

Lea las instrucciones cuidadosamente antes de realizar la prueba

Veratox[®]

para Ocratoxinas

Prueba Cuantitativa

REFRIGÉRESE A 2–8°C (35–46°F) • NO CONGELAR

LA TOXINA

La ocratoxina, producida comúnmente por los mohos *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium viridicatum*, se puede encontrar en el maíz, la cebada, el café verde y varios frutos secos. La ocratoxina puede estar presente junto con la aflatoxina, uno de los carcinógenos más potentes de procedencia natural. De hecho, se sospecha que la ocratoxina es un carcinógeno.

La ocratoxina afecta los riñones de los animales expuestos a niveles de procedencia natural de esta micotoxina. Los pavos y otras aves presentaron menores niveles de productividad durante brotes de ocratoxicosis en el campo. Los síntomas incluyeron retraso en el crecimiento y disminución en la conversión de alimento. También se conoce que afecta la producción de huevos en las gallinas ponedoras.

Aunque la Dirección Federal de Fármacos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) no ha establecido un nivel regulatorio o de advertencia para ocratoxina, muchas personas están de acuerdo en que niveles de por lo menos 10–20 partes por billón (ppb) para los productos destinados para el consumo humano o animal pueden provocar problemas de salud y pérdidas económicas. Algunos mercados extranjeros han establecido límites de regulación entre 5 y 50 ppb.

La mejor protección contra las micotoxinas es monitorear su presencia en los alimentos para consumo humano y en alimentos para animales. Esto significa realizar pruebas durante todo el trayecto desde la cosecha inicial de los granos hasta el producto terminado.

PROPÓSITO DE USO

Veratox para Ocratoxinas está diseñado al análisis cuantitativo de ocratoxina en dichos productos como maíz, trigo, cebada, avena, arroz, harina de arroz, soja, harina de soja, harina de girasol, albaricoque, dátiles, uvas pasas, higos, fibra de arveja, palomitas de maíz, centeno, salvado de trigo y café verde.

USUARIO PREVISTO

Este kit de prueba está diseñado para ser usado por el personal de control de calidad y otras personas familiarizadas con alimentos para consumo humano y/o alimentos para animales posiblemente contaminados con ocratoxina. Debido a que la técnica es muy importante, los operadores los operadores deben contar con capacitación realizada por un representante de Neogen o por una persona que haya completado dicha capacitación.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

Veratox para Ocratoxinas es un ensayo inmunoenzimático competitivo directo (CD-ELISA) que permite al usuario obtener concentraciones exactas en partes por billón (ppb). Se permite que la ocratoxina libre en las muestras y controles compita con ocratoxina 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. Más color azul significa menos ocratoxina. 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 ocratoxina.

REQUERIMIENTOS DE ALMACENAMIENTO

El 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). No congelar.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. 48 micropocillos tapizados con anticuerpos
2. 48 micropocillos para mezclar marcados con rojo
3. 5 frascos de controles de ocratoxina de 0, 2, 5, 10 y 25 ppb con etiqueta amarilla (vea las precauciones para la manipulación de la solución de metanol)
4. 1 frasco con etiqueta azul de solución de conjugado HRP de ocratoxina
5. 1 frasco con etiqueta verde de solución de Sustrato K-Blue®
6. 1 frasco con etiqueta roja de Solución Detenedora Red Stop
7. Instrucciones para su uso

MATERIALES REQUERIDOS (NO SUMINISTRADOS)

1. Materiales para obtención de extractos (los artículos “c” al “e” están disponibles en el kit de Neogen, Producto Neogen 8052):
 - a. Metanol grado 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 Neogen, papel de filtro Whatman N° 1 o equivalente (Producto Neogen 9420, 9430)
 - e. Tubos para recolección de muestras (Producto Neogen 9421)
2. Mezclador o licuadora de alta velocidad (Producto Neogen 9493, 9477)
3. Triturador Agri-Grinder o equivalente (Producto Neogen 9401, 9453)
4. Balanza o báscula con capacidad de 5–50 g (Producto Neogen 9427)
5. Lector de micropocillos con un filtro de 650 nm (Producto Neogen 9303)
6. Pipeta de 12 canales (Producto Neogen 9273)
7. Pipeta de 100 µL (Producto Neogen 9272, 9290)
8. Puntas de pipeta para pipetas de 100 µL y de 12 canales (Producto Neogen 9410, 9407, 9417)
9. Toallas de papel o de un material absorbente equivalente
10. Balde de plástico para desechar los desperdicios
11. Soporte 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 botes de reactivo para pipeta de 12 canales (Producto Neogen 9450)
16. Agua destilada o desionizada

PRECAUCIONES

1. La solución de metanol es altamente inflamable. Mantenga el recipiente perfectamente cerrado y alejado del calor, chispas, flamas 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 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 pipeteado adecuadas, incluyendo el cebado de puntas.
7. El usar tiempos de incubación diferentes a los especificados puede producir resultados inexactos.
8. Permita que el kit de prueba alcance una temperatura ambiental de 18–30 °C (64–86 °F) antes de su uso.
9. Evite el almacenamiento prolongado a temperatura ambiente de los kits de prueba.
10. Trate todos los líquidos utilizados (incluso el extracto de muestra) y los objetos del laboratorio como si estuvieran contaminados con ocratoxina. 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, lave escrupulosamente todos los recipientes de vidrio entre una muestra y la siguiente.
12. Los productos analizados deben 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 instrucciones acerca del ajuste de pH..

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. **Sustrato:** El Sustrato K-Blue está listo para su uso. El sustrato debe estar entre transparente a un azul muy claro—deséchelo si se ha tornado azul oscuro. Vierta sólo el volumen de sustrato necesario dentro de el bote de reactivo. **No devuelva al frasco el sustrato que no haya utilizado.** Cubra el bote de reactivo para protegerlo 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 solamente después de haber obtenido los extractos de las muestras y cuando el procedimiento de análisis esté listo para empezar.
3. **Extracción:** A fin de obtener la recuperación óptima de ocratoxina en las matrices de trigo, cebada, avena y harina de arroz utilizando el sistema Veratox, las muestras se deben extraer utilizando una solución de metanol/agua al 70%. Todos los demás productos se deben extraer utilizando una solución de metanol/agua al 50%.

PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE MUESTRAS

La recolección de la muestra debe realizarse siguiendo las técnicas de muestreo aceptadas. La muestra deberá triturarse y mezclarse bien antes de proceder con la obtención del extracto. Almacene las muestras entre 2–8 °C (35–46 °F) hasta que sean analizadas. Si está utilizando el juego de extracción de micotoxinas de Neogen, siga las instrucciones de ese juego para el procedimiento de extracción. Si usted está preparando su propia solución de extracción, proceda con las siguientes instrucciones.

NOTA: Las muestras de trigo, cebada, avena y harina de arroz se deben extraer en solución de metanol al 70% para una recuperación máxima. Todos los demás productos se deben extraer con una solución de metanol/agua al 50%.

1. Prepare una solución de metanol al 50% mezclando 1 parte de metanol grado ACS con 1 parte de agua destilada o desionizada para cada muestra que se va a probar. (Prepare el metanol al 70% mezclando 7 partes de metanol grado ACS con 3 partes de agua destilada o desionizada.)
2. Obtenga una muestra representativa. Triture la muestra completa de modo que al menos 75% del material pase a través de una tamiz de malla 20, el tamaño de las partículas del café instantáneo.
3. Mezcle 25 g de la muestra molida con 100 mL de la solución de metanol/agua al 50% durante 2 minutos en una licuadora de alta velocidad (metanol/agua al 70% para las muestras de trigo, cebada, avena y harina de arroz).
Método alternativo: Agregue 10 g de la muestra triturada a 40 mL de la solución de metanol/agua al 50% y agite vigorosamente durante 5 minutos (metanol/agua al 70% para las muestras de trigo, cebada, avena y harina de arroz).
4. Filtre el extracto vertiendo por lo menos 5 mL a través de un filtro Whatman N° 1 (o jeringa con filtro Neogen) y recolecte el líquido filtrado como muestra.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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

1. Retire 1 micropocillo para mezclar marcado con rojo para cada muestra a analizar, además de 5 micropocillos para controles marcados con rojo y colóquelos en el soporte para micropocillos.
2. Retire la misma cantidad de micropocillos tapizados con anticuerpo. Devuelva inmediatamente al papel metálico con desecante los micropocillos tapizados que no vaya a utilizar. Selle la bolsa de papel metálico para proteger el anticuerpo. Marque un extremo de la tira reactiva con un "1" y colóquela en soporte para micropocillos con el extremo marcado al lado izquierdo. No marque el interior ni el fondo de los micropocillos.
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 marcado en rojo
5. Utilizando una nueva punta de pipeta para cada uno, transfiera 100 µL de controles y muestras a los micropocillos de mezclar marcados en rojo como se describe seguidamente.

0	2	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

6. Utilizando una pipeta de 12 canales, mezcle el líquido en los pozos pipeteándolo hacia arriba y hacia abajo 3 veces. Transfiera 100 µL a los micropocillos tapizados con anticuerpo. Mezcle y deslice durante 10-20 segundos el soporte para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana, cuidando de no derramar o salpicar los reactivos contenidos en los micropocillos. Incube durante **10 minutos** a temperatura ambiente (18–30°C, 64–86°F). Deseche los micropocillos de mezclar marcados con rojo.
7. Sacuda el contenido en los micropocillos. Llene los micropocillos con agua destilada o desionizada y deseche dicha agua sacudiéndolos. Repita esta operación cinco veces, luego invierta los micropocillos y golpéeles ligeramente sobre una toalla de papel, hasta eliminar el agua restante.
8. Vierta el volumen necesario de la solución de sustrato del frasco procedente del frasco con etiqueta verde a la bote de reactivo con etiqueta verde.
9. Utilizando una pipeta de 12 canales con puntas nuevas, ceebe y pipetee 100 µL de sustrato dentro de los micropocillos. Mezcle deslizando hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana durante 10–20 segundos.
10. Fije el cronómetro en **10 minutos e incube**. Deseche el sustrato restante y enjuague con agua la cubeta de reactivo.

11. Vierta la solución detenedora Red Stop del frasco con etiqueta roja dentro de la bote de reactivo con etiqueta roja.
12. Expulse el sustrato sobrante de la pipeta de 12 canales, cebe las puntas y pipetee 100 µL de Solución Detenedora a cada pozo. Mezcle deslizando hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche las puntas.
13. Limpie el exterior de los micropozos con un paño o toalla secos y lea el resultado en un lector de micropozos con un filtro de 650 nm. Elimine las burbujas de aire, pues podrían afectar los resultados analíticos. Los resultados deberán leerse dentro de los 20 minutos siguientes a la adición de la solución detenedora Red Stop.
14. Lea y calcule los resultados utilizando el lector de micropozos Awareness Stat-Fax de Neogen o alguno equivalente. Si utiliza un lector EL301 u otro lector de tira/placa, calcule los resultados utilizando el software Veratox de Neogen.

CARACTERÍSTICAS DEL DESEMPEÑO

Límite de la detección: 1 ppb (Determinada por el promedio de la media de 10 muestras libres de ocratoxina más 2 desviaciones estándar.)

Límite de la cuantificación: 2 ppb (Descrito como el punto de concentración más bajo en la curva de calibración en que esta prueba puede detectar ocratoxina con veracidad.)

Rango de la cuantificación: 2–25 ppb (Para muestras de cuantificación superiores a 25 ppb, comuníquese con el Departamento de Servicios Técnicos de Neogen para obtener las instrucciones de dilución.)

Matrices validadas: Albaricoque, cebada*, maíz, dátiles, higos o brevas, café verde, avena,* harina de avena, fibra de avena*, fibra de arvejas, palomitas de maíz, papas blancas, uvas pasas, arroz, harina de arroz, gluten de arroz, cascarilla de arroz, centeno, soja hidrolizada, granos de soja, harina de soja, harina de semillas de girasol, tapioca, cassava o mandioca, trigo* y salvado de trigo.

**Requiere metanol al 70% para su extracción.*

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

REPETICIÓN DE LA PRUEBA

Si Ud. obtiene resultados positivos en productos no analizados previamente, confírmelos mediante otro método aprobado antes de tomar alguna medida.

SERVICIO DE ATENCIÓN AL CLIENTE

Para obtener mayor información por favor contactar 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, 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 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 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

Fax: + (55) 5531-1647

informacion@neogenlac.com • www.neogen.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