

Por favor lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba

Veratox® **para T-2/HT-2**

Análisis Cuantitativo

REFRIGÉRESE A 2–8°C • NO CONGELAR

LAS TOXINAS

Las toxinas T-2/HT-2 son micotoxinas tricotecenos producidas por una variedad de especies de mohos de *Fusarium*. La toxina T-2 es metabolizada a la toxina HT-2, las toxinas han demostrado producir numerosos efectos adversos en muchos animales, estas dos micotoxinas son evaluadas conjuntamente frecuentemente.

Animales afectados por las toxinas incluyen porcinos, ganado lechero, aves de corral, perros, gatos y caballos. Los efectos de las toxinas incluyen: trastornos digestivos, hemorragias, edemas, lesiones orales, dermatitis y enfermedades sanguíneas. Los daños causados por las toxinas en el tubo digestivo son irreversibles. En los casos más graves, estas toxinas pueden causar muerte. La toxina T-2 es la toxina principal causante de la enfermedad en seres humanos llamada aleukia toxica alimentaria.

Estudios de aves de corral han demostrado que la intoxicación de T-2 ha resultado en una reducción de ganancia de peso y otros problemas tales como lesiones en el pico, plumaje escaso, deficiencia en la función motora y un incremento a la susceptibilidad de *Salmonella* spp.

La mejor protección contra estas micotoxinas es monitorear por su presencia en concentrados y comidas. Eso quiere decir realizar pruebas a lo largo del sendero desde la cosecha inicial de granos hasta el producto terminado.

PROPÓSITO DE USO

El kit de Veratox® para T-2/HT-2 es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas directo y competitivo (CD-ELISA) para el análisis cuantitativo de las toxinas T-2/HT-2 en productos tales como maíz, cebada, avena, arroz, centeno, soja y trigo.

USUARIO PREVISTO

El kit de prueba de Veratox ha sido diseñado para ser utilizado por personal de control de calidad y otras personas familiarizadas con alimentos y concentrados posiblemente contaminados con T-2 y/o HT-2. Debido a la importancia de la técnica, los operadores deben ser capacitados por un representante de Neogen o por una persona que haya completado con éxito dicha capacitación.

FUNDAMENTO DEL ANÁLISIS

Veratox para T-2/HT-2 permite que el usuario obtenga concentraciones exactas en partes por billón (ppb) de T-2, HT-2 o una combinación de las dos. El analito de T-2 o HT-2 no ligado en las muestras y en los controles puede competir con la enzima conjugada con la toxina HT-2 (conjugado) por los sitios de unión del anticuerpo. Después de un paso de lavado el sustrato es agregado, el cual reacciona con la enzima conjugada ligada desarrollando un color azul. Un azul de alta intensidad quiere decir que hay menos concentración de las toxinas T-2/HT-2 en la muestra. Esta prueba es medida mediante un lector de micropocillos proporcionando las lecturas de las densidades ópticas. Las densidades ópticas de los controles forman una línea estándar y las densidades ópticas de las muestras son trazadas contra esta línea estándar para calcular la concentración exacta de las toxinas T-2/HT-2.

REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO

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

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. 48 micropocillos tapizados con anticuerpos
2. 48 micropocillos de mezcla marcados en rojo
3. 5 frascos con etiquetas amarillas con los controles de la toxina T-2 de 0, 25, 50, 100 y 250 ppb (consulte las precauciones para la manipulación de la solución de metanol)
4. 1 frasco con etiqueta azul con la solución de conjugado de toxina HT-2-peroxidasa de rábano (HRP)
5. 1 frasco con etiqueta verde que contiene la solución de sustrato K-Blue®
6. 1 frasco con etiqueta roja de reactivo solución detenedora Red Stop
7. Folleto de instrucciones

MATERIALES REQUERIDOS (NO SUMINISTRADOS)

1. Materiales para la extracción (los productos “c” a “e” están disponibles en un kit 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 con filtro de Neogen, papel filtrante Whatman Nº: 1, o equivalente (Producto Neogen 9420, 9430)
 - e. Tubos para la colección de muestras (Producto Neogen 9421)
2. Triturador Agri-Grind o equivalente (Producto Neogen 9401, 9453)
3. Balanza o báscula con capacidad de 2–25 gramos (Producto Neogen 9427)
4. Lector para micropocillos con un filtro de 650 nm (Producto Neogen 9303)
5. Pipeta de 12 canales (Producto Neogen 9273)
6. Pipeta, 100 µL (Producto Neogen 9272, 9290)
7. Puntas para pipetas de 100 µL y pipetas de 12 canales (Producto Neogen 9410, 9407, 9417)
8. Toallas de papel o un material absorbente equivalente
9. Balde plástico 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 reactivos para las pipetas de 12 canales (Producto Neogen 9450)
15. Agua destilada o desionizada

PRECAUCIONES

1. La solución de metanol es muy inflamable. Cierre bien el envase 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 2–8°C (35–46°F) cuando no se utilice. No lo congele.
3. No utilice los componentes de esta prueba después de su fecha de vencimiento.
4. No mezcle los reactivos de una serie de kits con reactivos de una serie diferente.
5. No utilice más de 24 micropocillos por prueba.
6. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas, incluyendo el cebado de las puntas
7. El usar tiempos de incubación distintos a los especificados puede generar lecturas erradas y resultados inexactos.
8. Permita que los kits alcancen una temperatura ambiental entre 18–30°C (64–86°F) antes de utilizarlos.
9. Evite el almacenamiento prolongado a temperatura ambiente de los kits de prueba..
10. Trate todo los líquidos usados, incluyendo el extracto de la muestra y los materiales de laboratorio como si estuvieran contaminados con las toxinas T-2 o HT-2. Siempre utilice guantes y demás prendas protectoras.
11. Para evitar las contaminaciones cruzadas, utilice material de vidrio y puntas de pipeta limpias para cada muestra y lave el material de vidrio escrupulosamente entre un muestra y la siguiente.
12. Los extractos de los productos deben tener un pH de 6–8. Las muestras excesivamente ácidas o alcalinas deben ser ajustadas. 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 K-Blue está listo para uso. El sustrato debe aparecer transparente—deséchelo si se ha tornado azul. Vierta sólo el volumen necesario de sustrato en el bote 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 cubiertos con anticuerpo:** Mantenga los micropocillos sellados en la bolsa de aluminio hasta que los necesite. Extraiga los micropocillos de la bolsa de aluminio sólo después de extraer las muestras y cuando el procedimiento de análisis esté listo para empezar.

PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE LAS MUESTRAS

La recolección de la muestra debe realizarse siguiendo las técnicas de muestreo aceptadas. La muestra deberá ser triturada y mezclada completamente antes de proceder con la obtención del extracto. Almacene las muestras a 2–8°C (35–46°F) hasta que sean analizadas. **NOTA:** Si está utilizando el Kit de Extracción de Micotoxinas de Neogen, siga las instrucciones proporcionadas con el kit para el procedimiento de extracción. Si está preparando su propia solución de extracción, siga las instrucciones que aparecen continuación.

1. Si Ud. no está utilizando 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 toda la muestra de manera que al menos un 75% del material triturado pase a través de un tamiz de malla 20. Debe asemejarse al tamaño de grano del café instantáneo fino.
3. Obtenga un extracto en una proporción de 1 parte de muestra por 5 partes de metanol al 70%. **EJEMPLO:** Combine 5 g de muestra triturada con 25 mL de solución de metanol al 70%/agua y agítela vigorosamente por **3 minutos** o mézclela por **2 minutos**.
4. Filtre el extracto, vertiendo al menos 5 mL a través de un filtro Whatman N°: 1 (o una jeringa con filtro de Neogen), y recoja el líquido filtrado como muestra.
5. Diluya el líquido filtrado a una proporción de 1:1 (por ejemplo, 1 mL en 1 mL) con agua destilada o desionizada y mézclelo.
6. La muestra está lista para el análisis sin necesidad de más preparativos.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA (PARA CUANTIFICACIÓN)

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

1. Retire un micropocillo de mezcla marcado en rojo por cada muestra a probar, además de 5 micropocillos marcados en rojo para los controles, y colóquelos en el estante para micropocillos.
 2. Retire la misma cantidad de micropocillos cubiertos con anticuerpo. Devuelva inmediatamente al papel metálico con desecante los micropocillos con anticuerpos que no vaya a utilizar. Selle la bolsa de aluminio para proteger los anticuerpos. Marque un extremo de la tira con un “1”, y coloque la tira en el estante para micropocillos con el extremo que está marcado hacia el lado izquierdo. No marque el interior ni el fondo de los micropocillos.
 3. Mezcle cada reactivo agitando vigorosamente su frasco de utilizarlo.
 4. Vierta 100 µL de conjugado del frasco con la etiqueta azul en cada micropocillo de mezcla marcado en rojo.
 5. Utilizando una nueva punta de pipeta para cada uno de los micropocillos, transfiera 100 µL de los controles y muestras a los micropocillos de mezcla marcados en rojo según se indica a continuación.
- | | | | | | | | | | | | | |
|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
| 0 | 25 | 50 | 100 | 250 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | Tira 1 |
| S8 | S9 | S10 | S11 | S12 | S13 | S14 | S15 | S16 | S17 | S18 | S19 | Tira 2 |
6. Mediante el uso de una pipeta de 12 canales, mezcle el líquido pipeteándolo hacia arriba y hacia abajo 3 veces. Transfiera 100 µL a los micropocillos tapizados con anticuerpo. Incúbelos por **5 minutos** a temperatura ambiental entre 18–30°C (64–86°F), y mezcle el contenido de los micropocillos durante los primeros **10–20 segundos** deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche los micropocillos de mezcla marcados en rojo.
 7. Se ha completado la reacción inicial. Sacuda los micropocillos con anticuerpo para expulsar su contenido.
 8. Llene cada micropocillo con agua destilada o desionizada y vacíelos. Repita este paso 5 veces.

Elimine el exceso agua invirtiendo los micropocillos y golpeándolos sobre una toalla absorbente hasta eliminar toda el agua.

- Pipetee el volumen necesario de sustrato de la botella con la etiqueta verde en el bote de reactivos con una etiqueta verde. Luego, usando puntas nuevas, pipetee 100 µL de sustrato a los micropocillos. Incúbelos durante **5 minutos** a temperatura ambiental 18–30°C (64–86°F), y mezcle el contenido de los micropocillos durante los primeros **10–20 segundos** deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche el sustrato restante y enjuague el bote de reactivos con agua.
- Pipetee la solución detenedora Red Stop, de la botella con la etiqueta roja, (el mismo volumen que se preparó para el sustrato) en el bote de reactivos con la etiqueta roja. Las mismas puntas de pipeta pueden ser utilizadas para verter el sustrato, agregue 100 µL de la solución detenedora (Red Stop) a cada micropocillo y mezcle su contenido deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche las puntas.
- Pase una toalla desechable 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 pues pueden perjudicar los resultados analíticos. Los resultados deberán leerse dentro de los 20 minutos siguientes a la adición de la solución detenedora Red Stop.
- Lea y calcule los resultados mediante el lector de micropocillos de Neogen o su equivalente. Si utiliza un lector EL301 u otro lector de placas/tiras, calcule los resultados mediante el software Veratox de Neogen para Windows.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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

- Retire un micropocillo de mezcla marcado en rojo por cada muestra a probar, además de un micropocillo marcado en rojo para el control, y colóquelos en el estante para micropocillos.
- Retire la misma cantidad de micropocillos tapizados con anticuerpo. Retorne los micropocillos que no vaya a usar a la bolsa de aluminio con el paquete desecante inmediatamente. Selle la bolsa de aluminio para proteger los anticuerpos. Marque un extremo de la tira con un “1”, y ponga la tira en el soporte para micropocillos con el extremo que está marcado hacia el lado izquierdo. No marque la parte de adentro o la parte inferior de los micropocillos.
- Mezcle cada reactivo agitando su botella vigorosamente antes de utilizarlo.
- Vierta 100 µL de conjugado de la botella con la etiqueta azul en cada micropocillo de mezcla marcado en rojo.
- Elija un nivel de control que sirva como un punto de referencia para cada muestra a probar. Utilizando una nueva punta de pipeta para cada muestra, transfiera (como se describe a continuación) 100 µL de las muestras y el control elegido a los micropocillos de mezcla marcados en rojo. Al agregar la muestra y el control al micropocillo, mézclelos pipeteando de arriba hacia abajo 5 veces. No trabaje con más de 6 micropocillos a la vez.

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

- Utilizando una nueva punta de pipeta para cada una, transfiera 100 µL de cada micropocillo de mezcla al micropocillo correspondiente tapizado con anticuerpo. Mezcle su contenido deslizando el soporte para micropocillos por **10–20 segundos** de atrás hacia adelante sobre una superficie plana, evitando derramar o salpicar los reactivos contenidos en los micropocillos. Incúbelos por **5 minutos** a temperatura ambiental 18–30°C (64–86°F), y mezcle el contenido de los micropocillos durante los primeros **10–20 segundos** deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana.
- Se ha completado la reacción inicial. Sacuda los micropocillos con anticuerpos para expulsar su contenido.
- Llene cada micropocillo con agua destilada o desionizada y vacíelos. Repita este proceso 5 veces. Elimine el exceso agua invirtiendo los micropocillos y golpeándolos ligeramente sobre una toalla de papel absorbente hasta eliminar toda el agua.
- Pipetee 100 µL de sustrato en cada micropocillo. Incúbelos por **5 minutos** a temperatura ambiental 18–30°C (64–86°F), y mezcle el contenido de los micropocillos durante los primeros **10–20 segundos** deslizándolos de atrás hacia adelante sobre una superficie plana.
- Pipetee 100 µL de la solución detenedora Red Stop en cada uno de los micropocillos y mezcle su contenido deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche la punta.
- Pase una toalla de papel absorbente o un paño seco por el exterior de los micropocillos.
- Los micropocillos se pueden leer visualmente o utilizando un filtro de 650 nm. Si la tonalidad del micropocillo de la muestra es azul o es más azul que la del micropocillo de control, la muestra

contiene menos toxina que el control. Si la tonalidad del micropocillo de la muestra es menos azul (o muestra más color rojo) que la del 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 medidas.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección: < 10 ppb de T-2 o HT-2 o una combinación de las dos (determinado por la media aritmética de 10 muestras de T-2/HT-2 libres de toxinas más 2 desviaciones estándar.)

Límite de la cuantificación: 25 ppb (descrito como el punto de concentración más bajo de la curva de calibración que esta prueba puede detectar con fiabilidad de las toxinas T-2/HT-2.)

Intervalo de la cuantificación: 25–250 ppb (para cuantificar muestras con más de 250 ppb, solicite las instrucciones de dilución a los Servicios Técnicos de Neogen).

Matrices validadas: Cebada, maíz, harina de maíz, harina de gluten de maíz*, maíz remojado*, grano seco usado en destilería con solubles, avena, cascarillas de avena (enteras)*, arroz integral, harina de arroz (blanca), gluten de arroz, cascarillas de arroz, centeno, fibra de arvejas, papas blancas, soja, harina de granos de soja, tapioca, cassava o mandioca, trigo, salvado de trigo*, harina de trigo, gluten de trigo.

**Es posible que requieran un ajuste del pH.*

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

Reactividad cruzada: 100% toxina T-2 y 100% toxina HT-2. No existe reactividad cruzada con ninguna otra micotoxina tricóteseno.

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.

KITS ANALÍTICOS DISPONIBLES DE NEOGEN

Toxinas naturales

- Aflatoxina, deoxinivalenol (DON), ocratoxina, zearalenona, toxinas 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, número total de plaquetas, *E. coli* genérico y total de coliformes, residuos proteínicos

Alérgenos en alimentos

- Almendras, huevos, gliadina, avellana, lupino, leche, mostaza, maní, ajonjolí, crustáceos, soja, nuez de nogal

Modificación genética

- CP4 (Roundup Ready[®])

Subproductos para rumiantes

- Harina de carne y huesos, alimentos para animales

Identificación de especies

- Muestras de carnes crudas y cocinadas



Norteamérica

Oficinas Corporativas de Neogen

620 Leshner 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 África

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