

*Read instructions carefully before starting test*

# Veratox<sup>®</sup> MAX

## for Zearalenone Quantitative Test With Aqueous Extraction

*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 MAX for Zearalenone is intended for the quantitative analysis of zearalenone in such commodities as corn and wheat. The Veratox MAX for Zearalenone uses the MAX 2 Aqueous Extraction common with other Veratox MAX kits.

### 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 MAX 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<sup>®</sup> Substrate solution
6. 1 red-labeled bottle of Red Stop solution
7. 1 pink-labeled bottle of High Level diluent
8. 25 MAX 2 Aqueous Extraction packets
9. 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. MAX 2 Aqueous Extraction packets (Neogen item 8036)
  - 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. Centrifuge, mini (Neogen item 9330)
  - f. Microcentrifuge tube (Neogen item 9421)
  - g. Sample collection tubes (Neogen item 9421)
  - h. Sample dilution tubes 5–10 mL (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  $\mu$ L (Neogen item 9290)
7. Pipette tips for 100  $\mu$ 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. Store test kit between 2–8°C (35–46°F) when not in use. Do not freeze.
2. Do not use kit components beyond expiration date.
3. Do not mix reagents from one kit serial with reagents from a different kit serial.
4. Do not run more than 24 wells at one time.
5. Follow proper pipetting techniques, including the proper priming of tips.
6. Incubation times other than those specified may give inaccurate results.
7. Kits should be at room temperature 18–30°C (64–86°F) prior to use.
8. Avoid prolonged storage of kits at ambient temperatures.
9. 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.
10. To avoid cross-contamination, use clean pipette tips and glassware for each sample, and thoroughly detoxify and wash all glassware between samples.
11. 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

The sample to be tested should be collected according to accepted sampling techniques (see FGIS sampling protocol or contact your Neogen representative). Obtain a representative sample (minimum 100 g). Grind the entire sample so that at least 95% of the ground material passes through a 20-mesh sieve (about the particle size of fine espresso).

## SAMPLE EXTRACTION

1. Weigh out  $10\text{ g} \pm 0.1\text{ g}$  of sample into a container cup. Pour contents of 1 MAX 2 Aqueous Extraction Packet into the container cup.
2. Add 50 mL distilled or deionized water over the sample and extraction powder.
3. Cap tightly, then shake to moisten the entire sample. Vigorously shake, using hand or mechanical means, for three minutes. Let sample settle.
4. Filter the extract by pouring through a Whatman #4 filter, or use a filter syringe and collect a minimum of 3 mL filtrate in a sample collection tube.
5. You may also pipette 1 mL of sample into a 1.5 mL microcentrifuge tube and centrifuge for 30 seconds using the microcentrifuge.
6. Dilute the sample extract 1:10 by mixing 100  $\mu\text{L}$  sample extract with 900  $\mu\text{L}$  distilled or deionized water in a clean sample collection tube. Mix well.
7. 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  $\mu\text{L}$  of conjugate from the blue-labeled bottle in each red-marked mixing well.
5. Using a new pipette tip for each, transfer 100  $\mu\text{L}$  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 5 times. Transfer 100  $\mu\text{L}$  to the antibody-coated wells. Mix by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface for 30 seconds without splashing the reagents from the wells. Incubate for **10 minutes** at room temperature 18–30°C (64–86°F). Discard the red-marked mixing wells.
7. 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  $\mu\text{L}$  of substrate into the wells and mix by sliding

back and forth on a flat surface for 30 seconds. Incubate **5 minutes**. Discard remaining substrate and rinse the reagent boat with water.

10. Pour Red Stop solution from the red-labeled bottle into the red-labeled reagent boat. Add new tips to the 12-channel pipettor, prime the tips and pipette 100  $\mu$ L of red stop into the wells. Mix by sliding back and forth on a flat surface for 30 seconds. 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 must 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 another 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  $\mu$ L 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  $\mu$ L 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  $\mu$ L from each mixing well to the corresponding antibody-coated well. Mix by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface for 30 seconds without splashing the reagents from the wells. Incubate for **10 minutes** at room temperature, 18–30°C (64–86°F).
7. 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  $\mu$ L of substrate into each well and mix by sliding back and forth on a flat surface for 30 seconds. Incubate **5 minutes**.
10. Pipette 100  $\mu$ L 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.

## DILUTION PROCEDURE

**NOTE:** Samples greater than 500 ppb need to be diluted and retested.

1. Dilute the **original filtered sample extract 1:4** with High Level diluent from the pink-labeled bottle in a sample collection tube. For example, add 100  $\mu$ L sample extract to a sample collection tube, then add 300  $\mu$ L High Level Diluent from the pink-labeled bottle and mix well.
2. Dilute this extract 1:10 in distilled or deionized water by mixing 100  $\mu$ L sample extract with 900  $\mu$ L distilled or deionized water in a clean sample collection tube. Mix well.
3. The diluted sample is now ready for testing.

## **PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

Limit of detection: 19.5 ppb

Limit of quantitation: 25 ppb

Range of quantitation: 25–500 ppb

Validated matrices: Corn, wheat

**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.

## **SDS INFORMATION AVAILABLE**

Safety data sheets (SDS) are available for this test kit, and all of Neogen's Food Safety test kits, on Neogen's Web site at [foodsafety.neogen.com](http://foodsafety.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/en/terms-and-conditions](http://www.neogen.com/en/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 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 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, crustaceans, eggs, gliadin, hazelnut, milk, mustard, peanuts, sesame, soy, walnuts, multi-treenut

**Genetic modification**

- CP4 (Roundup Ready<sup>®</sup>)

**Ruminant by-products**

- Meat and bone meal, feed

**Species Identification**

- Raw and cooked meat samples



**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

*Lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba*

# Veratox<sup>®</sup> MAX

## para zearalenona Prueba cuantitativa con extracción acuosa

REFRIGERAR A 2–8 °C • NO CONGELE

### LA TOXINA

La zearalenona es principalmente producida por el hongo *Fusarium graminearum*, que también produce comúnmente desoxinivalenol (DON). Hay evidencia de que si se detecta zearalenona, existe una alta probabilidad de que otras toxinas de *Fusarium* puedan estar presentes. La zearalenona se clasifica como una micotoxina estrogénica, ya que causa con frecuencia respuestas estrogénicas en animales. Cuando el ganado ingiere concentrado o granos contaminados con zearalenona, puede causar una amplia variedad de problemas reproductivos. En los cerdos, causa vulvovaginitis, bajo peso al nacer, reabsorción fetal, embarazos abortados, camadas de tamaño reducido, celo anormal y feminización en los machos inmaduros. La zearalenona puede retrasar el proceso de reproducción y puede causar pérdidas económicas y físicas significativas a los productores. Los productores de ganado están cada vez más conscientes de los problemas de zearalenona y han buscado maneras de reducir los riesgos relacionados con concentrado contaminado. La mejor protección contra las micotoxinas es monitorear su presencia en los alimentos para consumo humano y en concentrados para animales, lo que significa que las pruebas deben realizarse desde la cosecha inicial de los granos hasta el producto terminado.

### USO PREVISTO

Veratox MAX para zearalenona está destinada para el análisis cuantitativo de zearalenona en productos como maíz y trigo. La prueba Veratox MAX para zearalenona utiliza la extracción acuosa MAX 2 común con otros kits Veratox MAX.

### USUARIO PREVISTO

El kit de prueba está diseñado para ser utilizado por personal de control de calidad y otros familiarizados con alimentos y piensos posiblemente contaminados con zearalenona. Dado que la técnica es muy importante, los operadores deben ser entrenados por un representante de Neogen o por alguien que haya completado exitosamente el entrenamiento de Neogen.

### FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

Veratox MAX para zearalenona es un ELISA en formato de micropocillos que permite al usuario obtener concentraciones exactas en partes por billón (ppb). Se permite que la zearalenona libre en las muestras y controles compita con la zearalenona marcada con enzima (conjugado) por los sitios de unión del anticuerpo. Luego de un paso de lavado, se añade un sustrato que reacciona con el conjugado unido para producir un color azul. Más color azul significa menos zearalenona. La prueba se lee en un lector de micropocillos para obtener densidades ópticas. Las densidades ópticas de los controles forman la curva estándar y las densidades ópticas de la muestra se trazan contra esta curva para calcular la concentración exacta de zearalenona.

### REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO

El kit se puede usar hasta la fecha de vencimiento en la etiqueta cuando se almacena refrigerado entre 2–8°C (35–46°F).

**MATERIALES SUMINISTRADOS**

1. 48 micropocillos recubiertos con anticuerpo
2. 48 micropocillos de mezcla marcados en rojo
3. 5 botellas con etiqueta amarilla de controles de zearalenona de 0, 25, 75, 150 y 500 ppb (consulte las precauciones para el manejo de la solución de metanol)
4. 1 botella con etiqueta azul de solución de conjugado de zearalenona-HRP
5. 1 botella con etiqueta verde de solución de sustrato K-Blue<sup>®</sup>
6. 1 botella con etiqueta roja de solución Red Stop
7. 1 botella con etiqueta rosa de diluyente High Level
8. 25 paquetes de extracción acuosa MAX 2
9. Instrucciones de uso

**MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO SUMINISTRADOS**

1. Materiales de extracción (los productos “c” a “e” están disponibles en un kit de Neogen, producto 8052):
  - a. Paquetes de extracción acuosa MAX 2 (producto Neogen 8036)
  - b. Cilindro graduado de 250 mL (producto Neogen 9368)
  - c. Recipiente con capacidad para 125 mL (producto Neogen 9428)
  - d. Jeringuillas con filtro Neogen, papel de filtro Whatman N° 1 o equivalente (producto Neogen 9420, 9430)
  - e. Centrífuga, mini (producto Neogen 9330)
  - f. Tubos de microcentrífuga (producto Neogen 9421)
  - g. Tubos para recolección de muestra (producto Neogen 8421)
  - h. Tubos de 5–10 mL para dilución de muestra (producto Neogen 9468)
2. Triturador Agri-Grind o equivalente (producto Neogen 9401, 9453)
3. Balanza capaz de pesar 2–25 gramos (producto Neogen 9427)
4. Lector de micropocillos con filtro de 650 nm (producto Neogen 9303)
5. Pipeteador, 12 canales (producto Neogen 9273)
6. Pipeteador, 100 µL (producto Neogen 9290)
7. Puntas de pipetas para pipeteadores de 100 µL y de 12 canales (producto Neogen 9410, 9407, 9417)
8. Toallas de papel o material absorbente equivalente
9. Balde plástico de 1/2 galón para desechar los desperdicios
10. Soporte para micropocillos (producto Neogen 9402)
11. Cronómetro (producto Neogen 9426)
12. Marcador impermeable
13. Piseta de lavado (producto Neogen 9400)
14. 2 reservorios para reactivos, para pipeteador de 12 canales (producto Neogen 9450)
15. Agua destilada o desionizada

**PRECAUCIONES**

1. Almacene el kit de prueba entre 2–8°C (35–46°F) cuando no lo utilice. No lo congele.
2. No utilice los componentes del kit después de su fecha de vencimiento.
3. No mezcle reactivos de una serie de kits con reactivos de una serie diferente.
4. No utilice más de 24 micropocillos a la vez.
5. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas, incluyendo el cebado apropiado de las puntas.
6. Usar tiempos de incubación diferentes a los especificados puede ocasionar resultados inexactos.
7. Los kits deben estar a una temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F) antes de su uso.
8. Evite el almacenamiento prolongado de los kits a temperatura ambiente.
9. Trate todos los líquidos utilizados, incluyendo el extracto de muestra, y los objetos de laboratorio como si estuvieran contaminados con zearalenona. Siempre use guantes y otra ropa protectora.
10. Para evitar contaminación cruzada, use puntas de pipeta y cristalería limpia para cada muestra, y desintoxique y lave completamente todo la cristalería entre las muestras.
11. Los extractos de productos deben tener un pH entre 6-8 antes del análisis. Se deben ajustar muestras excesivamente ácidas o alcalinas. Para obtener instrucciones sobre cómo ajustar el pH, comuníquese con su representante de Neogen o con los Servicios Técnicos.



## NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. **Sustrato:** El sustrato K-Blue está listo para usar. El sustrato debe tener un color azul claro; color de este sustrato ha de oscilar entre transparente y azul bien claro; descarte si se ha vuelto azul oscuro. Solo vierta el volumen necesario de sustrato en reservorio de reactivo. **No devuelva a la botella el sustrato que no haya utilizado.** Cubra el reservorio de reactivo para mantener el sustrato protegido de la luz hasta que sea necesario.
2. **Micropocillos con anticuerpos:** Mantenga los micropocillos sellados en el paquete de aluminio hasta que sean necesarios. Retire los micropocillos del paquete de aluminio solo después de extraer las muestras y cuando el procedimiento de análisis esté listo para empezar.

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La recolección de la muestra a analizar deberá efectuarse según las técnicas de muestreo aceptadas. (vea el protocolo de muestreo FGIS o contacte a su representante de Neogen). Obtenga una muestra representativa (mínimo de 100 g). Triture la muestra completamente hasta que por lo menos el 95% del material molido pase a través de un tamiz de malla 20 (aproximadamente del tamaño de partículas finas de café expreso).

## EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

1. Pese 10 g  $\pm$  0.1 g de la muestra en un recipiente. Vierta el contenido de 1 paquete de extracción acuosa MAX 2 en el recipiente.
2. Añada 50 mL de agua destilada o desionizada sobre la muestra y el polvo de extracción.
3. Cierre bien, luego agite para humedecer toda la muestra. Agite vigorosamente, usando las manos o medios mecánicos, durante 3 minutos. Permita que la muestra se asiente.
4. Filtre el extracto vertiéndolo a través de un filtro Whatman #4, o use una jeringuilla con filtro, y recolecte un mínimo de 3 mL de filtrado en un tubo para recolección de muestras.
5. También puede pipetear 1 mL de muestra en un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL y centrifugue durante 30 segundos usando la microcentrífuga.
6. Diluya el extracto de muestra 1:10, mezclando 100  $\mu$ L de extracto de muestra con 900  $\mu$ L de agua destilada o desionizada en un tubo limpio para recolección de muestras. Mezcle bien.
7. La muestra está lista para ser analizada.

## PROCEDIMIENTO DE PRUEBA – PARA CUANTIFICACIÓN

Permita que los reactivos se calienten a temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F) antes de usar.

1. Retire 1 micro de mezcla marcado en rojo para cada muestra a ser analizada, más 5 micropocillos marcados en rojo para los controles, y colóquelos en el soporte para micropocillos.
2. Retire la misma cantidad de micropocillos recubiertos con anticuerpos. Devuelva los micropocillos con anticuerpos que no se usará inmediatamente al paquete de aluminio con desecante y vuelva a sellarlo para proteger el anticuerpo. Marque un extremo de la tira con un “1” y colóquela en el soporte para micropocillos con el extremo marcado a la izquierda.
3. Mezcle cada reactivo agitando su botella antes de su uso.
4. Vierta 100  $\mu$ L del conjugado de la botella con etiqueta azul en cada micropocillo de mezcla marcado en rojo.
5. Usando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera 100  $\mu$ L de controles y muestras diluidas a los micropocillos de mezcla marcados en rojo de la siguiente manera:

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. Con un pipeteador de 12 canales, mezcle el líquido en los micropocillos pipeteándolo hacia arriba y abajo 5 veces. Transfiera 100  $\mu$ L a los micropocillos recubiertos con anticuerpo. Mezcle deslizando el soporte hacia adelante y hacia atrás sobre una superficie plana durante 30 segundos, sin salpicar los reactivos de los micropocillos. Incube durante **10 minutos** a una temperatura ambiente de 18–30 °C (64–86 °F). Deseche los micropocillos de mezcla marcados en rojo.
7. Sacuda el contenido de los micropocillos con anticuerpos.
8. Llene cada micropocillo con agua destilada o desionizada y vacíelos. Repita este paso 5 veces, luego voltee los micropocillos y golpéelos sobre una toalla de papel hasta eliminar el agua restante.
9. Vierta el volumen necesario de sustrato de la botella con etiqueta verde en el reservorio de reactivo con etiqueta verde y, con puntas nuevas, pipetee 100  $\mu$ L de sustrato en los micropocillos. Mezcle deslizando 4 Veratox MAX para zearalenona hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana durante 30 segundos. Incube durante **5 minutos**. Deseche el sustrato restante y enjuague con agua el reservorio de reactivo.

10. Vierta la solución Red Stop de la botella con etiqueta roja en el reservorio de reactivos con etiqueta roja. Añada nuevas puntas a la pipeta de 12 canales, cebe las puntas y pipetee 100 µL de Red Stop en los micropocillos y mezcle deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana durante 30 segundos. Deseche las puntas.
11. Limpie la parte inferior de los micropocillos con un paño seco o una toalla y lea en un lector de micropocillos con un filtro de 650 nm. Se deben eliminar las burbujas de aire, ya que podrían afectar los resultados analíticos. Los resultados deben leerse dentro de los 20 minutos posteriores a la adición de la solución Red Stop.
12. Lea y calcule los resultados usando el lector de micropocillos Stat Fax de Neogen o su equivalente. Si usa otro lector de tiras/placas, calcule los resultados con el software Veratox para Windows de Neogen.

#### **PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA – PARA CRIBADO**

Permita que los reactivos se calienten a temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F) antes de usar.

1. Retire 1 micropocillo de mezcla marcado en rojo para cada muestra a ser analizada, más 1 micropocillo marcado en rojo para el control, y colóquelos en el soporte para micropocillos.
2. Retire la misma cantidad de micropocillos recubiertos con anticuerpos. Devuelva los micropocillos con anticuerpos que no se usarán inmediatamente al paquete de aluminio con desecante y vuelva a sellarlo para proteger el anticuerpo. Marque un extremo de la tira con un “1” y colóquela en el soporte para micropocillos con el extremo marcado a la izquierda.
3. Mezcle cada reactivo agitando su botella antes de su uso.
4. Vierta 100 µL del conjugado de la botella con etiqueta azul en cada micropocillo de mezcla marcado en rojo.
5. **Elija un nivel de control** para examinar las muestras contra cada prueba realizada. Usando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera 100 µL de las muestras diluidas y el control elegido a los micropocillos de mezcla marcados en rojo, como se muestra a continuación. Mezcle bien la muestra y el control con el conjugado a medida que los añada al micropocillo, presionando el émbolo 5 veces. No use más de 6 micropocillos a la vez.  
Control      S1      S2      S3      S4      S5
6. Usando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera 100 µL de cada micropocillo de mezcla al micropocillo recubierto con anticuerpo correspondiente. Mezcle deslizando el soporte hacia adelante y hacia atrás sobre una superficie plana durante 30 segundos, sin salpicar los reactivos de los micropocillos. Incube durante **10 minutos** a una temperatura ambiente de 18–30 °C (64–86 °F).
7. Sacuda el contenido de los micropocillos con anticuerpos.
8. Llene cada micropocillo con agua destilada o desionizada y vacíelos. Repita este paso 5 veces, luego voltee los micropocillos y golpéelos sobre una toalla de papel hasta eliminar el agua restante.
9. Pipetee 100 µL de sustrato en cada uno de los micropocillos y mézclelos deslizándolos hacia atrás y adelante sobre una superficie plana, durante 30 segundos. Incube durante **5 minutos**.
10. Pipetee 100 µL de solución Red Stop en cada micropocillo y mézclelos deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche la punta.
11. Limpie la parte inferior de los micropocillos con un paño seco o una toalla. Los micropocillos se pueden leer visualmente o usando un filtro de 650 nm. Si el micropocillo de muestra es azul o más azul que el micropocillo de control, la muestra contiene menos toxina que el control. Si el micropocillo de muestra es menos azul (más color rojo) que el 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 mirando hacia abajo a través de la solución.

### **PROCEDIMIENTO DE DILUCIÓN**

**NOTA:** Las muestras superiores a 500 ppb deben diluirse y ser analizadas nuevamente.

1. Diluya el extracto **original de la muestra filtrada 1:4** con diluyente High Level, de la botella con etiqueta rosa, en un tubo de recolección de muestra. Por ejemplo, añada 100 µL del extracto de muestra a un tubo de recolección de muestra, luego añada 300 µL de diluyente High Level de la botella con etiqueta rosa y mezcle bien.
2. Diluya este extracto 1:10 en agua destilada o desionizada mezclando 100 µL del extracto de muestra con 900 µL de agua destilada o desionizada en un tubo de recolección de muestra limpio. Mezcle bien.
3. La muestra diluida está lista para se analizada.

### **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO**

Límite de detección: 19.5 ppb

Límite de cuantificación: 25 ppb

Rango de cuantificación: 25-500 ppb

Matrices validadas: maíz, trigo

**NOTA:** Neogen continúa validando productos nuevos. Por favor, póngase en contacto con un representante para obtener la última lista de productos validados.

### **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 sobre este producto, y para todos los kits de Neogen, está disponible.

### **DISPONIBILIDAD DE HOJAS DE SEGURIDAD (SDS)**

Usted puede obtener las hojas de seguridad (SDS) para este kit, y para todos los kits de prueba de Neogen, en [foodsafety.neogen.com/sp](http://foodsafety.neogen.com/sp), o llamando a Neogen al +1 800-234-5333 o +1 517-372-9200.

### **TÉRMINOS Y CONDICIONES**

Por favor visite [www.neogen.com/en/terms-and-conditions](http://www.neogen.com/en/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 está defectuoso, Neogen proveerá un reemplazo 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 por el uso de este producto.

**KITS DE PRUEBA DISPONIBLES DE NEOGEN**

**Toxinas naturales**

- Aflatoxina, desoxinivalenol (DON), ocratoxina, zearalenona, toxinas 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, hongos 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, múltiples frutos secos

**Modificación genética**

- CP4 (Roundup Ready<sup>®</sup>)

**Subproductos de rumiantes**

- Harina de carne y huesos, concentrado para animales

**Identificación de especies**

- Muestras de carnes crudas y cocinadas



**Norteamérica**

**Oficinas Corporativas de Neogen**

+1 800/234-5333 (EEUU/Canadá)  
foodsafety@neogen.com  
foodsafety.neogen.com/sp

**Europa, Medio Oriente y África**

**Neogen Europe**

+ 44 (0) 1292 525 600  
info\_uk@neogeneurope.com  
www.neogeneurope.com

**México**

**Neogen Latinoamérica**

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

**Brasil**

**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