

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 enzimoimmunoanálisis 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 desechar 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 golpée los 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 hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana durante 10 segundos. Incube 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 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. Alagregar 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
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 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