

Producto Número:
8030

 **Veratox**[®]

para Aflatoxina

Prueba cuantitativa



FGIS-2021-147

Veratox[®] para Aflatoxinas

Producto Número: 8030

Toxina

La aflatoxina es una sustancia tóxica y cancerígena producida por ciertas cepas de hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Existen cuatro tipos principales de aflatoxina: B₁, B₂, G₁ and G₂. La aflatoxina B₁ es la más común de este grupo y la más tóxica. Los productos más afectados por las aflatoxinas son el maíz, maní, semilla de algodón, milo y la mayoría de los frutos secos.

Los animales que ingieren cantidades excesivas de la toxina sufren de una gama de complicaciones, desde problemas crónicos de salud y rendimiento, hasta la muerte. Se ha demostrado que la aflatoxina causa daños o cáncer en el hígado, disminuye la producción de leche y huevos, deprime el sistema inmunológico, e interfiere con la eficiencia reproductiva.

La FDA ha establecido niveles máximos de aflatoxinas permitidos en los alimentos y piensos. Por lo tanto, la determinación precisa de la presencia de la toxina es de gran importancia para aquellos que monitorean la calidad de los alimentos y piensos en los que pueden producirse aflatoxinas. Analizar estos productos requiere muestreos cuidadosos, extracción química, control de calidad y análisis cuantitativo.

La FDA ha publicado los siguientes niveles normativos para la aflatoxina:

Para	Nivel	Productos
Humanos	20 ppb	Todos los alimentos, excepto la leche
Todas las especies animales	20 ppb	Todos los concentrados (con las excepciones siguientes)
Excepciones:		
Bovinos reproductores, porcinos reproductores, aves de corral adultas	100 ppb	Maíz
Cerdos para engorde (>100 lbs)	200 ppb	Maíz
Bovinos para engorde	300 ppb	Maíz
Todas las especies animales	300 ppb	Harina de semilla de algodón usada en piensos

Uso Previsto

Veratox[®] para Aflatoxina está destinado para el análisis cuantitativo de aflatoxina en productos como cebada, maíz, harina de maíz, harina de gluten de maíz, mezcla de maíz/soya, semilla de algodón, harina de semilla de algodón, granos secos de destilería, maíz molido, milo, maní, alimento para mascotas, palomitas de maíz, arroz, harina de soya, nuez de nogal y trigo.

Usuario Previsto

Este kit está diseñado para ser utilizado por el personal de control de calidad y otras personas familiarizadas con alimentos y piensos que estén posiblemente contaminados por aflatoxina. 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.

NEOGEN.com

Fundamentos del Análisis

Veratox para Aflatoxina es un ELISA directo competitivo en un formato de micropocillos que permite al usuario obtener concentraciones exactas en partes por billón (ppb). Se permite que la aflatoxina libre en las muestras y los controles compita con la aflatoxina marcada 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 aflatoxina. 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 de la muestra se trazan contra la curva para calcular la concentración exacta de aflatoxina.

Requisitos de Almacenamiento

El 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) no congelar.

Materiales Suministrados

1. 48 micropocillos recubiertos con anticuerpos
2. 48 micropocillos de mezcla marcados en rojo
3. 4 botellas con etiquetas amarillas de controles de aflatoxina de 0, 5, 15 y 50 ppb (vea las precauciones para el manejo de la solución de metanol)
4. 1 botella con etiqueta azul de solución de conjugado de aflatoxina-HRP
5. 1 botella con etiqueta verde de solución de sustrato K-Blue®
6. 1 botella con etiqueta roja de solución Red Stop

Materiales Requeridos, Pero no Proporcionados

1. Materiales de extracción (los artículos C a E están disponibles en forma de kit de NEOGEN, producto NEOGEN 8052):
 - a. Metanol al 70% de calidad ACS (producto NEOGEN 8055)
 - b. Cilindro graduado de 250 mL (producto NEOGEN 9368)
 - c. Recipiente con capacidad de 125 mL (producto NEOGEN 9428)
 - d. Jeringuillas con filtro de NEOGEN, papel de filtro Whatman N.º 1 o equivalente (producto NEOGEN 9420, 9430)
 - e. Tubos para recolección de muestras (producto NEOGEN 9421)
2. Licuadora de alta velocidad (producto NEOGEN 9493, 9477)
3. Triturador Agri-Grind o equivalente (producto NEOGEN 9401, 9453)
4. Balanza capaz de pesar 5–50 gramos (producto NEOGEN 9427)
5. Lector de micropocillos con un filtro de 650 nm (producto NEOGEN 9303)
6. Pipeteador de 12 canales (producto NEOGEN 9273)
7. Pipeteador de 100 µL (producto NEOGEN 9272, 9290)
8. Puntas para pipeteadores de 100 µL y de 12 canales (producto NEOGEN 9410, 9407, 9417)
9. Toallas de papel o de material absorbente equivalente
10. Balde plástico para eliminar los desperdicios
11. Gradilla para micropocillos (producto NEOGEN 9402)
12. Cronómetro (producto NEOGEN 9426)
13. Marcador a prueba de agua
14. Piseta de lavado (producto NEOGEN 9400)
15. 2 reservorios de reactivo para pipeteador de 12 canales (producto NEOGEN 9450)
16. Agua destilada o desionizada

Precauciones

1. La solución de metanol es muy inflamable. Mantenga el recipiente bien cerrado y alejado del calor, chispas, llamas y fumadores. Es tóxico si se ingiere o si se inhala el vapor. Evite el contacto con la piel.
2. Almacene el kit de prueba refrigerado entre 2–8°C (35–46°F) cuando no esté en uso. No lo congele.
3. Permita que el kit alcance una temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F) antes de usarlo.
4. Evite el almacenamiento prolongado de los kits a temperatura ambiente.
5. No utilice los componentes de este kit de prueba después de su fecha de vencimiento.
6. No mezcle reactivos de una serie de kits con reactivos de una serie diferente.
7. No ejecute más de 24 micropocillos a la vez.
8. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas, incluyendo el cebado de las puntas.
9. Use los tiempos de incubación especificados; otros tiempos pueden dar resultados inexactos.
10. Trate todos los líquidos utilizados, incluyendo el extracto de muestra, e instrumentos de laboratorio como si estuvieran contaminados con aflatoxina. Siempre use guantes y otra ropa protectora.
11. Use puntas de pipeta y cristalería limpia para cada muestra, para evitar la contaminación cruzada. Lave completamente toda la cristalería entre las muestras.
12. Los productos analizados deben tener un pH de 6–8. 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.

Notas de Procedimiento

1. 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.

NOTA: Si está usando el kit de extracción de micotoxinas de NEOGEN, siga las instrucciones de ese kit para el procedimiento de extracción. Si está preparando su propia solución de extracción, continúe con las siguientes instrucciones.

1. Si no usa la solución preparada de NEOGEN, prepare una solución de metanol al 70% mezclando 7 partes de metanol de calidad ACS con 3 partes de agua destilada o desionizada para cada muestra a analizar.
2. 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 expreso).
3. Agite vigorosamente, ya sea manual o mecánicamente, 5 gramos de muestra triturada en 25 mL de metanol al 70% durante 3 minutos.
Método AOAC: Agite vigorosamente, ya sea manual o mecánicamente, 50 gramos de muestra triturada en 250 mL de metanol al 70% durante 3 minutos.
Método USDA/FGIS: Licue 50 gramos de muestra triturada con 250 mL de metanol al 70% durante 1 minuto en una licuadora de alta velocidad.
4. Filtre el extracto vertiendo al menos 5 mL a través de un filtro Whatman N.º 1 (o una jeringuilla con filtro de NEOGEN) y recolecte el filtrado como muestra.
5. La muestra está lista para la prueba.

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 4 micropocillos marcados en rojo para cada control; 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	5	15	50	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	Tira 1
S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	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. Deseche los micropocillos de mezcla marcados en rojo.
7. Ajuste el cronómetro para 2 minutos, mezclando los micropocillos durante los primeros 10–20 segundos de las incubaciones 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. Llene 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, ceebe y pipetee 100 µL de sustrato en los micropocillos.
11. Ajuste el cronómetro para 3 minutos, mezclando los micropocillos durante los primeros 10–20 segundos, deslizándolos hacia adelante y hacia atrás en una superficie plana. Deseche el sustrato restante y enjuague el reservorio de reactivo con agua.
12. Vierta la solución Red Stop del recipiente con etiqueta roja en el reservorio de reactivo con etiqueta roja.
13. Expulse el exceso de sustrato del pipeteador de 12 canales, ceebe 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 Stat Fax de NEOGEN o uno equivalente. Si usa un lector de tiras/placas, calcule los resultados usando el software Veratox de NEOGEN.

Repetición de la Prueba

Si se obtienen resultados positivos en productos que no se han analizado previamente, confírmelos con un método adicional aprobado antes de tomar acción.

Características de Rendimiento

Límite de detección: 1.4 ppb (determinado por el promedio de 10 muestras sin aflatoxina más 2 desviaciones estándar)

Límite de cuantificación: 5 ppb (Descrito como el punto de concentración más bajo en la curva de calibración en la que esta prueba puede detectar aflatoxina de manera confiable)

Rango de cuantificación: 5–50 ppb (Para cuantificar muestras de más de 50 ppb, comuníquese con los Servicios Técnicos de NEOGEN para obtener instrucciones de dilución)

Matrices validadas por AOAC: Maíz

Matrices validadas por NEOGEN: Harina de alfalfa, maíz amoniaco, harina de semilla de algodón amoniaco*, cebada, harina de cebada, cebada ligeramente perlada, pulpa de remolacha*, harina de colza, coco, copra, maíz, salvado de maíz*, harina de germen de maíz, harina de gluten de maíz, sémola de maíz, harina de maíz, aceite de maíz, ensilado de maíz**, mezcla de maíz/soya, maicena, líquido de maíz fermentado, semilla de algodón, harina de semilla de algodón, DDGs*, masa húmeda y jarabe de DDGs*, higos, harina de linaza, avellana, maíz molido, kamut, lentejas, harina de cebolla malteada, arroz blanqueado, mijo, mijo, avena, fibra de avena, cáscaras de avena*, avena desnuda, fibra de guisante, harina de maní*, maní (crudo o tostado), cáscaras de maní, alimento para mascotas*, pistacho, palomitas de maíz, papas (blancas), papas con cáscara en polvo*, semillas de calabaza, quinoa, harina cruda, arroz, salvado de arroz, gluten de arroz, cáscaras de arroz, centeno (crudo), harina de centeno, sorgo (granos), harina de soya, harina de germen de soya, hidrolizado de soya, harina de soya, soya, gránulos de soya, harina de semilla de girasol, tapioca, trigo, salvado de trigo*, salvado de aleurona de trigo, harina de trigo de segunda fase, harinillas de trigo y afrecho de trigo.

**Puede requerir un ajuste del pH o un procedimiento de extracción especial*

***Póngase en contacto con NEOGEN para un procedimiento de extracción especial.*

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 comunicarse con el servicio al cliente y técnico de NEOGEN a través de NEOGEN.com y puede también solicitar capacitación sobre productos.

Información de SDS disponible

Las fichas de datos de seguridad (SDS) están disponibles para todos los kits de prueba a través de NEOGEN.com o llamando al 800.234.5333 o al 517.372.9200.

Términos y condiciones

Los términos y condiciones completos de NEOGEN están disponibles a través de NEOGEN.com.

Garantía

NEOGEN Corporation no emite garantías de ningún tipo, expresas o implícitas, excepto respecto a que los materiales que constituyen sus productos son de calidad estándar. En caso de un material defectuoso, NEOGEN reemplazará el producto. El comprador asume todos los riesgos y la responsabilidad resultante del uso de este producto. No hay garantía de perspectivas de comercialización de este producto o la idoneidad del producto para cualquier propósito. NEOGEN no será responsable de ningún daño, incluyendo daños especiales o consecuentes, o gastos surgidos directa o indirectamente del uso de este producto.

NEOGEN.com