

Read instructions carefully before starting test

Veratox[®] for Fumonisin

Quantitative Test

AOAC Official Method 2001.06

REFRIGERATE AT 2–8°C • DO NOT FREEZE

THE TOXIN

Discovered in 1989, fumonisins are a family of mycotoxins produced by different species of the mold *Fusarium*. These molds commonly infect corn (in fact, they are considered ubiquitous in corn) and rice, hence the potential for fumonisins to be found in feed and foodstuffs is high. Fumonisin affect various animals differently and have been linked to esophageal cancer in humans. The Environmental Protection Agency classifies fumonisins as category II-B carcinogens.

Horses are extremely sensitive to low amounts of fumonisin, which can cause leukoencephalomalacia (liquefaction of the brain). In swine, research has shown fumonisin attacks the cardiopulmonary system causing pulmonary edema, as well as liver and pancreatic lesions.

The FDA has issued a final guidance for total fumonisins (FB₁+FB₂+FB₃) in food and animal feeds:

HUMAN FOODS (total fumonisins)

Degermed dry milled corn products	2 ppm
Whole/partially dry milled corn products, dry milled corn bran, cleaned corn for mass production	4 ppm
Cleaned corn for popcorn	3 ppm

ANIMAL FEEDS (corn/corn by-products, total fumonisins)

Equids and rabbits	5 ppm, ≤ 20% of diet
Swine and catfish	20 ppm, ≤ 50% of diet
Breeding ruminants, breeding poultry and breeding mink	30 ppm, ≤ 50% of diet
Ruminants ≥ 3 months old being raised for slaughter and mink being raised for pelt production	60 ppm, ≤ 50% of diet
Poultry being raised for slaughter	100 ppm, ≤ 50% of diet
All other species or classes of livestock and pet animals	10 ppm, ≤ 50% of diet

INTENDED USE

The Veratox[®] for Fumonisin test kit is a competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay (CD-ELISA) in a microwell format for the quantitative analysis of fumonisin in such commodities as corn, cornmeal and rice.

INTENDED USER

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

ASSAY PRINCIPLES

Veratox for Fumonisin allows the user to obtain exact concentrations in parts per million (ppm). Free fumonisin in the samples and controls is allowed to compete with enzyme-labeled fumonisin (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 fumonisin. 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 fumonisin.

STORAGE REQUIREMENTS

The kit can be used until the expiration date on the label when stored refrigerated at 2–8°C (35–46°F).

MATERIALS PROVIDED

1. 48 antibody-coated microwells
2. 48 red-marked mixing wells
3. 5 yellow-labeled bottles of 0, 1, 2, 4 and 6 ppm fumonisin controls (see **Precautions** for handling methanol solution)
4. 1 blue-labeled bottle of fumonisin-HRP conjugate solution
5. 1 green-labeled bottle of K-Blue[®] Substrate solution
6. 1 red-labeled bottle of Red Stop solution
7. 1 dilution kit that contains 40 dilution bottles prefilled with 7.9 mL of a 10% methanol/water solution (dilution bottles not provided with Neogen item 8831)

MATERIALS RECOMMENDED BUT NOT PROVIDED

1. Extraction materials (items d through f available in kit form from Neogen, item 8052):
 - a. 70% methanol solution (Neogen item 8055, 8056) or ACS grade methanol
 - b. Distilled or deionized water
 - c. 250 mL graduated cylinder (Neogen item 9368)
 - d. Container with 125 mL capacity (Neogen item 9428, 9428B)
 - e. Neogen filter syringes, Whatman no. 1 filter paper, or equivalent (Neogen item 9420/9430)
 - f. Sample collection tubes (Neogen item 9421, 9421B)
2. High-speed blender (Neogen item 9493, 9477)
3. Agri-Grind grinder or equivalent (Neogen item 9401/9453)
4. Scale capable of weighing 2–25 grams $\pm 0.1g$ (Neogen item 9427)
5. Microwell reader with a 650 nm filter (Neogen item 9303)
6. Pipettor, 12-channel (Neogen item 9273)
7. Pipettor, 100 μ L (Neogen item 9272, 9290)
8. Tips for 100 μ L and 12-channel pipettors (Neogen item 9410, 9407, 9417)
9. Paper towels or equivalent absorbent material
10. Plastic half gallon bucket for use as waste receptacle
11. Microwell holder (Neogen item 9402)
12. Timer (Neogen item 9426)
13. Waterproof marker
14. Wash bottle (Neogen item 9400)
15. 2 reagent boats for 12-channel pipettor (Neogen item 9450)
16. Distilled or deionized water

PRECAUTIONS

1. Methanol solution is highly flammable. Keep container tightly closed, and keep away from heat, sparks, open flame and those smoking. It is toxic if swallowed, or if vapor is inhaled. Avoid contact with skin.
2. Store test kit between 2–8°C (35–46°F) when not in use. Do not freeze test kits.
3. Kits should be brought to room temperature 18–30°C (64–86°F) prior to use.
4. Avoid prolonged storage of kits at ambient temperatures.
5. Do not use kit components beyond expiration date.
6. Do not mix reagents from one kit with reagents from a kit with a different lot number.
7. Do not run more than 24 wells per test.
8. Follow proper pipetting techniques, including priming of tips.
9. Use of incubation times other than those specified may give inaccurate results.
10. Treat all used liquids, including sample extract, and labware as if contaminated with fumonisin. Gloves and other protective apparel should be worn at all times.
11. To avoid cross-contamination, use clean pipette tips and glassware for each sample, and thoroughly wash all glassware between samples.
12. 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 NOTES

1. **Substrate:** K-Blue Substrate is ready for use. The substrate should be clear — discard if it has turned 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 the samples are extracted, and the test procedure is set to begin.

SAMPLE PREPARATION AND EXTRACTION

The sample to be tested should be collected according to accepted sampling techniques. The sample should be ground and thoroughly mixed prior to proceeding with the extraction. Store samples at 2–8°C (35–46°F) until analyzed. **NOTE:** If using Neogen's Mycotoxin Extraction Kit, follow the instructions in that kit for the extraction procedure. If you are preparing your own extraction solution, continue with the instructions that follow.

1. If not using Neogen's prepared solution, prepare a 70% methanol solution by mixing 7 parts ACS Grade methanol with 3 parts distilled or deionized water for each sample to be tested.
2. Obtain a representative sample. Grind the entire sample so that at least 75% of the ground material passes through a 20 mesh sieve, the particle size of a fine instant coffee.
3. Extract at a ratio of 1 part sample to 5 parts 70% methanol. Blend 25 g of ground sample with 125 mL of 70% methanol for **2 minutes** in a high-speed blender.

ALTERNATIVE: Add 5 g of ground sample to 25 mL of 70% methanol and shake vigorously for **3 minutes**.

4. Filter the extract by pouring at least 5 mL through a Whatman no. 1 filter (or Neogen filter syringe) and collecting the filtrate as a sample.
5. Dilute sample by adding 100 µL of extract to a prefilled sample dilution bottle and mix well by swirling bottle. The sample is now ready for testing without further preparation. Repeat for each sample, making sure to label each bottle.

TEST PROCEDURE

Allow all reagents to warm to room temperature 18–30°C (64–86°F) before use.

1. Remove 1 red-marked mixing well for each sample to be tested plus 5 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 left. 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	1	2	4	6	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Strip 1
S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	Strip 2

6. Using a 12-channel pipettor, mix the liquid in the wells by pipetting it up and down 3 times. Transfer 100 µL from each well to the antibody-coated wells. Mix by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface for **10–20 seconds** without splashing reagents from the wells. Incubate for **10 minutes** at room temperature 18–30°C (64–86°F). Discard red-marked mixing wells.
7. 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.
8. Pour the needed volume of substrate from the green-labeled bottle into the green-labeled reagent boat.
9. With new tips on the 12-channel pipettor, prime and pipette 100 µL of substrate into the wells. Mix by sliding back and forth on a flat surface for **10–20 seconds**.
10. Incubate **10 minutes**. Discard remaining substrate and rinse the reagent boat with water.
11. Pour Red Stop solution from the red-labeled bottle into the red-labeled reagent boat.
12. Eject the excess substrate from the 12-channel pipettor, prime the tips, and pipette 100 µL of Red Stop to each well. Mix by sliding back and forth on a flat surface. Discard the tips.
13. 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 should be read within 20 minutes after the addition of Red Stop.
14. Read and calculate results using Neogen's microwell reader, or equivalent. If using an EL301 reader or other strip/plate reader, calculate results using Neogen's Veratox for Windows 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: 0.2 ppm (Determined by the mean average of 10 fumonisin free samples plus 2 standard deviations.)

Limit of quantitation: 1 ppm (Described as the lowest concentration point on the calibration curve that this test can reliably detect fumonisin.)

Range of quantitation: 1–6 ppm (For quantitating samples above 6 ppm contact Neogen Technical Services for dilution instructions.)

Validated matrices: Barley, beet pulp*, corn, corn meal, corn germ meal*, corn gluten meal*, corn/soy blend, corn steep*, DDGS*, DDGs wet cake*, millet, milo (grain sorghum), oats, oat hulls, oats (naked), pea fiber, pet food*, popcorn, potato (white), rice gluten, rice hulls, rough rice, rye, soy hydrolysate, soybeans, soybean meal, sunflower meal, wheat and wheat bran.

*May require a pH adjustment.

NOTE: Neogen continues to validate new commodities. Please contact a Neogen 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.

MSDS INFORMATION AVAILABLE

Material safety data sheets (MSDS) are available for this test kit, and all of Neogen's test kits, on Neogen's website at www.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 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.



North America Neogen Headquarters

620 Leshler Place, Lansing, MI 48912 USA
800/234-5333 (USA/Canada) or 517/372-9200
Fax: 517/372-2006 • foodsafety@neogen.com
www.neogen.com

Europe, Middle East and Africa Neogen Europe

The Dairy School, Auchincruive, Ayr
KA6 5HU Scotland, UK
+ 44 (0) 1292 525 600
Fax: + 44 (0) 1292 525 601
info_uk@neogeneurope.com
www.neogeneurope.com

Mexico

Neogen Latinoamérica

Prolongación 5 de Mayo #27
Col. Parque Industrial Naucalpan
Naucalpan, Estado de Mexico C.P. 53489
+52 (55) 5254-8235, +52 (55) 5203-1198
Fax: +52 (55) 5531-1647
informacion@neogenlac.com • www.neogenlac.com

Brazil

Neogen do Brasil

Rua: Alberto Guizo 760, Distrito Industrial João
Narezzi, Indaiatuba – SP Brasil, Cep: 13.347-402
Tel: +55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br • www.neogen.com

Por favor lea cuidadosamente las instrucciones antes de realizar la prueba

Veratox® para Fumonisina

Prueba Cuantitativa Método Oficial de la AOAC 2001.06

REFRIGÉRESE A 2–8°C • NO CONGELAR

LA TOXINA

Las fumonisinas fueron descubiertas en 1989 y son parte de la familia de micotoxinas producidas por diferentes especies del moho de *Fusarium*. Estos mohos infectan comúnmente el maíz (en realidad, se consideran siempre presentes en el maíz) y el arroz, por lo tanto, el potencial de que la fumonisina se encuentre en los alimentos concentrados para animales y los productos alimentarios es alto. Las fumonisinas afectan a varios animales de maneras diferentes y se han relacionado con el cáncer de esófago en los seres humanos. La Agencia de Protección Ambiental clasifica a las fumonisinas como cancerígenos de categoría II-B.

Los caballos son extremadamente sensibles a bajas cantidades de fumonisina, lo cual puede causar leucoencefalomalacia (licuefacción del cerebro). Investigaciones llevadas a cabo en porcinos demuestran que las fumonisinas 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 guía definitiva para la totalidad de fumonisinas (FB₁+FB₂+FB₃) en alimentos para consumo humano y alimentos concentrados para animales:

ALIMENTOS PARA HUMANOS (fumonisinas totales)

Productos de maíz seco degerminados, deshidratados y molidos	2 ppm
Productos de maíz completamente/parcialmente molidos secos degerminados, salvado de maíz molido y seco, maíz limpio para producción en gran escala.....	4 ppm
Maíz limpio para palomitas de maíz	3 ppm

ALIMENTOS/CONCENTRADOS PARA ANIMALES (maíz/subproductos del maíz, fumonisinas totales)

Équidos y conejos	5 ppm en ≤ 20% de la dieta
Porcinos y bagres	20 ppm en ≤ 50% de la dieta
Rumiantes de cría, aves de corral de cría visón de cría	30 ppm en ≤ 50% de la dieta
Rumiantes ≥ 3 meses de edad criados para la matanza y visón criado para la producción de pieles.....	60 ppm en ≤ 50% de la dieta
Aves de corral criadas para la matanza.....	100 ppm en ≤ 50% de la dieta
Todas las demás especies o clases de ganado y animales domésticos.....	10 ppm en ≤ 50% de la dieta

PROPÓSITO DE USO

El kit de Veratox® para Fumonisina es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas directo y competitivo (CD-ELISA) en un formato de micropocillos para el análisis cuantitativo de fumonisina en productos tales como el maíz, la harina de maíz y el arroz.

USUARIO PREVISTO

La prueba de Veratox para Fumonisina 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 fumonisina. Debido a que la técnica es muy importante, los operadores deben contar con capacitación realizada por un representante de Neogen o por una persona que haya completado dicha capacitación.

FUNDAMENTOS DEL ANÁLISIS

La prueba de Veratox para Fumonisina permite al usuario obtener concentraciones exactas en partes por millón (ppm). Se permite que la fumonisina libre de las muestras y controles compita con la fumonisina enzimomarcada (el conjugado) por los sitios de absorción de los anticuerpos. Tras un lavado, se agrega un sustrato que reacciona con el conjugado absorbido para producir el color azul. Más color azul significa menos fumonisina. El análisis se lee en un lector para 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 fumonisina.

REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO

Este kit de prueba puede ser utilizado hasta la fecha de expiración mostrada en la etiqueta, si se conserva refrigerado a 2–8°C (35–46°F).

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. 48 micropocillos tapizados con anticuerpos
2. 48 micropocillos para mezclar marcados en rojo
3. 5 botellas con etiqueta amarilla de 0, 1, 2, 4 y 6 ppm (consulte la sección de **Precauciones** para el manejo de la solución de metanol)
4. 1 botella con etiqueta azul de solución de conjugado de fumonisina-y peroxidasa de rábano (HRP)
5. 1 botella con etiqueta verde de solución de sustrato K-Blue®
6. 1 botella con etiqueta roja de solución detenedora Red Stop
7. 1 kit de dilución, conteniendo 40 botellas de dilución pre llenadas con 7.9 mL de una solución de metanol/ agua al 10% (botellas de dilución no vienen incluidas con el Producto Neogen 8831)

MATERIALES RECOMENDADOS (NO SUMINISTRADOS)

1. Materiales de extracción (productos de la letra “d” a la letra “f” están disponibles en forma de kits de Neogen, Producto Neogen 8052):
 - a. Solución de metanol al 70% (Producto Neogen 8055, 8056) o metanol de grado ACS
 - b. Agua destilada o desionizada
 - c. Probeta graduada de 250 mL (Producto Neogen 9368)
 - d. Recipiente de 125 mL de capacidad (Producto Neogen 9428, 9428B)
 - e. Jeringas con filtro Neogen, papel de filtro Whatman n.º 1 o equivalente (Producto Neogen 9420/9430)
 - f. Tubos para la colección de muestras (Producto Neogen 9421, 9421B)
2. Mezcladora o licuadora de alta velocidad (Producto Neogen 9493, 9477)
3. Trituradora Agri-Grind o equivalente (Producto Neogen 9401/9453)
4. Balanza o báscula con capacidad de 2–25 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, 100 μ L (Producto Neogen 9272, 9290)
8. Puntas de pipeta para pipetas de 100 μ L y pipetas de 12 canales (Producto Neogen 9410, 9407, 9417)
9. Toallas de papel o material absorbente equivalente
10. Balde plástico de medio 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 reactivos para pipetas 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 2–8°C (35–46°F) cuando no lo utilice. No congele.
3. Permita que el kit alcance una temperatura ambiental de 18–30°C (64–86°F) antes de su uso.
4. Evite el almacenamiento prolongado de los kits a temperatura ambiental.
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 uso de periodos de incubación distintos a los especificados puede dar lugar a 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 de pH.

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. **Sustrato:** El sustrato K-Blue está listo para uso. El sustrato debe ser transparente— deséchelo si se ha tornado 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 reactivos para mantener el sustrato protegido de la luz hasta que lo necesite.
2. **Micropocillos con anticuerpo:** Mantenga los micropocillos sellados en la bolsa de aluminio hasta que los necesite. Retire los micropocillos de la bolsa de aluminio después de extraer 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. **NOTA:** Si está utilizando el Kit de Extracción de Micotoxinas de Neogen, siga las instrucciones proporcionadas con el kit para el procedimiento de extracción. Si esta preparando su propia solución de extracción, siga las instrucciones a continuación.

1. Si Ud. no está utilizando la solución preparada de Neogen, prepare una solución de metanol al 70% mezclando 7 partes de metanol de grado ACS con 3 partes de agua destilada o desionizada para cada muestra que vaya a ser analizada.
2. Obtenga una muestra representativa. Triture la muestra de modo que al menos el 75% del material pase a través de un tamiz de malla 20. Las partículas deben un tamaño de grano muy fino como las de café instantáneo.
3. Extraiga una ración de 1 parte de muestra con 5 partes de metanol al 70%. Mezcle 25 g de muestra molida con 125 mL de metanol al 70% por **2 minutos** en una mezcladora de alta velocidad.
ALTERNATIVA: Agregue 5 gramos de la muestra molida a 25 mL de metanol al 70% y agite vigorosamente durante **3 minutos**.
4. Filtre el extracto vertiendo por lo menos 5 mL a través de un filtro Whatman n.º1 (o una jeringa con filtro de Neogen) y recolectando el líquido filtrado como muestra.
5. Diluya la muestra agregando 100 µL de extracto a una botella de dilución precargada con la muestra y mezcle bien agitándola en forma circular. La muestra ya está lista para ser analizada sin necesidad de realizar otra preparación. Repita este procedimiento para cada muestra, asegurándose de marcar cada botella.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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

1. Retire un (1) micropocillo de mezclar 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 cubiertos con anticuerpo. Devuelva inmediatamente al papel metálico con desecante los micropocillos con anticuerpos que no vaya a utilizar. Selle la bolsa de aluminio para proteger los anticuerpos. Marque un extremo de la tira con un “1”, y ponga la tira en el soporte para micropocillos con el extremo que está marcado hacia el lado izquierdo. No marque el interior ni el fondo de los micropocillos.
3. Mezcle cada reactivo agitando vigorosamente su frasco antes de uso.
4. Vierta 100 µL del conjugado procedente del frasco con la etiqueta azul en cada micropocillo de mezcla marcado en rojo.
5. Utilizando una punta de pipeta nueva para cada uno de los micropocillos, transfiera 100 µL de los controles y muestras a los micropocillos de mezcla marcados en rojo según se indica en la plantilla a continuación.

0	1	2	4	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. Mediante el uso de una pipeta de 12 canales, mezcle el líquido pipeteando de arriba y hacia abajo 3 veces. Transfiera 100 µL a los micropocillos tapizados con anticuerpos. Mezcle por **10–20 segundos** deslizando el estante para los micropocillos hacia atrás y hacia adelante cuidando de no derramar o salpicar los reactivos contenidos en los micropocillos. Incube los micropocillos por **10 minutos** a temperatura ambiental 18–30°C (64–86°F). Deseche los micropocillos de mezcla marcados en rojo.

7. Extraiga el contenido de los micropocillos sacudiéndolos. Llénelos con agua destilada o desionizada y deseche dicha agua sacudiéndolos. Repita esta operación cinco veces, luego invierta los pocillos y golpéelos ligeramente sobre una toalla de papel, hasta que salga el agua restante.
8. Vierta el volumen necesario de sustrato del frasco con etiqueta verde dentro del bote de reactivos con una etiqueta del mismo color.
9. Utilizando una pipeta de 12 canales con puntas nuevas, cebe las puntas y pipetee 100 µl de sustrato en los micropocillos, mezcle por **10–20 segundos** deslizando el soporte para micropocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana.
10. Incube por **10 minutos**. Deseche el sustrato restante y enjuague el bote de reactivos con agua.
11. Vierta la solución detenedora Red Stop del frasco con etiqueta roja dentro del bote de reactivos con una etiqueta del mismo color.
12. Expulse el exceso de sustrato de la pipeta de 12 canales, prepare las puntas y pipetee 100 µL de la solución detenedora Red Stop a cada micropocillo. Mezcle deslizando el estante para los micropocillos de atrás hacia adelante en una superficie plana. Deseche las puntas.
13. Pase un paño seco o toalla absorbente por el exterior de los micropocillos y lea en un lector de micropocillos con 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.
14. Lea y calcule los resultados mediante el lector de micropocillos de Neogen o su equivalente. Si utiliza un lector EL301 u otro lector de placa/tiras, calcule los resultados mediante el software Veratox de Neogen para Windows.

REPETICIÓN DE LA PRUEBA

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 el promedio de 10 muestras de fumonisinina libre más 2 desviaciones estándar).

Límite de cuantificación: 1 ppm (descrito como el punto de concentración más bajo sobre la curva de calibración en el que esta prueba puede detectar fumonisinina en una forma fiable).

Rango de cuantificación: 1–6 ppm (para cuantificar las 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.

*Puede requerir un ajuste de pH.

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

SERVICIO DE ATENCIÓN AL CLIENTE

Para obtener mayor información por favor contactar al Dpto. de Servicio al Cliente y/o al Dpto. de Servicios Técnicos localizado en la parte de atrás de este folleto. Hay disponibilidad de entrenamiento para este producto y todos los kits de Neogen.

DISPONIBILIDAD DE LAS FICHAS DE SEGURIDAD DE LOS MATERIALES (MSDS)

Ud. puede obtener las fichas de seguridad de los materiales para esta prueba analítica y para todos los kits de prueba de Neogen en www.neogen.com, o llamando a los números +1 800-234-5333 o +1 517-372-9200

TÉRMINOS Y CONDICIONES

Por favor visite www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html para los términos y condiciones completos de Neogen.

GARANTÍA

Neogen Corporation no ofrece ningún tipo de garantía expresa o implícita, excepto que los materiales utilizados en la fabricación de los productos son de calidad estándar. Si cualquiera de sus materiales resulta defectuoso, Neogen proveerá un replazo 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, Cuento Total de Platos, E. Coli Genérico y Total de Coliformes, Residuos Proteínicos

Alérgenos alimentarios

- Maní, Leche, Huevos, Almendras, Gluten, Soja, Avellana

Modificación genética

- CP4 (Roundup Ready®)

Subproductos para rumiantes

- Harina de carne y huesos, alimentos para animales

**Norteamérica****Oficinas Corporativas de Neogen**

620 Leshar Place, Lansing, MI 48912 EE.UU.
+1 800/234-5333 (EE.UU./Canadá) o +1 517/372-9200
Fax: +1 517/372-2006 • foodsafety@neogen.com
www.neogen.com

**Europa, Medio Oriente y África
Neogen Europe**

The Dairy School, Auchincruive, Ayr
KA6 5HU Scotland, UK
+ 44 (0) 1292 525 600
Fax: + 44 (0) 1292 525 601
info_uk@neogeneurope.com
www.neogeneurope.com

México**Neogen Latinoamérica**

Prolongación 5 de Mayo # 27
Col. Parque Industrial Naucalpan
Naucalpan, Estado de México C.P. 53489
+52 (55) 5254-8235, +52 (55) 5203-1198
Fax: +52 (55) 5531-1647
informacion@neogenlac.com • www.neogenlac.com

Brazil**Neogen do Brasil**

Rua: Alberto Guizo 760, Distrito Industrial João
Narezzi, Indaiatuba – SP Brasil, Cep: 13.347-402
Tel: +55 19 3935.3727
info@neogendobrasil.com.br • www.neogen.com