

Read instructions carefully before starting test

# Veratox<sup>®</sup>

## for DON 2/3

### Quantitative Test

**FGIS-2018-111**

Refrigerate at 2–8°C • Do not freeze



#### THE TOXIN

Deoxynivalenol (DON) is most commonly produced by the pink mold *Fusarium graminearum*. DON, a member of the trichothecene family, is produced by fungi living on cereal commodities such as wheat, corn, barley and ensilages. The toxicological effects attributed to DON include: nausea (vomiting), feed refusal, gastroenteritis, diarrhea, immunosuppression and blood disorders.

Pigs have been shown to be highly sensitive to DON. They will refuse to eat feeds when DON levels of  $\geq 1$  parts per million (ppm) are present. The toxin and its analogs cause toxic effects in other species as well, with varying degrees of sensitivity. DON has been implicated as causing problems in processed food, including off flavor in ready-to-eat cereals and adverse effects on dough quality. Accurate determination of the presence of the toxin is of major importance to those monitoring the quality of feed and food in which DON may occur. Testing these commodities for the toxin requires careful sampling, extraction, sanitation and quantitative analysis.

The U.S. Food and Drug Administration (FDA) has issued advisory levels for DON as follows:

Human food (finished wheat products, flour, bran & wheat germ)	1 ppm
<b>Animal feed: Grains and grain by-products</b>	
Ruminating beef cattle, feedlot beef cattle older than 4 months	10 ppm, < 10 ppm in total ration
Dairy cattle older than 4 months	10 ppm, < 5 ppm in total ration
Chickens	10 ppm, < 50% of diet
Swine	5 ppm, < 20% of diet
All other animals	5 ppm, < 40% of diet
<b>Animal feed: Distillers and brewers grains, gluten feed and meals derived from grains</b>	
Ruminating beef and feedlot cattle older than 4 months	30 ppm, < 10 ppm in total ration
Dairy cattle older than 4 months	30 ppm, < 5 ppm in total ration

## **INTENDED USE**

Veratox<sup>®</sup> for DON 2/3 is intended for the quantitative analysis of DON in grain and grain products, such as wheat, corn, barley, oats, flours, midds and screenings.

## **INTENDED USER**

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

## **ASSAY PRINCIPLES**

Veratox for DON 2/3 is a competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay (CD-ELISA), which allows the user to obtain exact concentrations in parts per million (ppm). Free DON in the samples and controls is allowed to compete with enzyme-labeled DON (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 DON. 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 DON.

## **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, 0.5, 1, 2 and 6 ppm DON controls
4. 1 blue-labeled bottle of DON-HRP conjugate solution
5. 1 green-labeled bottle of K-Blue<sup>®</sup> Substrate solution
6. 1 red-labeled bottle of Red Stop solution

## **MATERIALS RECOMMENDED BUT NOT PROVIDED**

1. Extraction materials
  - a. Distilled or deionized water
  - b. Graduated cylinder
  - c. Container with 125 mL capacity (500 mL for GIPSA method) (Neogen item 9428)
  - d. Whatman no. 1 filter paper, Neogen filter syringe, or equivalent (Neogen item 9430, 9420)
  - e. Sample collection tubes (Neogen item 9421)
2. Agri-Grind grinder, or equivalent (Neogen item 9401, 9453)
3. Scale capable of weighing 5–50 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 µL (Neogen item 9272, 9290)
7. Tips for 100 µL and 12-channel pipettors (Neogen item 9407, 9410, 9417)
8. Paper towels or equivalent absorbent material
9. Plastic bucket for use as waste receptacle
10. Microwell holder (Neogen item 9402)
11. Timer (Neogen item 9452, 9426)
12. Waterproof marker
13. Wash bottle (Neogen item 9400)
14. 2 reagent boats for 12-channel pipettor (Neogen item 9435)
15. Distilled or deionized water

## PRECAUTIONS

1. Store test kit between 2–8°C (35–46°F) when not in use. Do not freeze test kits.
2. Kits should be brought to room temperature (18–30°C, 64–86°F) before use.
3. Do not use kit components beyond expiration date.
4. Do not mix reagents from one kit with reagents from a kit with a different serial number.
5. Do not run more than 24 wells at one time.
6. Follow proper pipetting techniques, including the tip priming.
7. Use of incubation times other than those specified may give inaccurate results.
8. Avoid prolonged storage of kits at ambient temperatures.
9. 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 a Neogen representative or Technical Services.
10. Treat all used liquids, including sample extract, and labware as if contaminated with DON. 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.

## PROCEDURAL NOTES

1. **Substrate:** K-Blue Substrate is ready for use. The substrate should be clear to 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 the 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.

1. Obtain a representative sample. Grind the entire sample so that at least 95% of the ground material passes through a 20 mesh sieve, the particle size of a fine instant coffee.
2. Using hand or mechanical means, vigorously shake 10 g of ground sample in 100 mL of distilled or deionized water for **3 minutes**.
3. Let material set for **2–3 minutes** to enable some of the sample to settle before filtering extract.
4. Filter the extract with a filter syringe or through a Whatman no. 1 filter paper to collect a minimum of 3 mL sample filtrate into a sample collection tube.
5. The sample is ready for testing.

## FGIS method:

1. Obtain a representative sample. Grind the entire sample so that at least 95% of the ground material passes through a 20 mesh sieve, the particle size of a fine instant coffee.
2. Using hand or mechanical means, vigorously shake 50 grams of ground sample in 250 mL of distilled or deionized water for 3 minutes.
3. Let extract sit for at least **3 minutes** to allow some of the particles to settle.
4. Filter a minimum of 5 mL of the extract through a Neogen syringe filter, collecting a minimum of 3 mL into a sample collection tube.
5. Dilute the sample extract 1:2 (1+1) with distilled or deionized water. For example, add 1 mL of extract to 1 mL of distilled or deionized water.
6. The sample is ready for testing.

**NOTE:** See FGIS Test Kit instructions for additional dilution protocols.

**TEST PROCEDURE**

Allow all reagents to warm to room temperature (18–30°C, 64–86°F) before 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 that will not be used immediately to the foil pack with desiccant and reseal 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. Do not mark the inside or bottom of the wells.
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 samples to the red-marked mixing wells as described below.

0	0.5	1	2	6	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.
7. Set the timer for a **2 minute** room temperature incubation, mixing the wells for the first **30 seconds** of the incubation by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface without splashing reagents from the wells.
8. Shake out the contents of the antibody wells. Fill the wells 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.
10. With new tips on the 12-channel pipettor, prime and pipette 100 µL of substrate into the wells. Set the timer for a **3 minute** room temperature incubation, mixing the wells for the first **30 seconds** of the incubation by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface without splashing reagents from the wells.
11. Discard remaining substrate and rinse the reagent boat with water.
12. Pour Red Stop solution from the red-labeled bottle (same volume as the substrate) into the red-labeled reagent boat.
13. Eject the excess substrate from the 12-channel pipettor, prime the tips, and pipette 100 µL of Red Stop to each well. Mix by sliding back and forth on a flat surface. Discard the tips.
14. 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.
15. Read and calculate results using Neogen’s Awareness microwell reader. If using an EL301 reader or other strip/plate reader, calculate results using Neogen’s Veratox for Windows software.

**RETESTING**

Sample results > 5.0 ppm should be diluted and retested. If positives occur in commodities not previously tested, confirm with an additional approved method prior to taking action. The test kit will not differentiate between DON and 3-acetyl-DON.

## **PERFORMANCE CHARACTERISTICS**

**Limit of detection:** 0.1 ppm (Determined by the mean average of 10 DON free samples plus 2 standard deviations.)

**Limit of quantitation:** 0.5 ppm (Described as the lowest concentration point on the calibration curve that this test can reliably detect DON.)

**Range of quantitation:** 0.5–5 ppm (For quantitating samples above 5 ppm, contact Neogen Technical Services for dilution instructions.)

**Validated commodities:** barley flour, barley lightly pearled, barley silage, **barley**, beet pulp\*, canola meal, **corn**, corn bran, corn cob, cornmeal, corn germ meal\*, corn gluten feed\*, corn gluten meal\*, corn grits, corn oil, corn screenings, corn silage\*\*, corn/soy blend, corn starch, corn steep, DDGS\*, DDDGs backset/recycled water\*, DDGs syrup\*, DDGs wet cake\*, flaxseed, hay\*\*, haylage\*\*, kamut, **malted barley\***, malted barley flour, millet, milo, **oats**, oat hulls\*, oat fiber, oat flour, pea fiber, petfood\*, popcorn, potato (white), potato with skins, powder\* quinoa, raw flour, **rice**, rice gluten, rice hulls, rough rice, rye, rye flour, soy meal, soy flour, soy hydrolysate, sunflower meal, tapioca, TMR\*\*, **wheat**, wheat bran, wheat bran aleurone, wheat flour, wheat flour 2nd clear, wheat germ, wheat middlings, wheat midds and wheat, waxy

**FGIS-validated commodities:** Corn (including dent or field corn, corn meal, corn flour, cracked corn, corn grits or polenta, and corn screenings), wheat (including whole grain wheat flour, wheat middlings, wheat red dog, wheat 2<sup>nd</sup> clear, and wheat screenings), corn germ meal, malted barley (including malted barley flour), oats (whole oats with hull), rye, wheat bran (wheat bran aleurone), sorghum, and corn/soy blend

*\*Generally requires a pH adjustment.*

*\*\*Contact Neogen for special procedure.*

*AOAC-RI-validated matrix bolded.*

**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 test kits, on Neogen's website 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 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.

**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®)

**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

Por favor lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba

# Veratox<sup>®</sup>

## para DON 2/3

### Prueba cuantitativa

**FGIS-2018-111**

Refrigerar a 2–8°C • No congelar



#### LA TOXINA

Deoxinivalenol (DON) es comúnmente producido por el moho rosado *Fusarium graminearum*. DON, un miembro de la familia tricoteceno, es producido por hongos que viven en productos de cereal como el trigo, el maíz, la cebada y los ensilajes. Los efectos toxicológicos atribuidos a DON incluyen: náusea (vómito), rechazo de concentrado, gastroenteritis, diarrea, inmunosupresión y trastornos sanguíneos.

Los cerdos han demostrado ser altamente sensibles a DON. Se niegan a ingerir concentrados que contengan niveles  $\geq 1$  ppm de DON. DON y sus análogos también causan efectos tóxicos en otras especies, con diversos grados de sensibilidad. DON ha sido implicado como un causante de problemas en alimentos procesados, incluyendo sabor desagradable en cereales listos para ingerir y efectos adversos en la calidad de la masa. La determinación exacta de la presencia de la toxina es de gran importancia para aquellos que controlan la calidad de los piensos y alimentos en los que puede ocurrir DON. Analizar estos productos para la toxina requiere muestreos cuidadosos, extracción, saneamiento y análisis cuantitativo.

La FDA ha emitido niveles normativos para DON de la siguiente manera:

Alimentos para consumo humano (productos terminados de trigo, harina, salvado y germen de trigo)	1 ppm
Piensos: Granos y subproductos de granos	
Ganado rumiante de carne y de engorde de más de 4 meses	10 ppm, < 10 ppm en la ración total
Ganado de leche de más de 4 meses	10 ppm, < 5 ppm en la ración total
Pollos	10 ppm, < 50% de la dieta
Porcinos	5 ppm, < 20% de la dieta
Todos los demás animales	5 ppm, < 40% de la dieta
Piensos: Los granos de destilación y de cervecerías, piensos de gluten y harinas derivadas de granos	
Ganado rumiante de carne y de engorde de más de 4 meses	30 ppm, < 10 ppm en la ración total
Ganado de leche de más de 4 meses	30 ppm, < 5 ppm en la ración total

**USO PREVISTO**

Veratox® para DON 2/3 está destinada para el análisis cuantitativo de DON en granos y productos de granos como trigo, maíz, cebada, avena, harinas, afrecho y harinillas.

**USUARIO PREVISTO**

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

**FUNDAMENTO DEL ANÁLISIS**

Veratox para DON 2/3 es un ELISA directo competitivo (CD-ELISA) que permite al usuario obtener concentraciones exactas en partes por millón (ppm). Se permite que el DON libre en las muestras y los controles compita con el DON marcado con enzima (conjugado) por los sitios de unión del anticuerpo. Después 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 DON. 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 la curva para calcular la concentración exacta de DON.

**REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO**

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

**MATERIALES PROPORCIONADOS**

1. 48 micropocillos recubiertos con anticuerpo
2. 48 micropocillos de mezcla marcados en rojo
3. 5 botellas con etiquetas amarillas de controles de DON de 0, 0.5, 1, 2 y 6 ppm
4. 1 botella con etiqueta azul de solución de conjugado de DON-HRP
5. 1 botella con etiqueta verde de solución de sustrato K-Blue®
6. 1 botella con etiqueta roja de solución Red Stop

**MATERIALES RECOMENDADOS, PERO NO PROPORCIONADOS**

1. Materiales de extracción:
  - a. Agua destilada o desionizada
  - b. Cilindro graduado
  - c. Recipiente con capacidad de 125 mL (500 mL para el método GIPSA) (producto Neogen 9428)
  - d. Papel de filtro Whatman no. 1, jeringuilla con filtro de Neogen o equivalente (producto Neogen 9430, 9420)
  - e. Tubos para recolección de muestras (producto Neogen 9421)
2. Triturador Agri-Grind o equivalente (producto Neogen 9401, 9453)
3. Balanza capaz de pesar 5–50 gramos (producto Neogen 9427)
4. Lector de micropocillos con un filtro de 650 nm (producto Neogen 9303)
5. Pipeteador de 12 canales (producto Neogen 9273)
6. Pipeteador de 100 µL (producto Neogen 9272, 9290)
7. Puntas para pipeteadores de 100 µL y de 12 canales (producto Neogen 9407, 9410, 9417)
8. Toallas de papel o de un material absorbente equivalente
9. Balde plástico para eliminar los desperdicios
10. Gradilla para micropocillos (producto Neogen 9402)
11. Cronómetro (producto Neogen 9452, 9426)
12. Marcador a prueba de agua
13. Piseta de lavado (producto Neogen 9400)



14. 2 reservorios de reactivo para pipeteador de 12 canales (producto Neogen 9435)
15. Agua destilada y desionizada

### **PRECAUCIONES**

1. Almacene el kit de prueba entre 2–8°C (35–46°F) cuando no esté en uso. No lo congele.
2. Permita que el kit alcance una temperatura ambiente entre (18–30°C, 64–86°F) antes de usarlo.
3. No utilice los componentes de este kit de prueba después de su fecha de vencimiento.
4. No mezcle reactivos de una serie de kits con reactivos de una serie diferente.
5. No ejecute más de 24 micropocillos a la vez.
6. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas, incluyendo el cebado de las puntas.
7. Use los tiempos de incubación especificados; otros tiempos pueden dar resultados inexactos.
8. Evite el almacenamiento prolongado de los kits a temperatura ambiente.
9. Los extractos de producto deben tener un pH de 6–8 antes de la prueba. Se deben ajustar las muestras excesivamente ácidas o alcalinas. Para obtener instrucciones sobre cómo ajustar el pH, comuníquese con su representante o los Servicios Técnicos de Neogen.
10. Trate todos los líquidos utilizados, incluyendo el extracto de muestra, e instrumentos de laboratorio como si estuvieran contaminados con DON. Siempre use guantes y otra ropa protectora.
11. Use puntas de pipeta y cristalería limpia para cada muestra, para evitar la contaminación cruzada. Lave y desinfecte completamente toda la cristalería entre las muestras.

### **NOTAS DE PROCEDIMIENTO**

1. **Sustrato:** El sustrato K-Blue está listo para su uso. El sustrato debe ser color transparente o azul claro – deséchelo si el líquido se ha vuelto azul oscuro. Solamente vierta el volumen necesario dentro del reservorio para reactivos. **No regrese a la botella el sustrato que no haya utilizado.** Cubra el reservorio para reactivos, para mantener el sustrato protegido de la luz hasta que lo necesite.
2. **Micropocillos recubiertos con anticuerpos:** mantenga los micropocillos sellados en la bolsa de aluminio hasta que los necesite. Extraiga los micropocillos de la bolsa de aluminio solo después de extraer las muestras, y la prueba esté lista para empezar.

### **PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA**

La muestra a ser analizada debe ser recolectada de acuerdo a las técnicas de muestreo aceptadas. La muestra se debe triturar y mezclar bien antes de proceder con la extracción. Almacene las muestras a 2–8°C (35–46°F) hasta que se analicen.

1. Obtenga una muestra representativa. Triture la muestra 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 instantáneo).
2. Agite vigorosamente, ya sea manual o mecánicamente, 10 gramos de muestra triturada en 100 mL de agua destilada o desionizada durante **3 minutos**.
3. Deje reposar el material durante **2–3 minutos** para permitir que parte de la muestra se asiente antes de filtrar el extracto.
4. Filtre el extracto con una jeringuilla con filtro o a través de un papel de filtro Whatman #1 para recolectar un mínimo de 3 mL de filtrado de muestra en un tubo de recolección de muestra.
5. La muestra está lista para la prueba.

### **Método FGIS:**

1. Obtenga una muestra representativa. Triture la muestra 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 instantáneo).
2. Agite vigorosamente, ya sea manual o mecánicamente, 50 gramos de muestra triturada en 250 mL de agua destilada o desionizada durante **3 minutos**.

3. Deje reposar el extracto durante al menos **3 minutos** para permitir que parte de las partículas se asienten.
4. Filtre un mínimo de 5 mL del extracto a través de una jeringuilla con filtro Neogen, recolectando un mínimo de 3 mL en un tubo de recolección de muestra.
5. Diluya el extracto de la muestra en una proporción 1:2 (1+1) con agua destilada o desionizada. Por ejemplo, añada 1 mL de extracto a 1 mL de agua destilada o desionizada.
6. La muestra está lista para la prueba.

**NOTA:** Vea las instrucciones del kit de prueba FGIS para protocolos de dilución adicionales.

### PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

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

1. Retire 1 micropocillo de mezcla marcado en rojo para cada muestra a ser analizada, más 5 micropocillos marcados en rojo para los controles y colóquelos en la gradilla para micropocillos.
2. Retire una cantidad igual de micropocillos recubiertos con anticuerpos. Devuelva inmediatamente los micropocillos que no serán utilizados a la bolsa de aluminio con desecante. Vuelva a sellar la bolsa de aluminio para proteger el anticuerpo. Marque un extremo de la tira con un "1" y coloque la tira en la gradilla para micropocillos con el extremo marcado a la izquierda. No marque el interior ni la parte inferior de los micropocillos.
3. Mezcle cada reactivo revolviendo la botella del reactivo antes de usar.
4. Vierta 100 µL del conjugado de la botella con etiqueta azul en cada pocillo de mezcla marcado en rojo.
5. Usando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera 100 µL de controles y muestras a los micropocillos de mezcla marcados en rojo como se describe a continuación.

0	0.5	1	2	6	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Tira 1
S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	Tira 2

6. Usando un pipeteador de 12 canales, mezcle el líquido en los micropocillos pipeteándolo hacia arriba y hacia abajo 3 veces. Transfiera 100 µL a los micropocillos recubiertos con anticuerpos.
7. Ajuste el cronómetro para **2 minutos**, mezclando los micropocillos durante los primeros **30 segundos** de la incubación a temperatura ambiente, deslizándolos hacia adelante y hacia atrás en una superficie plana sin salpicar reactivos de los micropocillos.
8. Vacíe el contenido de los micropocillos con anticuerpos. Llène bien los micropocillos con agua destilada o desionizada y viértalos. Repita este paso 5 veces, luego voltee los micropocillos y golpéelos ligeramente 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 reactivos con etiqueta verde.
10. Usando un pipeteador de 12 canales con puntas nuevas, cebe y pipetee 100 µL de sustrato en los micropocillos. Ajuste el cronómetro para **3 minutos**, mezclando los micropocillos durante los primeros **30 segundos** de la incubación a temperatura ambiente, deslizándolos hacia adelante y hacia atrás en una superficie plana sin salpicar reactivos de los micropocillos.
11. Deseche el sustrato restante y enjuague el reservorio de reactivo con agua.
12. Vierta la solución Red Stop del recipiente con etiqueta roja (mismo volumen que el sustrato) en el reservorio de reactivo con etiqueta roja.
13. Expulse el exceso de sustrato del pipeteador de 12 canales, cebe las puntas y pipetee 100 µL de Red Stop en cada micropocillo. Mezcle deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche las puntas.
14. Limpie el fondo de los micropocillos y léalos en un lector de micropocillos con un filtro de 650 nm. Se deben eliminar las burbujas de aire, ya que pueden afectar los resultados analíticos. Los resultados deben leerse dentro de los **20 minutos** posteriores a la adición de la solución Red Stop.

15. Lea y calcule los resultados usando el lector de micropocillos Awareness de Neogen. Si usa un lector EL301 u otro lector de tiras/placas, calcule los resultados usando el software Veratox de Neogen para Windows.

## REPETICIÓN DE LA PRUEBA

Los resultados de las muestras de más de 5.0 ppm necesitan ser diluidos y analizados nuevamente. Si se obtienen resultados positivos en productos que no se han analizado previamente, confírmelos con un método adicional aprobado antes de tomar acción. Este kit de prueba no diferencia entre DON y 3-acetilo-DON.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

**Límite de detección:** 0.1 ppm (determinado por el promedio de 10 muestras sin DON más 2 desviaciones estándar).

**Límite de cuantificación:** 0.5 ppm (Descrito como el punto de concentración más bajo en la curva de calibración en la que esta prueba puede detectar DON de manera confiable).

**Rango de cuantificación:** 0.5–5 ppm (Para cuantificar muestras de más de 5 ppm, comuníquese con los Servicios Técnicos de Neogen para obtener instrucciones de dilución).

**Matrices validadas:** harina de cebada, cebada ligeramente perlada, ensilaje de cebada, **cebada**, pulpa de remolacha\*, harina de colza, **maíz**, salvado de maíz, mazorca de maíz, harina de maíz, harina de germen de maíz\*, pienso gluten de maíz\*, harina de gluten de maíz\*, maíz descascarado, aceite de maíz, harinillas de maíz, ensilaje de maíz\*\*, mezcla de maíz/soya, maicena, líquido de maíz fermentado, DDGS\*, agua condensada/reciclada de DDGs\*, jarabe de DDGs\*, masa húmeda de DDGs\*, linaza, heno\*\*, henilaje\*\*, kamut, **cebada malteada\***, harina de cebada malteada, sorgo, mijo, **avena**, cáscaras de avena\*, fibra de avena, harina de avena, fibra de guisante, alimento para mascotas\*, palomitas de maíz, papas (blancas), papas con cáscara en polvo\*, quinoa, harina cruda, **arroz**, gluten de arroz, cascarilla arroz, arroz con cáscara, centeno, harina de centeno, harina de soya, soya hidrolizada, harina de semilla de girasol, tapioca, TMR\*\*, **trigo**, salvado de trigo, salvado de aleurona de trigo, harina de trigo, harina de trigo de segunda fase, germen de trigo, afrecho de trigo, harinillas de trigo y trigo encerado.

**Productos validados por FGIS:** Maíz (incluyendo maíz dentado o de campo, harina de maíz, maíz agrietado, maíz descascarado o polenta, y harinillas de maíz), trigo (incluyendo harina de trigo integral, afrecho de trigo, harina de trigo de baja calidad, trigo de segunda fase y harinillas de trigo), harina de germen de maíz, cebada malteada (incluyendo harina de cebada malteada), avena (avena entera con cáscara), centeno, salvado de trigo (aleurona de salvado de trigo), sorgo y mezcla de maíz/soya.

\*Generalmente requiere un ajuste del pH.

\*\*Por favor comuníquese con Neogen para el procedimiento especial.

Matrices en negrilla han sido validadas por el AOAC-RI.

**NOTA:** Neogen continúa validando nuevos productos. 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 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 [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/sp/terms-and-conditions](http://www.neogen.com/sp/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 reemplazo 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 PRUEBAS DISPONIBLES DE NEOGEN

#### Toxinas naturales

- Aflatoxina, 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, 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, sésamo, soya, nogal y múltiples frutos secos

#### Modificación genética

- CP4 (Roundup Ready®)

#### Subproductos de rumiantes

- Harina de carne y huesos, piensos

#### Identificación de especies

- Muestras de carnes crudas y cocinadas, piensos



#### 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