

Lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba

Veratox[®] **para DON 5/5** **Prueba cuantitativa**

FGIS-2018-110

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 ≥ 1 ppm de DON. La toxina 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 Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) ha emitido niveles normativos para DON de la siguiente manera:

Alimento humano (productos terminados de trigo, harina, salvado y germen de trigo)	1 ppm
Pienso: 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

USO PREVISTO

Veratox® para DON 5/5 está destinada para el análisis cuantitativo de DON en granos y productos de granos.

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.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

Veratox para DON 5/5 es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas competitivo directo (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, recolectando 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 micropocillo 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. Mezcle deslizando la gradilla hacia adelante y hacia atrás sobre una superficie plana durante 10–20 segundos sin salpicar los reactivos de los micropocillos. Incube durante **5 minutos** a temperatura ambiente (18–30°C, 64–86°F). Deseche los micropocillos de mezcla marcados en rojo.
7. 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.
8. Vierta el volumen necesario de sustrato de la botella con etiqueta verde en el reservorio de reactivos con etiqueta verde.
9. Usando un pipeteador de 12 canales con puntas nuevas, ceebe y pipetee 100 µL de sustrato en los micropocillos y mezcle deslizando hacia adelante y hacia atrás sobre una superficie plana durante 10–20 segundos.
10. Incube durante **5 minutos**. Deseche el sustrato restante y enjuague el reservorio de reactivo con agua.
11. Vierta la solución Red Stop del recipiente con etiqueta roja (mismo volumen que el sustrato) en el reservorio de reactivo con etiqueta roja.
12. Expulse el exceso de sustrato del pipeteador de 12 canales, ceebe las puntas y pipetee 100 µL de Red Stop en cada micropocillo. Mezcle deslizando hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche las puntas.
13. 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.

14. Lea y calcule los resultados usando el lector de micropocillos Awareness de Neogen. Si usa un lector de tira/placa, calcule los resultados usando el software Veratox de Neogen para Windows.

REPETICIÓN DE LA PRUEBA

Los resultados de muestras > 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).

Productos validados: 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, milo, **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 parrilla han sido validadas por el AOAC-R1.

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, 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 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

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

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