

Por favor lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba

Veratox[®] para alérgeno de maní

Prueba cuantitativa

REFRIGERAR A 2–8°C (35–46°F)

NO CONGELAR



ALÉRGENO DE MANÍ

Los alérgenos alimentarios son proteínas en los alimentos que pueden crear una respuesta inmune en individuos sensibles. Una vez ingeridos, los alérgenos alimentarios pueden causar una serie de reacciones, que van desde urticaria y picazón hasta anafilaxia. La anafilaxia es una reacción alérgica grave que implica vómitos, diarrea, dificultad para respirar, hinchazón de la boca y la lengua, y una disminución rápida de la presión arterial.

Se estima que del 3.5 al 4 por ciento de los adultos y del 6 al 8 por ciento de los niños son sensibles en algún grado a los alérgenos alimentarios. Se sabe que más de 12 millones de personas en los Estados Unidos tienen una alergia alimentaria, siendo la alergia al maní la más prevalente.

Los fabricantes de alimentos protegen a las personas con alergias alimentarias al etiquetar claramente sus productos con una lista de ingredientes. El análisis para la presencia de componentes de maní asegura a los fabricantes de alimentos que un ingrediente no etiquetado — y potencialmente peligroso — no llegó al producto alimenticio.

USO PREVISTO

La prueba Veratox para alérgeno de maní está destinada para el análisis cuantitativo de maní en galletas, galletas saladas, barras de chocolate, helado, cereales y enjuagues de limpieza-en-sitio.

USUARIO PREVISTO

El kit de prueba está diseñado para ser utilizado por personal de control de calidad y otros familiarizados con alimentos posiblemente contaminados por maní o productos de maní. 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

La prueba Veratox para alérgenos de maní es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas tipo sándwich (S-ELISA). El residuo de proteína de maní se extrae de las muestras con buffer fosfato salino (PBS) agitándolas en un baño de agua caliente, seguido por una centrifugación o filtración. El residuo de maní extraído se mueve y se añade a los pocillos recubiertos de anticuerpos (anticuerpo de captura), donde se une al anticuerpo durante una incubación. Cualquier residuo de maní no unido se elimina con un lavado y se añade un segundo anticuerpo (anticuerpo detector), que está marcado con enzima. El anticuerpo detector se une al residuo de maní ya unido. Después de un segundo lavado, se añade el sustrato. El color

se desarrolla como resultado de la presencia del anticuerpo detector unido. Se añade el reactivo Red Stop y se observa el color de solución resultante. La prueba se lee en un lector de micropocillos para obtener densidades ópticas. Las densidades ópticas de los controles forman una curva estándar, y las densidades ópticas de la muestra se trazan contra la curva para calcular la concentración exacta de proteína de maní.

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 transferencia marcados en rojo
3. 5 botellas con etiquetas amarillas de controles de maní de 0, 2.5, 5, 10, 25 ppm
4. 2 botellas con etiqueta azul de conjugado de anticuerpo marcado con enzima
5. 1 botella con etiqueta verde de sustrato K-Blue®
6. 1 botella con etiqueta roja de solución Red Stop
7. 5 bolsas de aluminio de solvente de extracción en polvo seco PBS 10 mM; cada bolsa es suficiente para preparar 1 L en agua destilada o desionizada (pH 7.4)
8. 40 mL de reactivo de lavado PBS-Tween 10 mM en una botella de boca ancha; cada botella es suficiente para preparar 1 L en agua destilada o desionizada (pH 7.4)
9. 200 g de aditivo de extracción
10. Cuchara plástica para medir el aditivo de extracción

MATERIALES RECOMENDADOS, PERO NO PROPORCIONADOS

1. Kit de extracción de alérgenos (producto Neogen 8429)
 - a. 20 botellas plásticas de extracción desechables
 - b. 20 tubos para recolección de muestras (12 x 75 mm) con tapas
2. Baño de agua con agitación capaz de mantener $60 \pm 1^\circ\text{C}$ con abrazaderas para las botellas de extracción de 250 mL (productos Neogen 9298, 9299)
3. Filtro Whatman N° 4 o equivalente (producto Neogen 9429)
4. Centrífuga (opcional)
5. Pipeteador, 50–200 µL, ajustable (producto Neogen 9276)
6. Pipeteador, 12 canales (producto Neogen 9273)
7. Puntas de pipeta (producto Neogen 9410, 9407, 9417)
8. Cronómetro (producto Neogen 9426)
9. Lector de micropocillos Stat-Fax con un filtro de 650 nm (producto Neogen 9303)
10. Botella de 1 L para preparar solución de lavado (producto Neogen 9472)
11. Botella de 1 L a prueba de calor para preparar la solución de extracción (producto Neogen 9472)
12. Toallas de papel o material absorbente equivalente
13. Gradilla para micropocillos (producto Neogen 9402)
14. Marcador impermeable
15. Piseta de lavado (producto Neogen 9400)
16. Agua destilada o desionizada
17. 3 reservorios para reactivos para pipeteador de 12 canales (producto Neogen 9435)
18. Cilindro graduado capaz de medir 125 mL (producto Neogen 9368)
19. Balanza capaz de pesar 5 ± 0.1 g (producto Neogen 9427)

PRECAUCIONES

1. Los componentes de Veratox para alérgeno de maní, como controles y reactivos de extracción, pueden contener uno o más de los siguientes materiales potencialmente alergénicos: caseína, proteína de huevo, proteína de maní, proteína de soja o proteína de frutos secos. Si usted es alérgico a cualquiera de estos compuestos, tenga precaución al usar este producto.
2. Los aditivos, colores y sabores concentrados de los alimentos pueden causar interferencias con el método de prueba ELISA. Póngase en contacto con los servicios técnicos de Neogen para obtener información de validación.
3. Las proteínas hidrolizadas y fermentadas pueden no detectarse usando los métodos ELISA para las pruebas de alérgenos. Debido a la naturaleza de las proteínas, pueden ser indetectables en el ensayo, pero aún podría haber presente residuos de proteínas alergénicas activas.

4. No se deben usar esponjas para la recolección de muestras y las pruebas de alérgenos. Los hisopos para recolección de muestra que no sean de Neogen deben validarse antes de su uso. Las esponjas e hisopos generales pueden contener soluciones o materiales que pueden interferir con el kit de prueba.
5. Almacene el kit de prueba entre 2–8°C (35–46°F) cuando no lo utilice. No congele los kits de pruebas y evite el almacenamiento prolongado a temperatura ambiente.
6. Permita que el kit alcance una temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F) antes de su uso.
7. No utilice los componentes del kit después de su fecha de vencimiento.
8. No mezcle los reactivos de un kit con un número de serie, con reactivos de un kit con un número de serie diferente.
9. No ejecute más de 24 micropocillos por prueba.
10. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas (p. ej., cebar las puntas y usar puntas limpias).
11. Use los tiempos de incubación especificados; otros tiempos pueden dar resultados inexactos.
12. Use puntas de pipeta y cristalería limpia para cada muestra, para evitar la contaminación cruzada. Lave 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. **Conjugado.** El conjugado suministrado con el kit está listo para usar. Una botella es suficiente para 24 micropocillos. Cubra el reservorio para reactivos, para mantener el conjugado protegido de la luz directa y los contaminantes.
3. **Micropocillos recubiertos con anticuerpos.** Mantenga los micropocillos sellados en la bolsa de aluminio hasta que los necesite. Retire los micropocillos de la bolsa de aluminio después de la extracción de las muestras y cuando esté listo para comenzar la prueba.
4. **Solución de extracción.** Prepare la solución de extracción añadiendo una bolsa de aluminio de buffer de extracción (PBS 10 mM) a 1 L de agua destilada o desionizada. Mezcle agitando para disolver completamente. Cubra y guarde las porciones no utilizadas, refrigeradas entre 2–8°C (35–46°F).
5. **Buffer de lavado.** Prepare la solución de buffer de lavado vertiendo todo el buffer de lavado concentrado en un recipiente vacío de 1 L. Enjuague la botella de buffer de lavado concentrado con agua destilada o desionizada y vierta en el recipiente de 1 L para asegurarse de que se utiliza todo el concentrado. Llene el recipiente de 1 L con agua destilada o desionizada adicional y agite para garantizar una mezcla completa. Cubra y guarde las porciones no utilizadas, refrigeradas entre 2–8°C (35–46°F).

NOTA: Deseche las porciones no utilizadas de la solución de extracción y de buffer de lavado cuando el kit se haya utilizado por completo.

PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

La muestra a ser analizada debe recolectarse de acuerdo con las técnicas de muestreo aceptadas (consulte el Manual de Alérgenos Alimentarios de Neogen). La muestra debe molerse y mezclarse bien antes de continuar con el procedimiento de extracción.

1. Prepare la solución de extracción como se describe en las notas de procedimiento.
2. Precaliente la solución de extracción a 60°C (140°F) sumergiendo la botella con la solución en el baño de agua, permitiendo que alcance 60°C.
3. Utilizando su procedimiento de muestreo y recolección, obtenga una muestra representativa y tritúrela a un tamaño de partícula muy fino.
4. Transfiera 5 g de muestra o 5 mL de muestra líquida a una botella de extracción desechable de 250 mL.
5. Añada una cucharada rasa del aditivo de extracción en la botella de muestra.
6. Vierta 125 mL de la solución de extracción a 60°C (140°F) en la botella de muestra.
7. Tape la botella de muestra para evitar que el contenido salpique durante la extracción.
8. Extraiga por agitación (150 rpm) en un baño de agua a 60°C (140°F) durante 15 minutos. Retire la botella del baño.
9. Permita que el material se asiente durante 5 minutos antes de continuar con el siguiente paso.

10. Filtre el extracto vertiendo al menos 5 mL a través de un filtro Whatman no. 4 y recolecte el filtrado como muestra.
Alternativa: Centrifugue a 14,000 rpm durante 5 minutos (20 minutos para velocidades más bajas). Use el sobrenadante transparente como su muestra.
11. Permita que los extractos se enfríen a una temperatura ambiente antes de comenzar el análisis.
12. Deseche los extractos después de terminar el análisis.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA PARA CUANTIFICACIÓN

Permita que el kit de prueba y todos los reactivos se calienten a una temperatura ambiente de 18–30°C (64–86°F) antes de usar.

1. Retire 1 micropocillo de mezcla marcado en rojo para cada muestra a ser analizada, más 5 micropocillos marcados en rojo para los controles; colóquelos en la gradilla para micropocillos.
2. Retire una cantidad igual de micropocillos recubiertos con anticuerpos. Devuelva inmediatamente los micropocillos que 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.
3. Mezcle cada reactivo revolviendo la botella del reactivo antes de usar.
4. Usando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera 150 µL de controles y de extractos de muestra a los micropocillos de transferencia marcados con rojo, como se muestra en la tabla a continuación. Ejecute solo dos tiras de 12 micropocillos a la vez.

0	2.5	5	10	25	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Tira 1
S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	Tira 2

5. Coloque puntas nuevas en el pipeteador de 12 canales y transfiera 100 µL de los controles y de extractos de muestras a los micropocillos recubiertos con anticuerpos. Mezcle durante 20 segundos, deslizando la gradilla para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana.
6. Incube los micropocillos durante **10 minutos** a temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F). Deseche los micropocillos de transferencia marcados en rojo.
7. Vacíe el contenido de los micropocillos en un fregadero. Con una piseta de lavado, llene bien cada micropocillo de anticuerpos con la solución buffer de lavado y viértalo. Repita el lavado 5 veces, luego voltee los micropocillos y golpéelos ligeramente sobre una toalla de papel hasta eliminar toda la solución de lavado restante.
8. Vierta el volumen necesario de conjugado de la botella con etiqueta azul en un reservorio para reactivo limpio.
9. Usando el pipeteador de 12 canales y puntas nuevas, transfiera 100 µL del conjugado a todos los micropocillos y mezcle durante 20 segundos, deslizando la gradilla para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana.
10. Incube durante **10 minutos** a temperatura ambiente 18–30°C (64–86°F).
11. Lave todos los micropocillos con la solución buffer de lavado como se describe en el paso 7.
12. Vierta el volumen necesario de solución de sustrato de la botella con etiqueta verde en un reservorio para reactivo limpio.
13. Coloque puntas en el pipeteador de 12 canales y transfiera 100 µL del sustrato en cada micropocillo y mezcle durante 20 segundos. No quite las puntas.
14. Incube durante **10 minutos** a temperatura ambiente 18–30°C (64–86°F).
15. Vierta el volumen necesario de la solución Red Stop de la botella con etiqueta roja en un reservorio para reactivo limpio.
16. Con las mismas puntas usadas para dispensar el sustrato, transfiera 100 µL de la solución Red Stop a todos los micropocillos y mezcle durante **20 segundos**.
17. Limpie el fondo de los micropocillos y léalos en un lector de micropocillos Stat-Fax 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.
18. Interprete los resultados de la prueba usando el lector de micropocillos de Neogen o un lector de tiras equivalente. Si usa un lector de tiras, calcule los resultados usando Veratox de Neogen para el software Windows®.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA PARA EL CRIBADO

Permita que el kit de prueba y todos los reactivos se calienten a una temperatura ambiente de 18–30°C (64–86°F) antes de usar.

1. Retire 1 micropocillo para cada muestra a ser analizada y 1 micropocillo para el control; colóquelos en la gradilla para micropocillos.
2. Escoja una botella de control con etiqueta amarilla para que sirva como nivel de detección para la prueba. Se recomienda el control de 5 ppm.
3. Mezcle cada reactivo revolviendo su botella antes de usar.
4. Añada 100 µL del control en la botella con etiqueta amarilla al primer micropocillo. Añada 100 µL de cada extracto de muestra al micropocillo respectivo, como se indica en la tabla que aparece a continuación. Para hisopos ambientales, añada 3 gotas del tubo del hisopo con un gotero. Mezcle durante **20 segundos**, deslizando la gradilla para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana.

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

5. Incube los micropocillos durante **10 minutos** a temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F).
6. Elimine el contenido de los micropocillos. Usando una piseta de lavado con solución de buffer de lavado, llene cada micropocillo y vacíelos. Repita 5 veces. Elimine el exceso de buffer de lavado volteando los pocillos y golpeándolos vigorosamente en una toalla de papel.
7. Añada 100 µL del conjugado en la botella con etiqueta azul a cada micropocillo. Mezcle durante **20 segundos**, deslizando la gradilla para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana.
8. Incube durante **10 minutos** a temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F).
9. Elimine el contenido de los micropocillos. Usando una piseta de lavado con solución de buffer de lavado, llene cada micropocillo y vacíelos. Repita 5 veces. Elimine el exceso de buffer de lavado volteando los pocillos y golpeándolos vigorosamente en una toalla de papel.
10. Añada 100 µL del sustrato en la botella con etiqueta verde a cada micropocillo. Mezcle durante 20 segundos, deslizando la gradilla para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana.
11. Incube durante **10 minutos** a temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F).
12. Añada 100 µL de la botella con etiqueta roja de Red Stop a cada micropocillo. Mezcle durante 20 segundos, deslizando la gradilla para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Los resultados están listos para ser interpretados.
13. Compare visualmente el color de un micropocillo de muestra con el color del micropocillo de control. Si el micropocillo de muestra tiene más color azul que el micropocillo de control, la muestra contiene más contaminación de maní que el control utilizado. Si el micropocillo de muestra tiene menos color azul, o más color rojo, que el micropocillo de control, la muestra contiene menos contaminación de maní que el control utilizado.

Alternativa: Lea los micropocillos (limpie el fondo de los micropocillos primero) en un lector de micropocillos con un filtro de 650 nm. Si el micropocillo de muestra tiene una densidad óptica (DO) más alta que el micropocillo de control, la muestra contiene más contaminación de maní que el control utilizado. Si el micropocillo de muestra tiene una DO más baja que el micropocillo de control, la muestra contiene menos contaminación de maní que el control utilizado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de cuantificación: 2.5 ppm maní (Descrito como el punto de concentración más bajo en la curva de calibración en la que esta prueba puede detectar de manera confiable el alérgeno de maní).

Rango de cuantificación: 2.5–25 ppm maní (Para cuantificar muestras por encima de 25 ppm, comuníquese con un representante de Neogen para obtener instrucciones de dilución).

Detección de alérgenos: Esta prueba detecta la proteína de maní y los resultados se expresan como ppm de maní total.

Conversión de proteína: Los resultados del kit de prueba se expresan como maní total. Para expresar los resultados como proteína, multiplique el resultado de proteína por 0.258 (p. ej., 2.5 ppm de maní total x 0.258 = 0.645 ppm de proteína de maní). Los maníes contienen 25.8% de proteína.*

*Fuente: USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 28, 16087 - Maní, todo tipo, crudo.

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) DISPONIBLES

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, 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, toxina T-2/HT-2, fumonisina, histamina

Bacterias transmitidas por los alimentos

- *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*

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



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