

Read instructions carefully before starting test

Reveal[®]

for Aflatoxin Ethanol Extraction

THE TOXIN

Aflatoxin is a toxic and carcinogenic substance produced by certain strains of the molds *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. There are four principle types of aflatoxin: B₁, B₂, G₁ and G₂. Aflatoxin B₁ is the most frequently encountered of the group and the most toxic. The commodities most affected by aflatoxin are corn, peanuts, cottonseed, milo, and the majority of tree nuts.

The affects in animals of ingesting excessive amounts of the toxin range from chronic health and performance problems to death. Aflatoxin has been shown to cause liver damage or cancer, decreased milk and egg production, immune suppression and interference with reproductive efficiency.

The FDA has set maximum allowable levels of aflatoxin in food and feed. Therefore, accurate determination of the presence of the toxin is of major importance to those monitoring the quality of food and feed in which aflatoxin may occur. Testing these commodities for the toxin requires careful sampling, chemical extraction, sanitation and quantitative analysis.

The FDA has issued regulatory levels for aflatoxin as follows:

For	Level	Commodities
Humans	20 ppb	All food except milk
All animal species	20 ppb	All feed (exceptions below)
Exceptions:		
Breeding cattle, breeding swine, mature poultry	100 ppb	Corn
Finishing swine (> 100 lbs.)	200 ppb	Corn
Finishing beef cattle	300 ppb	Corn
Finishing beef cattle, swine, poultry	300 ppb	Cottonseed meal

Reveal[®] for Aflatoxin is intended for the screening of corn for aflatoxin. The test kit is designed for use by quality control personnel and others familiar with commodities possibly contaminated by aflatoxin.

ASSAY PRINCIPLES

Reveal for Aflatoxin is a single-step lateral flow immunochromatographic assay based on a competitive immunoassay format. The extract is wicked through a reagent zone, which contains antibodies specific for aflatoxin conjugated to colloidal gold particles. If aflatoxin is present, it will be captured by the particle-antibody complex. The aflatoxin-antibody-particle complex then is wicked onto a membrane, which contains a zone of aflatoxin conjugated to a protein carrier. This zone captures any uncomplexed aflatoxin antibody, allowing the particles to concentrate and form a visible line. If aflatoxin is present above a pre-determined limit, no line will form. Therefore, a positive sample will result in the absence of a line in the test zone. Alternatively, a negative sample will form a visible line in the test zone. The membrane also contains a control zone where an immune complex present in the reagent zone is captured by an antibody, forming a visible line. The control line will always form regardless of the presence of aflatoxin, ensuring the strip is functioning properly.

STORAGE REQUIREMENTS

Store kit components at room temperature (18-30°C, 64-86°F) to assure full shelf life. Test strips should remain capped in their original sample tubes until used to assure optimal performance.

MATERIALS PROVIDED

1. 25 aflatoxin test strips
2. 25 sample cups
3. 1 bottle of sample diluent

MATERIALS RECOMMENDED BUT NOT PROVIDED

1. 65% ethanol solution
2. Distilled or deionized water
3. Sample collection cups with lids (Neogen item #9428)
4. Agri-Grind grinder or equivalent (Neogen item #9401)
5. Scale capable of weighing 10 grams \pm 0.1 g (Neogen item #9427)
6. Timer (Neogen item #9426)
7. Reveal sample cup rack (Neogen item #9475)
8. Cylinder, 50 mL graduated (Neogen item #9447)
9. Pipettor, 100 μ L (Neogen item 9272, 9860)
10. Pipette tips, 100 μ L (Neogen item 9407, 9410, 9417)
11. Pipettor, 500 μ L (Neogen item 9336, 9291)
12. Pipette tips, 200–1000 μ L (Neogen item 9464, 9487, 9293, 9292)
13. Reveal AccuScan Gold Reader

PRECAUTIONS

1. The test strips must remain inside the stay-dry tube before use.
2. Ethanol solution is highly flammable. Keep container tightly closed, and away from heat, sparks, open flame and those smoking. It is toxic if swallowed, or if vapor is inhaled. Avoid contact with skin.
3. Store test kit at room temperature (18-30°C, 64-86°F) when not in use, do not freeze.
4. Do not use kit components beyond expiration date.
5. Treat all used liquids, including sample extract, and labware as if contaminated with aflatoxin. Gloves and other protective apparel should be worn at all times.
6. To avoid cross-contamination, use clean glassware for each sample, and thoroughly wash all glassware between samples.

SAMPLE PREPARATION AND EXTRACTION

The sample to be tested should be collected according to accepted sampling techniques (see GIPSA sampling protocol or contact your Neogen representative). Obtain a representative sample (minimum 100 g). Grind the sample so at least 95% of the ground material passes through a 20 mesh sieve (about the particle size of fine espresso).

1. If not using Neogen's prepared solution, prepare a 65% ethanol solution by mixing 6.5 parts ethanol with 3.5 parts distilled or deionized water for each sample.
2. Combine 10 grams of ground sample with 20 mL of 65% ethanol. Vigorously shake, using hand or mechanical means, for 1 minute.
3. Allow the sample to settle, then filter with a filter syringe or Whatman No. 4 filter paper.
4. You may also pipette 1 mL of sample into a 1.5 mL micro-centrifuge tube, and centrifuge for 1 minute using a microcentrifuge.
5. The sample is now ready for testing.

TEST PROCEDURE

1. Place the appropriate number of red sample cups into a sample cup rack.
2. Add 100 μ L of the clear portion of the sample extract (or filtered extract) to the red sample cup.
3. Using a new tip, add 500 μ L of sample diluent to the red cup containing the sample extract. Mix well by pipetting up and down 3 times.
4. Place the Reveal for Aflatoxin test strip into the red sample cup and set a timer for 3 minutes. Ensure the test strip comes into contact with liquid and begins to wick.
5. Remove the strip from the sample cup after it has developed for 3 minutes.
6. Read visually by holding strip up to line of sight. Strip must be read within 30 seconds of the 3 minute incubation.

INTERPRETATION OF RESULTS

Results less than 20 ppb: If a line forms in the test zone and another line forms in the control zone within 3 minutes (2 lines total), the sample contains less than 20 ppb aflatoxin (negative sample). A negative sample may be determined as soon as 2 lines are visible on the strip. If there is no line in the control zone, the test is invalid and the sample should be re-tested with another strip.

Results greater than or equal to 20 ppb: If after the full 3 minutes there is no visible line in the test zone, but a visible line in the control zone, the sample contains at least 20 ppb aflatoxin (positive sample). If there is no line in the control zone, the test is invalid and the sample should be retested with another strip.

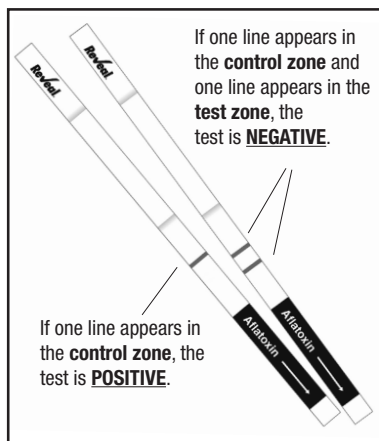
Notes:

- Observations should be made between 3 and 3.5 minutes. Observations after 3.5 minutes may be inaccurate due to over-development of the device.
- The strips can be read using Neogen's Reveal AccuScan Gold Reader*. This eliminates subjectivity by interpreting and storing sample results.
- Positives can be confirmed by Neogen's quantitative Veratox* products for aflatoxin or HPLC.

*Contact Neogen or visit www.neogen.com for more information on these products.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Reveal for Aflatoxin is designed to screen for aflatoxin in corn at 20 ppb.



Neogen Customer Assistance and Technical Services can be reached by using the contact information on the back of this booklet. Training on this product, and all Neogen test kits, is available.

SDS INFORMATION AVAILABLE

Safety data sheets (SDS) are available for this test kit, and all of Neogen's test kits, on Neogen's website at foodsafety.neogen.com, or by calling Neogen at 800/234-5333 or 517/372-9200.

TERMS AND CONDITIONS

For Neogen's full terms and conditions, please visit www.neogen.com/en/terms-and-conditions.

WARRANTY

Neogen Corporation makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, Neogen will provide a replacement of the product. Buyer assumes all risk and liability resulting from the use of this product. There is no warranty of merchantability of this product or of the fitness of the product for any purpose. Neogen shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

TEST KITS AVAILABLE FROM NEOGEN

Natural toxins

- Aflatoxin, DON, ochratoxin, zearalenone, T-2/HT-2 toxins, fumonisin, histamine

Foodborne bacteria

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

Sanitation

- ATP, yeast and mold, total plate count, generic *E. coli* and total coliforms, protein residues

Food allergens

- Almonds, crustaceans, eggs, gliadin, hazelnut, milk, mustard, peanuts, sesame, soy, walnuts, multi-treenut

Genetic modification

- CP4 (Roundup Ready®)

Ruminant by-products

- Meat and bone meal, feed

Species Identification

- Raw and cooked meat samples, feed



North America

Neogen Headquarters

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

Europe, Middle East and Africa

Neogen Europe

+ 44 (0) 1292 525 600
info_uk@neogeneurope.com
www.neogeneurope.com

Mexico

Neogen Latinoamerica

+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

Tel: +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

Lea las instrucciones cuidadosamente antes de realizar la prueba

Reveal[®]

para aflatoxina

Extracción de etanol

LA TOXINA

La aflatoxina es una sustancia tóxica y cancerígena producida por ciertas cepas de hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Existen cuatro tipos principales de aflatoxina: B₁, B₂, G₁ y G₂. La aflatoxina B₁ es la más común de este grupo y la más tóxica. Los productos más afectados por las aflatoxinas son el maíz, maní, semilla de algodón, milo y la mayoría de los frutos secos.

Los animales que ingieren cantidades excesivas de la toxina sufren de una gama de complicaciones, desde problemas crónicos de salud y rendimiento, hasta la muerte. Se ha demostrado que la aflatoxina causa daños o cáncer en el hígado, disminuye la producción de leche y huevos, deprime el sistema inmunológico, e interfiere con la eficiencia reproductiva.

La FDA ha establecido niveles máximos permitidos de aflatoxinas en alimentos y piensos. Por lo tanto, la determinación precisa de la presencia de la toxina es de gran importancia para el personal de control de calidad de alimentos y concentrados que pueden ser afectados por las aflatoxinas. La realización de pruebas en estos productos para la detección de la toxina requiere un muestreo meticuloso, una extracción química, limpieza y un análisis cuantitativo.

La FDA ha emitido niveles reglamentarios para aflatoxina de la siguiente manera:

Para	Nivel	Productos
Humanos	20 (ppb)	Todos los alimentos, excepto la leche
Todas las especies animales	20 ppb	Todos los concentrados (con las siguientes excepciones)
Excepciones:		
Ganado reproductor, porcinos reproductores, aves de corral adultas	100 ppb	Maíz
Cerdos de engorde (>100 lbs)	200 ppb	Maíz
Ganado de engorde	300 ppb	Maíz
Aves de corral, cerdos y ganado de engorde	300 ppb	Harina de semilla de algodón

USO/USUARIO PREVISTO

La prueba Reveal® para aflatoxina está destinada para el cribado de maíz para aflatoxina. El kit de prueba está diseñado para ser utilizado por el personal de control de calidad y otras personas familiarizadas con productos que estén posiblemente contaminados por aflatoxinas.

FUNDAMENTO DEL ANÁLISIS

Reveal para Aflatoxina es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral de un solo paso, basado en un formato de inmunoensayo competitivo. El extracto pasa a través de una zona de reactivos que contiene anticuerpos específicos para aflatoxina conjugados con partículas de oro coloidal. Si la aflatoxina está presente, será capturada por el complejo partícula-anticuerpo. Luego, el complejo aflatoxina-anticuerpo-partícula pasa por una membrana que contiene una zona de aflatoxina conjugada con un portador proteico. Esta zona captura cualquier anticuerpo de aflatoxina no complejo, permitiendo que las partículas se concentren y formen una línea visible. Si la aflatoxina está presente por encima de un límite predeterminado, no se formará ninguna línea. Por lo tanto, una muestra positiva resultará en la ausencia de una línea en la zona de prueba. Alternativamente, una muestra negativa formará una línea en la zona de prueba. La membrana también contiene una zona de control donde un complejo inmune presente en la zona del reactivo es capturado por un anticuerpo, formando una línea visible. La línea de control se formará siempre independientemente de la presencia de aflatoxina, asegurando que la tira esté funcionando correctamente.

ALMACENAMIENTO

Almacene los componentes del kit a temperatura ambiente (18–30°C, 64–86°F) para asegurar una vida útil completa. Las tiras de prueba deben permanecer confinadas en sus tubos originales hasta el momento que vayan a ser usadas para garantizar un rendimiento óptimo.

MATERIALES INCLUIDOS

1. 25 tiras de prueba para aflatoxina
2. 25 recipientes de muestras
3. 1 botella de diluyente de muestras

MATERIALES RECOMENDADOS, PERO NO INCLUIDOS

1. Solución de etanol al 65%
2. Agua destilada o desionizada
3. Recipientes con tapas para recolección muestras (producto Neogen 9428)
4. Triturador Agri-Grind o equivalente (producto Neogen 9401)
5. Balanza capaz de pesar 10 gramos \pm 0.1 g (producto Neogen 9427)
6. Cronómetro (producto Neogen 9426)
7. Gradilla para recipientes de muestras Reveal (producto Neogen 9475)
8. Cilindro graduado de 50 mL (producto Neogen 9447)
9. Pipeteador, 100 μ L (producto Neogen 9272, 9860)
10. Puntas de pipeta, 100 μ L (producto Neogen 9407, 9410, 9417)
11. Pipeteador, 500 μ L (producto Neogen 9336, 9291)
12. Puntas de pipeta, 200–1000 μ L (producto Neogen 9464, 9487, 9293, 9292)
13. Lector AccuScan Gold

PRECAUCIONES

1. Las tiras de prueba deben permanecer en el tubo a prueba de humedad suministrado antes de uso.
2. El etanol es altamente inflamable. Mantenga el contenedor bien cerrado y alejado de calor, chispas, llamas expuestas y fumadores. Es tóxico si es ingerido o si el vapor es inhalado. Evite el contacto con la piel.
3. Almacene el kit de prueba a temperatura ambiente (18–30°C, 64–86°F) cuando no esté en uso. No congele.
4. No utilice los componentes del kit después de la fecha de vencimiento.
5. Trate todos los líquidos usados, incluyendo el extracto de la muestra y los materiales de laboratorio como si estuvieran contaminados con aflatoxinas. Siempre debe usar guantes y otras prendas protectoras.
6. Para evitar la contaminación cruzada, utilice cristalería limpia para cada muestra y lávela completamente entre las muestras.

PREPARACIÓN Y EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

La muestra a ser analizada debe ser recolectada de acuerdo a las técnicas de muestreo aceptadas (vea el protocolo de muestreo GIPSA o contacte a su representante de Neogen). Obtenga una muestra representativa (mínimo de 100 g). 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 expreso).

1. Si no utiliza la solución preparada de Neogen, prepare una solución de etanol al 65% mezclando 6.5 partes de etanol con 3.5 partes de agua destilada o desionizada para cada muestra.
2. Combine 10 gramos de muestra triturada con 20 mL de etanol al 65%. Agite vigorosamente, usando las manos o medios mecánicos, durante 1 minuto.
3. Permita que la muestra se asiente y filtre usando una jeringuilla con filtro o papel de filtro Whatman #4.
4. También puede pipetear 1 mL de la muestra a un tubo de micro-centrífuga de 1.5 mL y centrifugar por 1 minuto usando una micro-centrífuga.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Coloque el número apropiado de recipientes de muestras rojos en una gradilla para recipientes.
2. Añada 100 μ L de la porción transparente del extracto de muestra (o extracto filtrado) al recipiente de muestra rojo.
3. Usando una punta nueva, añada 500 μ L del diluyente de muestra al recipiente de muestra rojo que contiene el extracto de muestra. Mezcle bien pipeteando de arriba hacia abajo 3 veces.
4. Coloque una tira de prueba Reveal para aflatoxina en el recipiente de muestra rojo y ajuste el cronómetro a 3 minutos. Asegúrese de que la tira de prueba esté en contacto con el líquido y que el líquido empiece a fluir.
5. Retire la tira del recipiente de muestra después de que se haya desarrollado por 3 minutos.
6. Lea visualmente sosteniendo la tira hasta la línea de visión. La tira debe leerse dentro de 30 segundos después de la incubación de 3 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultados inferiores a 20 ppb: Si se forma una línea en la zona de prueba y se forma otra línea en la zona de control dentro de los 3 minutos (2 líneas en total), la muestra contiene menos de 20 ppb de aflatoxina (muestra negativa). Se puede determinar una muestra negativa tan pronto como 2 líneas sean visibles en la tira. Si no hay línea en la zona de control, la prueba no es válida y debe volver a analizarse con otra tira.

Resultados mayores o iguales a 20 ppb: Si después de los 3 minutos completos no hay una línea visible en la zona de prueba, pero sí una en la zona de control, la muestra contiene al menos 20 ppb de aflatoxina (muestra positiva). Si no hay línea en la zona de control, la prueba no es válida y debe volver a analizarse con otra tira.

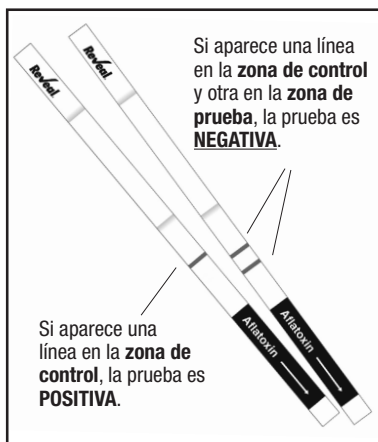
Notas:

- Las observaciones deben realizarse entre 3 y 3.5 minutos. Las observaciones después de 3.5 minutos pueden ser inexactas debido al sobredesarrollo del dispositivo.
- Las tiras se pueden leer usando el lector AccuScan Gold* de Neogen. Esto elimina la subjetividad al interpretar y almacenar los resultados de las muestras.
- Los resultados positivos pueden ser confirmados con los productos cuantitativos Veratox* para aflatoxina de Neogen o por HPLC.

*Contacte a Neogen o visite www.neogen.com para obtener más información sobre estos productos.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Reveal para aflatoxina está destinada para el cribado de aflatoxina en maíz a 20 ppb.



¿Tiene preguntas? Llame a Neogen al +1 800/234-5333 o +1 517/372-9200

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 remplazo 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.



A series of horizontal lines for taking notes, consisting of 30 evenly spaced lines that fill the majority of the page.

KITS DE PRUEBA DISPONIBLES DE NEOGEN

Toxinas naturales

- Aflatoxina, desoxinivalenol (DON), ocratoxina, zearalenona, toxinas T-2/HT-2, fumonisina, histamina

Bacterias transmitidas por 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, ajonjolí, soya, nuez de nogal y múltiples frutos secos

Modificación genética

- CP4 (Roundup Ready®)

Subproductos de rumiantes

- Harina de Carne y Huesos, concentrado para animales

Identificación de especies

- Muestras de carnes crudas y cocinadas, concentrado para animales



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

Brazil

Neogen do Brasil

+55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br
www.neogendobrasil.com.br

China

Neogen Bio-Scientific Technology

Tel: +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