

*Read instructions carefully before starting test*

# Veratox<sup>®</sup> MAX

## for Total Aflatoxin

### Quantitative Test with Aqueous Extraction

REFRIGERATE AT 2–8°C • DO NOT FREEZE

**FGIS – 2016-088**

#### THE TOXIN

Aflatoxin is a toxic and carcinogenic substance produced by certain strains of the molds *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*. The four principle types of aflatoxin are: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub>. Aflatoxin B<sub>1</sub> 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 effects 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)  |
| <b>Exceptions:</b>                              |         |                              |
| Breeding cattle, breeding swine, mature poultry | 100 ppb | Corn                         |
| Finishing swine (>100 lbs.)                     | 200 ppb | Corn                         |
| Finishing beef cattle                           | 300 ppb | Corn                         |
| All animal species                              | 300 ppb | Cottonseed meal used in feed |

#### INTENDED USE

Veratox MAX for Total Aflatoxin is intended for the quantitative analysis of aflatoxin in corn and corn gluten meal. This kit is designed to detect the four principle types of aflatoxin: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, and G<sub>2</sub> with superior cross-reactivity when compared to other available kits. Veratox for Total Aflatoxin is the first ELISA microwell test to utilize an aqueous extraction procedure.

## INTENDED USER

This test kit is designed for use by quality control personnel and others familiar with food and feed possibly contaminated by aflatoxin. Since technique is very important, operators should be trained by a Neogen representative or someone who has successfully completed the Neogen training.

## ASSAY PRINCIPLES

Veratox MAX for Total Aflatoxin is a direct competitive ELISA in a microwell format which allows the user to obtain exact concentrations in parts per billion (ppb). Free aflatoxin in the samples and controls is allowed to compete with enzyme-labeled aflatoxin (conjugate) for the antibody binding sites. After a wash step, substrate is added, which reacts with the bound conjugate to produce blue color. More blue color means less aflatoxin. The test is read in a microwell reader to yield optical densities. The optical densities of the controls form the standard curve, and the sample optical densities are plotted against the curve to calculate the exact concentration of aflatoxin.

## STORAGE REQUIREMENTS

The kit can be used until the expiration date on the label when stored refrigerated at 2–8°C (35–46°F). The MAX 2 packets can be used until the expiration date listed on the label when stored at room temperature 18–30°C (64–86°F).

## MATERIALS PROVIDED

1. 48 antibody-coated microwells
2. 48 red-marked mixing wells
3. 4 yellow-labeled bottles of 0, 5, 15 and 50 ppb aflatoxin controls
4. 1 blue-labeled bottle of aflatoxin-HRP conjugate solution
5. 1 green-labeled bottle of K-Blue® Substrate solution
6. 1 red-labeled bottle of Red Stop solution
7. 25 MAX 2 Aqueous Extraction Packets
8. 1 pink-labeled bottle of dilution diluent

## MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Extraction materials
    - a. MAX 2 Aqueous Extraction Packets (Neogen item 8036)
    - b. MAX 2 G-50 Aqueous Extraction Packets (Neogen item 8036G)
    - c. 250 mL graduated cylinder or dispensing pump (Neogen item 9368, 9448)
    - d. Container with 125 mL capacity (Neogen item 9428)
    - e. Filter syringes, Whatman #4 filter paper, or equivalent (Neogen item 9420, 9519, 9429)
    - f. Sample collection tubes (Neogen item 9421)
  - or**
  - g. Centrifuge, mini (Neogen item 9330)
  - h. Micro-centrifuge tubes (Neogen item 9172)
  2. Agri-Grind grinder or equivalent (Neogen item 9401, 9453)
  3. Scale capable of weighing 5-50 grams (Neogen item 9427)
  4. Microwell reader with a 650 nm filter (Neogen item 9303)
  5. Pipettor, 12-channel (Neogen item 9273)
  6. Pipettor, 100 µL (Neogen item 9272, 9290)
  7. Pipette tips for 100 µL and 12-channel pipettors (Neogen item 9410, 9407, 9417)
  8. Paper towels or equivalent absorbent material
  9. Plastic bucket for use as waste receptacle
  10. Microwell holder (Neogen item 9402)
  11. Timer (Neogen item 9426)
  12. Waterproof marker
  13. Wash bottle (Neogen item 9400)
  14. 2 reagent boats for 12-channel pipettor (Neogen item 9450)
  15. Distilled or deionized water
  16. Shaker, Rockit (Neogen item 9390)
  17. Blender (Neogen item 9493)
  18. Blender jar, mini (Neogen item 9477)
-

## PRECAUTIONS

1. Store test kit refrigerated, between 2–8°C (35–46°F) when not in use. Do not freeze.
2. Kits should be brought to room temperature 18–30°C (64–86°F) for at least 2 hours prior to use.
3. Avoid prolonged storage of kits at ambient temperatures.
4. Do not use kit components beyond expiration date.
5. Do not mix reagents from one kit serial with reagents from a different kit serial.
6. Do not run more than 24 wells at a time.
7. Follow proper pipetting techniques, including priming of tips.
8. Use of incubation times other than those specified may give inaccurate results.
9. Treat all used liquids, including sample extract, and labware as if contaminated with aflatoxin.
10. To avoid cross-contamination, use clean pipette tips and glassware for each sample, and thoroughly detoxify and wash all glassware between samples.
11. Commodities tested should have a pH of 6–8. Excessively acidic or alkaline samples should be adjusted. For instructions on adjusting pH contact your Neogen representative or Technical Services.

## PROCEDURAL NOTE

1. K-Blue Substrate is ready for use. The substrate should be clear to light blue — discard if it has turned dark blue. Only pour the needed volume of substrate into a reagent boat. **Do not return unused substrate to the bottle.** Cover the reagent boat to keep the substrate protected from light until it is needed.
2. **Antibody wells:** Keep wells sealed in the foil pouch until needed. Remove wells from the foil pouch only after samples are extracted, and the test is set to begin.

## SAMPLE PREPARATION

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

## SAMPLE EXTRACTION

1. Weigh out 10 g  $\pm$  0.1 g of sample into container cup. Pour contents of 1 MAX 2 Aqueous Extraction Packet into the container cup.
2. Add 50 mL of distilled or deionized water over the sample and extraction powder.
3. Vigorously shake, using hand or mechanical means, for 3 minutes. Let sample settle for 10 minutes.
4. Filter the extract with a filter syringe or through a Whatman #4 filter paper to collect a minimum of 3 mL sample filtrate into a sample collection tube. You may also pipette 1 mL of sample into a 2.0 mL microcentrifuge tube, and centrifuge for 30 seconds using a micro-centrifuge.
5. The sample is now ready for testing.

## FGIS METHOD SAMPLE EXTRACTION

1. Weigh out 50 g  $\pm$  0.1 g of sample into container cup. Pour contents of 1 MAX2 G-50 Aqueous Extraction Packets into the container cup.
2. Add 250 mL of distilled or deionized water over the sample and extraction powder.
3. Vigorously shake using mechanical means for 3 minutes or blend for 1 minute. Let sample settle for 10 minutes.
4. Filter the extract by pouring at least 5 mL through a Whatman #4 filter, or use a filter syringe.
5. The sample is now ready for testing.

## TEST PROCEDURE

Allow all reagents to warm to room temperature 18–30°C (64–86°F) for at least two hours prior to use.

1. Remove 1 red-marked mixing well for each sample to be tested plus 4 red-marked wells for controls, and place in the well holder.
2. Remove an equal number of antibody-coated wells. Return antibody wells which will not be used immediately to the foil pack with desiccant. Reseal the foil pack to protect the antibody. Mark one end of strip with a “1”, and place strip in the well holder with the marked end on the right. Do not mark the inside or bottom of the wells.
3. Mix each reagent by swirling the reagent bottle prior to use.
4. Place 100 µL of conjugate from the blue-labeled bottle in each red-marked mixing well.
5. Using a new pipette tip for each, transfer 100 µL of controls and samples to the red-marked mixing wells as described below.

|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |         |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|
| 0  | 5   | 15  | 50  | S1  | S2  | S3  | S4  | S5  | S6  | S7  | S8  | Strip 1 |
| S9 | S10 | S11 | S12 | S13 | S14 | S15 | S16 | S17 | S18 | S19 | S20 | Strip 2 |

6. Using a 12-channel pipettor, mix the liquid in the wells by pipetting it up and down 5 times. Transfer 100 µL to the antibody-coated wells. Discard the red-marked mixing wells.
7. Set timer for 5 minutes, mixing the wells for the first 30 seconds of the room temperature incubations by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface without splashing reagents from wells.
8. Shake out the contents of the antibody wells. Fill the wells with distilled or deionized water and dump them out. Repeat this step 5 times, then turn the wells upside-down and tap out on a paper towel until the remaining water has been removed.
9. Pour the needed volume of substrate from the green-labeled bottle into the green-labeled reagent boat.
10. With new tips on the 12-channel pipettor, prime and pipette 100 µL of substrate into the wells.
11. Set timer for 5 minutes, mixing the wells for the first 30 seconds by sliding back and forth on a flat surface. Discard remaining substrate and rinse the reagent boat with water.
12. Pour Red Stop solution from the red-labeled bottle into the red-labeled reagent boat.
13. Pipette 100 µL of Red Stop to each well. Mix by sliding back and forth on a flat surface. Discard the tips.
14. Wipe the bottom of the microwells with a dry cloth or towel and read in a microwell reader using a 650 nm filter. Air bubbles should be eliminated, as they could affect analytical results. Results must be read within 20 minutes after the addition of Red Stop.
15. Read and calculate results using Neogen's Stat Fax microwell reader, or equivalent. If using a strip/plate reader, calculate results using Neogen's Veratox software.

## RETESTING

If positives occur in commodities not previously tested, confirm with an additional approved method prior to taking action.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Limit of detection: 2.5 ppb

Limit of quantitation: 5 ppb (Described as the lowest concentration point on the calibration curve that this test can reliably detect aflatoxin.)

Range of quantitation: 5–50 ppb.

10–100 ppb quantitation:

Dilute the filtered sample 1:1 with supplied diluent (pink-labeled bottle) using a sample collection cup (i.e. 200 µL filtered sample with 200 µL dilution diluent). Mix well. Run diluted sample following the test procedure. Multiply your result by 2.

30–300 ppb quantitation:

Dilute the filtered sample 1:5 with supplied diluent (pink-labeled bottle) using a sample collection cup (i.e. 100 µL filtered sample with 500 µL dilution diluent). Mix well. Run diluted sample following the test procedure. Multiply your result by 6.

Neogen validated matrixes: Corn and corn gluten meal.

*\*May require a pH adjustment or special extraction procedure.*

**NOTE:** Neogen continues to validate new commodities. Please contact a representative for the latest validated commodity list.

## CUSTOMER SERVICE

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 Food Safety test kits, at [foodsafety.neogen.com](http://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](http://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 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, multi-treenut, mustard, peanuts, sesame, soy, walnuts

### Genetic modification

- CP4 (Roundup Ready®)

### Ruminant by-products

- Meat and bone meal, feed

### Species identification

- Raw and cooked meat samples



#### 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

+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

Por favor lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba

# Veratox<sup>®</sup> MAX

## para aflatoxina total

### Prueba cuantitativa con extracción acuosa

REFRIGERAR A 2–8°C • NO CONGELAR

#### TOXINA

La aflatoxina es una sustancia tóxica y cancerígena producida por ciertas cepas de hongos de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Existen cuatro tipos de aflatoxinas principales: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>. La aflatoxina B<sub>1</sub> es la más común de este grupo y la más tóxica. Los productos más afectados por las aflatoxinas son el maíz, el maní, la semilla de algodón, el sorgo 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 permisibles 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) |
| <b>Excepciones:</b>                                                |         |                                                         |
| 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                                                    |
| Todas las especies animales                                        | 300 ppb | Harina de semilla de algodón usada en piensos           |

#### USO PREVISTO

Veratox MAX para aflatoxina total está destinada para el análisis cuantitativo de aflatoxina en maíz y harina de gluten de maíz. Este kit está diseñado para detectar los cuatro tipos principales de aflatoxina: B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> con una reactividad cruzada superior en comparación con otros kits disponibles. Veratox para aflatoxina total es la primera prueba de micropocillos ELISA que usa un procedimiento de extracción acuosa.

## USUARIO PREVISTO

El kit de prueba está diseñado para ser utilizado por personal de control de calidad y otros familiarizados con alimentos y piensos posiblemente contaminados con aflatoxina. 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 MAX para aflatoxina total es un ELISA directo competitivo en un formato de micropocillos que permite al usuario obtener concentraciones exactas en partes por billón (ppb). Se permite que la aflatoxina libre en las muestras y los controles compita con la aflatoxina marcada 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 aflatoxina. 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 de la muestra se trazan contra la curva para calcular la concentración exacta de aflatoxinas.

## REQUISITOS DE 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). Los paquetes MAX 2 se pueden usar hasta la fecha de expiración mostrada en la etiqueta si se almacenan a temperatura ambiente entre 18–30°C (64–86°F).

## MATERIALES SUMINISTRADOS

1. 48 micropocillos recubiertos con anticuerpos
2. 48 micropocillos de mezcla marcados en rojo
3. 4 botellas con etiquetas amarillas de controles de aflatoxina de 0, 5, 15 y 50 ppb
4. 1 botella con etiqueta azul de solución del conjugado de aflatoxina-HRP
5. 1 botella con etiqueta verde de sustrato K-Blue®
6. 1 botella con etiqueta roja de solución Red Stop
7. 25 paquetes de extracción acuosa MAX 2
8. 1 botella con etiqueta rosa para diluyente

## MATERIALES REQUERIDOS, PERO NO PROPORCIONADOS

1. Materiales de extracción
  - a. Paquetes de extracción acuosa MAX 2 (producto Neogen 8036)
  - b. Paquetes de extracción acuosa MAX 2 G-50 (producto Neogen 8036G)
  - c. Cilindro graduado de 250 mL o bomba dispensadora (producto Neogen 9368, 9448)
  - d. Recipiente con capacidad de 125 mL (producto Neogen 9428)
  - e. Jeringuillas con filtro, papel de filtro Whatman #4 o equivalente (producto Neogen 9420, 9519, 9429)
  - f. Tubos para recolección de muestras (producto Neogen 9421)
- g. Centrífuga, mini (producto Neogen 9330)
- h. Tubo de micro-centrífuga (producto Neogen 9172)
2. Triturador Agri-Grind o equivalente (producto Neogen 9401, 9453)
3. Balanza capaz de pesar 5 a 50 gramos (producto Neogen 9427)
4. Lector de micropocillos con filtro de 650 nm (producto Neogen 9303)
5. Pipeteador, 12 canales (producto Neogen 9273)
6. Pipeteador, 100 µL (producto Neogen 9272, 9290)
7. Puntas para pipeteadores de 100 µL y 12 canales (producto Neogen 9410, 9407, 9417)
8. Toallas de papel o material absorbente equivalente
9. Balde plástico para desperdicios
10. Gradilla para micropocillos (producto Neogen 9402)
11. Cronómetro (producto Neogen 9426)
12. Marcador impermeable
13. Piseta de lavado (producto Neogen 9400)
14. 2 reservorios para reactivos para pipeteador de 12 canales (producto Neogen 9450)
15. Agua destilada o desionizada



16. Agitador Rockit (producto Neogen 9390)
17. Licuadora (producto Neogen 9493)
18. Vaso para licuadora, mini (producto Neogen 9477)

## PRECAUCIONES

1. Almacene el kit de prueba refrigerado 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) durante al menos dos horas antes de su uso.
3. Evite el almacenamiento prolongado de los kits a temperatura ambiente.
4. No utilice los componentes de esta prueba después de su fecha de vencimiento.
5. No mezcle reactivos de una serie de kits con reactivos de una serie diferente.
6. No utilice más de 24 micropocillos por prueba.
7. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas, incluyendo el cebado de las puntas.
8. Use los tiempos de incubación especificados; otros tiempos pueden dar resultados inexactos.
9. Trate todos los líquidos utilizados, incluyendo el extracto de muestra, e instrumentos de laboratorio como si estuvieran contaminados con aflatoxina.
10. Use puntas de pipeta y cristalería limpia para cada muestra, para evitar la contaminación cruzada. Lave completamente toda la cristalería entre las muestras.
11. Los productos analizados deben tener un pH de 6–8. 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.

## NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. 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 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).

## EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

1. Pese 10 g  $\pm$  0.1 g de la muestra en un recipiente. Vierta el contenido de 1 paquete de extracción acuosa MAX 2 en el recipiente.
2. Añada 50 mL de agua destilada o desionizada sobre la muestra y el polvo de extracción.
3. Mezcle vigorosamente durante 3 minutos, ya sea manual o mecánicamente. Permita que la muestra se asiente durante 10 minutos.
4. Filtre el extracto usando una jeringuilla con filtro o un papel de filtro Whatman #4 para recolectar un mínimo de 3 mL de filtrado de muestra en un tubo de recolección de muestras. También puede pipetear 1 mL de muestra en un tubo de microcentrifuga de 2.0 mL y centrifugar durante 30 segundos en una microcentrifuga.
5. La muestra está lista para ser analizada.

## MÉTODO FGIS PARA EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

1. Pese 50 g  $\pm$  0.1 g de la muestra en un recipiente. Vierta el contenido de 1 paquete de extracción acuosa MAX2 G-50 en el recipiente.
2. Añada 250 mL de agua destilada o desionizada sobre la muestra y el polvo de extracción.
3. Mezcle vigorosamente durante 3 minutos, ya sea manual o mecánicamente. Permita que la muestra se asiente durante 10 minutos.
4. Filtre el extracto vertiendo por lo menos 5 mL a través de un filtro Whatman #4 o use una jeringuilla con filtro.
5. La muestra está lista para ser analizada.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Permita que todos los reactivos alcancen una temperatura ambiente de 18–30°C (64–86°F) durante al menos dos horas antes de su uso.

1. Retire 1 micropocillo de mezcla marcado en rojo para cada muestra a ser analizada, más 4 micropocillos marcados en rojo para cada control; 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 pocillo 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  | 5   | 15  | 50  | S1  | S2  | S3  | S4  | S5  | S6  | S7  | S8  | Tira 1 |
| S9 | S10 | S11 | S12 | S13 | S14 | S15 | S16 | S17 | S18 | S19 | S20 | Tira 2 |
6. Usando un pipeteador de 12 canales, mezcle el líquido en los micropocillos pipeteándolo hacia arriba y hacia abajo 5 veces. Transfiera 100 µL a los micropocillos recubiertos con anticuerpos. Deseche los micropocillos de mezcla marcados en rojo.
7. Ajuste el cronómetro para 5 minutos, mezclando los micropocillos durante los primeros 30 segundos, deslizándolos hacia adelante y hacia atrás en una superficie plana, sin salpicar los reactivos.
8. 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.
9. Vierta el volumen necesario de sustrato de la botella con etiqueta verde en el reservorio de reactivos con etiqueta verde.
10. Usando un pipeteador de 12 canales con puntas nuevas, cebe y pipetee 100 µL de sustrato en los micropocillos.
11. Ajuste el cronómetro para 5 minutos, mezclando los micropocillos durante los primeros 30 segundos, deslizándolos hacia adelante y hacia atrás en una superficie plana. Deseche el sustrato restante y enjuague el reservorio de reactivo con agua.
12. Vierta la solución Red Stop del recipiente con etiqueta roja en el reservorio de reactivo con etiqueta roja.
13. Pipetee 100 µL de Red Stop en cada micropocillo. Mezcle deslizándolos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana. Deseche las puntas.
14. 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.
15. Interprete los resultados de la prueba usando el lector de micropocillos Stat-Fax de Neogen o equivalente. Si usa un lector de tiras/placas, calcule los resultados usando el software Veratox de Neogen.

## REPETICIÓN DE LA PRUEBA

Si se producen positivos en productos que no se analizaron previamente, confirme con un método aprobado adicional antes de tomar medidas.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite de detección: 2.5 ppb

Límite de cuantificación: 5 ppb (Descrito como el punto de concentración más bajo en la curva de calibración en la que esta prueba puede detectar aflatoxina de manera confiable).

Rango de cuantificación: 5–50 ppb

Cuantificación de 5–100 ppb:

Diluya la muestra filtrada 1:1 con el diluyente suministrado (botella con etiqueta rosa) usando un recipiente de recolección de muestras (es decir, 200 µL de muestra filtrada con 200 µL de diluyente de dilución). Mezcle bien. Ejecute la muestra diluida siguiendo el procedimiento de prueba. Multiplique su resultado por 2.

### Cuantificación de 30–300 ppb:

Diluya la muestra filtrada 1:5 con el diluyente suministrado (botella con etiqueta rosa) usando un recipiente de recolección de muestras (es decir, 100 µL de muestra filtrada con 500 µL de diluyente de dilución). Mezcle bien. Ejecute la muestra diluida siguiendo el procedimiento de prueba. Multiplique su resultado por 6.

**Matrices validadas por Neogen:** maíz y harina de gluten de maíz.

*\*Puede requerir un ajuste de pH o un procedimiento especial de extracción.*

**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](http://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/Corporate/termsconditions.html](http://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 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 ANALÍTICOS DISPONIBLES DE NEOGEN

### Toxinas naturales

- Aflatoxina, deoxinivalenol (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, hongos 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, soja, nuez de nogal, múltiples frutos secos

### Modificación genética

- CP4 (Roundup Ready®)

### Subproductos de rumiantes

- Harina de carne y huesos, pienso

### Identificación de especies

- Muestras de carnes crudas y cocinadas, pienso



#### 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

©Neogen Corporation, 2018. Neogen, Veratox y K-Blue son marcas registradas de Neogen Corporation. Todas las otras marcas y nombres de productos son marcas o marcas registradas de sus respectivas compañías.

Patente: <http://www.neogen.com/sp/patents>

16536C

V-AflaTotal\_ES\_0718