

Read instructions carefully before starting test

Reveal[®] **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[®] 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. 1 bottle sample diluent
4. 25 red dilution cups

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. Pipettor, 1000 µL, (NEOGEN item 9337)
9. Pipette tips (NEOGEN items 9464, 9487)
10. Paper towels or equivalent absorbent material
11. Rack for Reveal sample cups (NEOGEN item 9475)
12. Timer (NEOGEN item 9426)
13. Waterproof marker
14. Distilled or deionized water

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.

TEST PROCEDURE

1. Remove the appropriate number of clear sample cups and red dilution cups and place in a sample cup rack.
2. Add 100 µL of sample extract to each red dilution cup.
3. Add 1000 µL of sample diluent to the red dilution cup. Mix well by pipetting up and down 5 times.
4. Transfer 100 µL of diluted sample extract to a clear sample cup.
5. Place a new Reveal for Histamine test strip with the sample end down into the sample cup and set timer for 5 minutes. Ensure the test strip comes into contact with liquid and begins to wick.
6. Allow the test strip to develop in the sample cup for 5 minutes.
7. Remove the strip and read results visually by holding the strip up to line of sight. Strip must be read within 30 seconds after the 5 minute incubation.

TEST INTERPRETATION

Negative result:

If the test line intensity is greater than or equal to the control line, the sample is below the detection limit (less than 50 ppm histamine).

NOTE: The presence of the control line, regardless of intensity, indicates a valid test.

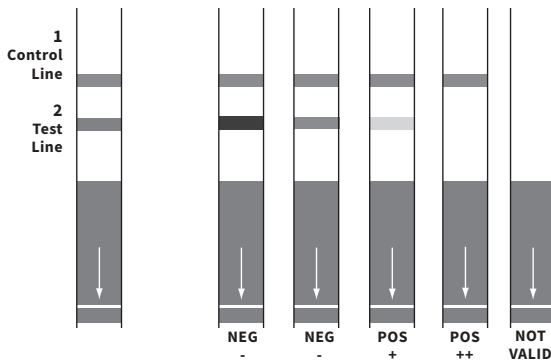
Positive result:

If the test line intensity is less than the control line, the sample is greater than the detection limit (greater than 50 ppm histamine).

If the test line is absent, and the control line is present, the sample is interpreted as highly positive.

Invalid result:

If the control line is absent, the test is invalid.



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. Positives can be confirmed by NEOGEN's Reveal® Q+ for Histamine, Veratox for Histamine or HPLC.

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.

SDS INFORMATION AVAILABLE

Safety data sheets (SDS) are available for this test kit, and all of NEOGEN's test kits, on NEOGEN's website at 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 neogen.com/terms-and-conditions/.

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, ergot alkaloids, ochratoxin, zearalenone, T-2/HT-2 toxins, fumonisin, histamine

Foodborne bacteria

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

Sanitation

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

Food allergens

- Almonds, coconut, crustaceans, eggs, gliadin, hazelnut, milk, mustard, peanuts, sesame, soy, walnuts, multi-treenut

Genetic modification

- CP4 (Roundup Ready®)

Ruminant by-products

- Meat and bone meal, feed

Species Identification

- Raw and cooked meat samples, feed



North America

NEOGEN Headquarters

800.234.5333 (USA/Canada)
foodsafety@neogen.com
NEOGEN.com

Europe, Middle East and Africa

NEOGEN Europe

+ 44 (0) 1292 525 600
info_uk@neogeneurope.com
NEOGEN.com

Mexico

NEOGEN Latinoamerica

+52 (55) 5254-8235
informacion@neogenlac.com
NEOGEN.com

Brazil

NEOGEN do Brasil

+55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br
NEOGEN.com

China

NEOGEN Bio-Scientific Technology

+86 21 6271 7013
info@neogenchina.com.cn
www.neogenchina.com.cn

India

NEOGEN Food and Animal Security

+91 484 2306598, 2301582
info@neogenindia.com
www.neogenindia.com

Por favor lea las instrucciones cuidadosamente antes de realizar la prueba

Reveal[®]

para Histamina

ALMACENE A TEMPERATURA AMBIENTE (18–30°C)

HISTAMINA

Altos niveles de histamina se pueden desarrollar en una variedad de especies de peces a medida que se descomponen. Estas especies incluyen el atún, dorado, marlin, pez azul, sardinas, anchoas, pez bonito, arenque y caballa. La ingestión de histamina puede causar intoxicación por escombroides en los humanos, que puede conducir a una variedad de síntomas, incluyendo salpullido, náuseas, vómito, diarrea, hipotensión, palpitaciones y debilidad muscular. También se han reportado parálisis y muerte en casos de intoxicación por escombroides.

Debido a su potencial para causar enfermedades humanas, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) ha determinado que los registros extensivos de refrigeración y/o las pruebas de histamina deben incluirse en un sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP) para las especies relevantes. La FDA ha establecido un nivel de acción de 50 partes por millón (ppm) de histamina en pescados domésticos e importados.

USO PREVISTO

Reveal[®] para Histamina está destinada para el análisis cuantitativo de histamina en especies de peces escombroides como el atún y pez dorado.

USUARIO PREVISTO

El kit de prueba está diseñado para ser utilizado por personal de control de calidad y otros familiarizados con el análisis de histamina en peces. Dado a que la técnica es muy importante, 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 de inmunoensayo competitivo. El extracto pasa a través de una zona de reactivo que contiene anticuerpos específicos de histamina conjugados con partículas coloreadas. Si hay histamina presente, será capturada por el complejo partícula-anticuerpo. Luego, el complejo histamina-anticuerpo-partícula pasa por una membrana que contiene una zona de histamina conjugada con un portador proteico. Esta zona solo captura el conjugado anticuerpo-partícula no complejado, permitiendo que las partículas coloreadas se concentren y formen una línea visible. La membrana también contiene una zona de control donde el complejo anticuerpo-partícula presente en la zona de reactivo es capturado por un anticuerpo, formando una línea visible. La línea de control se formará siempre independientemente de la presencia de histamina, asegurando que la tira esté funcionando correctamente. Además, la línea de control también se usa como referencia para la comparación con la zona de prueba, para la interpretación visual de los resultados de la prueba. Si hay histamina presente por encima de un límite predeterminado, se formará una línea más clara que la línea de control o no habrá línea. Por lo tanto, una muestra positiva dará como resultado una línea clara o no se formará línea en la zona de prueba. Alternativamente, una muestra negativa formará una línea visible con la misma intensidad o más oscura que la línea de control en la zona de prueba.

ALMACENAMIENTO

Almacene los componentes del kit a temperatura ambiente (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 vayan a ser usadas para garantizar un rendimiento óptimo.

MATERIALES PROPORCIONADOS

1. 25 tiras de prueba para histamina
2. 25 recipientes de muestra
3. 1 botella de diluyente de muestra
4. 25 recipientes rojos de dilución

MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROPORCIONADOS

1. Cilindro graduado (producto NEOGEN 9368)
2. Botellas para extracción de muestras, 250 mL (producto NEOGEN 9399)
3. Tubos para recolección de muestras (producto NEOGEN 9421)
4. Licuadora (producto NEOGEN 9493, 9477)
5. Balanza capaz de pesar 10–50 gramos (producto NEOGEN 9427)
6. Pipeteador, 100 µL (producto NEOGEN 9272, 9278, 9276)
7. Puntas de pipeta (producto NEOGEN 9410, 9407, 9417)
8. Pipeteador, 1000 µL, (producto NEOGEN 9337)

9. Puntas de pipeta (producto NEOGEN 9464,9487)
8. Toallas de papel o un material absorbente equivalente
9. Gradilla para recipientes de muestra Reveal (producto NEOGEN 9475)
10. Cronómetro (producto NEOGEN 9426)
11. Marcador impermeable
12. Agua destilada o desionizada

PRECAUCIONES

1. Las tiras de prueba deben permanecer en el tubo a prueba de humedad suministrado antes de uso.
2. Almacene el kit de prueba a temperatura ambiente (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 todos 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 cristalería limpia para cada muestra y lávela completamente entre las muestras.
6. No se debe utilizar cristalería para la extracción. La histamina puede adherirse al vidrio, por lo tanto, usar cristalería puede afectar los resultados de la prueba.

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 esté homogéneo. 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, desde la parte posterior de la aleta pectoral, hasta la mitad del orificio anal y una posterior al orificio anal. Deshuese los filetes y licue o muele las muestras juntas hasta homogeneizarlas. Almacene las muestras a 2–8°C (35–46°F) hasta el análisis.

EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Añada 10 g de la mezcla homogénea a una botella de extracción limpia que contenga 190 mL de agua destilada o desionizada.
2. Cierre bien y agite vigorosamente por **15–20 segundos** para suspender el tejido del pescado en el agua.
3. Espere aproximadamente **5 minutos** y luego agite la botella por **15–20 segundos** para resuspender el tejido del pescado en el agua.
4. Espere otros **5 minutos** y agite nuevamente la botella por **15–20 segundos**. Permita que el tejido se asiente por **30 segundos**. La muestra está lista para la dilución del extracto.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Retire el número adecuado de recipientes transparentes de muestra y recipientes rojos de dilución, y colóquelos en una gradilla de recipientes de muestra.
2. Agregue 100 μL de extracto de la muestra a cada recipiente rojo de dilución.
3. Agregue 1000 μL de diluyente de muestra al recipiente rojo de dilución. Mezcle bien aspirando y expulsando con una pipeta 5 veces.
4. Transfiera 100 μL de extracto de muestra diluido a un recipiente transparente de muestra.
5. Coloque una nueva tira de prueba Reveal para Histamina con el extremo de la muestra dentro del recipiente de muestra y ajuste el cronómetro a 5 minutos. Asegúrese de que la tira haga contacto con el líquido y que comience a difundir.
6. Permita que la tira de prueba se revele en el recipiente de muestra durante 5 minutos.
7. Retire la tira y lea los resultados visualmente, sosteniendo la tira a la altura de su línea de visión. La tira se debe leer antes de 30 segundos después de finalizar la incubación de 5 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultado negativo:

Si la intensidad de la línea de prueba es mayor o igual que la línea de control, la muestra está por debajo del límite de detección (menos de 50 ppm de histamina).

NOTA: La presencia de la línea de control, independientemente de la intensidad, indica una prueba válida.

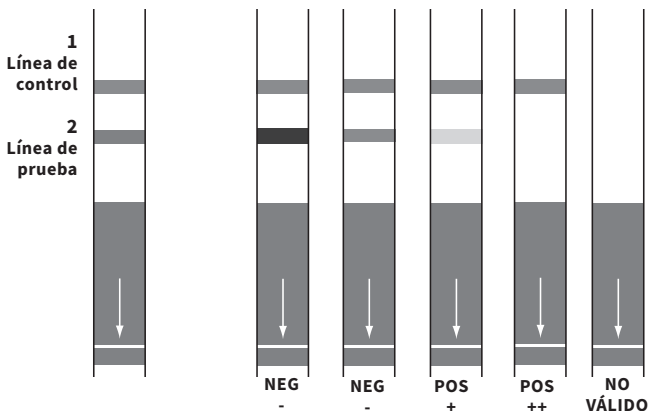
Resultado positivo:

Si la intensidad de la línea es menor que la línea de control, la muestra está por encima del límite de detección (más de 50 ppm de histamina).

Si la línea de prueba está ausente, y la línea de control está presente, la muestra se interpreta como altamente positiva.

Resultado inválido:

Si la línea de control está ausente, la prueba no es válida.



NOTAS:

1. Las observaciones deben realizarse inmediatamente después del desarrollo de 5 minutos. Las observaciones después de 5 minutos pueden ser inexactas debido al sobredesarrollo del dispositivo.
2. Los positivos se pueden confirmar con el kit cuantitativo Reveal® Q+ para Histamina, Veratox para Histamina de NEOGEN o por HPLC.

MATRICES VALIDADAS

Atún y pez dorado.

SERVICIO AL CLIENTE

Puede contactar los Servicios Técnicos y Asistencia al Cliente de NEOGEN usando la información de contacto en la parte posterior de este folleto. Entrenamiento para este producto, y para todos los kits de NEOGEN, está disponible.

INFORMACIÓN DE HOJAS DE SEGURIDAD (SDS) DISPONIBLE

Las Hojas de Seguridad (SDS) para este kit, y para todos los kits de NEOGEN, están disponibles en la página electrónica de NEOGEN neogen.com, o llamando a NEOGEN al +1 800.234.5333 o +1 517.372.9200.

TÉRMINOS Y CONDICIONES

Por favor visite neogen.com/terms-and-conditions/ para los términos y condiciones completos de NEOGEN.

GARANTÍA

NEOGEN Corporation no ofrece ningún tipo de garantía expresa o implícita, excepto que los materiales utilizados en la fabricación de los productos son de calidad estándar. Si cualquiera de sus materiales resulta defectuoso, NEOGEN proveerá un remplazo del producto. El comprador asume toda la responsabilidad y riesgos resultantes por el uso de este producto. No hay ningún tipo de garantía de comerciabilidad de este producto o de la idoneidad de éste para cualquier propósito. NEOGEN no será responsable de ningún daño, incluyendo daños especiales o consecuenciales, o de gastos derivados directa o indirectamente del uso del producto.

KITS DE PRUEBA DISPONIBLES DE NEOGEN

Toxinas naturales

- Aflatoxina, desoxinivalenol (DON), ocratoxina, zearalenona, toxina T-2/HT-2, fumonisina, histamina

Bacterias transmitidas por los alimentos

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

Saneamiento

- ATP, mohos y levaduras, recuento total en placa, *E. coli* genérico y coliformes totales, residuos proteicos

Alérgenos alimentarios

- Almendras, crustáceos, huevos, gliadina, avellana, leche, mostaza, maní, ajonjolí, soya, nuez de nogal y múltiples frutos secos

Modificación genética

- CP4 (Roundup Ready®)

Subproductos de rumiantes

- Harina de carne y huesos, pienso para animales

Identificación de especies

- Muestras de carnes crudas y cocinadas, pienso para animales



Norteamérica

Oficinas Corporativas de NEOGEN

+1 800.234.5333 (EEUU/Canadá)

foodsafety@neogen.com

NEOGEN.com

Europa, Medio Oriente y África

NEOGEN Europe

+44 (0) 1292 525 600

info_uk@neogeneurope.com

NEOGEN.com

México

NEOGEN Latinoamérica

+52 (55) 5254-8235

informacion@neogenlac.com

NEOGEN.com

Brasil

NEOGEN do Brasil

+55 19 3935.3727

info@neogendobrasil.com.br

NEOGEN.com

China

NEOGEN Bio-Scientific Technology

+86 21 6271 7013

info@neogenchina.com.cn

www.neogenchina.com.cn

India

NEOGEN Food and Animal Security

+91 484 2306598, 2301582

info@neogenindia.com

www.neogenindia.com