

Прочитайте инструкцию перед использованием

 **Veratox<sup>®</sup> MAX**

## Общий афлатоксин

### Количественный тест с водной экстракцией

*Хранить при температуре 2–8°C (35–46°F) • Не замораживать*

**FGIS – 2016-088**

#### **ТОКСИНЫ**

Афлатоксин представляет собой токсичное и канцерогенное вещество, продуцируемое некоторыми штаммами плесневых грибов *Aspergillus flavus* и *A. parasiticus*. Четыре основных типа афлатоксина: B1, B2, G1 и G2. Афлатоксин B1 является наиболее часто встречающимся из группы и наиболее токсичным. Продуктами, которые больше всего подвержены загрязнению афлатоксином, являются кукуруза, арахис, семена хлопка, майло и большинство орехов.

Последствия употребления животными чрезмерного количества токсина варьируются от хронических проблем со здоровьем и производительностью до смерти. Было показано, что афлатоксин вызывает повреждение или рак печени, снижение производства молока и яиц, подавление иммунитета и нарушение репродуктивной функции.

FDA установило максимально допустимые уровни афлатоксина в пищевых продуктах и кормах. Таким образом, точное определение присутствия токсина имеет большое значение для тех, кто следит за качеством пищевых продуктов и кормов, в которых может содержаться афлатоксин. Проверка этих товаров на наличие токсина требует тщательного отбора проб, химической экстракции, санитарной обработки и количественного анализа.

FDA установили следующие нормативные уровни для афлатоксина:

<b>Разновидность</b>	<b>Уровень</b>	<b>Продукты</b>
Люди	20 ppb	Все продукты, кроме молока
Все виды животных	20 ppb	Весь корма (исключения ниже)
<b>Исключения:</b>		
Крупный рогатый скот, свиньи, взрослая птица	100 ppb	Кукуруза
Свиньи (>100 фунтов)	200 ppb	Кукуруза
Мясной скот	300 ppb	Кукуруза
Все виды животных	300 ppb	Хлопковая мука, используемая в кормах

## **ПРИМИНЕНИЕ**

Veratox MAX for Total Aflatoxin предназначен для количественного анализа афлатоксина в кукурузе и кукурузной глютенковой муке. Этот набор используется для обнаружения четырех основных типов афлатоксинов: B1, B2, G1 и G2 с улучшенной перекрестной реактивностью по сравнению с другими доступными наборами. Veratox для общего афлатоксина — это микролуночный тест ИФА, в котором используется процедура водной экстракции.

## **ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ**

Этот тест-набор предназначен для использования персоналом по контролю качества пищевых продуктов и кормов, которые могут быть заражены афлатоксином. Лабораторный персонал, который работает с данным тестом должны пройти обучение у представителя Neogen.

## **ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТА**

Veratox MAX для общего афлатоксина — это прямой конкурентный ИФА в микролуночном формате, который позволяет пользователю получать точные концентрации в ppb. Свободный афлатоксин в образцах и контролях может конкурировать с меченым ферментом афлатоксином (конъюгатом) за сайты связывания антител. После этапа промывки добавляют субстрат, который вступает в реакцию со связанным конъюгатом с образованием комплекса синего цвета. Чем больше синего цвета, тем меньше концентрация афлатоксина. Результат теста считывается в ридере для микропланшетов для определения оптической плотности. Оптические плотности контролей образуют стандартную кривую, а оптические плотности образцов наносятся на график относительно кривой для расчета точной концентрации афлатоксина.

## **ХРАНЕНИЕ**

Набор можно использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке, при условии хранения в холодильнике при температуре 2–8 °C (35–46 °F). Пакеты MAX 2 можно использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении при комнатной температуре 18–30 °C (64–86 °F).

## **СОСТАВ НАБОРА**

1. 48 микролунок, покрытых антителами
2. 48 лунок для смешивания, отмеченных красным
3. 4 флакона с желтой маркировкой контролей афлатоксина 0, 5, 15 и 50 ppb.
4. 1 флакон с синей маркировкой раствора конъюгата афлатоксин-HRP
5. 1 флакон с раствором субстрата K-Blue® с зеленой этикеткой.
6. 1 бутылка с красной этикеткой стоп-реагенты
7. 25 пакетов MAX 2 для водной экстракции
8. 1 бутылка с розовой маркировкой разбавителя

## ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Экстракционные материалы
  - a. Пакеты MAX 2 для водной экстракции (Neogen арт. 8036)
  - b. Пакеты MAX 2 для водной экстракции G-50 (Neogen арт. 8036G)
  - c. Градуированный цилиндр объемом 250 мл или насос-дозатор (Neogen арт. 9368, 9448)
  - d. Контейнер емкостью 125 мл (Neogen арт. 9428)
  - e. Шприцевые фильтры, фильтровальная бумага Whatman #4 или аналог (Neogen арт. 9420, 9519, 9429)
  - f. Пробирки для сбора проб (Neogen арт. 9421)

**или**

- g. Центрифуга, мини (Neogen арт. 9330)
- h. Микроцентрифужные пробирки (Neogen арт. 9172)
2. Измельчитель Agri-Grind или аналог (Neogen арт. 9401, 9453)
3. Весы (минимум на 5 - 50 г) (Neogen арт. 9427).
4. Микропланшетный ридер с фильтром 650 нм (Neogen арт. 9303)
5. Пипетка, 12-канальная (Neogen арт. 9273)
6. Пипетка, 100 мкл (Neogen арт. 9272, 9290)
7. Наконечники для пипеток на 100 мкл и 12-канальные пипетки (Neogen арт. 9410, 9407, 9417)
8. Бумажные полотенца или аналогичный абсорбирующий материал.
9. Пластиковое ведро для использования в качестве мусоросборника.
10. Держатель для микролунок (Neogen арт. 9402)
11. Таймер (Neogen арт. 9426)
12. Водостойкий маркер
13. Бутылка для промывки (Neogen арт. 9400)
14. 2 лодочки для реагентов для 12-канального дозатора (Neogen арт. 9450)
15. Дистиллированная или деионизированная вода.
16. Шейкер, Rockit (Neogen арт. 9390)
17. Блендер (Neogen арт. 9493)
18. Кувшин блендера, мини (Neogen арт. 9477)

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Храните тестовый набор в холодильнике при температуре от 2 до 8 °C (35–46 °F). Не замораживайте реагенты.
2. Перед использованием наборы необходимо выдержать при комнатной температуре 18–30°C (64–86°F) не менее чем за 2 часа.
3. Избегайте длительного хранения наборов при температуре окружающей среды.
4. Не используйте компоненты набора по истечении срока годности.
5. Не смешивайте реагенты из одного набора с реагентами из другого набора.
6. Не запускайте более 24 скважин одновременно.
7. Соблюдайте правильную технику пипетирования, включая заправку наконечников.
8. Использование значений времени инкубации, отличных от указанных, может привести к неточным результатам.
9. Обращайтесь со всеми использованными жидкостями, включая экстракты образцов и лабораторную посуду, как с материалами зараженными афлатоксином.
10. Во избежание перекрестного загрязнения используйте чистые наконечники пипеток и стеклянную посуду для каждого образца, а также тщательно дезинфицируйте и мойте всю стеклянную посуду между образцами.
11. Проверяемые товары должны иметь pH 6–8. Чрезмерно кислые или щелочные образцы следует отрегулировать. Для получения инструкций по регулировке pH обратитесь к представителю Neogen или в службу технической поддержки.

## **ПРИМЕЧАНИЕ ПО ПРОЦЕДУРЕ АНАЛИЗА**

1. Субстрат K-Blue готов к использованию. Субстрат должен быть прозрачного или светло-голубого. Утилизируйте субстрат, если он стал темно-синим. Наливайте в лодочку для реагентов только необходимый объем субстрата. **Не возвращайте неиспользованный субстрат в бутылку.** Накройте лодочку с реагентом, чтобы субстрат был защищен от света, пока он не понадобится.

2. Лунки: храните лунки запечатанными в пакете из фольги. Извлекайте лунки из пакета из фольги только после пробоподготовки непосредственно перед началом теста.

## **ПРОДОБОПОДГОТОВКА**

Проба для анализа должна быть собрана в соответствии с принятыми методами отбора проб (см. протокол отбора проб FGIS или обратитесь к представителю компании Neogen). Отберите репрезентативную пробу (минимум 100 г). Измельчите весь образец так, чтобы не менее 95% измельченного материала прошло через сито 20 меш (размер частиц примерно равен частицам растворимого эспрессо).

## **ЭКСТРАКЦИЯ ОБРАЗЦА**

1. Взвесьте 10 г  $\pm$  0,1 г образца в контейнер. Вылейте содержимое 1 пакета водной экстракции MAX 2 в этот контейнер.

2. Добавьте 50 мл дистиллированной или деионизированной воды к образцу и экстракционному порошку.

3. Энергично встряхните вручную или с помощью механических устройств в течение 3 минут. Дайте образцу отстояться в течение 10 минут.

4. Отфильтруйте экстракт с помощью шприцевого фильтра или через фильтровальную бумагу Whatman #4. Соберите не менее 3 мл фильтрата пробы в пробирку для сбора проб. Вы также можете отобрать пипеткой 1 мл образца в микроцентрифужную пробирку объемом 2,0 мл и центрифугировать в течение 30 секунд на микроцентрифуге.

5. Образец готов к анализу.

## **ЭКСТРАКЦИЯ ПРОБ МЕТОДОМ FGIS**

1. Взвесьте 50 г  $\pm$  0,1 г образца в контейнер. Вылейте содержимое 1 пакета водной экстракции MAX2 G-50 в контейнер.

2. Добавьте 250 мл дистиллированной или деионизированной воды к смеси образца и экстракционного порошка.

3. Энергично взболтайте с помощью механических устройств в течение 3 минут или перемешайте в течение 1 минуты. Дайте образцу отстояться в течение 10 минут.

4. Отфильтруйте экстракт через фильтр Whatman #4 или используя шприцевой фильтр. Соберите не менее 5 мл фильтрата.

5. Образец готов к анализу.

## **ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА**

Дайте всем реагентам нагреться до комнатной температуры 18–30 °C (64–86 °F) в течение как минимум двух часов перед использованием.

1. Возьмите по 1 красной лунке для смешивания для каждого тестируемого образца, а также 4 красные лунки для контролей и поместите их в держатель лунок.

2. Возьмите такое же количество лунок, покрытых антителами. Лунки с антителами, которые не будут использоваться, поместите в упаковку из фольги с влагопоглотителем. Отметьте один конец полоски цифрой «1» и поместите полоску в держатель лунок отмеченным концом справа. Не делайте отметок внутри или на дне лунок.

3. Перед использованием встряхните каждый реагент.

4. Добавьте по 100 мкл конъюгата с синей этикеткой в каждую лунку для смешивания.

5. С помощью чистого наконечника пипетки добавьте по 100 мкл контролей и образцов в лунки для смешивания, как описано ниже.

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

6. С помощью 12-канального дозатора перемешайте жидкость в лунках, пипетируя ее вверх и вниз 5 раз. Перенесите по 100 мкл в лунки, покрытые антителами. Утилизируйте красные лунки для смешивания.

7. Инкубируйте в течение 5 минут, перемешивая содержимое лунок в течение первых 30 секунд инкубации при комнатной температуре, перемещая держатель микропланшетов вперед и назад по плоской поверхности, не разбрызгивая реагенты из лунок.

8. Вылейте содержимое лунок с антителами. Заполните лунки дистиллированной или деионизированной водой и вылейте ее. Повторите эту процедуру 5 раз, затем переверните лунки вверх дном и постучите по бумажному полотенцу, пока не будет удалена оставшаяся вода.

9. Налейте необходимый объем субстрата из бутылки с зеленой маркировкой в лодочку для реагентов с зеленой маркировкой.

10. Возьмите новые наконечники для 12-канального дозатора и внесите в лунки по 100 мкл субстрата.

11. Инкубируйте в течение 5 минут, перемешивая лунки в течение первых 30 секунд, скользя планшетом вперед и назад по плоской поверхности. Удалите оставшийся субстрат и промойте лодочку с реагентом водой.

12. Перелейте стоп-реагент из бутылки с красной этикеткой в лодочку для реагентов с красной маркировкой.

13. Внесите по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку. Смешайте, скользя планшетом вперед и назад по плоской поверхности. Утилизируйте наконечники.

14. Протрите дно микролунок сухой тканью или полотенцем и считайте оптическую плотность в ридере для микропланшетов с фильтром 650 нм. Пузырьки воздуха следует удалять, так как они могут повлиять на результаты анализа. Результаты должны быть измерены в течение 20 минут после добавления стоп-реагента.

15. Измерьте результаты с помощью ридера микропланшетов Neogen Stat Fax или его аналога. Если вы используете другие ридеры, рассчитайте результаты с помощью программного обеспечения Neogen Veratox.

## ПОВТОРНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ

Если вы анализировали продукт, который ранее не анализировался данным тестом, и получили положительный результат, подтвердите его с помощью дополнительного утвержденного метода, прежде чем предпринимать какие-либо действия.

## ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел обнаружения: 2,5 ppb

Предел количественного определения: 5 ppb (принимается как самая низкая точка концентрации на калибровочной кривой, при которой этот тест может надежно обнаруживать афлатоксин).

Диапазон количественного определения: 5–50 ppb.

Количественное определение 10–100 ppb:

Разбавьте отфильтрованный образец 1:1 прилагаемым разбавителем (флакон с розовой маркировкой), используя сосуд для сбора образцов (т.е. 200 мкл отфильтрованного образца с 200 мкл разбавителя). Хорошо перемешайте. Протестируйте разбавленный образец в соответствии с процедурой анализа. Умножьте полученный результат на 2.

### Количественное определение 30–300 ppb:

Разбавьте отфильтрованный образец 1:5 прилагаемым разбавителем (флакон с розовой маркировкой), используя сосуд для сбора образцов (т. е. 100 мкл отфильтрованного образца с 500 мкл разбавителя). Хорошо перемешайте. Протестируйте разбавленный образец в соответствии с процедурой анализа. Умножьте полученный результат на 6.

Матрицы, валидированные Neogen: Кукуруза и кукурузная глютенная мука.

*\*Может потребоваться корректировка pH или специальная процедура экстракции.*

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Neogen продолжает проверять новые матрицы. Пожалуйста, свяжитесь с представителем для получения последнего утвержденного списка матриц.

### **ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА**

Если у Вас возникли какие-либо вопросы по использованию данной тест-системы или вы хотите пройти обучение Neogen, обратитесь в техническую поддержку Вашего поставщика:

**Поставщик в России:  
ООО "НеоТест"**

**Техническая поддержка**  
support@neo-test.ru  
+7 499 704 05 50

**Поставщик в Беларуси:  
ОДО "КомПродСервис"**

**Техническая поддержка**  
support@komprod.com  
+375 17 336 50 54

### **ДОСТУПНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

Паспорта безопасности материалов (MSDS) доступны для этого тестового набора и всех тестовых наборов безопасности пищевых продуктов Neogen на сайте [www.neogen.com](http://www.neogen.com) или по телефонам Neogen 800/234-5333 или 517/372-9200.

### **УСЛОВИЯ И ПОЛОЖЕНИЯ**

Полные условия использования Neogen см. на странице [www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html](http://www.neogen.com/Corporate/termsconditions.html).

### **ГАРАНТИЯ**

Корпорация Neogen не дает никаких явных или подразумеваемых гарантий, за исключением того, что материалы, из которых изготовлена ее продукция, имеют стандартное качество. Если какие-либо материалы неисправны, Neogen предоставит продукт на замену. Покупатель принимает на себя все риски и ответственность, связанные с использованием данного продукта. Нет никаких гарантий товарной пригодности этого продукта или пригодности продукта для каких-либо целей. Neogen не несет ответственности за какой-либо ущерб, в том числе фактический или косвенный ущерб, или расходы, возникающие прямо или косвенно в результате использования этого продукта.





**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

©Neogen Corporation, 2015. Neogen, Veratox and K-Blue are registered trademarks of Neogen Corporation. All other brand and product names are trademarks or registered trademarks of their respective companies.

**Поставщик в России:**  
**ООО "НеоТест"**  
ул. Раstopчина, 1Г, г. Владимир  
+7 499 649 02 01  
info@neo-test.ru  
[www.neo-test.ru](http://www.neo-test.ru)

**Техническая поддержка**  
support@neo-test.ru  
+7 499 704 05 50



**Поставщик в Беларуси:**  
**ОДО "КомПродСервис"**  
ул. Филимонова, 25Г, г. Минск  
+375 17 336 50 54  
info@komprod.com  
[www.komprod.com](http://www.komprod.com)

**Техническая поддержка**  
support@komprod.com  
+375 17 336 50 54

