

U.S. English

Product Number:
8430M

 **Veratox[®]**

VIP for Peanut

Veratox[®] VIP for Peanut

Product Number: 8430M

Peanut Allergen

Food allergens are proteins in food that can create an immune response in sensitive individuals. Once ingested, food allergens can cause a number of reactions, ranging in severity from hives and itching to anaphylaxis. Anaphylaxis is a severe allergic reaction, involving vomiting, diarrhea, difficulty breathing, swelling of the mouth and tongue, and a rapid drop in blood pressure.

More than 32 million people (9% of the population) in the U.S. alone are known to have a food allergy, six million of which are under the age of 18. Allergy to peanuts is one of the most prevalent observed. Food manufacturers protect those with food allergies by clearly labeling their products with a list of ingredients. Testing for the presence of peanut components assures food manufacturers that an unlabeled — and potentially dangerous — ingredient did not make its way into a food product.

Intended Use

Veratox[®] VIP for Peanut is intended for the quantitative analysis of very low levels of raw and further-processed peanut protein in food products, ingredients and clean-in-place (CIP) rinses. This assay is also capable of qualitative analysis of environmental swabs.

Intended User

This test kit is designed for use by quality control personnel and others familiar with foods possibly contaminated by peanuts or peanut products. Since technique is very important, operators should be trained by a NEOGEN[®] representative or someone who has completed the NEOGEN training.

Assay Principles

The Veratox VIP for Peanut test is a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (S-ELISA). This assay is validated to detect at least three primary allergenic proteins in peanut (Ara h 1, Ara h 2, and Ara h 3). Peanut protein is extracted from samples with a phosphate buffered salt solution (PBS) by shaking in a heated water bath, followed by centrifugation or filtration. Extracted peanut protein is sampled and added to antibody-coated wells (capture antibody) where it binds to the antibody during an incubation. Any unbound peanut protein is washed away and a second antibody (detector antibody), which is enzyme labeled, is added. The detector antibody binds to the already bound peanut protein. After a second wash, the substrate is added. Color develops as a result of the presence of bound detector antibody. Red Stop Solution reagent is added and the color of the resulting solution is observed. The test is read in a microwell reader to yield optical densities (OD). The OD of the controls form a standard curve, and the sample OD are plotted against the curve to calculate the concentration of peanut protein.

Storage Requirements

The kit can be used until the expiration date on the label when stored refrigerated at 2–8°C (35–46°F). Do not freeze.

Materials Provided

1. 48 antibody-coated microwells
2. 48 red-marked transfer wells
3. 6 yellow-labeled bottles of 0, 0.25, 0.625, 1.25, 2.5, and 5 ppm peanut protein controls (0, 1, 2.5, 5, 10, and 20 ppm total peanut)
4. 2 blue-labeled bottles of enzyme-labeled antibody conjugate
5. 1 green-labeled bottle of K-Blue® Substrate
6. 1 red-labeled bottle of Red Stop Solution
7. 5 foil pouches of 10 mM PBS dry powder extraction diluent. Each pouch is enough to prepare 1 L in distilled or deionized water (pH 7.4)
8. 40 mL of 10 mM PBS-tween washing reagent in a wide mouth bottle. Each bottle is enough to prepare 1 L in distilled or deionized water (pH 7.4)
9. Two 100 µL tubes of Reagent A conjugate additive
10. 200 g extraction additive

Note: Only for use with samples containing high levels of polyphenols/tannins (e.g. chocolate)

Materials Recommended but not Provided

1. Allergen extraction kit (NEOGEN item 8429)
 - a. 20 disposable plastic extraction bottles
 - b. 20 sample collection tubes (12 x 75 mm) with caps
2. Shaker water bath capable of maintaining 60°C ± 1° with clamps to hold 250 mL extraction bottles (NEOGEN items 9298, 9299)
3. Whatman #4 filters or equivalent (NEOGEN item 9429)
4. Centrifuge (optional)
5. Pipettor, 50–200 µL adjustable (NEOGEN item 9276)
6. Pipettor, 12-channel pipettor (NEOGEN item 9273)
7. Pipette tips (NEOGEN items 9410, 9407, 9417)
8. Timer (NEOGEN item 9426)
9. Stat-Fax 4700 microwell reader with a 650 nm filter (NEOGEN item 9303)
10. 1 L bottle to prepare washing solution (NEOGEN item 9472)
11. 1 L bottle to prepare extraction buffer diluent (NEOGEN item 9472)
12. Paper towels or equivalent absorbent material
13. Microwell holder (NEOGEN item 9402)
14. Waterproof marker
15. Wash bottle (NEOGEN item 9400)
16. Distilled or deionized water
17. 3 reagent boats for 12-channel pipettor (NEOGEN item 9435)
18. Graduated cylinder capable of measuring 125 mL (NEOGEN item 9368)
19. Scale capable of weighing 5 g ± 0.1 g (NEOGEN item 9427)

Precautions

Note: This assay has a high sensitivity for peanut residues. It is highly recommended to thoroughly clean the work bench and all instruments before testing. Make sure to use clean pipette tips and reagent containers for each sample to avoid cross-contamination.

1. Components of Veratox VIP for Peanut, such as controls and extraction reagents, may contain one or more of the following potentially allergic materials: casein, egg protein, peanut protein, soy protein, and tree nut protein. If allergic to any of these compounds, please use caution when using this product.
2. Concentrated food additives, colors, and flavors may cause interferences on ELISA test methods. Contact NEOGEN Technical Services for validation information.
3. Hydrolyzed and fermented proteins may not be detected using ELISA methods for allergen testing. Due to the nature of the proteins it may be undetectable in the assay, but there could still be active allergenic protein residue present.
4. Sponges should not be used for sample collection and allergen testing. Sample collection swabs other than NEOGEN swabs should be validated prior to use. General sponges and swabs may contain solutions or materials that may interfere with the test kit.
5. Store test kit between 2–8°C (35–46°F) when not in use. Do not freeze test kits and avoid prolonged storage of kits at ambient temperatures.
6. Bring kits to room temperature 18–30°C (64–86°F) before use.
7. Do not use kit components beyond the expiration date.
8. Do not mix reagents from one kit serial with reagents from a different kit serial.
9. Do not run more than 24 wells per test.
10. Follow proper pipetting techniques (e.g., prime tips and use clean tips).
11. Use only incubation times specified. Others may give inaccurate results.
12. Use clean pipette tips and glassware for each sample to avoid cross-contamination. Thoroughly wash all glassware between samples.

Procedural Notes

1. **Substrate:** 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 needed.
2. **Reagent A:** This solution is added to the conjugate to prepare a working conjugate. Vortex on high for 3–5 seconds before use.
3. **Working conjugate:** To prepare the working conjugate solution enough for 24 wells, add 50 µL of Reagent A to 5 mL of conjugate (1 bottle of conjugate contains 5 mL, sufficient for use with 24 microwells). If testing less than 24 wells, prepare a working conjugate by mixing one part Reagent A to 100 parts conjugate. Mix for 10 minutes. Use within 8 hours after preparation. **Note:** Cover reagent boat to keep conjugate protected from light and other contaminants. Discard unused working conjugate after 8 hours.
4. **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 procedure is set to begin.
5. **Washing solution:** Prepare the washing solution by pouring all the wash buffer concentrate into an empty 1 L container. Rinse the wash buffer concentrate bottle with distilled or deionized water and pour into the 1 L container to ensure all the concentrate is used. Fill the 1 L container with additional distilled or deionized water, and swirl to assure thorough mixing. Cover and store any unused portions refrigerated at 2–8°C (35–46°F). **Note:** Discard unused portions of washing solution.

- Extraction buffer diluent: Prepare extraction buffer diluent by adding a foil pouch of extraction solvent, 10 mM PBS, to 1 L distilled or deionized water. Swirl to mix thoroughly. Cover and store any unused portions refrigerated at 2–8°C (35–46°F).
- Peanut extraction solution: Peanut extraction solution is prepared by diluting washing solution ten-fold with extraction buffer diluent. For example, to prepare 1 L of extraction solution, add 100 mL of prepared washing solution into 900 mL of extraction buffer diluent. Swirl to mix thoroughly. Cover and store any unused portions refrigerated at 2–8°C (35–46°F). Discard unused portions of extraction solution and wash buffer when the test kit has been used completely.

Sample Preparation and Extraction

The sample to be tested should be collected according to accepted sampling techniques (see NEOGEN's Food Allergen Handbook). The sample should be ground and thoroughly mixed prior to proceeding with the extraction procedure.

- Prepare the extraction solution as described in the procedural notes.
- Preheat prepared extraction solution to 60°C (140°F) by immersing the bottle containing the solution into the water bath and allowing it to reach 60°C.
- Using proper sampling technique, obtain a representative sample and grind it to a very fine particle size.
- Transfer 5 g of sample or 5 mL of liquid sample into a disposable extraction bottle.
 - Add 5 g of extraction additive, only when testing samples containing tannins or polyphenols (e.g. chocolate, wine, cocoa, etc.)
- Pour 100 mL of the 60°C (140°F) extraction solution to the sample bottle.
- Cap the sample bottle to prevent contents from splashing during the extraction.
- Vortex the sample bottle on high for 30 seconds.
- Extract by shaking (150 rpm) in a water bath at 60°C (140°F) for 15 minutes. Remove the bottle from the bath.
- Let material settle for 5 minutes to enable some of the sample to settle before proceeding to the next step.
- Filter the extract by pouring at least 5 mL through a Whatman #4 filter and collecting the filtrate as a sample. Alternative: Centrifuge at 14,000 rpm for 5 minutes (20 minutes for lower speeds). Use the clear supernatant as a sample.
- Allow extracts to cool to room temperature before beginning analysis.
- Discard extracts after completion of analysis.

Test Procedure for Quantitation

Allow the test kit and all reagents to warm to room temperature 18–30°C (64–86°F) before using.

- Remove 1 red-marked mixing well for each sample to be tested plus 6 red-marked wells for controls, and place in the well holder.
- 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 the strip with a 1, and place strip in the well holder with the marked end on the left.
- Mix each reagent by swirling the reagent bottle before use.
- Using a new pipette tip for each, transfer 150 µL of controls and sample extracts to the red-marked transfer wells as shown in the template below. Only run up to 2, 12-well strips at a time.

0	0.25	0.625	1.25	2.5	5	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Strip 1
S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	Strip 2
- Place new tips on the 12-channel pipettor and transfer 100 µL of the controls and sample extracts to the antibody-coated wells. Mix for 20 seconds by sliding the well holder back and forth on a flat surface.
- Incubate microwells 10 minutes at room temperature 18–30°C (64–86°F). Discard the red-marked transfer wells.

7. Empty the contents of the wells into a sink. Tap 2–3 times onto a clean paper towel to blot dry. With a wash bottle fill each antibody well with the washing solution and dump out. Repeat the washing 5 times, then turn the wells upside down and tap out on a paper towel until the remaining washing solution is removed.
8. Prepare working conjugate as described in the Procedural Notes. Pour the needed volume of working conjugate into a clean reagent boat.
9. Using the 12-channel pipettor and new tips, transfer 100 μ L of the working conjugate into all the wells and mix for 20 seconds by sliding the well holder back and forth on a flat surface.
10. Incubate for 10 minutes at room temperature 18–30°C (64–86°F).
11. Wash all wells with the wash buffer solution as described in step 7.
12. Pour the needed volume of substrate solution from the green-labeled bottle into a clean reagent boat.
13. Place new tips on the 12-channel pipettor and transfer 100 μ L of substrate into each well and mix for 20 seconds. Do not eject tips.
14. Incubate for 10 minutes at room temperature 18–30°C (64–86°F).
15. Pour the needed volume of Red Stop Solution from the red-labeled bottle into a clean reagent boat.
16. With the same tips used to dispense the substrate, transfer 100 μ L of Red Stop Solution into each well and mix for 20 seconds.
17. Wipe the bottom of the microwells with a dry cloth or towel and remove air bubbles. Read in a Stat-Fax 4700 microwell reader with a 650 nm filter. Results should be read within 20 minutes after the addition of Red Stop Solution.
18. Interpret the test results using the microwell reader. If using a different reader, calculate the results using NEOGEN's Veratox for Windows software.

Test Procedure for Screening

Allow the test kit and all reagents to warm to room temperature 18–30°C (64–86°F) before using.

1. Remove 1 well for each sample to be tested plus 1 well for the control, and place into the well holder.
2. Choose 1 yellow-labeled control bottle to serve as the screening level for the test. The 1.25 ppm control is recommended.
3. Mix each reagent by swirling its bottle prior to use.
4. Add 100 μ L from the yellow-labeled control bottle to the first well. Add 100 μ L from each sample extract to a respective well as indicated in the template below. For environmental swabs, add 3 drops from swab tube with dropper tip. Mix for 20 seconds by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface.

Control	S1	S2	S3	S4	S5
---------	----	----	----	----	----
5. Incubate microwells for 10 minutes at room temperature 18–30°C (64–86°F).
6. Shake out the contents of the wells. Using a wash bottle filled with washing solution, fill each well and shake out. Repeat 5 times. Remove excess washing solution by turning wells upside down and vigorously tapping wells on absorbent towel.
7. Add 100 μ L of working conjugate to each well. Mix for 20 seconds by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface.
8. Incubate for 10 minutes at room temperature 18–30°C (64–86°F).
9. Shake out the contents of the wells. Using a wash bottle filled with washing solution, fill each well and shake out. Repeat 5 times. Remove excess washing solution by turning wells upside down and vigorously tapping wells on absorbent towel.
10. Add 100 μ L from the green-labeled substrate bottle to each well. Mix for 20 seconds by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface.
11. Incubate for 10 minutes at room temperature 18–30°C (64–86°F).
12. Add 100 μ L from the red-labeled red stop bottle to each well. Mix for 20 seconds by sliding the microwell holder back and forth on a flat surface. The results are now ready to be interpreted.

13. Visually compare the color of a sample well to the color of the control well. If the sample well has more blue color than the control well, the sample tests positive for peanut contamination of more than the control used. If the sample well has less blue color, or more red color, than the control well, the sample contains less than the control used of peanut contamination.

Alternative: Read wells (wipe bottom of wells first) in a microwell reader with a 650 nm filter. If the sample well has an OD higher than the control well, the sample is positive for peanut contamination of more than the control used. If the sample well has an OD lower than the control well, the sample contains less than the control used of peanut contamination.

Performance Characteristics

Limit of quantitation: 0.25 ppm peanut protein/1 ppm total peanut — see conversion chart in appendix B. Limit of quantitation is the lowest concentration point on the calibration curve that this test can reliably detect peanut protein.

Range of quantitation: 0.25–5 ppm peanut protein/1–20 ppm total peanut — see conversion chart in appendix B. For quantitating samples above 20 ppm, contact a NEOGEN representative for dilution instructions.

Allergen detection: This test detects peanut protein, and the results are expressed as ppm of peanut protein. To convert results to ppm total peanut, divide results by 0.25, as shown in appendix B.

Cross-Reactivity: Cross-reacts with flax seed. No other cross-reactivity observed.

Appendix A: Unit Conversion

This test reports results in parts per million (ppm). This is equivalent to reporting in milligrams/kilogram (mg/kg).

Appendix B: Protein Conversion

Description	Result
Total Peanut	1–20 ppm
Peanut Protein	0.25–5 ppm
Conversion Factor*	25% protein content in peanut matrix

*Source USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 28, 16087. Peanut, all types, raw.

Customer Service

NEOGEN Customer and Technical Services can be contacted through NEOGEN.com and product training is available by request.

SDS Information Available

Safety data sheets are available for all test kits at NEOGEN.com or by calling 800.234.5333 or 517.372.9200.

Terms and Conditions

NEOGEN's full terms and conditions are available [online](#).

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. 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.

NEOGEN.com

*Producto Número:
8430M*

 **Veratox[®]**
VIP para Maní

Veratox[®] VIP para Maní

Producto Número: 8430M

Alérgenos de maní

Los alérgenos alimentarios son proteínas en los alimentos que pueden desencadenar una respuesta inmune en individuos sensibles. Una vez ingeridos, los alérgenos pueden causar diversas reacciones, desde urticaria y picazón hasta anafilaxia. La anafilaxia es una reacción alérgica grave que incluye vómitos, diarrea, dificultad para respirar, hinchazón de la boca y la lengua, y un rápido descenso de la presión arterial.

Se estima que solo en los Estados Unidos, más de 32 millones de personas (el 9 % de la población), de las cuales seis millones son menores de 18 años, padecen algún tipo de alergia alimentaria. La alergia al maní es una de las que se observan con mayor frecuencia. Los productores de alimentos protegen a las personas que padecen alergias alimentarias mediante el adecuado etiquetado de sus productos con una lista de ingredientes. Gracias a las pruebas para detectar la presencia de componentes del maní, los productores tienen la seguridad de que no haya quedado incorporado ningún ingrediente potencialmente peligroso sin etiquetar en un producto alimenticio.

Uso deseado

Veratox[®] VIP para maní está diseñado para realizar el análisis cuantitativo de niveles muy bajos de proteína de maní cruda y procesada en productos alimenticios, ingredientes y sistemas de limpieza in situ (CIP). Con esta prueba, también se puede realizar el análisis cualitativo de hisopados ambientales.

Usuario previsto

Este kit de prueba está diseñado para que lo use el personal de control de calidad y otras personas familiarizadas con alimentos posiblemente contaminados por maní o productos de maní. Debido a que la técnica es muy importante, los operadores deben realizar una capacitación dirigida por un representante de NEOGEN[®] o alguien que haya completado con éxito dicha capacitación.

Principios del ensayo

La prueba Veratox VIP para maní es un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo sándwich. Este análisis está aprobado para detectar, al menos, tres proteínas alérgicas primarias presentes en el maní (Ara h 1, Ara h 2 y Ara h 3). La proteína de maní se extrae de las muestras con una solución salina tamponada con fosfato (PBS) en un baño de agua caliente con agitación, seguido de centrifugación o filtración. Se toma una muestra de la proteína de maní extraída y se la coloca en pocillos revestidos con anticuerpos (anticuerpo de captura), donde se une al anticuerpo durante la incubación. Se lava para eliminar toda la proteína que no se haya unido y se agrega un segundo anticuerpo (anticuerpo detector), que está marcado con una enzima. El anticuerpo detector se une a la proteína de maní ya unida. Después de un segundo lavado, se agrega el sustrato. Como resultado de la presencia del anticuerpo detector unido, el líquido toma color. Se agrega el reactivo Red Stop y se observa el color de la solución resultante. La prueba se lee en un lector de micropocillos para obtener densidades ópticas. Las densidades ópticas de los controles forman una curva estándar, y las densidades ópticas de la muestra se trazan contra la curva para calcular la concentración exacta de proteína de maní.

Requisitos de almacenamiento

El kit de prueba se puede usar hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacena a una temperatura de entre 2 y 8 °C (35-46 °F). No se debe congelar.

NEOGEN.com

Materiales incluidos

1. 48 micropocillos recubiertos con anticuerpos
2. 48 pocillos de transferencia marcados con rojo
3. 6 frascos para control con etiquetas amarillas de 0, 0.25, 0.625, 1.25, 2.5 y 5 ppm de proteínas de maní (0, 1, 2.5, 5, 10 y 20 ppm de maní total)
4. 2 frascos con etiquetas azules de conjugado de anticuerpo marcado con enzima
5. 1 frasco con etiqueta verde de sustrato K-Blue®
6. 1 frasco con etiqueta roja de solución Red Stop
7. 5 sobres de papel aluminio con diluyente de extracción en polvo seco PBS de 10 mm: cada sobre es suficiente para preparar 1 l en agua destilada o desionizada (pH 7.4)
8. 40 ml de reactivo de lavado PBS-tween de 10 mm en frasco de boca ancha: cada frasco es suficiente para preparar 1 l en agua destilada o desionizada (pH 7.4)
9. 2 tubos de 100 µl de aditivo de conjugado para el reactivo A
10. 200 g de aditivo de extracción

Nota: Solo para usar con muestras que contienen niveles altos de polifenoles/taninos (p. ej., chocolate)

Materiales recomendados (no suministrados)

1. Kit de extracción de alérgenos (producto NEOGEN 8429)
 - a. 20 frascos plásticos desechables para extracción
 - b. 20 tubos para recolección de muestras (de 12 x 75 mm) con tapas
2. Baño de agua con agitación con capacidad para mantener 60 ± 1 °C, con abrazaderas para frascos de extracción de 250 ml (productos NEOGEN 9298, 9299)
3. Filtros Whatman n.º 4 o equivalentes (producto NEOGEN 9429)
4. Centrifugador (opcional)
5. Pipeteador regulable de 50 a 200 µl (producto NEOGEN 9276)
6. Pipeteador de 12 canales (producto NEOGEN 9273)
7. Puntas de pipeta (productos NEOGEN 9410, 9407, 9417)
8. Cronómetro (artículo NEOGEN 9426)
9. Lector de micropocillos Stat-Fax 4700 con filtro de 650 nm (producto NEOGEN 9303)
10. Frasco de 1 l para preparar solución de lavado (producto NEOGEN 9472)
11. Frasco de 1 l para preparar diluyente amortiguador de extracción (producto NEOGEN 9472)
12. Toallas de papel desechables o de un material absorbente equivalente
13. Gradilla para micropocillos (producto NEOGEN 9402)
14. Marcador impermeable
15. Piseta de lavado (artículo NEOGEN 9400)
16. Agua destilada o desionizada
17. 3 reservorios de reactivos para pipeteador de 12 canales (producto NEOGEN 9435)
18. Cilindro graduado con capacidad para 125 ml (producto NEOGEN 9368)
19. Balanza con capacidad para 5 ± 0.1 g (producto NEOGEN 9427)

Precauciones

Nota: Esta prueba tiene una alta sensibilidad a los residuos de maní. Se recomienda limpiar a fondo la mesa de trabajo y todos los instrumentos antes de realizar las pruebas. Para evitar la contaminación cruzada, asegúrese de que las puntas de pipeta y los envases de reactivos que usa para cada muestra estén limpios.

1. Los componentes de Veratox VIP para maní, como los controles y reactivos de extracción, pueden contener uno o más de los siguientes materiales potencialmente alergénicos: caseína, proteína de huevo, proteína de maní, proteína de soja o proteína de frutos secos. Si usted es alérgico a cualquiera de estos compuestos, tenga precaución al usar este producto.
2. Los aditivos, colores y sabores de los alimentos concentrados pueden causar interferencias con el método de prueba ELISA. Comuníquese con el servicio técnico de Neogen para obtener información actualizada de validación.
3. Es posible que no se detecten las proteínas hidrolizadas y fermentadas al usar los métodos ELISA para pruebas de alérgenos. Debido a la naturaleza de las proteínas, es posible que no sean detectadas en esta prueba, pero aún podría haber residuos de proteínas alergénicas activas.
4. No se deben usar esponjas para la recolección de muestras ni para la detección de alérgenos. Si usa hisopos que no sean de NEOGEN para recolectar las muestras, debe validarlos antes de usarlos. Las esponjas y los hisopos genéricos pueden contener soluciones o materiales que pueden interferir con el kit de prueba.
5. Almacene el kit a una temperatura de entre 2 y 8 °C (35-46 °F) cuando no lo utilice. No lo congele y evite su almacenamiento prolongado a temperatura ambiente.
6. Permita que todos los componentes del kit alcancen una temperatura ambiente de entre 18 y 30 °C (64-86 °F) antes de usarlo.
7. No use los componentes del kit después de su fecha de vencimiento.
8. No mezcle los reactivos de un kit con un número de serie con los reactivos de una serie diferente.
9. No use más de 24 pocillos por prueba.
10. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas (p. ej., cebar las puntas y usar puntas limpias).
11. Use solo los tiempos de incubación especificados. Otros tiempos pueden ofrecer resultados inexactos.
12. Use puntas de pipeta y cristalería limpias para cada muestra a fin de evitar la contaminación cruzada. Lave completamente toda la cristalería entre una muestra y la siguiente.

Notas de procedimiento

1. **Sustrato:** El sustrato K-Blue está listo para usar. El sustrato debe ser color transparente o azul claro: deséchelo si se ha vuelto azul oscuro. Vierta solo el volumen necesario dentro del reservorio para reactivos. No vuelva a colocar en el frasco el sustrato que no haya utilizado. Cubra el reservorio para mantener el sustrato protegido de la luz hasta que lo necesite.
2. **Reactivo A:** Esta solución se agrega al conjugado para preparar un conjugado de trabajo. Mezcle en un agitador tipo vórtex a velocidad alta entre 3 y 5 segundos antes de usarla.
3. **Conjugado de trabajo:** Para preparar la solución de conjugado de trabajo suficiente para 24 pocillos, agregue 50 µl de reactivo A a 5 ml de conjugado (1 frasco de conjugado contiene 5 ml, suficiente para 24 micropocillos). Si va a probar menos de 24 pocillos, prepare un conjugado de trabajo mezclando una parte de reactivo A con 100 partes de conjugado. Mezcle durante 10 minutos. Use la solución dentro de las ocho horas posteriores a su preparación. Nota: Cubra el reservorio para mantener el conjugado protegido de la luz y otros factores contaminantes. Deseche el conjugado de trabajo restante pasadas las ocho horas.
4. **Pocillos de anticuerpo:** Mantenga los pocillos sellados en el sobre de papel aluminio hasta que los necesite. Retírelos del sobre solo después de extraer las muestras y cuando vaya a comenzar el procedimiento de prueba.

5. Solución de lavado: Prepare la solución de lavado vertiendo todo el concentrado de la solución amortiguadora en un envase vacío de 1 l. Enjuague el frasco de concentrado con agua destilada o desionizada y vierta el contenido en el envase de 1 l para asegurarse de usar todo el concentrado. Llene el envase con más agua destilada o desionizada y revuelva para asegurar que quede bien mezclado. Cubra las porciones sin usar y refrigérelas a una temperatura de entre 2 y 8 °C (35-46 °F). Nota: Deseche las porciones restantes de solución de lavado.
6. Diluyente de la solución amortiguadora de extracción: Prepare el diluyente de la solución amortiguadora de extracción agregando un sobre de papel aluminio de solvente de extracción, PBS de 10 mm, a 1 l de agua destilada o desionizada. Revuelva para mezclar bien. Cubra las porciones sin usar y refrigérelas a una temperatura de entre 2 y 8 °C (35-46 °F).
7. Solución para la extracción de maní: La solución para la extracción de maní se prepara diluyendo diez veces la solución de lavado con el diluyente de la solución amortiguadora de extracción. Por ejemplo, para preparar 1 l de solución de extracción, agregue 100 ml de la solución de lavado preparada en 900 ml del diluyente de la solución amortiguadora de extracción. Revuelva para mezclar bien. Cubra las porciones sin usar y refrigérelas a una temperatura de entre 2 y 8 °C (35-46 °F). Cuando haya usado todo el kit de prueba, deseche las porciones sin usar de la solución de extracción y de la solución amortiguadora de lavado.

Preparación y extracción de la muestra

La recolección de la muestra que se va a analizar debe efectuarse de acuerdo con las técnicas de muestreo aceptadas (consulte el Manual de alérgenos alimentarios de NEOGEN). Se deberá triturar la muestra y mezclarla bien antes de continuar con el procedimiento de extracción.

1. Prepare la solución de extracción como se describe en las notas de procedimiento.
2. Precaliente la solución de extracción a 60 °C (140 °F) sumergiendo el frasco con la solución en el baño de agua hasta que alcance 60 °C.
3. Obtenga una muestra representativa mediante la técnica de muestreo correcta y tritúrela hasta obtener un tamaño de partícula muy fina.
4. Transfiera 5 g de muestra o 5 ml de muestra líquida a un frasco de extracción desechable.
 - a. Agregue 5 g de aditivo de extracción solo cuando analice muestras que contengan taninos o polifenoles (p. ej., chocolate, vino, cacao, etc.).
5. Vierta 100 ml de la solución de extracción a 60 °C (140 °F) en el frasco de la muestra.
6. Tape el frasco para evitar que el contenido salpique durante la extracción.
7. Agite el frasco a alta velocidad durante 30 segundos.
8. Extraiga por agitación (150 rpm) en un baño de agua a 60 °C (140 °F) durante 15 minutos. Retire el frasco del baño.
9. Permita que el material se asiente durante 5 minutos antes de continuar con el siguiente paso.
10. Filtre el extracto vertiendo, al menos, 5 ml a través de un filtro Whatman n.º 4 y recolecte el filtrado como muestra. Alternativa: Centrifugue a 14 000 rpm durante 5 minutos (20 minutos para velocidades más bajas). Use el sobrenadante transparente como muestra.
11. Permita que los extractos se enfríen a temperatura ambiente antes de comenzar el análisis.
12. Deseche los extractos después de terminar el análisis.

Procedimiento de la prueba de cuantificación

Permita que el kit de prueba y todos los reactivos alcancen una temperatura ambiente de 18 a 30 °C (64-86 °F) antes de usarlos.

1. Retire 1 pocillo de mezcla marcado con rojo para cada muestra que se debe analizar y 6 pocillos para control marcados con rojo, y colóquelos en la gradilla.
2. Retire la misma cantidad de pocillos recubiertos con anticuerpos. Ponga los pocillos sin usar en la bolsa de aluminio con desecante de inmediato. Vuelva a sellar la bolsa de aluminio para proteger el anticuerpo. Marque un extremo de la tira con un "1" y colóquela en la gradilla para pocillos con el extremo marcado a la izquierda.
3. Mezcle cada reactivo revolviendo el frasco antes de usarlo.
4. Con una punta de pipeta nueva para cada uno, transfiera 150 µl de controles y de extractos de muestra a los pocillos de transferencia marcados con rojo, como se muestra en la tabla a continuación. Use solo dos tiras de 12 pocillos a la vez.

0	0.25	0.625	1.25	2.5	5	M1	M2	M3	M4	M5	M6	Tira 1
M7	M8	M9	M10	M11	M12	M13	M14	M15	M16	M17	M18	Tira 2
5. Coloque puntas nuevas en el pipeteador de 12 canales y transfiera 100 µl de los controles y de extractos de muestras a los pocillos recubiertos con anticuerpos. Mezcle durante 20 segundos deslizando la gradilla hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana.
6. Incube los micropocillos durante 10 minutos a temperatura ambiente, entre 18 y 30 °C (64-86 °F). Deseche los pocillos de transferencia marcados con rojo.
7. Vacíe el contenido de los pocillos en un fregadero. Sacúdalos suavemente dos o tres veces sobre una toalla de papel limpia para secarlos. Con una piseta de lavado, llene bien cada pocillo con la solución de lavado y luego vacíelos. Repita el lavado cinco veces, luego voltee los pocillos y golpéelos ligeramente sobre una toalla de papel hasta eliminar toda la solución de lavado restante.
8. Prepare el conjugado de trabajo como se describe en las notas de procedimiento. Vierta el volumen necesario de conjugado de trabajo dentro de un reservorio limpio para reactivo.
9. Con un pipeteador de 12 canales y puntas nuevas, transfiera 100 µl del conjugado de trabajo a todos los pocillos y mezcle durante 20 segundos deslizando la gradilla hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana.
10. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, entre 18 y 30 °C (64-86 °F).
11. Lave todos los pocillos con la solución amortiguadora de lavado como se describe en el paso 7.
12. Vierta el volumen necesario de solución de sustrato del frasco con etiqueta verde en un reservorio limpio para reactivo.
13. Coloque puntas nuevas en el pipeteador de 12 canales, transfiera 100 µl de sustrato a cada pocillo y mezcle durante 20 segundos. No quite las puntas.
14. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, entre 18 y 30 °C (64-86 °F).
15. Vierta el volumen necesario de la solución Red Stop del frasco con etiqueta roja en un reservorio limpio para reactivo.
16. Con las mismas puntas que usó para dispensar el sustrato, transfiera 100 µl de la solución Red Stop a todos los pocillos y mezcle durante 20 segundos.
17. Limpie el fondo de los micropocillos con una toalla o un paño secos y retire las burbujas de aire. Realice la lectura en un lector de micropocillos Stat-Fax 4700 con filtro de 650 nm. Los resultados deben leerse dentro de los 20 minutos posteriores al agregado de la solución Red Stop.
18. Interprete los resultados de la prueba con un lector de micropocillos de NEOGEN. Si utiliza un lector diferente, calcule los resultados con el software Veratox para Windows de NEOGEN.

Procedimiento de la prueba de cribado

Permita que el kit de prueba y todos los reactivos alcancen una temperatura ambiente de 18 a 30 °C (64–86 °F) antes de usarlos.

1. Retire 1 pocillo para cada muestra que se debe analizar y 1 pocillo para el control y colóquelos en la gradilla para pocillos.
2. Escoja un frasco de control con etiqueta amarilla para usarlo como nivel de detección para la prueba. Se recomienda el control de 1.25 ppm.
3. Mezcle cada reactivo revolviendo el frasco antes de usarlo.
4. Agregue 100 µl del control en el frasco con etiqueta amarilla en el primer pocillo. Agregue 100 µl de cada extracto de muestra en el pocillo respectivo, como se muestra en la tabla a continuación. Para hisopados ambientales, agregue 3 gotas del tubo de hisopado con un gotero. Mezcle durante 20 segundos deslizando la gradilla hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana.

Control	M1	M2	M3	M4	M5
---------	----	----	----	----	----
5. Incube los micropocillos durante 10 minutos a temperatura ambiente, entre 18 y 30 °C (64-86 °F).
6. Elimine el contenido de los pocillos. Con una piseta de lavado, llene bien cada pocillo con la solución de lavado y luego sacúdalos bien hasta vaciarlos por completo. Repita el procedimiento cinco veces. Para retirar el exceso de solución de lavado, voltee los pocillos y golpéelos con fuerza sobre una toalla de papel.
7. Agregue 100 µl del conjugado de trabajo en cada pocillo. Mezcle durante 20 segundos deslizando la gradilla hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana.
8. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, entre 18 y 30 °C (64-86 °F).
9. Elimine el contenido de los pocillos. Con una piseta de lavado, llene bien cada pocillo con la solución de lavado y luego sacúdalos bien hasta vaciarlos por completo. Repita el procedimiento cinco veces. Para retirar el exceso de solución de lavado, voltee los pocillos y golpéelos con fuerza sobre una toalla de papel.
10. Agregue 100 µl del sustrato en el frasco con etiqueta verde en cada pocillo. Mezcle durante 20 segundos deslizando la gradilla hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana.
11. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente, entre 18 y 30 °C (64-86 °F).
12. Agregue 100 µl de la solución Red Stop del frasco con etiqueta roja en cada pocillo. Mezcle durante 20 segundos deslizando la gradilla hacia atrás y hacia delante sobre una superficie plana. Ahora, podrá interpretar los resultados.
13. Compare visualmente el color de un pocillo de muestra con el color del pocillo de control. Si el pocillo de muestra tiene más color azul que el pocillo de control, el resultado de contaminación de maní de la muestra es positivo. Si el pocillo de muestra tiene menos color azul o más color rojo que el pocillo de control, la muestra contiene menos contaminación de maní que el control utilizado.

Alternativa: Limpie el fondo de los pocillos y luego realice la lectura en un lector de micropocillos con un filtro de 650 nm. Si el pocillo de muestra tiene una densidad óptica más alta que el pocillo de control, el resultado de la muestra es positivo, ya que la muestra contiene más contaminación de maní que el control utilizado. Si el pocillo de muestra tiene una densidad óptica más baja que el pocillo de control, la muestra contiene menos contaminación de maní que el control utilizado.

Características de desempeño

Límite de cuantificación: 0.25 ppm de proteína de maní / 1 ppm de maní total. Consulte la tabla de conversión en el apéndice B. El límite de cuantificación es el punto de concentración de alérgenos de maní más bajo en la curva de calibración que esta prueba puede detectar con seguridad.

Margen de cuantificación: 0.25-5 ppm de proteína de maní / 1-20 ppm de maní total. Consulte la tabla de conversión en el apéndice B. Para cuantificar muestras superiores a 20 ppm, comuníquese con un representante de NEOGEN con el fin de obtener instrucciones de dilución.

Detección de alérgenos: Esta prueba detecta proteína de maní y los resultados se expresan en ppm de proteína de maní. Para convertir los resultados a ppm de maní total, divida los resultados por 0.25, como se muestra en el apéndice B.

Reactividad cruzada: Tiene reactividad cruzada con la linaza. No se ha observado ninguna otra reactividad cruzada.

Apéndice A: Conversión de unidades

En esta prueba, se informan los resultados en partes por millón (ppm). Esto equivale a informar en miligramos/kilogramo (mg/kg).

Apéndice B: Conversión de proteínas

Descripción	Resultado
Maní total	1-20 ppm
Proteína de maní	0.25-5 ppm
Factor de conversión*	Contenido de proteínas del 25 % en la matriz del maní

* Fuente: base de datos nacional de nutrientes para referencia estándar del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), versión 28, 16087. Maní, todos los tipos, crudo.

Servicio al cliente

Se puede contactar al servicio técnico y de atención al cliente de NEOGEN a través de NEOGEN.com. La capacitación del producto está disponible mediante solicitud.

Información sobre fichas de datos de seguridad disponible

Las fichas de datos de seguridad están disponibles para todos los kits de prueba en NEOGEN.com o por teléfono al 800.234.5333 o 517.372.9200.

Términos y condiciones

Los términos y condiciones completos de NEOGEN están disponibles en [línea](#).

Garantía

NEOGEN no otorga garantías de ningún tipo, ya sean expresas o implícitas, excepto el hecho de que los materiales de sus productos están fabricados con calidad estándar. Si hay materiales defectuosos, NEOGEN reemplazará el producto. El comprador asume todos los riesgos y responsabilidades que surjan del uso de este producto. No existe garantía de comercialización de este producto o de la aptitud de este producto para cualquier objetivo. NEOGEN no será responsable por los daños de ningún tipo, incluidos daños especiales o mediatos, o gastos que surjan directa o indirectamente del uso de este producto.

NEOGEN.com