte pipettieren
- **500 µl Provokationslösung** zu **B** hinzugeben
- Inkubationsplatte 1 min bei 600 rpm zum Mischen auf den Schüttler stellen.

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Beispielbelegung 1 – je nach Testgröße (4 Ansätze à 8 Patienten)

Inkubationsplatte							
A1	B1	A2	B2				
P1	P1	P9	P9				
P2	P2	P10	P10				
P3	P3	P11	P11				
P4	P4	P12	P12				
P5	P5	P13	P13				
P6	P6	P14	P14				
P7	P7	P15	P15				
P8	P8	P16	P16				



Acylierungsplatte							
Standards		A1	B1	A2	B2		
A	E	P1	P1	P9	P9		
A	E	P2	P2	P10	P10		
B	F	P3	P3	P11	P11		
B	F	P4	P4	P12	P12		
C	K1	P5	P5	P13	P13		
C	K1	P6	P6	P14	P14		
D	K2	P7	P7	P15	P15		
D	K2	P8	P8	P16	P16		

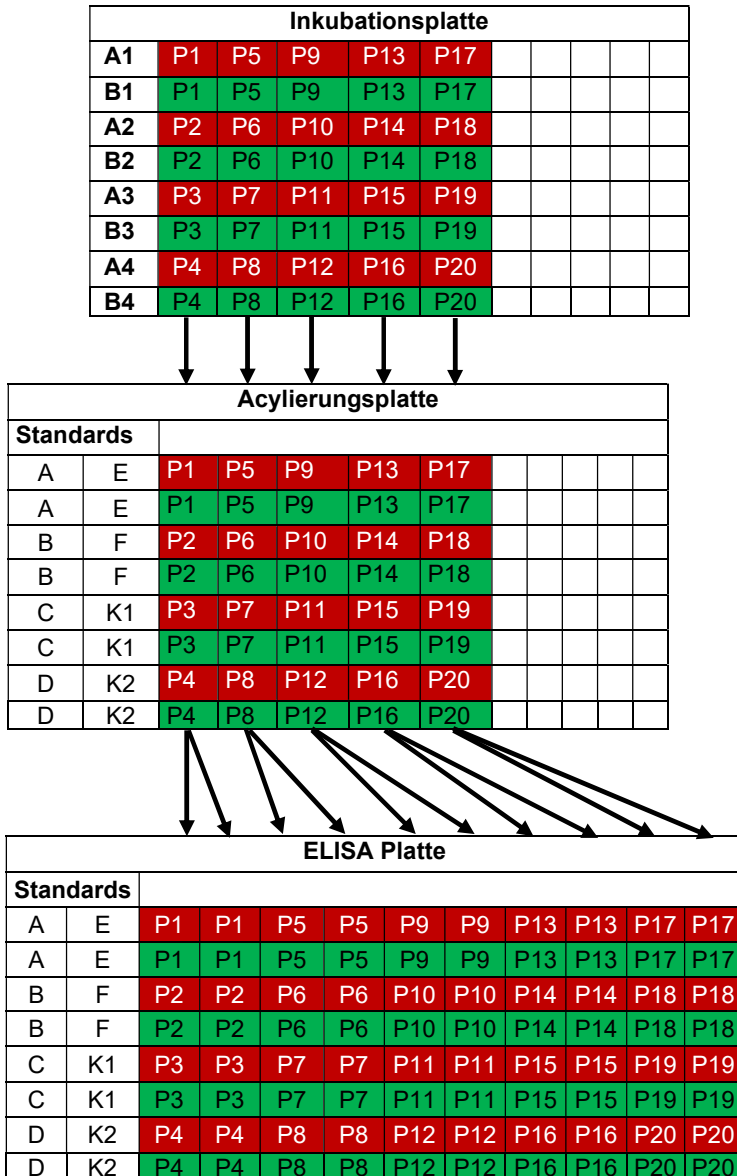


ELISA Platte									
Standards		A1	A1	B1	B1	A2	A2	B2	B2
A	E	P1	P1	P1	P1	P9	P9	P9	P9
A	E	P2	P2	P2	P2	P10	P10	P10	P10
B	F	P3	P3	P3	P3	P11	P11	P11	P11
B	F	P4	P4	P4	P4	P12	P12	P12	P12
C	K1	P5	P5	P5	P5	P13	P13	P13	P13
C	K1	P6	P6	P6	P6	P14	P14	P14	P14
D	K2	P7	P7	P7	P7	P15	P15	P15	P15
D	K2	P8	P8	P8	P8	P16	P16	P16	P16

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Beispielbelegung 2 – je nach Testgröße (6 Ansätze á 4 Pat. oder 2 Ansätze á 20 Pat.)



FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Aus der Einfachbestimmung in der Inkubationsplatte/Acylierungsplatte – wird eine Doppelbestimmung in die ELISA Platte pipettiert. Die Doppelbestimmungen werden nebeneinander und nicht untereinander pipettiert um den Einsatz einer Mehrkanalpipette zu vereinfachen.

Modifizierung (Acylierung/Derivatisierung) der Proben

Achtung: Das Acylierungsreagenz sollte mindestens eine Temperatur von 20 - 25°C haben, um sich komplett auflösen zu können.

Nach der Inkubation der Proben werden je **50 µl** aus der **Inkubationsplatte** in eine **Acylierungsplatte** pipettiert und anschließend acyliert.

Achtung: Achten Sie darauf, dass die Proben in der Inkubationsplatte gut durchmischt sind (mehrmals die Probe mit der Mehrkanalpipette aufnehmen und abgeben bevor sie in die Acylierungsplatte pipettiert wird).

1. Jeweils **50 µl** der **Standards, Kontrollen** in **Doppelbestimmungen** und **Proben** in **Einfachbestimmungen**, die entsprechenden Kavitäten die **Acylierungsplatte** pipettieren.
→ Siehe Beispielbelegung Seite 7/8
2. **25 µl Acylierungsreagenz** in alle Kavitäten pipettieren
3. **250 µl Acylierungspuffer** in alle Kavitäten pipettieren.

Die Platte darf nicht abgeklebt oder verschlossen werden.

4. **30 Min bei RT** (20 – 25 °C) auf einem Schüttler (ca. 600 rpm) inkubieren.
5. Jeweils **25 µl** der vorbereiteten Standards, Kontrollen und Proben werden für den ELISA benötigt

Achtung: Die bereits acylierten Standards und Kontrollen sollten umgehend im ELISA weitergeführt werden. Eine Stabilität der bereits acylierten Standards und Kontrollen kann nach 30 min nicht mehr gegeben werden.

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



ELISA

1. **25 µl der acylierten Standards, Kontrollen und Proben** in **Doppelbestimmungen** in die entsprechenden Kavitäten der Elisa-Mikrotiterplatte pipettieren.
→ siehe Beispielbelegung Seite 7/8
2. **100 µl Histamin Antiserum** in alle Kavitäten hinzugeben.
3. Platte für **30 (± 2) min bei RT (20–25 °C)** auf einem **Schüttler (ca. 600 rpm)** inkubieren. Mit Folie verschließen.
4. Folie entfernen und den Inhalt der Kavitäten ausleeren oder absaugen. Die Kavitäten 3 x gründlich mit 300 µl Waschpuffer waschen, ausleeren und die Restflüssigkeit jedes Mal durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
5. **100 µl KONJUGAT** in alle Kavitäten pipettieren. Mit Folie verschließen.
6. **25 min (± 2) bei RT (20–25 °C)** auf einem **Schüttler (ca. 600 rpm)** inkubieren.
7. Folie entfernen und den Inhalt der Kavitäten ausleeren oder absaugen. Die Kavitäten 3 x gründlich mit 300 µl Waschpuffer waschen, ausleeren und die Restflüssigkeit jedes Mal durch Ausklopfen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
8. **100 µl SUBSTRAT** in alle Kavitäten pipettieren und für **10 – 15 min bei RT (20 – 25 °C)** auf einem **Schüttler (ca. 600 rpm) dunkel** inkubieren. Direktes Sonnenlicht vermeiden. **Nicht** mit Folie verschliessen.
9. **100 µl Stoplösung** in alle Kavitäten pipettieren.
10. Absorption mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei 450 nm (falls vorhanden gegen eine Referenzwellenlänge von 620-650 nm) innerhalb von 10 Minuten messen.

Im Falle einer automatisierten Abarbeitung wenden Sie sich gerne an die

FROST Diagnostika GmbH.

Berechnung der Analysenergebnisse

Zur Berechnung der Ergebnisse sollte eine eine **4-Parameter** Funktion oder **4-Parameter Marquardt** Funktion verwendet werden.

Alternativ kann auch eine **Spline Funktion** genutzt werden.

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Testauswertung

Durch die Zugabe der Provokationslösung entsteht eine 1:1,2 Verdünnung. Die aus der Standardkurve abgelesenen Konzentrationen müssen mit dem Faktor **1,2 multipliziert** werden, um die tatsächliche Histamin-Konzentration zu erhalten.

Bei der Auswertung wird die **prozentuale Histaminabbaukapazität** der Serumprobe errechnet. Hierzu werden beiden gemessenen Konzentrationen ins Verhältnis gesetzt.

$$\% \text{ Abbau} = \frac{\text{Probe B (vor Provokation)} - \text{Probe A (nach Provokation)}}{\text{Probe B (vor Provokation)} / 100}$$

Beispielrechnung

	Probe A nach Provokation [ng/ml]	Probe B vor Provokation [ng/ml]
Patient 1	9,913	20,819
Patient 2	11,579	19,772

Für Patientenprobe Nr. 1:

$$\frac{20,819 - 9,913}{20,819 / 100} = \mathbf{52,38 \%}$$

Für Patientenprobe Nr. 2

$$\frac{19,772 - 11,579}{19,772 / 100} = \mathbf{41,44 \%}$$

Das bedeutet Probe Nr. 1 hat eine Histamin Abbaukapazität von 52,38%, Probe Nr. 2 41,44 %

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Interpretation der Ergebnisse

0 % – 25 %: geringe bis keine Histamin Abbaukapazität: Man kann hier von einer Histaminintoleranz ausgehen. Die Probe des Patienten weist eine sehr niedrige Histamin Abbaukapazität auf.

25 % - 40 %: eingeschränkte Histamin Abbaukapazität: Man kann hier von einer Einschränkung bzw. Beeinträchtigung der Histamin Abbaukapazität der Probe des Patienten ausgehen

> 40 %: ausreichende Histamin Abbaukapazität: Man kann hier von keiner Einschränkung der Histamin Abbaukapazität der Probe ausgehen.

(1) Characterization and Potential Clinical Application of a Novel Test System for the Quantification of Histamine Degradation Activity in Humans. DKLM 2018; DGKL-P038

Zur Beurteilung sollte die **Gesamtkonzentration** vor Provokation und nach Provokation zusätzlich angegeben werden.

Bei Patienten mit einer geringen bis keiner Histamin Abbaukapazität kann es bei den Ergebnissen, Aufgrund der Sensitivität des ELIAS zu **negativen Werten** kommen. Diese Ergebnisse sind mit einer Histamin Abbaukapazität von **<0,1 %** zu bewerten.

Die Testergebnisse sollten stets im Zusammenhang mit dem klinischen Bild des Patienten betrachtet und ggf. mit weiteren diagnostischen Methoden verifiziert werden.

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

In einer internen Studie (n=104) wurden Patienten mit Symptomen und/oder diagnostizierter HIT unterschiedlichen Alters mit dem **THAK®** Test gemessen. Es konnte gezeigt werden, dass die Abbaukapazität mit fortschreitendem Alter zwar abnimmt, was jedoch keinen Einfluss auf das Ergebnis zeigt. Die THAK lag bei diesen Patienten deutlich unter 50%.

Grenzen des Tests

Nicht ordnungsgemäß vorbereitete Serumproben, bzw. hämolytische, ikterische und lipämische Seren können verfälschte Ergebnisse liefern.

Beachtet werden sollte auch die Tatsache, dass erwiesenermaßen während der Schwangerschaft verstärkt DAO in der Placenta gebildet wird und sich dadurch der Histaminabbau der Schwangeren ganz erheblich erhöht.

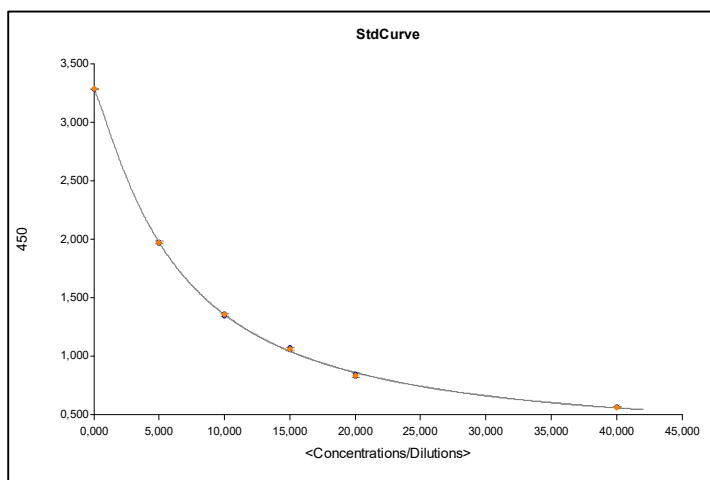
FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Frost Diagnostika GmbH übernimmt für hierdurch evtl. entstandene Schäden und Folgeschäden keine Haftung.

Typische Standardkurve

Beispiel: bitte nicht für die Auswertung verwenden!



Standard	Konzentration [ng/ml]
A	0
B	5
C	10
D	15
E	20
F	40

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Leistungsmerkmale des Tests

Präzision und Reproduzierbarkeit

Analytische Spezifität (Kreuzreaktion)	Substanz	Kreuzreaktion (%)
	L-Histidin	< 0,001
	L-Tyrosin	< 0,001
	L-Phenylalanin	< 0,001
	Tryptamin	< 0,001
	5-Hydroxy-Indol-Essigsäure	< 0,001
	Serotonin HCl	< 0,001
	Tyramin HCl	0,01
3-Methyl-Histamin	0,1	

Analytische Sensitivität	LOB (ng/ml)	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)
	0,12	0,18	0,38

Präzision					
Inter-Assay			Intra-Assay		
Probe	Mittelwert ± SD (ng/ml)	CV (%)	Probe	Mittelwert ± SD (ng/ml)	CV (%)
1	52,6 ± 5,3	10,2	1	48,4 ± 9,1	18,7
2	74,4 ± 8,9	11,9	2	73,2 ± 8,9	12,1
3	165 ± 14,1	8,6	3	156 ± 16,6	10,7
4	426 ± 37,6	8,8	4	383 ± 38,8	10,1

Linearität	Bereich (ng/ml)	Serielle Verdünnung bis	Bereich (%)
	39,9 – 71,4	1:64	81 - 105

Wiederfindung	Bereich (ng/ml)	Mittelwert (%)	Bereich (%)
	56,7 - 1058	106	87 - 115

Methodenvergleich mit LC-MS/MS	LC-MS/MS = 0,8 ELISA - 6,8	r = 0,98	n = 40
-----------------------------------	----------------------------	----------	--------

Messbereich	0,18 - 40,0 ng/ml	Eine genauere Quantifizierung unter- und oberhalb dieses Bereichs ist leider nicht möglich.
-------------	-------------------	---

FD THAK® / THDC – Totale Histamin Abbaukapazität



Literatur

1. Lutz C; Frost G; Knittel T; Missbichler A. Characterization and Potential Clinical Application of a Novel Test System for the Quantification of Histamine Degradation Activity in Humans. DKLM 2018; DGKL-P038
2. Baenziger NL; Mack P; Jong YJ; Dalemar LR; Perez N; Lindberg C; Wilhelm B; Haddock RC. An environmentally regulated receptor for diamine oxidase modulates human endothelial cell/fibroblast histamine degradative uptake. *J Biol Chem* 1994;269:14892—14898.
3. Daniele B, Quaroni A. Polarized secretion of diamine oxidase by intestinal epithelial cells and its stimulation by heparin. *Gastroenterology* 1990;99:1675—1687.
4. Sattler J, Häfner D, Klotter HJ, Lorenz W, Wagner PK. Food induced histaminosis as an epidemiological problem: plasma histamine elevation and haemodynamic alterations after oral histamine administration and blockade of diamine oxidase (DAO). *Agents and Actions* 1988;23:361—365.
5. Sattler J, Lorenz W, Kuhn li, Schmal A, Sauer S, Lüben L. Food induced histaminosis under diamine oxidase (DAO) blockade in pigs: Further evidence of the key role of elevated plasma histamine levels as demonstrated by successful prophylaxis with antihistamines. *Agents and Actions* 1989; 27:212—214.
6. Sessa A, Desiderio MA, Perin A. Eiferte of acute ethanol administration on diamine oxidase activity in the upper gastrointestinal tract of rat. *Alcoholism Clin Exp Res* 1984;8: 185-190.
7. Sessa A, Perin A. Diamine oxidase in relation in diamine and polyamine metabolism. *Agents and Actions* 1994;43:69—77.
8. Tufvesson G, Tryding N. Determination of DAO-activity in normal human blood serum. *Scand J Clin Lab Invest* 1969;24:163—168.
9. Wantke F, Focke M, Hemmer W, Haglmüller T, Götz M, Jarisch R. The red wine maximation test: drinking histamine rich wine induces a transient increase of plasma diamine oxidase activity in healthy volunteers. *Inflammation Research* 1999;48:169—170.
10. Wantke F, Götz M, Jarisch R. The red wine provocation test: intolerance in histamine as a model for food intolerance. *Allergy Proceedings* 1994;15:27—32.
11. Wantke F, Proud D, Siekierski E, Kagey-Sobotka A. Daily variations of serum histamine oxidase and the influence of food and H2 blockers: a critical approach in routine diamine oxidase assessment. *Inflammation Research* 1998;47:396—400.
12. Jarisch R, Berger K, Hemmer W. Role of food allergy and food intolerance in recurrent urticaria. In: Wüthrich B (Hrsg): *The Atopy Syndrome in the Tbfdr Miflenium*. Cm-r Probl Dermatol, Basel, Karger, 1999;28:64—73.
13. Morrow JD, Margones GR, Ilowland J, Reberts kl. Evidence that histamine is the causative toxin of scombroid-fish poisoning. *N Engl J Med* 1991;324:716—720.
14. Kehoe CA, Faughnan MS, Gilmore WS, Coulter JS, Howard AN. Plasma Diamine Oxidase activity is greater in copper-adequate than copper-marginal or copper-deficient rats. *J Nutr*; 2000; 130: 30 – 33
15. Klockner J, Perkmann R, Klein-Weigel P, Mörsdorf G, Drasche A, Klinger A, Fraedrich G, Schwelberger HG. Continuous administration of heparin in patients with deep vein thrombosis can increase plasma levels of diamine oxidase. *Vascular Pharmacology*, 2004; 40: 293-300
16. Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2004; 3 (1): 58-61
17. Tanaka Y, Mizote H, Asakawa T, Kobayashi H, Otani M, Tanikawa K, Nakamizo H, Kawaguchi C, Asagiri K, Akiyoshi K, Hikida S, Nakamura T. Clinical significance of plasma diamine oxidase activity in pediatric patients: influence of nutritional therapy and chemotherapy. *Kurume*
18. Smith MJ, Garrett RH. A heretofore undisclosed crux of eosinophilia-myalgia syndrome: compromised histamine degradation. *Inflamm Res*. 2005 Nov;54(11):435-50. Review. PubMed PMID: 16307217.
19. Kuefner MA, Schwelberger HG, Ulrich P, Hahn EG, Raithe M. Total histamine degradation capacity (THDC) as an important biological marker of histamine metabolism in human colonic mucosa. *Inflamm Res*. 2002 Apr;51 Suppl 1:S87-8. PubMed PMID: 12013425.
20. Kuefner MA, Ulrich P, Raithe M, Schwelberger HG. Determination of histamine degradation capacity in extremely small human colon samples. *Inflamm Res*. 2001 Apr;50 Suppl 2:S96-7. PubMed PMID: 11411621.
21. Raithe M, Kuefner M, Ulrich P, Hahn EG. The involvement of the histamine degradation pathway by diamine oxidase in manifest gastrointestinal allergies. *Inflamm Res*. 1999 Apr;48 Suppl 1:S75-6. PubMed PMID: 10350171.

FD THAK® / THDC – total histamine degradation capacity



Intended use

The **FD THAK® / THDC** test is a enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the quantitative detection of the capability to degrade histamine in human sera. The kit is designed for *in-vitro* diagnostic use in hospitals and/or medical laboratories.

Medical Importance

Histamine was first described pharmacologically as an endogenous substance in 1910. As a biogenic amine, it is synthesized from the amino acid histidine. It is an important mediator of many biological reactions in the body, known as a mediator of allergic and pseudo-allergic reactions.

According to current knowledge, histamine is mainly metabolised in the body via two different ways. A direct antagonist of histamine is the enzyme diaminoxidase (DAO). A second intracellular pathway of regulation is the enzyme histamine N-methyltransferase (HNMT). Both systems complement each other, as the DAO is more responsible for the regulation of extracellularly histamine and the HNMT is responsible for intracellular regulation in the cytosol.

The **THAK®** test determines the total degradation capacity of histamine in the serum sample for the first time, regardless of the type of degradation. This is important because this degradation capacity represents the problem of histamine intolerance. Basal histamine concentrations in serum samples show high concentration fluctuations, making it even more important to determine the sample-specific histamine degradation capacity. The **FD THAK® / THDC Elisa** thus provides a reliable indication of a possible histamine intolerance in the patient.

The test does not require any histamine intake or histamine provocation by the patient. The patient can even eat a histamine-free diet and does not have to demonstrate any acute symptoms. The test involves an in-vitro provocation of the serum sample.

Indication

Patients with a histamine intolerance shows manifold reactions (skin-irritations, headache, difficulties of breathing, digestive complaints) on an increased supply of histamine. Although histamine is a natural part of human metabolism it is also found in a lot of nutritions (for example aged cheese, cured food, alcohol). The intolerance bases on a lack of DAO and/or HNMT which leads finally to an imbalance between supply and degradation of histamine. As it is possible that the mentioned symptoms are caused on different reasons the **FD THAK® / THDC ELISA** may give a valuable hint for a histamine intolerance

FD THAK® / THDC – total histamine degradation capacity



Principle of the test

The **FD THAK® / THDC ELISA** based on an enzyme-caused color change and therefore belongs to the group of immune-adsorptions-assays.

The test includes materials to detect the capability to degrade histamine in human sera.

The samples are splitted in two equal parts and were pipette as single determinations in a 96 well plate (column A).

After that a histamine-provocation-solution is added and the plate is incubated for 24 h / 37°C

After 24 h the second part of the sample is pipetted as single determination in column B and the provocation-solution is added too.

Example assignment

Incubationsplatte									
samplerow A	samplerow B	samplerow A	samplerow B	samplerow A	samplerow B	samplerow A	samplerow B	samplerow A	samplerow B

Sample rows next to each other -
see example 1, page 22

Incubationsplatte									

Sample rows among each other -
see example 2, page 23

After incubation, the serum sample is modified (acylated) to derivatize the contained histamine to N-azyl histamine. From this acylation, the ELISA is then performed to determine the degradation capacity.

By measuring with the **FD THAK® / THDC ELISA**, the concentration of histamine in the sample before provocation and after provocation can then be determined. Afterward, the percentage degradation can be calculated.

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Content

Cat. no.	Name	kit components		quantity
BA E-0030	WASH-CONC 50x	ELISA – washing- buffer, 50x conc.	1:50 dilution	2 x 20 ml
BA E-0055	SUBSTRATE	substrate	ready to use	2 x 12 ml
BA E-0080	STOP-SOLN	stopsolution	ready to use	2 x 12 ml
BA E-1040	CONJUGATE	conjugate	ready to use	2 x 12 ml
BA E-1210	HIS-AS	histamin antiserum	ready to use	2 x 12 ml
BA E-1711	ACYL-BUFF	acylationbuffer	ready to use	3 x 22 ml
FD E-1712	ACYL-REAG	acylationreagence – note temperature!	ready to use	2 x 3 ml
FD E-2001	STANDARD A	standard A – 0 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2002	STANDARD B	standard B – 5 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2003	STANDARD C	standard C – 10 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2004	STANDARD D	standard D – 15 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2005	STANDARD E	standard E – 20 ng/m	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2006	STANDARD F	standard F – 40 ng/ml	ready to use	1 x 1 ml
FD E-2031	HIS	microtiterplate, anti- gene pre-coated	ready to use	2 x 96 wells
FD E-2051	CONTROL 1	control 1	ready to use	1 x 4 ml
FD E-2052	CONTROL 2	control 2	ready to use	1 x 4 ml
FD E-2060	PROVO SOLN	provocationsolution	ready to use	2 x 55 ml
FD E-2090	FOILS	dimple cover	ready to use	1 pieces
FD E-2091	INCUBATION	incubationsplate	ready to use	1x 96 wells
FD E-2092	ACYLATION	acylationplate	ready to use	2x 96 wells

Additional required materials

- gloves
- clock
- pipettes (10-100, 100-1000 µl), Multipette
- optional: 8 channel Mikropipette
- incubator microtiter plate 37°C
- microtiterplate-shaker (poss. 37°C inc.)
- microtiterplate-photometer (450 nm)
- deionized water
- vortexer

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Warnings

- Valid for in vitro diagnostic and professional use only follow GLP.
- Do not open the packaging of the test until the test is actually performed - Do not use the test after the expiration date.
- Do not mix reagents of different kits.
- All reagents contain small amounts of stabilizers - Avoid swallowing and contact with skin and mucous membranes. Wear personal protective equipment.
- Reagents and samples are potentially hazardous - Observe local regulations and national laws for waste disposal.

Storage and stability

The test can be stored at 2° to 8°C in a sealed bag until expiration date. Do not use any components after exceeding expiry date. Once opened the components are stable for 1 month when stored by 2 - 8°C. Please add again dry gel to a once opened microtiter plate bag and close accurately.

Samples and storage

The test is proceeded with human sera:

- Only use fresh, not inactivated sera.
- Do NOT use hyperlipamic, haemolytic, contaminated and/or cloudy samples.

Stability and preparation of the sera:

- Sera – always prepare dilutions fresh
- store in closed tubes
- stability:
 - max. 3 days at room temperature
 - 14 days at 2 - 8 ° C
 - several months at -20 °C
 - several years at -80 °C
- Avoid freeze-thaw cycles

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Hints to the procedure

1. Results could be falsified if instructions are not followed exactly or if the samples are treated in a wrong manner. Please follow exactly the mentioned volumina, times of incubation, temperatures and preparations. Usage of correct calibrated pipettes, reader and washer is strictly recommended.
2. Every single step of the process should be done without any longer discontinuity. The whole content of the kit as well as the samples must have room temperature (20-25°C) and must be mixed cautiously, avoid foam generation.
3. Avoid contaminations of reagents, pipettes, wells und tubes. Use new tips to pipette every single component or sample. Do not change the caps of the tubes. Keep vials closed as long as possible. It is forbidden to reuse wells, tubes or reagents.
4. To avoid mistakes in pipetting we recommended to run the samples in duplicates.
5. Additionally, we suggest the use of a pipette pattern. It simplifies the identification of the samples during the test.
6. The time of incubations has a huge influence. Every single step every well and every sample must be treated in the same manner and with the same delay. It is strictly suggested to use an 8-channel pipette as well as a multipette.
7. **The process of washing has a decisive importance.** Insufficient washed wells lead immediately to wrong results! Usage of a multipette or better an automatically washer is suggested. Avoid exsiccation of the wells and do not damage the coating of the wells. It is important during washing that the wells are filled sufficient and constantly with washing buffer. Control if there is no buffer left in the wells after the last step of washing because it will influence the final result.
8. Do not open the sealed bag of the microtiterplate before acclimatization to room temperature as moisture influences the final result as well. Unused wells should be stored in the thoroughly closed bag immediately.
9. Every sample should be considered as infectious and must be treated and disposed accordingly.
10. To minimize evaporation during the 24 h incubation **the microtiter plate must be sealed very accurately with the included dimple cover.**
11. It is not allowed to mix plates and wells of different kits even the kits are from the same lot!

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Procedure of the test

Reconstitution of the washing buffer

The washing buffer is delivered 50x concentrated. Dilute it fifty-fold (50x) in aqua bidest to get a 1x concentrated working solution. For example dilute 20ml washing buffer concentrate with 980ml aqua bidest .

Storage: 1 month at 2 – 8°C

Preparation of the samples

Mix each sample with a Vortex and aliquot in 2 x 120µl. This leads to sample **A** and **B**

Incubation of the samples

- **100 µl of sample A** is pipetted corresponding to the pattern into the plate

Pipette one row with samples → samples A, and skip one row for samples B at the next day (see example below).

- Add **500 µl provocation-solution** to sample A
- Seal the plate accurately with the dimple cover and incubate for **24 h** at **37°C**. It is advantageous if the incubation plate with the samples is incubated on a shaker at **600 rpm**.

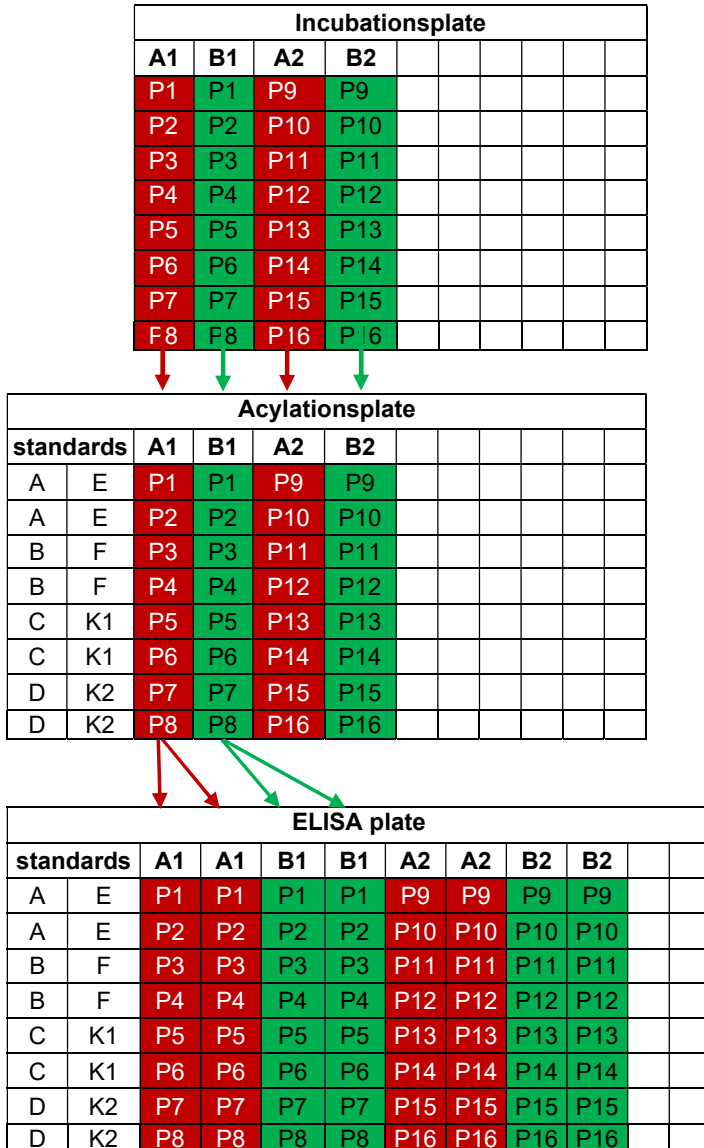
Store **sample B 24h** at **4-8°C**

- Remove sample B from the cooling and bring to RT
- After **24 h** remove the dimple cover carefully and let the plate come to room temperature for 10 minutes
- Mix (vortex) **sample B and pipette 100 µl** according to the pattern into the plate.
- Add **500 µl provocation-solution** to **sample B**
- Mix the plate for 1 min on a shaker (600rpm)

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



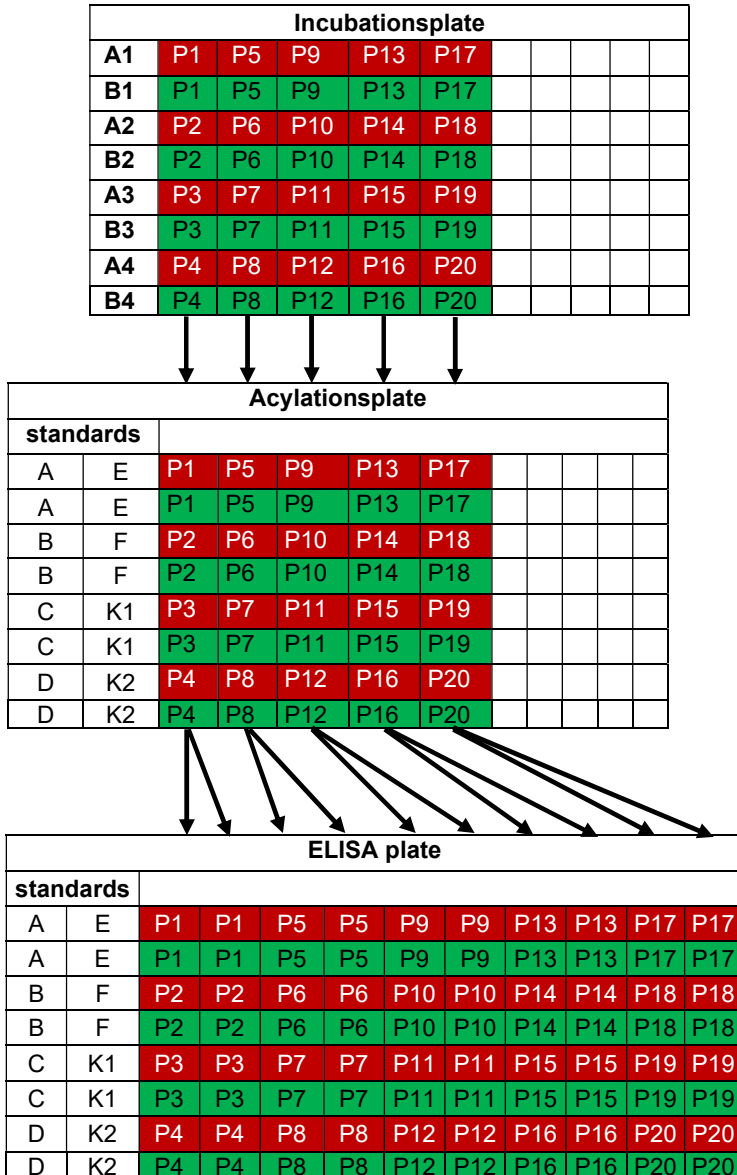
Example 1 – depending on test size (4 Assays of 8 patients each)



FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Example 2 – depending on test size (6 assays of 4 patients or 2 assays of 20 patients)



FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



The single determination from the 24 h incubation respectively the acylation will become a duplett in the ELISA. To enable the usage of 8-channel pipette the duplettes should be pipetted side by side and not among each other.

Modification (acylation/derivatization) of the samples

IMPORTANT: To receive a complete solution of the acylation-reagent it should have a temperature of at least 20 – 25 °C.

After incubation of the samples **50 µl** are pipetted out of the **incubationplate** into the acylationplate to become acylated.

Pay attention that the samples in the incubationplate are well mixed (aspirate and release the sample several times with the multipette).

1. **50 µl** of **standards, controls** in **duplicate** and **samples** in **single determination** are filled into the wells of the **acylationplate**.
→ According to example page 22/23
2. Add **25 µl acylationreagence** to all wells
3. Add **250 µl acylationbuffer** to all wells.

Do **NOT SEAL** the plate with a foil!

4. Incubate **30 min** at **RT** (20–25 °C) on a shaker (ca. 600 rpm).
5. **25 µl** of the so prepared standards, controls and samples are needed for the ELISA

Attention: The already acylated standards and controls should be continued immediately in the ELISA. A stability of the already acylated standards and controls can not be given after 30 min.

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



ELISA

1. **25 µl of the acylated standards, controls and samples** are pipetted in duplicates corresponding to the pattern into the wells of the ELISA plate.
→ According to example page 22/23
2. Add **100 µl histamin antiserum** to all wells.
3. Seal with a foil and incubate the plate for **30 (± 2) min** at **RT (20 – 25 °C)** on a shaker (**ca. 600 rpm**)
4. Remove foil, discharge or soak the wells. Wash the wells 3x cautiously with 300µl washing buffer. Assure after the final washing that there is no liquid left in the wells. If necessary hit the plate several time on a absorbent paper.
5. Add **100 µl conjugate** to all wells. Seal with a foil.
6. Incubate **25 (± 2) min** at **RT (20 – 25 °C)** on a **shaker (ca. 600 rpm)**
7. Repeat step 4.
8. Ad **100 µl substrate** to all wells and incubate **10 - 15 min** at **RT (20 – 25 °C)** in the **dark** on a shaker (**ca. 600 rpm**). Avoid direct sunlight! Do not close with foil.
9. Add **100 µl stop-solution** to all wells.
10. Absorption should be measured within 10 min with a microtiterplate-reader with 450 nm (if available reference 620-650 nm)

In case of automated processing, please contact

FROST Diagnostika GmbH.

Calculation of the analysis results

To calculate the results, a **4-parameter** function or **4-parameter Marquardt** function should be used.

Alternatively, a **"spline function"** can be used.

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Evaluation

As the provocation solution was added we receive a dilution of 1:1,2. Therefore the value resulted from the standard curve has to be multiplied with the factor 1,2 to receive the final concentration of histamine.

Finally, the capability of degrade histamine expressed in % is calculate. Therefore, both measured histamine concentration are set in correlation to each other:

$$\% \text{ Degradation} = \frac{\text{sample B (before provocation)} - \text{sample A (after provocation)}}{\text{sample B (before provocation)} / 100}$$

Example

	sample A after 24 h provocation [ng/ml]	sample B without provocation [ng/ml]
Patient 1	9,913	20,819
Patient 2	11,579	19,772

For patient sample 1

$$\frac{(20,819 - 9,913)}{(20,819 / 100)} = \mathbf{52,38 \%}$$

For patient sample 2

$$\frac{(19,772 - 11,579)}{(19,772 / 100)} = \mathbf{41,44 \%}$$

That means sample 1 has a capability to degrade histamine of 52,38% and accordingly sample 2 a capability of 41,44 %

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Interpretation of the results

0 % – 25 %: low to none capability to degrade histamine: here we can speak from a histamine intolerance. The sample shows a very low capacity of degradation of histamine.

25 % - 40 %: limited capability to degrade histamine: we can speak from a limited capacity to degrade histamine.

> 40 %: sufficient capability to degrade histamine: here we can consider no restriction in the degradation of histamine in the sample.

(1) Characterization and Potential Clinical Application of a Novel Test System for the Quantification of Histamine Degradation Activity in Humans. DKLM 2018; DGKL-P038

For assessment, the **total concentration** should be additionally stated before provocation and after provocation.

In patients with low to no histamine degradation capacity, results may be **negative** due to the sensitivity of the ELIAS. These results are to be assessed with a histamine degradation capacity of **<0.1%**.

The results should be considered always in the field of clinical status of the patient and should be verified with additional diagnostic methods.

We advise each laboratory to establish its own reference-range.

In an internal study (n=104), patients with symptoms and/or diagnosed HIT of different ages were measured with the THAK® test. It could be shown that the degradation capacity decreases with advancing age, but this does not show any influence on the result. The THAK was clearly below 50% in these patients.

Limitations

Not correct prepared sera respectively haemolytic, icteric and lipaemic sera could lead to falsified results.

During pregnancy DAO is additionally produced in the placenta to protect the unborn life. This DAO also increases significantly the degradation of histamine in the mother's blood.

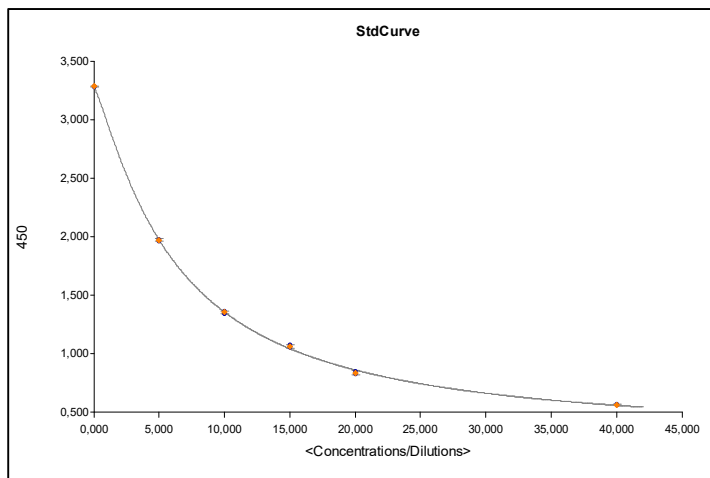
FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Changes in the process which are not agreed with the manufacturer could influence the final results. Frost Diagnostika GmbH is not responsible for any harms and/or subsequent damages caused by any not agreed modifications.

Typical standard curve

Example: do not use for calculation!



standard	concentration [ng/ml]
A	0
B	5
C	10
D	15
E	20
F	40

FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Performance

Precision and reproducibility

Analytical specificity (cross reactivity)	Substance	Cross Reactivity (%)
	L-Histidin	< 0,001
	L-Tyrosin	< 0,001
	L-Phenylalanin	< 0,001
	Tryptamin	< 0,001
	5-Hydroxy-Indol-Essigsäure	< 0,001
	Serotonin HCl	< 0,001
	Tyramin HCl	0,01
3-Methyl-Histamin	0,1	

Analytical Sensitivity	LOB (ng/ml)	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)
	0,12	0,18	0,38

Precision					
Inter-Assay variation			Intra-Assay variation		
Sample	Mean ± SD (ng/ml)	CV (%)	Sample	Mean ± SD (ng/ml)	CV (%)
1	52,6 ± 5,3	10,2	1	48,4 ± 9,1	18,7
2	74,4 ± 8,9	11,9	2	73,2 ± 8,9	12,1
3	165 ± 14,1	8,6	3	156 ± 16,6	10,7
4	426 ± 37,6	8,8	4	383 ± 38,8	10,1

Linearity	Range (ng/ml)	Serial dilution up to	Range (%)
	39,9 – 71,4	1:64	81 - 105

Recovery	Range (ng/ml)	Mean (%)	Range (%)
	56,7 - 1058	106	87 - 115

Method comparison with LC-MS/MS	LC-MS/MS = 0,8 ELISA – 6,8	r = 0,98	n = 40

Testing range	0,18 - 40,0 ng/ml	An accurate quantification below or above this range is unfortunately not possible.












FD THAK®/ THDC – total histamine degradation capacity



Literature

1. Lutz C; Frost G; Knittel T; Missbichler A. Characterization and Potential Clinical Application of a Novel Test System for the Quantification of Histamine Degradation Activity in Humans. DKLM 2018; DGKL-P038
2. Baenziger NL; Mack P; Jong YJ; Dalemar LR; Perez N; Lindberg C; Wilhelm B; Haddock RC. An environmentally regulated receptor for diamine oxidase modulates human endothelial cell/fibroblast histamine degradative uptake. *J Biol Chem* 1994;269:14892—14898.
3. Daniele B, Quaroni A. Polarized secretion of diamine oxidase by intestinal epithelial cells and its stimulation by heparin. *Gastroenterology* 1990;99:1675—1687.
4. Sattler J, Häfner D, Klotter HJ, Lorenz W, Wagner PK. Food induced histaminosis as an epidemiological problem: plasma histamine elevation and haemodynamic alterations after oral histamine administration and blockade of diamine oxidase (DAO). *Agents and Actions* 1988;23:361—365.
5. Sattler J, Lorenz W, Kuhn li, Schmal A, Sauer 5, Lüben L. Food induced histaminosis under diamine oxidase (DAO) blockade in pigs: Further evidence of the key role of elevated plasma histamine levels as demonstrated by successful prophylaxis with antihistamines. *Agents and Actions* 1989; 27:212—214.
6. Sessa A, Desiderio MA, Perin A. Eiferote of acute ethanol administration on diamine oxidase activity in the upper gastrointestinal tract of rat. *Alcoholism Cli Exp Res* 1984;8: 185-190.
7. Sessa A, Perin A. Diamine oxidase in relation in diamine and polyamine metabolism. *Agents and Actions* 1994;43:69—77.
8. Tufvesson G, Tryding N. Determination of DAO-activity in normal human blood serum. *Scand J Cli hab Invest* 1969;24:163—168.
9. Wantke F, Focke M, Hemmer W, Haglmuller T, Götz M, Jarisch R. The red wine maximation test: drinking histamine rich wine induces a transient increase of plasma diamine oxidase activity in healthy volunteers. *Inflammation Research* 1999;48:169—170.
10. Wantke F, Götz M, Jarisch R. The red wine provocation test: intolerance in histamine as a model for food intolerance. *Allergy Proceedings* 1994;15:27—32.
11. Wantke F, Proud D, Siekierski E, Kagey-Sobotka A. Daily variations of serum histamine oxidase and the influence of food and H2 blockers: a critical approach in routine diamine oxidase assessment. *Inflammation Research* 1998;47:396—400.
12. Jarisch R, Berger K, Hemmer W. Role of food allergy and food intolerance in recurrent urticaria. In: Wüthrich B (Hrsg): *The Atopy Syndrome in the Tbfdr Mifenium*. Cm-r Probl Dermatol, Basel, Karger, 1999;28:64—73.
13. Morrow JD, Margones GR, Ilowland J, Reberts kl. Evidence that histamine is the causative toxin of scombroid-fish poisoning. *N Engl J Med* 1991;324:716—720.
14. Kehoe CA, Faughnan MS, Gilmore WS, Coulter JS, Howard AN. Plasma Diamine Oxidase activity is greater in copper-adequate than copper-marginal or copper-deficient rats. *J Nutr*; 2000; 130: 30 – 33
15. Klockner J, Perkmann R, Klein-Weigel P, Mörsdorf G, Drasche A, Klinger A, Fraedrich G, Schwelberger HG. Continuous administration of heparin in patients with deep vein thrombosis can increase plasma levels of diamine oxidase. *Vascular Pharmacology*, 2004; 40: 293-300
16. Ruan P, Gong ZJ, Zhang QR. Changes of plasma D(-)-lactate, diamine oxidase and endotoxin in patients with liver cirrhosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2004; 3 (1): 58-61
17. Tanaka Y, Mizote H, Asakawa T, Kobayashi H, Otani M, Tanikawa K, Nakamizo H, Kawaguchi C, Asagiri K, Akiyoshi K, Hikida S, Nakamura T. Clinical significance of plasma diamine oxidase activity in pediatric patients: influence of nutritional therapy and chemotherapy. *Kurume*
18. Smith MJ, Garrett RH. A heretofore undisclosed crux of eosinophilia-myalgia syndrome: compromised histamine degradation. *Inflamm Res.* 2005 Nov;54(11):435-50. Review. PubMed PMID: 16307217.
19. Kuefner MA, Schwelberger HG, Ulrich P, Hahn EG, Raithe M. Total histamine degradation capacity (THDC) as an important biological marker of histamine metabolism in human colonic mucosa. *Inflamm Res.* 2002 Apr;51 Suppl 1:S87-8. PubMed PMID: 12013425.
20. Kuefner MA, Ulrich P, Raithe M, Schwelberger HG. Determination of histamine degradation capacity in extremely small human colon samples. *Inflamm Res.* 2001 Apr;50 Suppl 2:S96-7. PubMed PMID: 11411621.
21. Raithe M, Kuefner M, Ulrich P, Hahn EG. The involvement of the histamine degradation pathway by diamine oxidase in manifest gastrointestinal allergies. *Inflamm Res.* 1999 Apr;48 Suppl 1:S75-6. PubMed PMID: 10350171.

SYMBOLERLÄUTERUNG / SYMBOL EXPLANATIONS

	Lagertemperatur	Temp of storage
	Verwendbar bis	Expiry date
	Vor Gebrauch Packungsbeilage lesen	Package insert
	Achtung	Attention
	Hersteller	Manufacturer
	Chargennummer	Charge
	Inhalt	Content
	Katalog-Nummer	Cat-No
	Enthält Testmaterial für <n> Teste	Contains material for <n> tests
	In vitro Diagnostikum	In vitro Diagnostikum
	CE gekennzeichnet	CE signed

 **FROST Diagnostika GmbH**

Speyerer Straße 74

D-67166 Otterstadt

Telefon: +49 (0) 6232 600487 0

Telefax: +49 (0) 6232 600487 60

www.frostdiagnostika.de

eMail: info@frostdiagnostika.de