

*Read instructions carefully before starting test*

# **Reveal<sup>®</sup>** **for** **Histamine**

*STORE AT ROOM TEMPERATURE (18–30°C)*

## **HISTAMINE**

High levels of histamine may develop in a variety of fish species as they decompose. These species include tuna, mahi-mahi, marlin, bluefish, sardines, anchovy, bonito, herring and mackerel. Ingestion of histamine may cause scombroid poisoning in humans, which may lead to a variety of symptoms, including rash, nausea, vomiting, diarrhea, hypotension, heart palpitations and muscle weakness. Paralysis and death have also been reported in cases of scombroid poisoning.

Because of its potential for human illness, the U.S. Food and Drug Administration (FDA) has ruled that extensive refrigeration records and/or histamine testing must be included in a hazard analysis and critical control point (HACCP) program for relevant fish species. The FDA has set an action level of 50 parts per million (ppm) for histamine in domestic and imported fish.

## **INTENDED USE**

Reveal<sup>®</sup> for Histamine is intended for the qualitative analysis of histamine in scombroid species of fish, such as tuna and mahi-mahi.

## **INTENDED USER**

The test kit is designed for use by quality control personnel and others familiar with histamine analysis in fish. Since technique is very important, operators should be trained by a Neogen representative or someone who has completed Neogen training.

## **ASSAY PRINCIPLES**

Reveal for Histamine is a single-step lateral flow assay based on a competitive immunoassay format. The extract is wicked through a reagent zone, which contains histamine-specific antibodies conjugated to colored particles. If histamine is present, it will be captured by the particle-antibody complex. The histamine-antibody-particle complex then is wicked onto a membrane, which contains a zone of histamine conjugated to a protein carrier. This zone captures only uncomplexed antibody-particle conjugate, allowing the colored particles to concentrate and form a visible line. The membrane also contains a control zone where the antibody-particle complex present in the reagent zone is captured by an antibody, forming a visible line. The control line will always form regardless of the presence of histamine, ensuring the strip is functioning properly. In addition, the control line also is used as a reference for comparison to the test zone for visual interpretation of the test results. If histamine is present above a pre-determined limit, a line lighter than the control line or no line will form. Therefore, a positive sample will result in a light line or absence of a line in the test zone. Alternatively, a negative sample will form a line of the same or darker intensity as the control line in the test zone.

## **STORAGE REQUIREMENTS**

Store kit components at room temperature (18–30°C, 64–86°F) to ensure full shelf life. Test strips should remain capped in their original sample tubes until used to ensure optimal performance.

## **MATERIALS PROVIDED**

1. 25 histamine test strips
2. 25 sample cups
3. 25 bottles of 7 mL sample diluent

## **MATERIALS RECOMMENDED BUT NOT PROVIDED**

1. Graduated cylinder (Neogen item 9368)
2. Sample extraction bottles, 250 mL (Neogen item 9399)
3. Sample collection tubes (Neogen item 9421)
4. Blender (Neogen item 9493, 9477)
5. Scale capable of weighing 10–50 grams (Neogen item 9427)
6. Pipettor, 100 µL (Neogen items 9272, 9278, 9276)
7. Pipette tips (Neogen items 9410, 9407, 9417)
8. Paper towels or equivalent absorbent material
9. Rack for Reveal sample cups (Neogen item 9475)
10. Timer (Neogen item 9426)
11. Waterproof marker
12. Distilled or deionized water
13. AccuScan® reader system (Neogen item 9565) (Optional)

## **PRECAUTIONS**

1. The test strips must remain inside the stay-dry tube before use.
2. Store test kit at room temperature (18–30°C, 64–86°F) when not in use.
3. Do not use kit components beyond expiration date.
4. Treat all used liquids, including sample extract, and labware as if contaminated with histamine. Gloves and other protective apparel should be worn at all times.
5. To avoid cross-contamination, use clean equipment for each sample, and thoroughly wash all equipment between samples.
6. Glassware should not be used for extraction purposes. Histamine may adhere to glass, therefore using glassware may affect test results.

## **SAMPLE PREPARATION**

### **A. Canned tuna: AOAC 937.07b**

Place entire contents of can/pouch (meat and liquid) into a blender. Blend until homogenous. Store samples at 2–8°C (35–46°F) until analyzed.

### **B. Fresh or thawed frozen raw fish: AOAC 937.07a**

Clean and eviscerate three fish. Cut three cross-sectional pieces 2.5 cm (1 inch) thick, from back of the pectoral fin, halfway to the vent and one posterior to the vent. Debone slices and blend or grind combined samples until homogenous. Store samples at 2–8°C (35–46°F) until analyzed.

## **SAMPLE EXTRACTION**

1. Add 10 g of the homogenous mixture to a clean disposable extraction bottle containing 190 mL of distilled or deionized water.
2. Tightly cap and vigorously shake the bottle for **15–20 seconds** to suspend the fish tissue in the water.
3. Wait approximately **5 minutes**, and then shake the bottle for **15–20 seconds** to resuspend the fish tissue.
4. Wait an additional **5 minutes**, and again shake the bottle for **15–20 seconds** to resuspend the fish tissue. Allow the tissue to settle to the bottom of the bottle for about **30 seconds**. The sample is now ready for extract dilution.

## SAMPLE EXTRACT DILUTION

Because of the sensitivity of the assay, the sample extract must be diluted before performing the test.

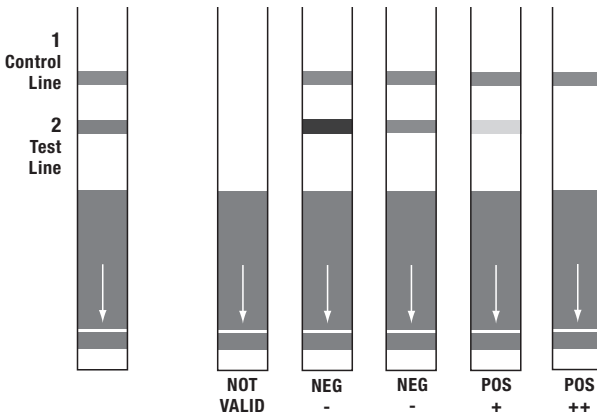
1. Using a clean pipette tip, add 100  $\mu\text{L}$  of the extract to a new bottle of sample diluent provided with the kit. Gently swirl to mix. The sample is now ready to test.
2. Repeat for all samples, using a new sample diluent bottle for each sample.

## TEST PROCEDURE

1. Remove the appropriate number of sample cups and place in sample cup rack.
2. Using a pipettor and new tip, add 200  $\mu\text{L}$  of diluted sample to a sample cup. Repeat for each sample using a new tip and cup.
3. Place a new histamine test strip with the sample end down into the sample cup.
4. Allow the strip to develop in the sample cup for **5 minutes**.
5. Remove strip and read results visually against a white background or by using one of Neogen's AccuScan readers.

## TEST INTERPRETATION

1. If no control line appears, the test is not considered valid.
2. If the test line has an intensity the same as or darker than the control line, the sample is interpreted as negative (less than 50 ppm histamine).
3. If the test line has an intensity lighter than the control line, the sample is interpreted as positive (greater than 50 ppm).
4. If the test line is absent, the sample is interpreted as highly positive.



**Notes:**

1. Observations should be made immediately following the 5 minute development. Observations after 5 minutes may be inaccurate due to over-development of the device.
2. The strips can be read using Neogen's AccuScan readers\*. This eliminates subjectivity by interpreting and storing sample results.
3. Positives can be confirmed by Neogen's quantitative Veratox® for Histamine\* kit or HPLC.
4. Methods are available for alternative detection limits. Please contact Neogen Technical Services for further instructions.

*\*Contact Neogen or visit [www.neogen.com](http://www.neogen.com) for more information on these products.*

**VALIDATED MATRICES**

Tuna and mahi-mahi.

**CUSTOMER SERVICE**

Neogen Customer Assistance and Technical Services can be reached by using the contact information on the back of this booklet. Training on this product, and all Neogen test kits, is available.

**MSDS INFORMATION AVAILABLE**

Material safety data sheets (MSDS) are available for this test kit, and all of Neogen's test kits, on Neogen's website at [www.neogen.com](http://www.neogen.com), or by calling Neogen at 800/234-5333 or 517/372-9200.

**TERMS AND CONDITIONS**

For Neogen's full terms and conditions, please visit [www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html](http://www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html).

**WARRANTY**

Neogen Corporation makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, Neogen will provide a replacement of the product. Buyer assumes all risk and liability resulting from the use of this product. There is no warranty of merchantability of this product or of the fitness of the product for any purpose. Neogen shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

## TEST KITS AVAILABLE FROM NEOGEN

### Natural toxins

- Aflatoxin, DON, ochratoxin, zearalenone, T-2/HT-2 toxins, fumonisin, histamine

### Foodborne bacteria

- *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*

### Sanitation

- ATP, yeast and mold, total plate count, generic *E. coli* and total coliforms, protein residues

### Food allergens

- Almonds, crustaceans, eggs, gliadin, hazelnut, lupine, milk, mustard, peanuts, sesame, soy, walnuts

### Genetic modification

- CP4 (Roundup Ready®)

### Ruminant by-products

- Meat and bone meal, feed

### Species identification

- Raw and cooked meat samples



#### North America

##### Neogen Headquarters

620 Leshar Place, Lansing, MI 48912 USA  
800/234-5333 (USA/Canada) or 517/372-9200  
Fax: 517/372-2006 • [foodsafety@neogen.com](mailto:foodsafety@neogen.com)  
[www.neogen.com](http://www.neogen.com)

#### Europe, Middle East and Africa

##### Neogen Europe

The Dairy School, Auchincruive, Ayr  
KA6 5HW Scotland, UK  
+ 44 (0) 1292 525 600  
Fax: + 44 (0) 1292 525 601  
[info\\_uk@neogeneurope.com](mailto:info_uk@neogeneurope.com)  
[www.neogeneurope.com](http://www.neogeneurope.com)

#### Mexico

##### Neogen Latinoamérica

Darwin No. 83, Col. Anzures, México, 11590 D.F.  
+52 (55) 5254-8235, +52 (55) 5203-0111,  
+52 (55) 5531-2837  
Fax: +52 (55) 5531-1647  
[informacion@neogenlac.com](mailto:informacion@neogenlac.com) • [www.neogen.com](http://www.neogen.com)

#### Brazil

##### Neogen do Brasil

Rua: Alberto Guizo 760, Distrito Industrial João  
Narezzi, Indaiatuba – SP Brasil, Cep: 13.347-402  
Tel: +55 19 3935.3727  
[info@neogendobrasil.com.br](mailto:info@neogendobrasil.com.br) • [www.neogen.com](http://www.neogen.com)

*Por favor lea las instrucciones cuidadosamente antes de realizar la prueba*

# **Reveal<sup>®</sup>**

## **para Histamina**

***ALMACENE A TEMPERATURA AMBIENTAL (18–30°C)***

### **HISTAMINA**

Altos niveles de histamina se pueden desarrollar en una gran variedad de especies de peces a medida que se descomponen. Estas especies incluyen el atún, el pez dorado, el pez aguja, el pez azul, la sardina, la anchoa, el bonito, el arenque y la caballa. La ingestión de histamina puede causar intoxicación por escómbridos en los seres humanos, lo que puede inducir una variedad de síntomas incluyendo, erupciones cutáneas, náusea, vómito, diarrea, hipotensión, palpitaciones y debilidad muscular. También se han reportado casos que resultan en parálisis y muerte a raíz del envenenamiento de escómbridos.

Debido a su potencial en la procedencia de enfermedades humanas, Food and Drug Administration (FDA) de EE.UU. ha dictaminado que se deben mantener extensos registros de refrigeración y/o pruebas de histamina que se deben incluir en un análisis de riesgos y un programa de puntos críticos para control (HACCP) de las especies de peces correspondientes. La FDA ha establecido un nivel de acción de 50 partes por millón (ppm) de histamina en el pescado nacional y de importación.

### **PROPÓSITO DE USO**

Reveal<sup>®</sup> para Histamina está indicado para el análisis cualitativo de histamina en las especies de peces escómbridos como el atún, el pez azul y el pez dorado.

### **USUARIOS PREVISTOS**

El kit de Reveal para Histamina está diseñado para ser utilizado por personal de control de calidad y otras personas familiarizadas con el análisis de histamina en peces. Debido a la importancia de la técnica los operadores deben ser entrenados por un representante de Neogen o por alguien que haya completado el entrenamiento de Neogen.

## **FUNDAMENTO DEL ANÁLISIS**

Reveal para Histamina es un ensayo de flujo lateral de un solo paso basado en un formato inmunoanalítico competitivo. El extracto pasa, por acción capilar, a través de una zona de reactivos que contiene anticuerpos específicos a la histamina conjugados con partículas de color. Si la histamina está presente, será capturada por el complejo de anticuerpo-partícula. El complejo de histamina-anticuerpo-partícula entonces pasa a través de una membrana que contiene una zona de histamina conjugada a un portador proteico. Esta zona capta cualquier anticuerpo de histamina libre, lo que permite que las partículas se concentren y formen una línea visible. La membrana también contiene una zona de control donde un complejo inmune presente en la zona del reactivo es capturado por un anticuerpo, formando una línea visible. La línea de control siempre se formará independientemente de la presencia de la histamina, asegurando que la tira está funcionando correctamente. Adicionalmente, la línea de control también se puede utilizar como un punto de referencia para compararla con la zona de prueba para una interpretación visual de los resultados. Si la histamina está presente en niveles más altos que los límites predeterminados resultara en la formación de una línea más clara que la del control o no se formara una línea visible. Entonces, una muestra positiva resultara en la formación de una línea clara o no se formara una línea en la zona de prueba. Alternativamente, una muestra negativa resultara en la formación de una línea igual o más oscura que la línea de control en la zona de prueba.

## **ALMACENAMIENTO**

Almacene los componentes del kit a temperatura ambiental (18–30°C, 64–86°F) para asegurar una vida útil completa. Las tiras de prueba deben permanecer confinadas en sus tubos originales hasta el momento que vallan a ser usadas para garantizar un rendimiento óptimo.

## **MATERIALES INCLUIDOS**

1. 25 tiras de prueba para histamina
2. 25 copas de muestra
3. 25 botellas con 7 mL del diluyente de muestras

## **MATERIALES REQUERIDOS (NO VIENEN INCLUIDOS)**

1. Cilindro graduado (Producto Neogen 9368)
2. Botellas de extracción de muestras, 250 mL (Producto Neogen 9399)
3. Tubos para la colección de muestras (Producto Neogen 9421)
4. Licuadora (Producto Neogen 9493, 9477)
5. Balanza apta para pesar 10–50 gramos (Producto Neogen 9427)
6. Pipeta, 100 µL (Producto Neogen 9272, 9278, 9276)
7. Puntas de pipeta (Producto Neogen 9410, 9407, 9417)
8. Toallas de papel o un material absorbente equivalente
9. Estante para las copas de muestra de Reveal (Producto Neogen 9475)
10. Cronómetro (Producto Neogen 9426)



11. Marcador resistente al agua
12. Agua destilada o desionizada
13. Lector de AccuScan® (Producto Neogen 9565) (Opcional)

## PRECAUCIONES

1. Las tiras de prueba deben permanecer secas en el tubo suministrado antes de uso.
2. Almacene el kit de prueba a temperatura ambiental (18–30°C, 64–86°F) cuando no esté en uso.
3. No utilice los componentes del kit después de la fecha de vencimiento.
4. Trate todo los líquidos usados, incluyendo el extracto de la muestra y los materiales de laboratorio como si estuvieran contaminados con histamina. Siempre debe usar guantes y otras prendas protectoras.
5. Para evitar la contaminación cruzada, utilice material de vidrio limpio para cada muestra y lave el material de vidrio escrupulosamente entre las muestras.
6. No debe utilizar materiales de vidrio para ningún propósito en cuanto a la extracción. La histamina se adhiere al vidrio, por lo tanto el uso de materiales de vidrio puede afectar los resultados.

## PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

### A. Atún enlatado: AOAC 937.07b

Coloque todo el contenido de la lata/bolsa, carne y líquido, en una licuadora. Licue hasta que obtenga una mezcla homogénea. Almacene las muestras a 2–8°C (35–46°F) hasta el análisis.

### B. Pescado crudo fresco o descongelado: AOAC 937.07a

Limpie y destripe tres pescados. Corte tres pedazos transversales de 2.5 cm (1 pulgada) de grueso, corte desde la parte posterior de la aleta pectoral, hasta la mitad de la cavidad abdominal y un corte posterior a la cavidad abdominal. Deshuese los filetes y licue o muele las muestras juntas hasta que obtenga una mezcla homogénea. Almacene las muestras a 2–8°C (35–46°F) hasta el análisis.

## EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Agregue 10 g de la mezcla homogénea a una nueva botella de extracción conteniendo 190 mL de agua destilada o desionizada.
2. Firmemente tape la botella y agite vigorosamente por **15–20 segundos** para suspender el tejido del pescado en el agua.
3. Espere aproximadamente **5 minutos**, y agite la botella por **15–20 segundos** para resuspender el tejido del pescado en el agua.
4. Espere otros **5 minutos**, y una vez más agite la botella por **15–20 segundos**. Después de agitar, permita que el tejido se sedimente por **30 segundos**. La muestra está lista para la dilución del extracto.

## DILUCIÓN DEL EXTRACTO DE LAS MUESTRAS

Debido a la sensibilidad del formato de la prueba el extracto de la muestra debe ser diluida antes de realizar la prueba.

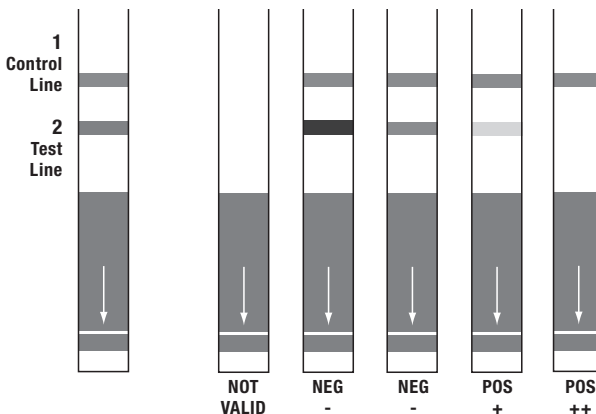
1. Utilizando una nueva punta de pipeta agregue 100 µL del extracto a una botella nueva conteniendo el diluyente de muestra que viene suministrado con el kit. Para mezclarlo, báltalo gentilmente. La muestra está lista para ser analizada.
2. Repita el mismo paso para cada una de las muestras, use una botella diluyente nueva para cada muestra.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire el número de copas de muestra apropiado y coloque las copas de muestra en un estante.
2. Utilizando una nueva punta de pipeta agregue 200 µL de muestra diluida a una copa de muestra. Repita el mismo paso para cada una de las muestras y utilice puntas y copas nuevas para cada muestra.
3. Coloque una tira de prueba para histamina en una copa de muestra con el extremo de muestreo sumergido en la copa.
4. Permita que la tira se desarrolle en la copa por **5 minutos**.
5. Retire la tira y lea los resultados visualmente o utilizando uno de los lectores de AccuScan de Neogen.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. Si no aparece la línea de control, la prueba no se considera valida.
2. Si una de las líneas resultantes tiene la misma intensidad o es más oscura que la línea de control, la muestra es interpretada como negativa (contiene menos de 50 ppm de histamina).
3. Si una de las líneas resultantes tiene una intensidad más alta que la línea de control, la muestra es interpretada como positiva (contiene más de 50 ppm).
4. Si la línea de prueba resultante no aparece, la muestra es altamente positiva.



## Notas:

1. Las observaciones se deben realizar después de que la prueba se desarrolle por 5 minutos. Observaciones después de 5 minutos puede dar lugar a resultados erróneos debido a la sobreexplotación del dispositivo.
2. Las tiras se pueden examinar utilizando los lectores de AccuScan de Neogen\*. Esto elimina la subjetividad interpretando y registrando todos los resultados.
3. Resultados positivos pueden ser confirmados con una kit prueba cuantitativo de Veratox® para Histamina o HPLC.
4. Existen diferentes métodos para límites de detección alternativos. Por favor, contacte los Servicios Técnicos de Neogen para obtener instrucciones más detalladas.

*\*Contacte a Neogen o visite nuestra página web [www.neogen.com](http://www.neogen.com) para obtener más información sobre estos productos.*

## MATRICES VALIDADAS

El atún y el pez dorado.

## SERVICIO DE ATENCIÓN AL CLIENTE

La información para contactar el servicio de atención al cliente y soporte técnico está en la parte de atrás de este folleto. Hay disponibilidad de entrenamiento para este producto y todos los kits de Neogen

## DISPONIBILIDAD DE INFORMACIÓN SOBRE LAS FICHAS DE SEGURIDAD DE LOS MATERIALES

Puede obtener fichas de seguridad de los materiales para este kit y para todos los kits analíticos de Neogen en [www.neogen.com](http://www.neogen.com), o llamando a los números +1 800-234-5333 o +1 517-372-9200.

## TÉRMINOS Y CONDICIONES

Por favor visite [www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html](http://www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html) para los términos y condiciones completos de Neogen.

## GARANTÍA

Neogen Corporation no hace ningún tipo de garantía expresa o implícita, excepto que materiales de los que los productos están hechos son de calidad estándar. Si cualquiera de sus materiales están defectuosos, Neogen proveerá un remplazo del producto. El comprador asume toda la responsabilidad y riesgo resultante del uso de este producto. No hay ningún tipo de garantía de comercialización de este producto o del rendimiento del mismo para ningún propósito. Neogen no será responsable por daños y perjuicios, incluyendo daños especiales o consecuentes, o gastos derivados directa o indirectamente del uso de este producto.

## KITS ANALÍTICOS DISPONIBLES EN NEOGEN

### Toxinas naturales

- Aflatoxina, deoxinivalenol (DON), ocratoxina, zearalenona, toxinas T-2/HT-2, fumonisina, histamina

### Bacterias presentes en los alimentos

- *E. coli* O157:H7, *Salmonela*, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*

### Saneamiento

- Trifosfato de adenosina (ATP), hongo levaduriforme y moho, número total de plaquetas, *E. coli* genérico y total de coliformes, residuos proteínicos

### Alérgenos en alimentos

- Almendras, huevos, gliadina, avellana, altramuza, leche, mostaza, maní, ajonjolí, crustáceos, soja, nuez de nogal

### Modificación genética

- CP4 (Roundup Ready®)

### Subproductos para rumiantes

- Harina de carne y huesos, concentrado animal

### Identificación de especies

- Muestras de carnes crudas y cocinadas



### North America

#### Neogen Headquarters

620 Leshler Place, Lansing, MI 48912 USA  
800/234-5333 (USA/Canada) or 517/372-9200  
Fax: 517/372-2006 • [foodsafety@neogen.com](mailto:foodsafety@neogen.com)  
[www.neogen.com](http://www.neogen.com)

### Europe, Middle East and Africa

#### Neogen Europe

The Dairy School, Auchincruive, Ayr  
KA6 5HW Scotland, UK  
+ 44 (0) 1292 525 600  
Fax: + 44 (0) 1292 525 601  
[info\\_uk@neogeneurope.com](mailto:info_uk@neogeneurope.com)  
[www.neogeneurope.com](http://www.neogeneurope.com)

### Mexico

#### Neogen Latinoamérica

Prolongación 5 de Mayo # 27  
Col. Parque Industrial Naucalpan  
Naucalpan, Estado de Mexico C.P. 53489  
+52 (55) 5254-8235, +52 (55) 5203-1198  
Fax: +52 (55) 5531-1647  
[informacion@neogenlac.com](mailto:informacion@neogenlac.com) • [www.neogenlac.com](http://www.neogenlac.com)

### Brazil

#### Neogen do Brasil

Rua: Alberto Guizo 760, Distrito Industrial João  
Narezzi, Indaiatuba – SP Brasil, Cep: 13.347-402  
Tel: +55 19 3935.3727  
[info@neogendobrasil.com.br](mailto:info@neogendobrasil.com.br) • [www.neogen.com](http://www.neogen.com)