

Read instructions carefully before starting test

Veratox[®] for Tylosin

Refrigerate at 2–8°C (35–46°F) • Do not freeze

TYLOSIN

Tylosin is a macrolide antibiotic used in treating illnesses found in animals produced for food. Tylosin can be administered to individual animals through injection, but is more commonly used in feed to treat groups of animals.

INTENDED USE

Veratox[®] for Tylosin is a competitive enzyme immunoassay for the quantitative analysis of tylosin in muscle.

Veratox for Tylosin enables international and government regulatory agencies, food manufacturers and processors, as well as quality assurance organizations, to detect tylosin in muscle and to satisfy customer concerns about food safety.

ASSAY PRINCIPLES

The method is based on a competitive colorimetric ELISA assay. The drug of interest has been coated in the plate wells. During the analysis, sample is added along with the primary antibody specific for the target drug. If the target is present in the sample, it will compete for the antibody, thereby preventing the antibody from binding to the drug attached to the well. The secondary antibody, tagged with a peroxidase enzyme, targets the primary antibody that is complexed to the drug coated on the plate wells. The resulting color intensity, after addition of substrate, has an inverse relationship with the target concentration in the sample.

Veratox for Tylosin has the capacity for 96 determinations or testing of 36 samples in duplicate (assuming 24 wells for standards). Return any unused microwells to the foil bag and reseal them with the desiccant provided in the original package.

STORAGE REQUIREMENTS

Store kit at 2–8°C (35–46°F). Some components should be stored at frozen temperatures if not used within 1 month. The shelf life of the kit is 12 months when properly stored.

MATERIALS PROVIDED

Kit Contents	Amount	Storage
Tylosin-coated Plate	1 x 96-well plate (8 wells x 12 strips)	2–8°C
Tylosin Standards: 0 ng/mL (white cap tube) 1 ng/mL (yellow cap tube) 2.5 ng/mL (orange cap tube) 5 ng/mL (pink cap tube) 10 ng/mL (purple cap tube) 25 ng/mL (blue cap tube) Tylosin Spiking Stock 1000 ng/mL (red cap tube)	0.8 mL each standard	2–8°C
Tylosin Antibody #1*	12 mL	2–8°C*
100X HRP-Conjugated Antibody #2	250 µL	2–8°C*
Antibody #2 Diluent	20 mL	2–8°C
Tylosin Resuspension Buffer	2 x 25 mL	2–8°C
20X Wash Solution	28 mL	2–8°C
Stop Buffer	14 mL	2–8°C
TMB Substrate**	12 mL	2–8°C

* If the kit will be unused for over 1 month, store Tylosin Antibody #1 and 100X HRP-Conjugated Antibody #2 at -20°C or in a freezer.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Microtiter plate reader with a 450 nm filter (Neogen item 9303)
2. 20–200 µL pipettes (Neogen item 9276)
3. Multichannel pipette: 50–300 µL (optional) (Neogen item 9385)
4. 1000 µL pipettor (Neogen 9337)
5. Vortex Mixer (Neogen 9494)
6. Centrifuge 4,000 x *g*
7. Timer (Neogen item 9426)
8. Wash bottle (Neogen item 9400)
9. Paper towels or equivalent absorbent material
10. Veratox software (Neogen item 9305)
11. Lab station (Neogen item 9481)
12. Distilled or deionized water
13. Blender or food processor to homogenize sample
14. Nitrogen gas evaporator
15. Methanol
16. N-Hexane

PRECAUTIONS

Neogen strongly recommends that you read the following precautions to ensure your full awareness of ELISA techniques and other details you should pay close attention to when running the assays. More information can also be found in the Technical Solutions & Troubleshooting section. Periodically, optimizations and revisions are made to the kit and manual. Therefore, it is important to follow the protocol included with the kit. If you need further assistance, you may contact Neogen at 800/234-5333 or 517/372-9200.

1. The standards contain tylosin. Handle with particular care.
2. Do not use the kit past the expiration date.
3. Do not intermix reagents from different kits or lots except for components with the same part numbers within their expiration dates. ANTIBODIES AND PLATES ARE KIT- AND LOT-SPECIFIC. Make sure that antibody #2 and diluent are mixed in correct volumes.
4. Try to maintain a laboratory temperature of 20–25°C (68–77°F). Avoid running assays under or near air vents, as this may cause excessive cooling, heating and/or evaporation. Also, do not run assays in direct sunlight, as this may cause excessive heat and evaporation. Cold bench tops should be avoided by placing several layers of paper towel under the assay plates during incubation.
5. Make sure you are using only distilled or deionized water since water quality is very important.
6. Incubations of assay plates should be timed as precisely as possible. Be consistent when adding standards to the assay plate. Add your standards first and then your samples.
7. Follow proper pipetting techniques, including priming tips by filling and dispensing solution once before use.
8. Add standards to plate only in the order from low concentration to high concentration as this will minimize the risk of compromising the standard curve.
9. Always refrigerate plates in sealed bags with a desiccant to maintain stability. Prevent condensation from forming on plates by allowing them to equilibrate to room temperature (20–25°C / 68–77°F) while in the sealed bag.

SAMPLE PREPARATION

Be sure samples are properly stored. In general, samples should be refrigerated at 2–4°C for no more than 48 hours. Freeze samples to a minimum of -20°C if they need to be stored for a longer period. Frozen samples can be thawed at room temperature (20–25°C / 68–77°F) or in a refrigerator before use.

SAMPLE EXTRACTION

Muscle

1. Add 4 mL of 100% methanol and 1 mL (\pm 0.1 mL) of n-hexane to 1.0 g (\pm 0.05 g) of a room-temperature homogenized sample in a 15 mL plastic conical tube.
2. Vortex sample manually for **1 minute**.
NOTE: Tilt the tube at 45° or on its side to aid in the breaking up of the pellet.
3. Open and close the cap to release any built-up gas. Incubate the sample for **15 minutes** at 45°C, then vortex sample for an additional **1 minute**. Open and close the cap once again to release any built-up gas.
4. Centrifuge sample for **10 minutes** at 4,000 x g.
5. Transfer 0.5 mL of the methanol layer to a new 15 mL tube.
NOTE: To ensure that neither hexane nor the interphase is transferred to the new tube, perform this step carefully by slowly puncturing the interphase with the pipette tip and transferring only from the middle of the methanol layer.
6. Use a nitrogen-blowing apparatus in a 60°C water bath to evaporate the methanol and concentrate the sample to a dried residue (about 40 minutes at 8 PSI).
7. Add 1 mL of Tylosin Resuspension Buffer to the dried residue. Scrape each tube's bottom back-and-forth vigorously against a micro-centrifuge rack at least 10 times to disrupt the pellet and aid in its dissolution.
8. Vortex sample well for **1 minute**, followed by a **10 minute** incubation at room temperature (20–25°C / 68–77°F). Then, vortex the sample for an additional **1 minute**.
9. Use 50 μ L per well for the assay.

NOTE: Dilution factor: 10.

REAGENT PREPARATION

IMPORTANT: All reagents should be brought up to room temperature before use (1–2 hours at 20–25°C / 68–77°F). Make sure you read the Precautions section on page 3. Solutions should be prepared prior to running the ELISA test. All reagents should be mixed by gently inverting or swirling prior to use. Prepare volumes that are needed for the number of wells being run. Do not return the reagents to the original stock tubes/bottles. Using disposable reservoirs when handling reagents can minimize the risk of contamination and is recommended.

A. Preparation of 1X HRP-Conjugated Antibody #2

Mix 1 volume of the 100X HRP-Conjugated Antibody #2 with 99 volumes of Antibody #2 Diluent.

B. Preparation of 1X Wash Solution

Mix 1 volume of the 20X Wash Solution with 19 volumes of distilled water.

TEST PROCEDURE

Label the individual strips that will be used and prepare reagent aliquots based on the number of reactions:

Component	Volume Per Reaction	24 Reactions
Tylosin Antibody #1	100 μ L	2.4 mL
1X HRP-Conjugated Antibody #2	150 μ L	3.6 mL
1X Wash Solution	2.0 mL	48 mL
Stop Buffer	100 μ L	2.4 mL
TMB Substrate	100 μ L	2.4 mL

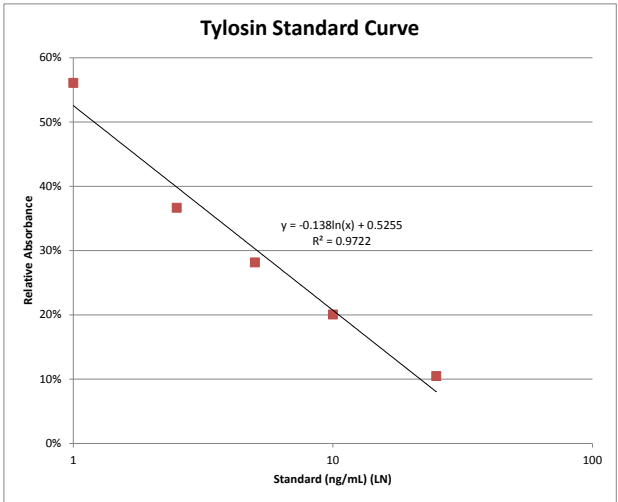
1. Add 50 μ L of each Tylosin Standard in duplicate into different wells.
NOTE: Add standards to plate in order from low concentration to high concentration (white, yellow, orange, pink, purple, blue) and close each standard vial tightly.
2. Add 50 μ L of each sample in duplicate into different sample wells.
3. Add 100 μ L of Antibody #1 and mix by sliding back and forth on a flat surface for **1 minute**.
4. Incubate the plate for **30 minutes** at room temperature (20–25°C / 68–77°F).
5. Shake out the contents of the wells into a waste container. Wash each well with 250 μ L of 1X Wash Solution and dump out, repeat the wash step 3 times. After the last wash, invert the plate and gently tap the plate dry on paper towels.
NOTE: Perform the next step immediately (within 1 minute) after plate washings. Do not allow the plate to air dry between working steps.
6. Add 150 μ L of the 1X Antibody #2 solution. Incubate the plate for **30 minutes** at room temperature (20–25°C / 68–77°F).
NOTE: Avoid direct sunlight and cold bench tops during the incubation. Covering the microtiter plate while incubating is recommended.
7. Shake out the contents of the wells into a waste container. Wash each well with 250 μ L of 1X Wash Solution and dump out, repeat the wash step 3 times. After the last wash, invert the plate and gently tap the plate dry on paper towels.
NOTE: Perform the next step immediately (within 1 minute) after plate washings. Do not allow the plate to air dry between working steps.
8. Add 100 μ L of TMB Substrate to each well. Incubate the plate for **15 minutes** at room temperature (20–25°C / 68–77°F) in the dark. Time the reaction immediately after adding the substrate. Mix by sliding back and forth on a flat surface for **1 minute** while incubating.
NOTE: Do not put any substrate back into the original container to avoid any potential contamination. Covering the microtiter plate while incubating is recommended.
9. After incubation, add 100 μ L of Stop Buffer to stop the enzyme reaction.
10. Read the plate as soon as possible following the addition of Stop Buffer on a plate reader with a 450 nm wavelength.
NOTE: Before reading, use a lint-free wipe on the bottom of the plate to ensure no moisture or fingerprints interfere with the readings.

INTERPRETATION OF RESULTS

A standard curve can be constructed by plotting the mean relative absorbance (%) obtained from each reference standard against its concentration in ng/mL on a logarithmic curve.

$$\text{Relative absorbance (\%)} = \frac{\text{absorbance standard (or sample)} \times 100}{\text{absorbance zero standard}}$$

Use the mean relative absorbance values for each sample to determine the corresponding concentration of the tested drug in ng/mL from the standard curve. Veratox software is available upon request to evaluate the results. Please contact Neogen for further information. The following figure is a typical Tylosin standard curve:



Sensitivity (Assay Range)

Sample Type	Assay Range (ng/g or ppb)
Muscle	10 – 250

Specificity (Cross-Reactivity)

Analytes	Cross-Reactivity (%)
Tylosin	100

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 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/Corporate/termsconditions.html.

WARRANTY

Neogen makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. 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.

OTHER RESIDUE DIAGNOSTICS KITS

RT-96-TT-AMS	ALERT for Ractopamine — qualitative microwell assay, 96 wells
9551	Veratox for Chloramphenicol — range 10–1,000 ppt, 96 wells
8416	Veratox for Malachite Green — range 1–4 ppb, 48 wells
DR021	Veratox for Clenbuterol — range 0.08–1.28 ppb, 96 wells
DR107	Veratox for Florfenicol — range 0.15–100 ppm, 96 wells
DR073	Veratox for Avermectins — range 6.4–300 ppb, 96 wells



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

Lea las instrucciones cuidadosamente antes de comenzar la prueba

Veratox[®] para Tilosina

Refrigere a 2–8°C (35–46°F) • No congele

TILOSINA

La tilosina es un antibiótico macrólido usado para tratar enfermedades encontradas en animales producidos para alimentos. La tilosina puede ser administrada a animales individualmente mediante inyección, pero con más frecuencia en pienso para tratar grupos de animales.

USO PREVISTO

Veratox[®] para Tilosina es un inmunoensayo enzimático competitivo para el análisis cuantitativo de tilosina en músculo.

Veratox para Tilosina le permite a agencias reguladoras internacionales y gubernamentales, productores y procesadores de alimento, al igual que a organizaciones de control de calidad, detectar tilosina en alimento y satisfacer las preocupaciones de los clientes sobre la seguridad alimentaria.

PRINCIPIOS DEL ENSAYO

El método se basa en un ensayo colorimétrico competitivo ELISA. El medicamento de interés ha sido recubierto en los pozos del plato. Durante el análisis, la muestra es añadida junto con el anticuerpo primario específico para el medicamento objetivo. Si el objetivo está presente, competirá por el anticuerpo, previniendo que este se una al medicamento pegado al pozo. El anticuerpo secundario, marcado con una enzima peroxidasa, ataca el anticuerpo primario que está unido al medicamento que cubre los pozos. La intensidad de color resultante, luego de añadir el sustrato, tiene una relación inversa con la concentración del medicamento de interés en la muestra.

Veratox para Tilosina tiene la capacidad para 96 determinaciones o de analizar 36 muestras en duplicado (asumiendo 24 pozos para estándares). Devuelva cualquier micropozo sin usarse a la bolsa de aluminio y séllela con el desecante proporcionado en el empaque original.

REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO

Almacene el kit a 2–8°C (35–46°F). Si el kit no es usado dentro de un mes, algunos de los componentes deberán ser almacenados a temperaturas de congelación. La vida útil del kit es de 12 meses si se almacena apropiadamente.

MATERIALES PROPORCIONADOS

Contenidos del kit	Cantidad	Almacenamiento
Plato recubierto con tilosina	1 plato de 96 pozos (8 pozos x 12 tiras)	2–8°C
Estándares de tilosina: 0 ng/mL (tubo con tapa blanca) 1 ng/mL (tubo con tapa amarilla) 2.5 ng/mL (tubo con tapa naranja) 5 ng/mL (tubo con tapa rosa) 10 ng/mL (tubo con tapa púrpura) 25 ng/mL (tubo con tapa azul) Estándar Contaminador de Tilosina 1000 ng/mL (tubo con tapa roja)	0.8 mL cada estándar	2–8°C
Anticuerpo de Tilosina #1*	12 mL	2–8°C*
Anticuerpo #2 conjugado con HRP 100X	250 µL	2–8°C*
Diluyente de Anticuerpo #2	20 mL	2–8°C
Buffer de Resuspensión de Tilosina	2 x 25 mL	2–8°C
Solución de Lavado 20X	28 mL	2–8°C
Buffer de Parada	14 mL	2–8°C
Sustrato TMB**	12 mL	2–8°C

*Si el kit no fuera utilizado por más de un mes, almacene el Anticuerpo de Tilosina #1 y el Anticuerpo #2 conjugado con HRP 100X a -20°C o en un congelador.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS

1. Lector de platos de microtitulación con un filtro de 450 nm (Artículo Neogen 9303)
2. Pipetas de 20–200 µL (Artículo Neogen 9276)
3. Pipeta multicanal: 50–300 µL (opcional) (Artículo Neogen 9385)
4. Pipeta de 1000 µL (Artículo Neogen 9337)
5. Mezclador Vortex (Artículo Neogen 9494)
6. Centrífuga 4,000 x *g*
7. Cronómetro (Artículo Neogen 9426)
8. Botella de lavado (Artículo Neogen 9400)
9. Toallas de papel o material absorbente equivalente
10. Software Veratox (Artículo Neogen 9305)
11. Estación de laboratorio (Artículo Neogen 9481)
12. Agua destilada o desionizada
13. Licuadora o procesador de alimentos para homogenizar la muestra
14. Evaporador de gas nitrógeno
15. Metanol
16. N-Hexano

PRECAUCIONES

Neogen le recomienda encarecidamente que por favor lea las precauciones que aparecen a continuación para garantizar el entendimiento completo de las técnicas del ensayo de ELISA y de otros detalles a los que usted debe prestar especial atención al trabajar con esta prueba. Puede encontrar más información en la sección de Soluciones Técnicas y Solución de Problemas. Periódicamente se realizan optimizaciones y revisiones del kit y del manual, por lo tanto, es importante siempre seguir el protocolo incluido con el kit. Si necesita ayuda, comuníquese con Neogen al +1 800/234-5333 o +1 517/372-9200.

1. Los estándares contienen tilosina. Maneje con cuidado.
2. No use el kit luego de su fecha de expiración.
3. No mezcle reactivos de otros kits o lotes, excepto por componentes que tengan el mismo número de lote dentro de sus fechas de expiración. LOS ANTICUERPOS Y LOS PLATOS SON ESPECÍFICOS PARA LOS KITS Y LOTES. Asegúrese de que el Anticuerpo #2 y el diluyente son mezclados en volúmenes correctos.
4. Trate de mantener la temperatura del laboratorio a 20–25°C (68–77°F). Evite llevar a cabo ensayos debajo o cerca de salidas de aire, ya que pueden causar enfriamiento, calentamiento y/o evaporación excesiva. Además, no lleve a cabo los ensayos bajo la luz solar directa, ya que puede causar calor y evaporación excesiva. Se deben evitar las mesas de trabajo frías colocando varias capas de toallas de papel debajo de los platos de ensayo durante la incubación.
5. Asegúrese de solo usar agua destilada o desionizada, ya que la calidad del agua es muy importante.
6. La incubación de los platos de ensayo debe ser cronometrada lo más precisamente posible. Sea consistente al añadir los estándares al plato de ensayo. Añada los estándares primero y luego las muestras.
7. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas, incluyendo la preparación de las puntas de pipetas llenándolas y dispensando solución antes de usarlas.
8. Añada los estándares al plato en orden de menor a mayor concentración para minimizar el riesgo de afectar la curva estándar.
9. Siempre refrigere los platos en bolsas selladas con desecante para mantener estabilidad. Evite que se forme condensación en los platos permitiéndoles equilibrarse a temperatura ambiente (20–25°C / 68–77°F) mientras están en la bolsa sellada.

EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

Asegúrese de que las muestras sean almacenadas apropiadamente. En general, las muestras deben ser refrigeradas a 2–4°C por no más de 48 horas. Congele las muestras a un mínimo de -20°C si necesitan ser almacenadas por un periodo más largo. Las muestras congeladas pueden ser descongeladas a temperatura ambiente (20–25°C / 68–77°F) o en un refrigerador antes de usarse.

EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA

Músculo

1. Añada 4 mL de metanol al 100% y 1 mL (± 0.1 mL) de n-hexano a 1.0 g (± 0.05 g) de muestra homogeneizada a temperatura ambiente en un tubo cónico plástico de 15 mL.
2. Mezcla la muestra manualmente por **1 minuto**.
NOTA: Inclina el tubo a 45° o su lado para ayudar en la ruptura del gránulo.
3. Abra y cierre la tapa para permitir que escape cualquier gas acumulado. Incube la muestra por **15 minutos** a 45°C. Luego mezcle la muestra por **1 minuto**. Abra y cierre la tapa de nuevo para liberar cualquier gas acumulado.
4. Centrifugue la muestra por **10 minutos** a 4,000 x g.
5. Transfiera 0.5 mL de la capa de metanol a un tubo nuevo de 15 mL.
NOTA: Para asegurar que ni el hexano ni la interfase se transfieran al tubo nuevo, lleve a cabo este paso cuidadosamente perforando suavemente la interfase con una punta de pipeta para transferir solamente desde el centro de la capa de metano.
6. Use un aparato soplador de nitrógeno en un baño de agua a 60°C para evaporar el metanol y concentrar la muestra a un residuo seco (alrededor de 40 minutos a 8 PSI).
7. Añada 1 mL del Tampón de Resuspensión de Tilosina al residuo seco. Raspe vigorosamente el fondo de cada tubo con una rejilla de microcentrífuga al menos 10 veces para alterar el gránulo y ayudar en su disolución.
8. Mezcle la muestra por **1 minuto**, seguido por una incubación de **10 minutos** a temperatura ambiente (20–25°C / 68–77°F). Luego, mezcle la muestra por **1 minuto** adicional.
9. Use 50 μ L por pozo para el ensayo.

NOTA: Factor de dilución es 10.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

IMPORTANTE: Todos los reactivos deben ser llevados a temperatura ambiente antes de usarse (1-2 horas a 20–25°C / 68–77°F); Asegúrese de leer la sección de “Precauciones” en la página 10. Las soluciones deben ser preparadas justo antes de realizar la prueba ELISA. Todos los reactivos deben ser mezclados invirtiéndolos o revolviéndolos suavemente antes de usarse. Prepare los volúmenes que sean necesarios para el número de pozos que vayan a ser analizados. No regrese los reactivos a sus tubos/botellas de reserva original. Se recomienda usar reservorios desechables al manejar reactivos, ya que puede minimizar el riesgo de contaminación.

A. Preparación del Anticuerpo #2 conjugado con HRP 1X

Mezcle 1 volumen del Anticuerpo #2 conjugado con HRP 100x con 99 volúmenes del Diluyente del Anticuerpo #2.

B. Preparación de la Solución de Lavado 1X

Mezcle 1 volumen de la Solución de Lavado 20X con 19 volúmenes de agua destilada.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Etiquete las tiras individuales que serán utilizadas y prepare la alícuota de los reactivos como se describe a continuación:

Componente	Volumen Por Reacción	24 Reacciones
Anticuerpo de Tilosina #1	100 µL	2.4 mL
Anticuerpo #2 conjugado con HRP 1X	150 µL	3.6 mL
Solución de Lavado 1X	2.0 mL	48 mL
Buffer de Parada	100 µL	2.4 mL
Sustrato TMB	100 µL	2.4 mL

1. Añada 50 µL de cada Estándar de Tilosina en duplicado a diferentes pozos.

NOTA: Añada los estándares al plato solamente en orden de menor a mayor concentración (blanco, amarillo, naranja, rosa, púrpura, azul) y cierre cada vial de estándar correctamente.

2. Añada 50 µL de cada muestra en duplicado a diferentes pozos.
3. Añada 100 µL del Anticuerpo #1 y mezcle deslizando hacia adelante y hacia atrás en una superficie plana por **1 minuto**.

4. Incube el plato por **30 minutos** a temperatura ambiente (20–25°C / 68–77°F).

5. Sacuda los contenidos de los pozos en un contenedor de basura. Lave cada pozo con 250 µL de la Solución de Lavado 1X y descarte; repita el paso de lavado 3 veces. Luego del último lavado, invierta el plato y golpéelo suavemente en toallas de papel para secarlo.

NOTA: Realice el próximo paso inmediatamente (dentro de 1 minuto) después de lavar los platos. No permita que el plato se seque al aire entre los pasos de trabajo.

6. Añada 150 µL de la Solución del Anticuerpo #2 1X. Incube el plato por **30 minutos** a temperatura ambiente (20–25°C / 68–77°F).

NOTA: Evite la luz solar directa y mesas de trabajo frías durante la incubación. Se recomienda cubrir el plato de microtitulación mientras se incuba.

7. Sacuda los contenidos de los pozos en un contenedor de basura. Lave cada pozo con 250 µL de la Solución de Lavado 1X y descarte; repita el paso de lavado 3 veces. Luego del último lavado, invierta el plato y golpéelo suavemente en toallas de papel para secarlo.

NOTA: Realice el próximo paso inmediatamente (dentro de 1 minuto) después de lavar los platos. No permita que el plato se seque al aire entre los pasos de trabajo.

8. Añada 100 µL del Sustrato TMB a cada pozo. Incube el plato por **15 minutos** a temperatura ambiente (20–25°C / 68–77°F) en la oscuridad. Comience a contar inmediatamente luego de añadir el sustrato. Mezcle deslizando el plato para adelante y para atrás en una superficie plana por **1 minuto** mientras incuba.

NOTA: No ponga el sustrato restante en su envase original para evitar el potencial de contaminación. Se recomienda cubrir el plato de microtitulación mientras se incuba.

9. Luego de incubar, añada 100 µL del Buffer de Parada para detener la reacción enzimática.

10. Lea el plato lo antes posible luego de la adición del tampón de parada, usando un lector de platos con un filtro primario de 450 nm.

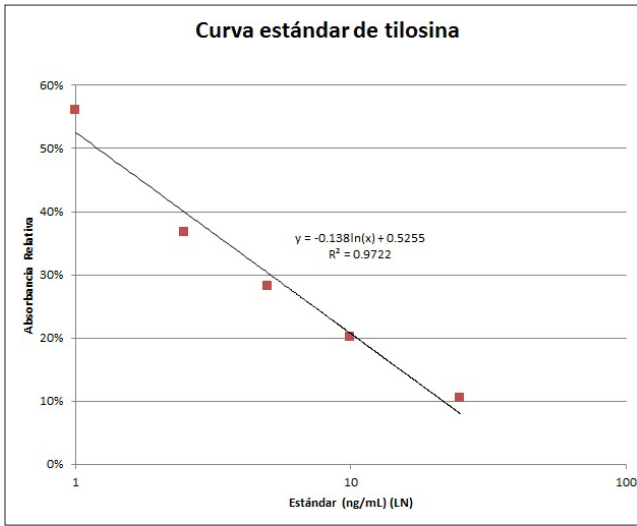
NOTA: Antes de leer, use una toalla sin pelusa para eliminar la humedad o huellas que hayan en el plato que puedan interferir con las lecturas.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Una curva estándar es construida graficando la absorbancia relativa media (%) obtenida a partir de cada estándar de referencia contra su concentración en ng/mL en una escala logarítmica.

$$\text{Absorbancia relativa (\%)} = \frac{\text{absorbancia estándar (o muestra)} \times 100}{\text{absorbancia estándar cero}}$$

Use los valores de la absorbancia relativa media de cada muestra para determinar la concentración correspondiente del medicamento analizado en ng/mL de la curva estándar. El software Veratox está disponible bajo pedido para evaluar sus resultados. Por favor contacte a Neogen para más información. La siguiente figura es una curva estándar típica de tilosina:



Sensibilidad (Intervalo de concentración)

Tipo de muestra	Intervalo de concentración (ng/g o ppb)
Músculo	10 – 250

Especificidad (Reactividad cruzada)

Analitos	Reactividad cruzada (%)
Tilosina	100

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. Formación sobre este producto, y para todos los kits de Neogen, está disponible.

INFORMACIÓN DISPONIBLE DE SDS

Las Fichas de Datos 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

Para los términos y condiciones de Neogen, por favor visite www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html.

GARANTÍA

Neogen no da ninguna garantía, sea de forma explícita o implícita, excepto que los materiales de fabricación de sus productos cuentan con calidad estándar. No hay garantía de comerciabilidad para 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.

OTROS KITS DIAGNÓSTICOS DE RESIDUOS

RT-96-TT-AMS	ALERT para Ractopamina — ensayo de micropozos cualitativo, 96 pozos
9551	Veratox para Cloranfenicol — rango de 10–1,000 ppt, 96 pozos
8416	Veratox para Verde Malaquita — rango de 1–4 ppb, 48 pozos
DR021	Veratox para Clenbuterol — rango de 0.08–1.28 ppb, 96 pozos
DR107	Veratox para Florfenicol — rango de 0.15–100 ppm, 96 pozos
DR073	Veratox para Avermectinas — rango de 6.4–300 ppb, 96 pozos



Norteamérica

Oficinas Corporativas de Neogen

+1 800/234-5333 (EEUU/Canadá)
foodsafety@neogen.com
foodsafety.neogen.com

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, 2016. Neogen, Veratox y K-Blue son marcas registradas de Neogen Corporation, Lansing, MI. Todos los otros nombres de marca y nombres de producto son marcas o marcas registradas de sus compañías respectivas. Patente: <http://www.neogen.com/Corporate/patents.html>