

***Внимательно прочитайте инструкции перед  
началом теста***



**для определения гистамина**

**ХРАНИТЬ В ХОЛОДИЛЬНИКЕ ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 2–8°C (35–46°F)  
НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ**



### **ГИСТАМИН**

Высокие уровни содержания гистамина могут развиваться у различных видов рыб по мере их разложения. К таким видам относятся тунец, махи-махи, марлин, луфарь, сардины, анчоусы, бонито, сельдь и скумбрия. Употребление гистамина может вызвать отравление скомброидом у людей, что может привести к различным симптомам, включая сыпь, тошноту, рвоту, диарею, гипотензию, учащенное сердцебиение и мышечную слабость. Сообщалось также о параличе и летальных исходах в некоторых случаях отравления скомброидом.

Из-за потенциальной опасности для человека Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) постановило, что обширные записи об охлаждении и / или тесты на гистамин должны быть включены в программу анализа рисков и критических контрольных точек (НАССР) для соответствующих видов рыб. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) установило уровень действия гистамина в отечественной и импортной рыбе на уровне 50 частей на миллион (ppm).

### **ПРИМЕНЕНИЕ**

Veratox for Histamine предназначен для количественного анализа гистамина в скомброидных видах рыб, таких как тунец, луфарь и махи-махи, рыбной муке и сухом животном белке.

## **ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ**

Тест-набор предназначен для использования персоналом по контролю качества и другими лицами, знакомыми с анализом гистамина в рыбе. Поскольку техника выполнения очень важна, операторы должны пройти обучение у представителя Neogen или у того, кто прошел обучение Neogen.

## **ХРАНЕНИЕ**

Набор можно использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении в холодильнике при температуре 2–8°C (35–46°F). Не замораживать.

## **ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА**

Veratox for Histamine — это конкурентный прямой иммуноферментный анализ (CD-ELISA), который позволяет пользователю получить точные концентрации гистамина в ppm. Свободный гистамин в образцах и контролях может конкурировать с меченым ферментом гистамином (конъюгатом) за сайты связывания антител. После этапа промывки добавляют субстрат, который вступает в реакцию со связанным конъюгатом с образованием синего цвета. Больше синего цвета означает меньше гистамина. Тест считывается в микролуночном ридере для определения оптической плотности. Оптические плотности контролей образуют стандартную кривую, а оптические плотности образцов наносятся на график относительно кривой для расчета точной концентрации гистамина.

## **ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

1. 48 микролунок, покрытых антителами
2. 48 лунок красных для смешивания
3. 6 флаконов с контрольными образцами гистамина 0, 2,5, 5, 10, 20 и 50 ppm с желтой этикеткой
4. 1 флакон раствора конъюгата гистамин-HRP с синей этикеткой.
5. 1 пакет из фольги с концентратом буфера для разбавления экстракта образца с 10 мМ сухого порошка PBS.
6. 1 флакон 40 мл концентрата промывочного буфера 10 мМ PBS-Tween.
7. 1 флакон раствора K-Blue<sup>®</sup> Субстрата с зеленой этикеткой.
8. 1 бутылка с красной этикеткой стоп-реагента.

## **МАТЕРИАЛЫ РЕКОМЕНДУЕМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ**

1. Набор Veratox для извлечения гистамина (Neogen арт. 9510) — содержит 38 флаконов, 38 шприцев с фильтром и 38 пробирок.
2. Одноразовые флаконы емкостью 125 мл (Neogen арт. 9398)
3. Шприцы с фильтром для гистамина (Neogen арт. 9420H), фильтровальная бумага Whatman #1 (Neogen, арт. 9340), центрифуга или аналог.
4. Пробирки для сбора проб (Neogen, арт. 9421, 9421B)
5. Мерный цилиндр на 100 мл.
6. Блендер
7. Штатив для пробирок (Neogen арт. 9440)
8. Пробирки 15 мл, градуированные (Neogen арт. 9474).
9. Весы, способные взвешивать 10–50 граммов (Neogen арт. 9427).
10. Микропланшетный ридер с фильтром 650 нм (Neogen арт. 9303)
11. Пипетка, 12-канальная (Neogen арт. 9273)
12. Пипетка, 100 мкл (Neogen арт. 9272)

13. Наконечники для 12-канальных пипеток и пипеток на 100 мкл (Neogen арт. 9410, 9407, 9417)
14. Бумажные полотенца или аналогичный абсорбирующий материал.
15. Держатель для микролунок (Neogen арт. 9402)
16. Таймер (Neogen арт. 9426)
17. Водостойкий маркер
18. Промывочная бутылка (Neogen арт. 9400)
19. Бутылка 1 л с крышкой (Neogen арт. 9472)
20. 2 лодочки для реагентов для 12-канального дозатора (Neogen арт. 9435)
21. Дистиллированная или деионизированная вода.

### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Храните тестовый набор при температуре 2–8°C (35–46°F), когда он не используется.
2. Не используйте компоненты набора по истечении срока годности.
3. Стеклопосуда не должна использоваться для экстракции. Гистамин может прилипнуть к стеклу, поэтому использование стеклянной посуды может повлиять на результаты теста.
4. Не смешивайте реагенты из набора с одним серийным номером с реагентами из набора с другим серийным номером.
5. Не запускайте более 24 лунок за тест.
6. Соблюдайте правильную технику пипетирования, в том числе заполняйте наконечники, заполняя и дозируя раствор один раз перед использованием.
7. Использование значений времени инкубации, отличных от указанных, может привести к неточным результатам.
8. Наборы должны быть доведены до температуры 18–30°C (64–86°F) перед использованием.
9. Избегайте длительного хранения наборов при температуре окружающей среды.
10. Не замораживайте тест-наборы.
11. Во избежание перекрестного загрязнения используйте чистые наконечники пипеток для каждого образца.
12. Товарные экстракты перед тестированием должны иметь рН 6–8. Чрезмерно кислые или щелочные образцы следует отрегулировать. Для получения инструкций по настройке рН свяжитесь с Neogen.

### ПРИМЕЧАНИЯ К ПРОЦЕДУРЕ АНАЛИЗА

1. **Субстрат.** K-Blue Субстрат готов к использованию. Субстрат должен иметь цвет прозрачный или светло-голубой. Утилизируйте субстрат, если он стал темно-синим. Налейте в лодочку для реагентов только необходимый объем субстрата. **Не возвращайте неиспользованный субстрат в бутылку.** Накройте лодочку с реагентом, чтобы субстрат был защищен от света, пока он не используется.

2. **Контрольные образцы.** В комплект входит шесть контрольных образцов. Neogen рекомендует использовать комбинацию из не менее 5 контролей для каждого анализа. Эта комбинация может варьироваться на усмотрение лаборанта. Одной из возможных комбинаций является исключение контроля с концентрацией 5 ppm, чтобы получить полные количественные результаты испытаний в диапазоне от 2,5 до 40 ppm. Второй вариант – исключение контроля 2,5 ppm, чтобы получить результаты в диапазоне от 5 до 40 ppm. Все 6 контролей можно использовать с ридером для планшетов для полного количественного

определения гистамина в диапазоне от 2,5 до 40 ppm. При необходимости свяжитесь с Neogen для получения дополнительной информации.

3. **Буфер для разбавления экстракта образца.** Чтобы приготовить рабочий раствор буфера, добавьте содержимое пакеты с экстрактивным буфером в 1 л дистиллированной или деионизированной воды. Встряхните, чтобы перемешать. Храните оставшийся буфер закрытым при комнатной температуре.

4. **Промывочный буфер.** Промывочный буфер поставляется в виде 25-кратного концентрата. Чтобы приготовить рабочий раствор, нужно смешать 40 мл концентрата промывочного буфера с 960 мл дистиллированной или деионизированной воды. Аккуратно перемешайте содержимое сосуда. Не трясите. Храните готовый промывочный буфер при комнатной температуре.

5. **Лунки с антителами.** Храните лунки запечатанными в пакете из фольги. Извлекайте лунки из пакета из фольги только после пробоподготовки непосредственно перед началом анализа.

## ПРОБОПОДГОТОВКА

### А. Консервированный и пакетированный тунец: АОАС 937.07b

Поместите все содержимое банки или пакета (мясо и жидкость) в блендер. Смешайте до однородности. Храните образцы при температуре 2–8°C (35–46°F) до проведения анализа.

### В. Свежая или размороженная сырая рыба: АОАС 937.07a.

Очистите и выпотрошите три рыбы. Отрежьте три куса поперечного сечения толщиной 2,5 см (1 дюйм) от задней части грудного плавника, на полпути к вентиляционному отверстию и один сзади от дыхательного отверстия. Очистите ломтики от костей и смешайте или измельчите объединенные образцы до однородности. Храните образцы при температуре 2–8°C (35–46°F) до проведения анализа.

### С. Сухие образцы (пример: рыбная мука)

Образец, подлежащий тестированию, должен быть отобран в соответствии с принятыми методами отбора образцов и должен быть репрезентативным для партии. После гомогенизации измельчите часть образца (минимум 200 г) так, чтобы не менее 95% измельченного материала прошло через сито 20 меш (размер частиц примерно равен эспрессо).

## ЭКСТРАКЦИЯ ОБРАЗЦА

При использовании набора Neogen Veratox для извлечения гистамина (арт. 9510 Neogen) следуйте инструкциям в этом наборе. В противном случае продолжите выполнение следующих инструкций. **ПРИМЕЧАНИЕ.** Стеклопосуду нельзя использовать для экстракции, так как гистамин может остаться на стекле.

### Жидкие/влажные образцы

1. Добавьте **10 г** гомогенизированной смеси в чистую одноразовую ёмкость для экстракции, содержащую **90 мл** дистиллированной или деионизированной воды.

2. Плотно закройте крышкой и энергично встряхивайте в течение **15–20 секунд**, чтобы ткани рыбы плавали во всем объеме воды.

3. Подождите примерно **5 минут**, затем встряхивайте бутылку в течение **15–20 секунд**, чтобы ткани рыбы снова плавали во всем объеме воды.

4. Подождите еще **5 минут** и снова встряхните бутылку в течение **15–20 секунд**, чтобы ткани рыбы снова плавали во всем объеме воды. Дайте тканям осесть на дно бутылки примерно на **30 секунд**.

5. При необходимости отфильтруйте содержимое через складчатый бумажный фильтр или шприцевой фильтр для гистамина (Neogen #9420H) в чистый контейнер. Теперь образец готов к разбавлению.

**АЛЬТЕРНАТИВА:** Отцентрифугируйте образец и используйте прозрачный супернатант в качестве образца для разбавления экстракта.

### **Сухие образцы**

1. Добавьте **10 г** гомогенной смеси в чистую одноразовую экстракционную бутылку, содержащую 100 мл дистиллированной или деионизированной воды.

2. Плотно закройте бутылку и энергично встряхните ее в течение **15–20 секунд**, чтобы образец растворился в воде.

3. Подождите примерно **5 минут**, затем встряхните бутылку в течение **15–20 секунд**, чтобы повторно взвесить образец.

4. Подождите еще **5 минут** и снова встряхните бутылку в течение **15–20 секунд**, чтобы ресуспендировать образец. Дайте образцу осесть на дно бутылки примерно на **30 секунд**.

5. При необходимости отфильтруйте содержимое через складчатый бумажный фильтр или шприцевой фильтр для гистамина (Neogen #9420H) в чистый контейнер. Теперь образец готов к разбавлению экстракта.

**АЛЬТЕРНАТИВА:** Отцентрифугируйте образец и используйте прозрачный супернатант в качестве образца для разбавления экстракта.

### **РАЗВЕДЕНИЕ ЭКСТРАКТА ОБРАЗЦА**

Из-за чувствительности формата ИФА экстракт образца необходимо развести перед проведением теста (см. Процедурное примечание 3 для подготовки буфера для разведения экстракта образца).

1. Добавьте 10 мл буфера для разбавления экстракта образца в чистую пробирку или бутылку.

2. С помощью чистого наконечника пипетки добавьте 100 мкл экстракта в буфер для разбавления экстракта образца. Аккуратно перемешайте.

3. Теперь образец готов к тестированию. Повторите для всех образцов.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Для оптимальной работы с заведомо высокими концентрациями выше 40 ppm рекомендуется дальнейшее разбавление экстракта образца с использованием буфера для разбавления. Начните с разведения 1:1, затем проведите анализ. Повторяйте разведение до тех пор, пока ваш результат (до умножения на коэффициент разведения) не будет меньше 40 ppm. Скорректированные значения требуют умножения на 2х для общего количества повторений X этих дополнительных разведений 1:1. Образцы должны быть протестированы в течение 4 часов после экстракции.

### **ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА**

Перед использованием дайте всем реагентам нагреться до 18–30°C (64–86°F).

1. Возьмите по 1 красной лунке для смешивания для каждого тестируемого образца, а также 5 красных лунок для контролей и поместите в держатель лунок.

2. Возьмите такое же количество лунок, покрытых антителами. Верните лунки с антителами, которые не будут использоваться в упаковку из фольги с влагопоглотителем. Запечатывайте упаковку из фольги. Отметьте один конец полоски цифрой «1» и поместите

полоску в держатель лунок так, чтобы отмеченный конец был слева. Не делайте отметок внутри или на дне лунок.

3. Перед использованием встряхните каждый реагент.

4. Добавьте по 100 мкл конъюгата из флакона с синей маркировкой в каждую лунку для смешивания с красной маркировкой.

5. Контроли (см. примечание к процедуре анализа 2) поставляются готовыми к использованию — не разбавляйте их. Используя новый наконечник пипетки для каждого образца, перенесите по 100 мкл контролей и разведенных образцов в красные лунки для смешивания, как показано на рисунке:

Если вы анализируете гистамин в диапазоне от 2,5 до 40 ppm:

0	2.5	10	20	50	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Стрип 1
S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	Стрип 2

Если вы анализируете гистамин в диапазоне от 5 до 40 ppm:

0	5	10	20	50	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Стрип 1
S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	Стрип 2

6. С помощью 12-канального дозатора перемешайте жидкость в лунках, пипетируя вверх и вниз 3 раза. Перенесите 100 мкл в лунки, покрытые антителами.

7. Инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре 18–30°C (64–86°F), перемешивая в течение первых 10–20 секунд, перемещая микропланшет назад и вперед по плоской поверхности, не разбрызгивая реагенты из лунок. Утилизируйте красные лунки для смешивания.

8. Встряхните содержимое лунок с антителами. Заполните каждую лунку с антителами разбавленным промывочным буфером и вылейте его. Повторите эту процедуру 3 раза, затем переверните лунки вверх дном и вытряхните оставшуюся жидкость на впитывающую салфетку.

9. Налейте необходимый объем субстрата из флакона с зеленой маркировкой в лодочку для реагентов с зеленой маркировкой и новыми наконечниками на 12-канальном пипетке внесите в лунки по 100 мкл субстрата.

10. Инкубируйте в течение 10 минут при комнатной температуре 18–30°C (64–86°F), перемешивая в течение первых 10–20 секунд, скользя планшетом вперед и назад по плоской поверхности. Удалите оставшийся субстрат и промойте лодочку с реагентом водой.

11. Налейте стоп-реагент из бутылки с красной этикеткой (такой же объем, что и субстрат) в лодочку для реагентов. Используя те же наконечники пипеток на 12-канальном дозаторе, которые использовались для дозирования субстрата, добавьте по 100 мкл в каждую лунку и перемешайте, скользя планшетом вперед и назад по плоской поверхности.

12. Протрите дно микролунок сухой тканью или полотенцем и измерьте оптическую плотность в микропланшетном ридере с использованием фильтра 650 нм и программного обеспечения Neogen Veratox, сравнивая со стандартной кривой для расчета результатов. Пузырьки воздуха следует удалять, так как они могут повлиять на результаты анализа. Результаты должны быть прочитаны в течение 20 минут после завершения теста.

13. Все материалы безопасно утилизируйте.

## ПОВТОРНЫЙ АНАЛИЗ

Если вы анализировали продукт, который ранее не анализировался данным тестом, и получили положительный результат, подтвердите его с помощью дополнительного утвержденного метода, прежде чем предпринимать какие-либо действия. Результаты между 2,5 и 40 ppm являются количественными. Для оптимальной работы результаты более 40 ppm

должны быть разбавлены 1:1 буфером для разбавления экстракта, как описано в разделе «Разведение экстракта образца».

### **ХАРАКТЕРИСТИКИ**

**Предел обнаружения:** 2 ppm (определяется как среднее значение 10 образцов без гистамина плюс 3 стандартных отклонения)

**Предел количественного определения:** 2,5 ppm (описывается как самая низкая точка концентрации на калибровочной кривой, при которой этот тест может надежно определять гистамин)

**Диапазон количественного определения:** 2,5–40 частей на миллион (для оптимальной работы результаты, превышающие 40 частей на миллион, требуют дальнейшего разбавления; дополнительные инструкции см. в разделе «Разведение экстракта образца»).

**Утвержденные матрицы:** свежий, консервированный и пакетированный тунец в масле или воде\*, махи-махи, луфарь и рыбная мука.

*\*АОАС-RI валидированные матрицы*

### **ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА КЛИЕНТОВ**

**Со службой технической поддержки** клиентов Neogen или **Вашего поставщика** можно связаться, используя контактную информацию, указанную на обороте этой брошюры. Доступно обучение работе с этим продуктом и всеми наборами для тестирования Neogen.

### **ДОСТУПНАЯ ИНФОРМАЦИЯ О SDS**

Паспорта безопасности (SDS) доступны для этого тестового набора и всех тестовых наборов Neogen на веб-сайте Neogen по адресу [foodsafety.neogen.com](http://foodsafety.neogen.com) или по телефону Neogen по телефону 800/234-5333 или 517/372-9200.

### **УСЛОВИЯ И ПОЛОЖЕНИЯ**

Полные условия использования Neogen см. на странице [www.neogen.com/en/terms-and-conditions](http://www.neogen.com/en/terms-and-conditions).

### **ГАРАНТИЯ**

Корпорация Neogen не дает никаких явных или подразумеваемых гарантий, за исключением того, что материалы, из которых изготовлена ее продукция, имеют стандартное качество. Если какие-либо материалы имеют дефекты, Neogen предоставит замену продукта. Покупатель принимает на себя все риски и ответственность, связанные с использованием данного продукта. Нет никаких гарантий товарной пригодности этого продукта или пригодности продукта для каких-либо целей. Neogen не несет ответственности за какой-либо ущерб, в том числе фактический или косвенный ущерб, или расходы, возникающие прямо или косвенно в результате использования этого продукта.



**North America**  
**Neogen Headquarters**  
800/234-5333 (USA/Canada)  
foodsafety@neogen.com  
foodsafety.neogen.com

**Europe, Middle East and Africa**  
**Neogen Europe**  
+ 44 (0) 1292 525 600  
info\_uk@neogeneurope.com  
www.neogeneurope.com

**Mexico**  
**Neogen Latinoamerica**  
+52 (55) 5254-8235  
informacion@neogenlac.com  
www.neogenlac.com

**Brazil**  
**Neogen do Brasil**  
+55 19 3935.3727  
info@neogendobrasil.com.br  
www.neogendobrasil.com.br

**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

©Neogen Corporation, 2015. Neogen, Veratox and K-Blue are registered trademarks of Neogen Corporation. All other brand and product names are trademarks or registered trademarks of their respective companies.

**Поставщик в России:**  
**ООО "НеоТест"**  
ул. Раstopчина, 1Г, г. Владимир  
+7 499 911 02 01  
info@neo-test.ru  
[www.neo-test.ru](http://www.neo-test.ru)

**Техническая поддержка**  
support@neo-test.ru  
+7 499 444 05 50



**Поставщик в Беларуси:**  
**ОДО "КомПродСервис"**  
ул. Филимонова, 25Г, г. Минск  
+375 17 336 50 54  
info@komprod.com  
[www.komprod.com](http://www.komprod.com)

**Техническая поддержка**  
support@komprod.com  
+375 17 336 50 54

