

Read instructions carefully before starting test

**Veratox[®]**
for Zearalenone
Quantitative Test

REFRIGERATE AT 2-8°C • DO NOT FREEZE

THE TOXIN

Zearalenone is primarily produced by the mold *Fusarium graminearum*, which also commonly produces deoxynivalenol. Hence, there is evidence that if zearalenone is detected, there is a high probability that other fusarial mycotoxins may be present. Zearalenone is classified as an estrogenic mycotoxin because it frequently causes estrogenic responses in animals.

When zearalenone-contaminated feed or grain is eaten by livestock, it can cause a wide variety of reproductive problems. In swine, it causes vulvovaginitis, low birth weights, fetal reabsorption, aborted pregnancies, reduced litter sizes, abnormal estrus and feminization of immature males. Zearalenone can delay the breeding process and cost the producer significant economic and physical losses.

Livestock producers are becoming increasingly aware of zearalenone problems, and have looked for ways to reduce risks related to contaminated feed.

The best protection against mycotoxins is monitoring for their presence in feeds and foods. That means testing all along the pathway from initial harvest of grains to the finished product.

INTENDED USE

Veratox for Zearalenone is intended for the quantitative analysis of zearalenone in such commodities as corn, wheat, oats, barley, pet food and DDGS.

INTENDED USER

The test kit is designed for use by quality control personnel and others familiar with food and feed possibly contaminated by zearalenone. Since technique is very important, operators should be trained by a Neogen representative or someone who has successfully completed the Neogen training.

ASSAY PRINCIPLES

Veratox for Zearalenone is a competitive direct ELISA in a microwell format which allows the user to obtain exact concentrations in parts per billion (ppb). Free zearalenone in the samples and controls is allowed to compete with enzyme-labeled zearalenone (conjugate) for the antibody binding sites. After a wash step substrate is added, which reacts with the bound conjugate to produce blue color. More blue color means less zearalenone. The test is read in a microwell reader to yield optical densities. The optical densities of the controls form the standard curve, and the sample optical densities are plotted against the curve to calculate the exact concentration of zearalenone.

STORAGE REQUIREMENTS

The kit can be used until the expiration date on the label when stored refrigerated at 2-8°C (35-46°F).

MATERIALS PROVIDED

1. 48 antibody-coated microwells
2. 48 red-marked mixing wells
3. 5 yellow-labeled bottles of 0, 25, 75, 150 and 500 ppb zearalenone controls (see precautions for handling of methanol solution)
4. 1 blue-labeled bottle of zearalenone-HRP conjugate solution
5. 1 green-labeled bottle of K-Blue® Substrate solution
6. 1 red-labeled bottle of Red Stop solution
7. Directions for use

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Extraction materials (items c through e are available in kit form from Neogen, item 8052):
 - a. 70% methanol (ACS Grade, Neogen item 8055, 8056)
 - b. 250 mL graduated cylinder (Neogen item 9368)
 - c. Container with 125 mL capacity (Neogen item 9428)
 - d. Neogen filter syringes, Whatman #1 filter paper, or equivalent (Neogen item 9420, 9430)
 - e. Sample collection tubes (Neogen item 9421)
 - f. Sample dilution tubes 5-10mL (Neogen item 9468)
2. Agri-Grind grinder or equivalent (Neogen item 9401, 9453)
3. Scale capable of weighing 2-25 grams (Neogen item 9427)
4. Microwell reader with a 650 nm filter (Neogen item 9303)
5. Pipettor, 12-channel (Neogen item 9273)
6. Pipettor, 100 μ L (Neogen item 9290)
7. Pipette tips for 100 μ L and 12-channel pipettors (Neogen item 9410, 9407, 9417)
8. Paper towels or equivalent absorbent material
9. Plastic 1/2 gallon bucket for use as waste receptacle
10. Microwell holder (Neogen item 9402)
11. Timer (Neogen item 9426)
12. Waterproof marker
13. Wash bottle (Neogen item 9400)
14. 2 reagent boats for 12-channel pipettor (Neogen item 9450)
15. Distilled or deionized water

PRECAUTIONS

1. Methanol solution is highly flammable. Keep container tightly closed, and keep away from heat, sparks, open flame and those smoking. It is toxic if swallowed, or if vapor is inhaled. Avoid contact with skin.
2. Store test kit between 2-8°C (35-46°F) when not in use. Do not freeze.
3. Do not use kit components beyond expiration date.
4. Do not mix reagents from one kit serial with reagents from a different kit serial.
5. Do not run more than 24 wells at one time.
6. Follow proper pipetting techniques, including the proper priming of tips.
7. Incubation times other than those specified may give inaccurate results.
8. Kits should be at room temperature 18-30°C (64-86°F) prior to use.
9. Avoid prolonged storage of kits at ambient temperatures.
10. Treat all used liquids, including sample extract, and labware as if contaminated with zearalenone. Gloves and other protective apparel should be worn at all times.
11. To avoid cross-contamination, use clean pipette tips and glassware for each sample, and thoroughly detoxify and wash all glassware between samples.
12. Commodity extracts should have a pH of 6-8 before testing. Excessively acidic or alkaline samples should be adjusted. For instructions on adjusting pH contact your Neogen representative or Technical Services.

PROCEDURAL NOTES

1. **Substrate:** K-Blue Substrate is ready for use. The substrate should be clear to a very light blue—discard if it has turned dark blue. Only pour the needed volume of substrate into a reagent boat. **Do not return unused substrate to the bottle.** Cover the reagent boat to keep the substrate protected from light until it is needed.
2. **Antibody wells:** Keep wells sealed in the foil pouch until needed. Remove wells from the foil pouch only after samples are extracted and the test procedure is set to begin.

SAMPLE PREPARATION AND EXTRACTION

The sample to be tested should be collected according to accepted sampling techniques. The sample should be ground and thoroughly mixed prior to proceeding with the extraction. Store samples at 2-8°C (35-46°F) until analyzed. **Note:** If you are using Neogen's Mycotoxin Extraction Kit, follow the instructions in that kit for the extraction procedure. If you are preparing your own extraction solution, continue with the instructions that follow.

1. If not using Neogen's prepared solution, prepare a 70% methanol solution by mixing 7 parts ACS Grade methanol with 3 parts distilled or deionized water for each sample to be tested.
2. Obtain a representative sample. Grind the entire sample so that at least 75% of the ground material passes through a 20 mesh sieve, the particle size of a fine instant coffee.
3. Extract at a ratio of 1 part sample with 5 parts 70% methanol. Example: Add 5 grams of ground sample to 25 mL of 70% methanol/water and shake vigorously for 3 minutes, or blend for 2 minutes.
4. Filter the extract by pouring at least 5 mL through a Whatman #1 filter (or Neogen filter syringe) and collecting the filtrate as a sample.
5. Dilute sample extract 1:5 in water by mixing 1 mL of sample extract with 4 mL of distilled water in a clean sample dilution tube.
6. The sample is now ready for testing.

TEST PROCEDURE – FOR QUANTITATION

Allow reagents to warm to room temperature 18-30°C (64-86°F) prior to use.

1. Remove 1 red-marked mixing well for each sample to be tested plus 5 red-marked wells for controls, and place in the well holder.
2. Remove an equal number of antibody-coated wells. Return antibody wells which will not be used immediately to the foil pack with desiccant and reseal the pack to protect the antibody. Mark one end of strip with a "1", and place strip in the well holder with the marked end on the left.
3. Mix each reagent by swirling the reagent bottle prior to use.
4. Place 100 µL of conjugate from the blue-labeled bottle in each red-marked mixing well.
5. Using a new pipette tip for each, transfer 100 µL of controls and diluted samples to the red-marked mixing wells as shown below.

0	25	75	150	500	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Strip 1
S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	Strip 2

6. Using a 12-channel pipettor, mix the liquid in the wells by pipetting it up and down 3 times. Transfer 100 µL to the antibody-coated wells. Mix by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface for 10 seconds without splashing the reagents from the wells. Incubate for **5 minutes** at room temperature 18-30°C (64-86°F). Discard the red-marked mixing wells.
7. The initial reaction is now complete. Shake out the contents of the antibody wells.
8. Fill each antibody well with distilled or deionized water and dump them out. Repeat this step 5 times, then turn the wells upside down and tap out on a paper towel until the remaining water has been removed.
9. Pour the needed volume of substrate from the green-labeled bottle into the green-labeled reagent boat and, with new tips, pipette 100 µL of substrate into the wells and mix by sliding back and forth on a flat surface for 10 seconds. Incubate **5 minutes**. Discard remaining substrate and rinse the reagent boat with water.
10. Pour Red Stop solution from the red-labeled bottle (same volume as prepared for substrate) into the red-labeled reagent boat. Using the same pipette tips as were used to dispense substrate, add 100 µL Red Stop to each well and mix by sliding back and forth on a flat surface. Discard the tips.

11. Wipe the bottom of the microwells with a dry cloth or towel and read in a microwell reader using a 650 nm filter. Air bubbles should be eliminated, as they could affect analytical results. Results should be read within 20 minutes after the addition of Red Stop.
12. Read and calculate results using Neogen's Stat Fax microwell reader, or equivalent. If using an EL301 reader or other strip/plate reader, calculate results using Neogen's Veratox for Windows software.

TEST PROCEDURE – FOR SCREENING

Allow reagents to warm to room temperature, 18-30°C (64-86°F), prior to use.

1. Remove 1 red-marked mixing well for each sample to be tested plus 1 red-marked well for the control, and place in the well holder.
2. Remove an equal number of antibody-coated wells. Return antibody wells which will not be used immediately to the foil pack with desiccant and reseal the pack to protect the antibody. Mark one end of strip with a "1", and place strip in the well holder with the marked end on the left.
3. Mix each reagent by swirling the reagent bottle prior to use.
4. Place 100 µL of conjugate from the blue-labeled bottle in each red-marked mixing well.
5. **Choose one control** level to screen samples against for each test performed. Using a new pipette tip for each, transfer 100 µL of the diluted samples and chosen control to the red-marked mixing wells as shown below. Thoroughly mix the sample and control with the conjugate as you add them to the well by depressing the plunger 5 times. Do not use more than 6 wells at one time.

Control	S1	S2	S3	S4	S5
---------	----	----	----	----	----

6. Using a new tip for each, transfer 100 µL from each mixing well to the corresponding antibody-coated well. Mix by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface for 10 seconds without splashing the reagents from the wells. Incubate for **5 minutes** at room temperature, 18-30°C (64-86°F).
7. The initial reaction is now complete. Shake out the contents of the antibody wells.
8. Fill each antibody well with distilled or deionized water and dump them out. Repeat this step 5 times, then turn the wells upside down and tap out on a paper towel until the remaining water has been removed.
9. Pipette 100 µL of substrate into each well and mix by sliding back and forth on a flat surface for 10 seconds. Incubate **5 minutes**.
10. Pipette 100 µL Red Stop to each well and mix by sliding back and forth on a flat surface. Discard the tip.
11. Wipe the bottom of the microwells with a dry cloth or towel.
Microwells may be read visually or using a 650 nm filter. If the sample well is blue or more blue than the control well, the sample contains less toxin than the control. If the sample well shows less blue color (more red color) than the control, the sample contains more toxin than the control. For optimum observation of color differences, place the wells on a white surface and read looking down through the solution.

RETESTING

If positives occur in commodities not previously tested, confirm with an additional approved method prior to taking action.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Limit of detection: 10 ppb (Determined by the mean average of 10 zearalenone free samples plus 2 standard deviations.)

Limit of quantitation: 25 ppb (Described as the lowest concentration point on the calibration curve that this test can reliably detect zearalenone.)

Range of quantitation: 25-500 ppb (For quantitating samples above 500 ppb contact Neogen Technical Services for dilution instructions.)

Validated matrixes: Barley, corn, corn gluten meal*, corn silage, DDGs*, oats, oat flour, oat hulls*, oats (naked), pea fiber, pet food*, popcorn, potato, rice, rice (brown), rice flour (white), rice hulls, rye, soybean meal, tapioca, wheat, wheat bran*.

*Commonly acidic and may require a pH adjustment.

NOTE: Neogen continues to validate new commodities. Please contact a representative for the latest validated commodity list.

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 Food Safety test kits, on Neogen's Web site at 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.

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 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.

TESTING KITS AVAILABLE FROM NEOGEN

Natural Toxins

- Aflatoxin, DON, Ochratoxin, Zearalenone, T-2/HT-2 Toxin, 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

- Peanuts, Milk, Eggs, Almonds, **Gluten, Soy, Hazelnut**

Genetic Modification

- CP4 (Roundup Ready®)

Ruminant By-products

- Meat and Bone Meal, Feed



North America

Neogen Headquarters

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

Europe, Middle East and Africa

Neogen Europe

The Dairy School, Auchincruive, Ayr
KA6 5HU Scotland, UK
+ 44 (0) 1292 525 600
Fax: + 44 (0) 1292 525 601
info_uk@neogeneurope.com
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 • 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 • www.neogen.com

©Neogen Corporation, 2015. Neogen, Agri-Screen, 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.

1527D

V-Zear_ES_0115

Lea las instrucciones cuidadosamente antes de realizar la prueba

Veratox[®] para Zearalenona

Análisis Cuantitativo

REFRIGÉRESE A 2–8 °C — NO CONGELAR

LA TOXINA

El principal productor de zearalenona es el moho *Fusarium graminearum*, que también produce habitualmente deoxinivalenol. Por consiguiente, hay evidencia de que si se detecta zearalenona, existe una alta probabilidad de la presencia de otras micotoxinas del género fusarium. La zearalenona se clasifica como una micotoxina estrogénica, debido a que suele provocar respuestas estrogénicas en los animales.

Cuando los alimentos o granos contaminados por zearalenona son ingeridos por el ganado, puede causar una gran variedad de problemas reproductivos. En los porcinos, provoca vulvovaginitis, bajo peso al nacer, reabsorción fetal, abortos, tamaño reducido de las crías, período de celo irregular y feminización de machos inmaduros. La zearalenona puede retrasar el proceso reproductivo y de apareamiento, representado al productor de ganado pérdidas económicas y físicas significativas.

Los productores de ganado están cada vez más conscientes de los problemas causados por la zearalenona y han buscado maneras de reducir los riesgos relacionados con los alimentos para animales contaminados.

La mejor protección contra las micotoxinas es la monitorización de su existencia en alimentos para consumo humano y en alimentos o concentrados para animales. Esto significa analizar todo el proceso, desde la cosecha inicial de los granos hasta la elaboración del producto terminado.

PROPÓSITO DE USO

Veratox para Zearalenona se destina al análisis cuantitativo de la zearalenona en productos, tales como maíz, trigo, avena, cebada, alimento para animales de compañía y granos secos de destilería.

USUARIO PREVISTO

La prueba Veratox para Zearalenona ha sido diseñada para el uso por el personal responsable del control de la calidad y demás personas familiarizadas con alimentos para consumo humano y/o alimentos para animales que posiblemente estén contaminados con zearalenona. Debido a la suma importancia de la técnica, los usuarios necesitarán la capacitación impartida por un representante de Neogen o por alguien que haya completado con éxito dicha capacitación.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

La prueba Veratox para Zearalenona es un ensayo inmunoenzimático de absorción directa competitiva (CD-ELISA, por sus siglas en inglés) en un formato de micropocillos que permite al usuario obtener concentraciones exactas expresadas en partes por billón (ppb). Se permite que la zearalenona libre de las muestras y controles compita con la zearalenona enzimomarcada (el conjugado) por los sitios de absorción de los anticuerpos. Tras un lavado, se agrega un sustrato que reacciona con el conjugado adsorbido para producir el color azul. Un color más azul significa menos zearalenona. El análisis se lee en un lector de micropocillos para obtener densidades ópticas. Cuando las densidades ópticas de los controles han formado la curva típica, se traza un gráfico de las densidades ópticas de la muestra contra dicha curva para calcular la concentración exacta de zearalenona.

REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO

Este kit de prueba puede utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, si se conserva refrigerado a 2–8 °C (35–46 °F).

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. 48 micropocillos tapizados con anticuerpo
2. 48 micropocillos de mezclar marcados en rojo
3. 5 frascos con etiquetas amarillas de controles de zearalenona de 0, 25, 75, 150 y 500 ppm (consulte las precauciones para la manipulación de la solución de metanol)
4. 1 frasco con etiqueta azul de solución de conjugado de zearalenona y peroxidasa de rábano (HRP)
5. 1 frasco con etiqueta verde de solución de sustrato K-Blue[®]
6. 1 frasco con etiqueta de solución detenedora Red Stop
7. Instrucciones de uso

MATERIALES NECESARIOS (NO SUMINISTRADOS)

1. Materiales para obtención de extractos (los artículos “c” a “e” están disponibles en un equipo de Neogen, Producto Neogen 8052):
 - a. Solución de metanol al 70% (Producto Neogen 8055), o metanol de calidad ACS (Producto Neogen 8056)
 - b. Probeta graduada de 250 ml (Producto Neogen 9368)
 - c. Recipiente con capacidad para 125 ml (Producto Neogen 9428)
 - d. Jeringas filtrantes de Neogen, con papel de filtro Whatman N° 1, o equivalente (Producto Neogen 9420, 9430)
 - e. Tubos para recolección de muestras (Producto Neogen 9421)
 - f. Tubos para dilución de muestras de 5-10 ml (Producto Neogen 9468)
2. Triturador Agri-Grind o equivalente (Producto Neogen 9401, 9453)
3. Balanza o báscula con capacidad de 2 a 25 gramos (Producto Neogen 9427)
4. Lector de micropocillos con filtro de 650 nm (Producto Neogen 9303)
5. Pipeta de 12 canales (Producto Neogen 9273)
6. Pipeta de 100 µL (Producto Neogen 9272, 9290)
7. Puntas para pipetas de 100 µL y de 12 canales (Producto Neogen 9410, 9407, 9417)
8. Toallas de papel o de un material absorbente equivalente
9. Balde plástico de 1/2 galón para absorber los desperdicios
10. Soporte para micropocillos (Producto Neogen 9402)
11. Cronómetro (Producto Neogen 9426)
12. Marcador a prueba de agua
13. Piseta de lavado (Producto Neogen 9400)
14. 2 botes de reactivo para pipeta de 12 canales (Producto Neogen 9450)
15. Agua destilada o desionizada

PRECAUCIONES

1. La solución de metanol es muy inflamable. Mantenga el envase perfectamente cerrado y manténgalo alejado del calor, chispas, llamas abiertas y personas fumadoras. Este producto es tóxico si es ingerido o el vapor es inhalado. Evite el contacto con la piel.
2. Almacene el kit de prueba a una temperatura entre 2–8°C (35–46°F) cuando no lo utilice. No lo congele.
3. No utilice componentes de esta prueba después de su fecha de vencimiento.
4. No mezcle reactivos de una serie de kits con reactivos de una serie diferente.
5. No utilice más de 24 micropocillos por prueba.
6. Observe las técnicas de pipeteo apropiadas, incluyendo el cebado apropiado de las puntas.
7. El uso de tiempos de incubación diferentes a los especificados puede ocasionar resultados inexactos y lecturas erróneas.
8. Los equipos de análisis deben alcanzar una temperatura ambiental entre 18–30°C (64–86°F) antes de su uso.
9. Evite el almacenamiento prolongado de los kits de prueba a temperatura ambiente.
10. Trate todos los líquidos utilizados (incluso el extracto de muestra) y los objetos del laboratorio como si estuvieran contaminados con zearalenona. Utilice siempre guantes y demás prendas protectoras al manejar los productos.
11. Para evitar contaminaciones cruzadas, además de utilizar puntas de pipeta y recipientes de vidrio limpios para cada muestra, elimine la toxicidad y lave escrupulosamente todos los recipientes de vidrio entre una muestra y la siguiente.
12. Los productos analizados deberán tener un pH de 6–8. Las muestras excesivamente ácidas o alcalinas deben ajustarse. Por favor contacte a su representante de Neogen o al Dpto. de Servicios Técnicos para obtener instrucciones acerca del ajuste del pH.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. **Sustrato:** el sustrato azul K-Blue está listo para su uso. El color de este sustrato ha de oscilar entre transparente y azul bien claro; deséchelo, si se ha oscurecido. Vierta sólo el volumen necesario de sustrato en una cubeta de reactivo. **No devuelva al frasco el sustrato que no haya utilizado.** Cubra el bote de reactivo para proteger el sustrato de los efectos de la luz hasta que lo necesite.
2. **Micropocillos con anticuerpos:** Mantenga los micropocillos sellados en la bolsa de papel metálico hasta que los necesite. Extraiga los micropocillos de la bolsa de papel metálico sólo después de obtener los extractos de las muestras y cuando el procedimiento de análisis esté listo para empezar.

PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

La recolección de la muestra debe efectuarse según las técnicas de muestreo aceptadas. La muestra deberá triturarse y mezclarse bien antes de iniciar la obtención del extracto. Almacene las muestras a

2–8 °C (35–46 °F) hasta sean analizadas. **Nota:** Si Ud. está utilizando el equipo para la obtención de extractos de micotoxinas de Neogen, siga las instrucciones que aparecen en el equipo para el procedimiento de obtención de extractos. Si Ud. esta preparando su propia solución de extracción, proceda según las siguientes.

1. Si Ud. no está utilizando la solución preparada de Neogen, prepare una solución de metanol al 70% mezclando 7 partes de metanol de clase ACS con 3 partes de agua destilada o desionizada para cada muestra a analizar.
2. Obtenga una muestra representativa. Triture toda la muestra de manera que al menos un 75% del material triturado pase a través de un tamiz de malla 20, con partículas cuyo tamaño sea como las de un café instantáneo de grano fino.
3. Obtenga un extracto en una proporción de 1 parte de muestra por 5 partes de metanol al 70%. Ejemplo: combine 5 gramos de muestra triturada con 25 ml de metanol con agua al 70% y agítela bien durante 3 minutos o utilice una mezcladora durante 2 minutos.
4. Filtre el extracto, vertiendo al menos 5 ml a través de un filtro Whatman N° 1 (o una jeringuilla filtrante de Neogen), y recoja el líquido filtrado como muestra.
5. Diluya con agua el extracto de la muestra en una proporción de 1:5. Para ello mezcle 1 ml del extracto de la muestra con 4 ml de agua destilada en un tubo para dilución de muestras limpio.
6. La muestra está lista para ser analizada.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA – PARA CUANTIFICACIÓN

Permita que todos los reactivos alcancen una temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F) antes de utilizarlos.

1. Retire 1 micropocillo de mezclar marcado en rojo por cada muestra que deba analizarse, además de 5 micropocillos marcados en rojo para los controles, y colóquelos en el soporte para micropocillos.
2. Retire la misma cantidad de micropocillos con revestimiento de anticuerpo. Devuelva inmediatamente a la bolsa de papel metálico con desecante los micropocillos tapizados que no vaya a utilizar. Selle la bolsa para proteger el anticuerpo. Marque un extremo de la tira reactiva con un “1” y colóquela en el soporte para micropocillos con el extremo marcado a la izquierda.
3. Mezcle cada reactivo agitando vigorosamente su frasco antes de utilizarlo.
4. Vierta 100 µl del conjugado procedente del frasco con etiqueta azul en cada micropocillo de mezclar marcado en rojo.

5. Utilizando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera (como se describe seguidamente) 100 µl de controles y muestras diluidas a los micropocillos de mezclar marcados en rojo.

0	25	75	150	500	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Tira 1
S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	Tira 2

6. Utilizando una pipeta de 12 canales, mezcle el líquido de los pocillos pipeteándolo arriba y abajo tres veces. Transfiera 100 µl a los micropocillos tapizados con anticuerpo. Mézclelos deslizando el soporte hacia adelante y hacia atrás sobre una superficie plana durante 10 segundos, evitando derramarlo salpicar os reactivos contenidos en los micropocillos. Incube durante **5 minutos** a una temperatura ambiental de 18–30 °C (64–86 °F). Deseche los micropocillos de mezclar marcados en rojo.
7. Se ha completado la reacción inicial. Sacuda los micropocillos con anticuerpos para sacar su contenido.
8. Llene cada micropocillo con agua destilada o desionizada y vacíelos. Repita esta operación 5 veces, luego invierta los micropocillos y golpéelos ligeramente sobre una toalla de papel absorbente, hasta eliminar el agua restante.
9. Vierta el volumen necesario de sustrato procedente del frasco con etiqueta verde en el bote de reactivo con etiqueta verde y, con las puntas nuevas, pipetee 100 µl de sustrato en los micropocillos. Luego mézclelos deslizando los hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana durante 10 segundos. Incúbe durante **5 minutos**. Deseche el sustrato restante y enjuague con agua el bote de reactivo.
10. Vierta solución detenedora Red Stop, procedente del frasco con etiqueta roja, (mismo volumen que se preparó para el sustrato) en el bote con reactivo con etiqueta roja. Haciendo uso de las mismas puntas utilizadas para verter el sustrato, agregue 100 µL de solución detenedora Red Stop a cada micropocillo y mézclelos deslizando los hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche las puntas.
11. Pase una toalla o un paño seco por el exterior de los micropocillos y lea el resultado en un lector de micropocillos utilizando un filtro de 650 nm. Elimine las burbujas de aire, porque podrían perjudicar los resultados analíticos. Los resultados deberán leerse en un lapso no mayor de 20 minutos después de la adición de la solución detenedora Red Stop.
12. Lea y calcule los resultados con el lector de pocillos Stat Fax de Neogen, o su equivalente. Si utiliza un lector EL301 u otro lector de tiras o placas, calcule los resultados mediante el software Veratox de Neogen para Windows.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA – PARA EVALUACIÓN

Permita que todos los reactivos alcancen una temperatura ambiente de 18–30°C (64–86°F) antes de utilizarlos.

1. Retire 1 pocillo de mezclar marcado en rojo por cada muestra que deba analizarse, además de 1 micropocillo marcado en rojo para el control, y colóquelos en el soporte de pocillos.
2. Retire la misma cantidad de pocillos con revestimiento de anticuerpo. Devuelva inmediatamente a la bolsa de papel metálico con esecante los micropocillos tapizados que no vaya a utilizar. Selle la bolsa para proteger el anticuerpo. Marque un extremo de la tira reactiva con un “1” y colóquela en el soporte para micropocillos con el extremo marcado a la izquierda.
3. Mezcle cada reactivo agitando vigorosamente su frasco antes de utilizarlo.
4. Vierta 100 µL del conjugado procedente del frasco con etiqueta azul en cada micropocillo de mezclar marcado en rojo.
5. Elija un nivel de control para evaluar las muestras en comparación con cada análisis realizado. Utilizando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera (como se describe seguidamente) 100 µL de las muestras diluidas y el control elegido a los micropocillos de mezclar marcados en rojo. Al agregar al micropocillo la muestra y el control con el conjugado, mézclelos bien presionando el émbolo 5 veces. No utilice más de 6 pocillos a la vez
Control S1 S2 S3 S4 S5
6. Utilizando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera 100 µL de cada micropocillo de mezclar al micropocillo correspondiente cubierto con anticuerpo. Mézclelos deslizando hacia adelante y hacia atrás el soporte para micropocillos por 10 minutos sobre una superficie plana, evitando derramar o salpicar los reactivos contenidos en los micropocillos. Incube por 5 minutos a una temperatura ambiente de 18–30 °C (64–86 °F).
7. Se ha completado la reacción inicial. Sacuda los micropocillos para remover su contenido.
8. Llene cada micropocillo recubierto con anticuerpo con agua destilada o desionizada y vacíelos. Realice esta operación 5 veces, luego invierta los micropocillos y golpéelos ligeramente sobre una toalla de papel absorbente, hasta eliminar el agua restante.
9. Pipetee 100 µL de sustrato en cada uno de los micropocillos y mézclelos durante 10 segundos deslizando hacia atrás y adelante sobre una superficie plana. Incúbelos durante 5 minutos.
10. Pipetee 100 µL de solución detenedora Red Stop en cada uno de los micropocillos y mézclelos deslizando hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche la punta.
11. Pase una toalla o un paño seco por el exterior de los micropocillos. Los micropocillos se pueden leer visualmente o utilizando un filtro de 650 nm. Si el micropocillo de la muestra es más azul que el micropocillo de control, la muestra contiene menos toxina que el control. Si el micropocillo de la muestra es menos azul (más rojo) que el micropocillo de control, la muestra contiene más toxina que el control. Para una observación óptima de las diferencias de color, coloque los micropocillos sobre una superficie blanca y lea el resultado mirando hacia abajo a través de la solución.

REPETICIÓN DEL ANÁLISIS

Si Ud. obtiene resultados positivos en productos no analizados previamente, confírmelos mediante otro método aprobado antes de tomar alguna medida.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de la detección: 10 ppm (determinado mediante la media de 10 muestras sin zearalenona, más dos desviaciones típicas).

Límite de la cuantificación: 25 ppm (descrito como el punto de concentración más bajo de la curva de calibración en que este análisis puede detectar confiablemente la zearalenona).

Intervalo de la cuantificación: 25-500 ppm (para cuantificar muestras con más de 500 ppm, solicite las instrucciones para las diluciones a los Servicios Técnicos de Neogen).

Matrices validadas: cebada, maíz, harina de gluten de maíz, maíz ensilado (almacenado en silos), DDGs: grano seco usado en destilería con solubles*, avena, harina de avena, cascarillas de avena*, avena negra con cáscara, fibra de arvejas, alimentos o concentrados para mascotas, palomitas de maíz, papas, arroz, arroz integral, harina de arroz (blanca), cascarillas de arroz, centeno, harina de soja, tapioca, cassava o mandioca, trigo, salvado de trigo*.

*Es posible que requieran un ajuste del pH.

NOTA: Neogen continúa realizando validaciones para nuevos productos. Por favor contacte a su Representante de Neogen para obtener la lista actualizada de productos validados.

SERVICIO DE ATENCIÓN AL CLIENTE

Para obtener mayor información por favor contacte al Dpto. de Servicio al Cliente y/o al Dpto. de Servicios Técnicos localizado en la parte de atrás de este folleto. Hay disponibilidad de entrenamiento para este producto y todos los kits de Neogen.

DISPONIBILIDAD DE LAS FICHAS DE SEGURIDAD DE LOS MATERIALES (MSDS)

Ud. puede obtener las fichas de seguridad de los materiales para esta prueba analítica y para todos los kits de prueba de Neogen en 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 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 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 se hará responsable por daños y perjuicios, incluyendo daños especiales o consecuentes, o gastos derivados directa o indirectamente por el uso de este producto.

EQUIPOS ANALÍTICOS DISPONIBLES DE NEOGEN

Toxinas naturales

- Aflatoxina, Deoxinivalenol (DON), Ocratoxina, Zearalenona, Toxina T-2/HT-2, Fumonisina, Histamina

Bacterias presentes en los alimentos

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

Saneamiento

- Trifosfato de Adenosina (ATP), Mohos y Levaduras, Conteo Total de Platos, *E. Coli* Genérico y Total de Coliformes, Residuos Proteínicos

Alérgenos alimentarios

- Maní, Leche, Huevos, Almendras, Gluten, Soja, Avellana

Modificación genética

- CP4 (Roundup Ready®)

Subproductos para rumiantes

- Harina de Carne y Huesos, Alimentos o Concentrado para Animales



Norteamérica

Oficinas Corporativas de Neogen

620 Leshar Place, Lansing, MI 48912 EE.UU.
+1 800/234-5333 (EE.UU./Canadá) o +1 517/372-9200
Fax: +1 517/372-2006 • foodsafety@neogen.com
www.neogen.com

Europa, Medio Oriente y Africa

Neogen Europe

The Dairy School, Auchincruive, Ayr • KA6 5HU Scotland, UK
+ 44 (0) 1292 525 600 • Fax: + 44 (0) 1292 525 601
info_uk@neogeneurope.com • www.neogeneurope.com

México

Neogen Latinoamérica

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

Brasil

Neogen do Brasil

Rua: Alberto Guizo 760, Distrito Industrial João
Narezi, Indaiatuba – SP Brasil, Cep: 13.347-402
Tel: +55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br • www.neogen.com

©Neogen Corporation, 2015. Neogen, Agri-Screen, Veratox y K-Azul son marcas comerciales registradas de Neogen Corporation. Todas las demás marcas y nombres de productos son marcas registradas o marcas comerciales registradas de sus respectivas compañías.

1527D

V-Zear_ES_0115