

Lea las instrucciones cuidadosamente antes de realizar la prueba

Veratox[®] **para Fumonisin 5/10** **Prueba Cuantitativa**

REFRIGÉRESE A 2–8 °C • NO CONGELAR

LA TOXINA

Las fumonisin fueron descubiertas en 1989, y son parte de la familia de micotoxinas producidas por diferentes especies del moho *Fusarium*. Estos mohos infectan comúnmente el maíz (en realidad, se les considera siempre presentes en el maíz) y el arroz; por lo tanto, la posibilidad es alta de encontrar fumonisin en productos alimenticios y alimentos para animales. Las fumonisin afectan a diversos animales de formas diferentes y se las ha asociado al cáncer de esófago en los seres humanos. La Agencia de Protección Ambiental de los EE.UU. clasifica las fumonisin como cancerígenos de categoría II-B.

Los caballos son extremadamente sensibles a bajas cantidades de fumonisin, las cuales pueden causar leucoencefalomalacia (licuefacción del cerebro). Investigaciones llevadas a cabo en porcinos demuestran que las fumonisin atacan el sistema cardiopulmonar causando edema pulmonar, así como lesiones en el hígado y páncreas.

La Dirección General de Fármacos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) ha emitido una directriz final para fumonisin totales ($FB_1 + FB_2 + FB_3$) en alimentos para consumo humano y alimentos para animales:

ALIMENTOS PARA HUMANOS (fumonisin totales)

Productos de maíz seco desgerminados, deshidratados y molidos	2 ppm
Productos de maíz parcial o totalmente deshidratados y molidos, salvado de maíz deshidratado, molido y limpio para producción en gran escala	4 ppm
Maíz limpio para palomitas de maíz	3 ppm

ALIMENTO/CONCENTRADO PARA ANIMALES (maíz/subproductos del maíz, fumonisin totales)

Équidos y conejos	5 ppm en $\leq 20\%$ de la dieta
Porcinos y bagres	20 ppm en $\leq 50\%$ de la dieta
Rumiantes reproductores, aves de corral reproductoras y visones reproductores	30 ppm en $\leq 50\%$ de la dieta
Rumiantes de ≥ 3 meses de edad criados para matanza y visones criados para producción de pieles	60 ppm en $\leq 50\%$ de la dieta
Aves de corral criadas para matanza	100 ppm en $\leq 50\%$ de la dieta
Todas las otras especies o clases de ganado y animales domésticos	10 ppm en $\leq 50\%$ de la dieta

PROPÓSITO DE USO

La prueba de Veratox para Fumonisin 5/10 es un ensayo inmunoanalítico de absorción directa competitivo (CD-ELISA) en formato de micropocillo para el análisis cuantitativo de concentraciones de fumonisin en productos tales como maíz, harina de maíz y arroz.

USUARIO PREVISTO

La prueba Veratox para Fumonisin 5/10 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 fumonisin. Debido a la importancia de la técnica, los operadores deben contar con capacitación realizada por un representante de Neogen o por una persona que haya completado con éxito dicha capacitación.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

La prueba Veratox para Fumonisin 5/10 permite al usuario obtener concentraciones exactas en partes por millón (ppm). Se permite que la fumonisin libre de las muestras y controles compita con la fumonisin 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 fumonisin. 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 fumonisin.

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 para mezclar marcados en rojo
3. 5 frascos con etiquetas amarillas de controles de fumonisina de 0, 0,5, 1, 3 y 6 ppm (consulte las precauciones para la manipulación de la solución de metanol)
4. 1 frasco con etiqueta azul de solución del conjugado de fumonisina y peroxidasa de rábano (HRP)
5. 1 frasco con etiqueta verde de solución de sustrato K-Blue
6. 1 frasco con etiqueta roja de reactivo solución detenedora Red Stop
7. 28 frascos de dilución precargados con 7,9 ml de agua desionizada (no se proporcionan frascos de dilución con el producto 8836)

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Materiales para obtención de extractos (los artículos desde el "d" a "f" están disponibles en el kit de Neogen, Producto Neogen 8052):
 - a. Solución de metanol al 70% (Producto Neogen 8055, 8056) o metanol de calidad ACS
 - b. Agua destilada o desionizada
 - c. Probeta graduada de 250 ml (Producto Neogen 9368)
 - d. Recipiente con capacidad para 125 ml (Producto Neogen 9428)
 - e. Jeringa con filtro Neogen, con papel de filtro Whatman N° 1, o equivalente (Producto Neogen 9420, 9430)
 - f. Tubos para recolección de muestras (Producto Neogen 9421)
2. Mezclador o licuadora de alta velocidad (Producto Neogen 9493, 9477)
3. Triturador Agri-Grind o equivalente (Producto Neogen 9401, 9453)
4. Balanza o báscula con capacidad de 2–50 g $\pm$ 0,1 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 μ L (Producto Neogen 9272, 9290)
8. Puntas para pipetas de 100 μ L y 12 canales (Producto Neogen 9410, 9407, 9417)
9. Toallas de papel o de un material absorbente equivalente
10. Balde de plástico de 1/2 galón 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 muy inflamable. Cierre bien el recipiente 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. Permita que el kit de prueba alcance una temperatura ambiental de 18–30°C (64–86°F) antes de su uso.
4. Evite el almacenamiento prolongado a temperatura ambiente de los kits de prueba.
5. No utilice los componentes de esta prueba después de su fecha de vencimiento.
6. No mezcle los reactivos de una serie de kits con reactivos de una serie diferente.
7. No utilice más de 24 micropocillos por prueba.
8. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas, incluyendo el cebado de las puntas.
9. El usar tiempos de incubación distintos a los especificados puede generar lecturas erradas y resultados inexactos.
10. Trate todos los líquidos utilizados (incluso el extracto de muestra) y los objetos del laboratorio como si estuvieran contaminados con fumonisina. 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 obtener instrucciones acerca del ajuste del pH.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. **Sustrato:** El sustrato azul K-Blue está listo para su uso. El sustrato debe ser transparente. Deséchelo si se tornó 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 con anticuerpos:** Mantenga los micropocillos sellados en la bolsa de papel metálico hasta que los necesite. Extraiga los pocillos 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 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 a 2–8°C (35–46°F) hasta que sean analizadas.

- 1. Si Ud. no está utilizando la solución preparad 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 la muestra de modo que al menos 75% del material 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: Mezcle durante 2 minutos 25 gramos de muestra triturada con 125 ml de metanol al 70% utilizando un mezclador de alta velocidad.
Método alternativo: Combine 5 gramos de muestra triturada con 25 ml de metanol al 70% y agite bien durante 3 minutos.
- 4. Filtre el extracto, vertiendo al menos 5 ml a través de un filtro Whatman N° 1 (o una jeringa filtrante de Neogen), y recolecte el líquido filtrado como muestra.
- 5. Diluya la muestra añadiendo 100 µl de extracto de muestra a un frasco de dilución de muestra precargado y agite vigorosamente el frasco. La muestra está lista para ser analizada. Repita el proceso por cada muestra, asegurándose de etiquetar cada frasco.

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 de mezclar marcado en rojo por cada muestra a analizar, además de 5 micropocillos marcados en rojo para los controles, 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 con anticuerpos 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 el soporte para micropocillos con el extremo marcado a la izquierda. 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 indica a continuación.

0	0,5	1	3	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. Utilizando una pipeta de 12 canales, mezcle el líquido de los micropocillos pipeteándolo hacia arriba y hacia abajo tres veces. Transfiera 100 µl a los pocillos con tapizados con anticuerpo. Deseche los micropocillos de mezclar marcados en rojo.
- 7. Fije el cronómetro en 5 minutos y mezcle los micropocillos durante el primer minuto de la incubación a temperatura ambiente; para ello, deslice 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.
- 8. Se ha completado la reacción inicial. Extraiga el contenido de los micropocillos sacudiéndolos. Llénelos con agua destilada o desionizada y sacúdalos Repita esta operación cinco veces, luego invierta los pocillos y golpéelos ligeramente sobre una toalla de papel, hasta expulsar el agua restante.
- 9. Vierta el volumen necesario de sustrato procedente del frasco con etiqueta verde en la cubeta de reactivo con etiqueta verde.
- 10. Utilizando una pipeta de 12 canales con puntas nuevas, cebe las puntas y pipetee 100 µL de sustrato en los micropocillos.
- 11. Fije el cronómetro en **10 minutos y mezcle los micropocillos** durante el primer minuto deslizando el soporte para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche el sustrato restante y enjuague con agua el bote con el reactivo.
- 12. Vierta la solución detenedora Red Stop contenida en el frasco con etiqueta roja en el bote de reactivo con etiqueta roja.
- 13. Expulse el sustrato sobrante de la pipeta de 12 canales, cebe las puntas y pipetee 100 µL de solución detenedora Red Stop en cada micropocillo. Mézclelos deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche las puntas.
- 14. 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 podrían perjudicar los resultados analíticos. Los resultados deberán leerse dentro de los 20 minutos siguientes a la adición de la solución detenedora Red Stop.
- 15. Lea y calcule los resultados con el lector de micropocillos Stat Fax de Neogen, o su equivalente. Si utiliza un lector de tiras y placas, calcule los resultados con un Veratox de Neogen para software Windows.

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 detección: 0,2 ppm (determinado por la media de 10 muestras sin fumonisina, más 2 desviaciones típicas).

Límite de la cuantificación: 0,5 ppm (descrito como el punto de concentración más bajo de la curva de calibración en que este análisis puede detectar la fumonisina de manera confiable).

Intervalo de la cuantificación: 0,5 – 6 ppm (para cuantificar muestras con más de 6 ppm, solicite las instrucciones para las diluciones al Dpto. de Servicios Técnicos de Neogen).

Matrices validadas: Cebada, pulpa de remolacha*, maíz, harina de maíz, harina de germen de maíz*, harina de gluten de maíz*, mezcla de maíz y soja, granos secos de destilería*, maíz remojado, Grano seco usado en destilería con solubles, Grano compactado húmedo usado en destilería, mijo, milo, sorgo, avena, cascarillas de avena, avena negra, fibra de arvejas, alimento para mascotas, palomitas de maíz, papas blancas, gluten de arroz, cascarillas de arroz, arroz con cáscara, centeno, soja hidrolizada, granos de soja, harina de granos de soja, harina de girasol, trigo y 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.

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
800/234-5333 (USA/Canadá)
foodsafety@neogen.com
foodsafety.neogen.com

Europa, Medio Oriente y Africa

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