

**U.S. English**

SKU #: 700002564

REF #: 8420

 **Veratox**<sup>®</sup>  
*for Hazelnut Allergen*  
*Quantitative Test*

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

# Veratox<sup>®</sup> for Hazelnut Allergen

SKU #: 700002564 | REF #: 8420

## Hazelnut 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.

An estimated 3.5% to 4% of adults, and 6% to 8% of children are sensitive in some degree to food allergens. More than 12 million people in the United States alone are known to have a food allergy.

Food manufacturers protect those with food allergies by clearly labeling their products with a list of ingredients. Testing for the presence of hazelnut components can play an important role in allergen control plans and can help detect presence of unintended allergens in food products.

## Intended Use

Veratox for Hazelnut Allergen is intended for the quantitative analysis of hazelnut protein residues in food products, ingredients, and clean-in-place (CIP) rinses. Qualitative analysis of environmental swabs is also available.

The Neogen<sup>®</sup> Veratox Kit for Hazelnut Allergen is intended for use in the food and beverage industry by trained personnel. Neogen has not documented the use of this product in industries other than food or beverage. For example, Neogen has not documented this kit for testing pharmaceutical, cosmetic, clinical, or veterinary samples. The Neogen Veratox Kit for Hazelnut Allergen has not been evaluated with all possible food products, food processes, and testing protocols.

## Intended User

This test kit is designed for use by quality control personnel and others familiar with foods possibly contaminated by hazelnuts or hazelnut 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 for Hazelnut Allergen test is a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (S-ELISA). Hazelnut protein is extracted from samples with a phosphate buffered salt (PBS) solution by shaking in a heated water bath, followed by centrifugation or filtration. Extracted hazelnut protein is sampled and added to antibody-coated wells (capture antibody) where it binds to the antibody during an incubation. Any unbound hazelnut protein is washed away and a second antibody (detector antibody), which is enzyme labeled, is added. The detector antibody binds to the already bound hazelnut protein. After a second wash, substrate is added. Color develops as a result of the presence of bound detector antibody. Red Stop reagent is added and the color of the resulting solution is observed. The test is read in a microwell reader to yield optical densities. The optical densities of the controls form a standard curve, and the sample optical densities are plotted against the curve to calculate the concentration of hazelnut expressed as parts per million (ppm) of hazelnut.

## 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. 5 yellow-labeled bottles of 0, 2.5, 5, 10, and 25 ppm hazelnut controls
4. 2 blue-labeled bottles of enzyme-labeled antibody conjugate
5. 1 green-labeled bottle of K-Blue<sup>®</sup> Substrate
6. 1 red-labeled bottle of Red Stop solution

- 5 foil pouches of 10 mM PBS dry powder extraction solvent. Each pouch is enough to prepare 1 L in distilled or deionized water (pH 7.4)
- 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)
- 50 g of extraction additive in a specimen cup
- Plastic scoop to measure extraction additive

### **Materials Required, Not Provided**

- Extraction kit (Neogen item 8429)
  - 20 disposable plastic extraction bottles
  - 20 sample collection tubes (12 x 75 mm) with caps
- Allergen environmental swabbing kit (Neogen item 8432S)
  - 100 sterile swabs
  - 100 dropper tips
- Shaker water bath capable of maintaining  $60 \pm 1^\circ\text{C}$  with holders for 250 mL disposable plastic bottles (Neogen items 9298, 9299)
- Whatman No. 4 filters or equivalent (Neogen item 9429)
- Centrifuge (optional)
- Pipettor, 50–200  $\mu\text{L}$ , adjustable (Neogen item 9276)
- Pipettor, 12-channel (Neogen item 9273)
- Pipette tips (Neogen item 9410, 9407, 9417)
- Timer (Neogen items 9426, 9452)
- Microwell reader with a 650 nm filter (Neogen item 9303)
- 1 L bottle to prepare washing solution (Neogen item 9472)
- 1 L heat safe bottle to prepare extract solution (Neogen item 9472)
- Paper towels or equivalent absorbent material
- Microwell holder (Neogen item 9402)
- Waterproof marker
- Wash bottle (Neogen item 9400)
- Distilled or deionized water
- 3 reagent boats for 12-channel pipettor (Neogen item 9435)
- Graduated cylinder capable of measuring 125 mL (Neogen item 9368)
- Scale capable of weighing  $5 \pm 0.1$  g (Neogen item 9427)

### **Precautions**

- Components of Veratox for Hazelnut Allergen, such as controls and extraction reagents, may contain one or more of the following potentially allergenic materials: casein, egg protein, peanut protein, soy protein, or tree nut protein. If allergic to any of these compounds, please use caution when handling this product.
- Concentrated food additives, colors, and flavors may cause interferences on ELISA test methods. Contact Neogen's Technical Services for validation information.
- Hydrolyzed and fermented proteins may not be detected using ELISA methods for allergen testing. Due to the breakdown of proteins to small peptides or amino acids, they may become undetectable by this assay, but still could be allergenic and cause an allergic reaction.
- Sponges should not be used to collect samples for 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.
- Store test kit between  $2\text{--}8^\circ\text{C}$  ( $35\text{--}46^\circ\text{F}$ ) when not in use. Do not freeze test kits.
- Do not use kit components beyond expiration date.
- Do not mix reagents from one kit serial with reagents from a different kit serial.
- Do not run more than 24 wells per test.

9. Follow proper pipetting techniques (e.g., prime tips and use clean tips).
10. Use only incubation times specified. Others may give inaccurate results.
11. Bring kits to room temperature 18–30°C (64–86°F) prior to use.
12. Avoid prolonged storage of kits at ambient temperatures.
13. Use clean pipette tips and glassware for each sample to avoid cross-contamination. Thoroughly wash all glassware between samples.

## User Responsibility

Users are responsible for familiarizing themselves with product instructions and information. Visit our website at [neogen.com](http://neogen.com) or contact your local Neogen representative or distributor for more information. As with all test methods used for food analysis, the test matrix can influence the results. When selecting a test method, it is important to recognize that external factors such as sampling methods, testing protocols, sample preparation, handling, and laboratory technique may influence results. The food sample itself may influence results. It is the user's responsibility in selecting any test method or product to evaluate a sufficient number of samples to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria. It is also the user's responsibility to determine that any test methods and results meet its customers' and suppliers' requirements. As with any test method, results obtained from use of any Neogen product do not constitute a guarantee of the quality of the matrices or processes tested.

## Procedural Notes

1. **Substrate**  
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. **Conjugate**  
The conjugate supplied with this kit is ready to use. One bottle is enough for 24 wells. Cover the reagent boat to keep the conjugate protected from direct light and contaminants.
3. **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.
4. **Extraction Solution**  
Prepare extraction solution 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).
5. **Wash Buffer**  
Prepare the wash buffer 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 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.

1. Prepare the extraction solution as described in the procedural notes.
2. Preheat 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.
3. Using your sampling and collection procedure, obtain a representative sample and grind it to a very fine particle size.
4. Transfer 5 g of sample or 5 mL of liquid sample into a 250 mL disposable plastic bottle.
5. Add one level scoop of the extraction additive to the sample bottle.
6. Pour 125 mL of the 60°C (140°F) extraction solution to the sample plastic bottle.
7. Cap the bottle to prevent contents from splashing during the extraction.
8. Extract by shaking (150 rpm) in a water bath at 60°C (140°F) for 15 minutes. Remove the bottle from the bath.

9. If a solid food product was extracted, allow 5 minutes for the sample to settle prior to filtration in step 10.
10. Filter the extract by pouring at least 5 mL through a Whatman No. 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.
11. Allow extracts to cool to room temperature before beginning analysis.
12. Discard extracts after completion of analysis.

### Environmental Swabbing Preparation and Extraction

1. Prepare the extraction solution as described in the procedural notes.
2. Prepare a working solution by combining 125 mL of the extraction solution to a separate container, and add one level scoop of extraction additive to a container. Prepare a fresh working solution daily.  
**Note:** Prepare 125 mL of working solution for every 25 environmental swabs to be tested.
3. Preheat the working solution to 60°C (140°F). Shake container to dissolve additive.
4. Gather the sample with a swab, using one of the following methods:  
**For dry surfaces:** Open a new swab and wet with extraction solution. Swab a 10 x 10 cm area by using a crosshatch technique. Do not use working solution to moisten swabs.  
**For wet surfaces:** Open a new swab and swab a 10 x 10 cm area by using a crosshatch technique. Do not moisten swab prior to use.
5. Return the swab to its original tube once sampling is complete. Remember to label each tube.
6. Remove the swab from its tube, and add 5 mL of working solution at 60°C to the tube. Mix by placing the swab back into the tube and shaking for 2 minutes by hand (inverting tube), or for 30 seconds with a vortex mixer.
7. Remove the swab from its tube.
8. Place a new sample dropper tip onto the tube. The solution in the tube now serves as the sample.  
**Note:** Use caution when inverting the tube, as some liquid may drip.

### Test Procedure for Quantitation

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

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 the strip with a "1", and place strip in the well holder with the marked end on the left.
3. Mix each reagent by swirling the reagent bottle prior to use.
4. Using a new pipette tip for each, transfer 150 µL of controls and sample extracts to the redmarked transfer wells as shown in the template below. Only run up to two 12-well strips at a time.

|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |         |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------|
| 0  | 2.5 | 5   | 10  | 25  | S1  | S2  | S3  | S4  | S5  | S6  | S7  | Strip 1 |
| S8 | S9  | S10 | S11 | S12 | S13 | S14 | S15 | S16 | S17 | S18 | S19 | Strip 2 |

5. Place 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.
6. Incubate microwells 10 minutes at room temperature 18–30°C (64–86°F). Discard the redmarked transfer wells.
7. Empty the contents of the wells into a sink. With a wash bottle fill each antibody well with the wash buffer 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. Pour the needed volume of conjugate from the blue-labeled bottle into a clean reagent boat.
9. Using the 12-channel pipettor and new tips, transfer 100 µL of the 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  $\mu$ 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  $\mu$ L of Red Stop into each well and mix for 20 seconds.
17. Wipe the bottom of the microwells and read in a 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's results using Neogen's Stat-Fax microwell reader, or an equivalent strip reader. If using a strip reader, calculate the results using Neogen's Veratox 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 one yellow-labeled control bottle to serve as your screening level for the test. 5 ppm is recommended.
3. Mix each reagent by swirling its bottle prior to use.
4. Add 100  $\mu$ L from the yellow-labeled control bottle to the first well. Add 100  $\mu$ 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 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 wash buffer solution, fill each well and shake out. Repeat 5 times. Remove excess wash buffer by turning wells upside down and vigorously tapping wells on absorbent towel.
7. Add 100  $\mu$ L from the blue-labeled conjugate bottle 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 wash buffer solution, fill each well and shake out. Repeat 5 times. Remove excess wash buffer by turning wells upside down and vigorously tapping wells on absorbent towel.
10. Add 100  $\mu$ 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  $\mu$ 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 hazelnut 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 hazelnut contamination.

**Alternative:** Read wells (wipe bottom of wells first) in a microwell reader with a 650 nm filter. If the sample well has an optical density (OD) higher than the control well, the sample is positive for hazelnut 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 hazelnut contamination.

## Performance Characteristics

Limit of quantitation: 2.5 ppm total hazelnut (described as the lowest concentration point on the calibration curve that this test can reliably detect hazelnut allergen).

Range of quantitation: 2.5–25 ppm total hazelnut (for quantitating samples above 25 ppm, contact a Neogen representative for dilution instructions).

Allergen detection: This test detects hazelnut protein, and the results are expressed as ppm of total hazelnut.

Cross reactivity: Cross-reacts with pecan and walnut. Please see Veratox for Hazelnut validation report for additional information.

Protein conversion: Test kit results are expressed as total hazelnut. To express results as protein, multiply the hazelnut result by 0.15 (e.g., 2.5 ppm total hazelnut x 0.15 = 0.375 ppm hazelnut protein). \*On average, hazelnut contains 15% protein.

\*Source: USDA National Nutrient Database for Standard Reference Release 28, #12120 — Nuts, hazelnut, or filberts.

## Customer Service

Neogen Customer and Technical Services can be contacted through [neogen.com](http://neogen.com) and product training is available by request.

## Safety Data Sheets (SDS) Information Available

SDS are available for all test kits at [neogen.com](http://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](http://neogen.com)

N.º de SKU: 700002564

N.º de REF.: 8420

 **Veratox**<sup>®</sup>

*para el alérgeno de la avellana*

*Prueba cuantitativa*

Refrigerar a 2-8 °C (35-46 °F). No se debe congelar.



# Veratox<sup>®</sup> para el alérgeno de la avellana

N.º de SKU: 700002564 | N.º de REF.: 8420

## Alérgeno de la avellana

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 calcula que entre el 3,5 % y el 4 % de los adultos y entre el 6 % y el 8 % de los niños son sensibles en algún grado a los alérgenos alimentarios. Se sabe que más de 12 millones de personas solo en los Estados Unidos tienen una alergia alimentaria.

Los productores de alimentos protegen a las personas que padecen alergias alimentarias mediante el adecuado etiquetado de sus productos con una lista de ingredientes. Las pruebas para detectar la presencia de componentes de avellana pueden desempeñar un papel importante en los planes de control de alérgenos y pueden ayudar a detectar la presencia de alérgenos no deseados en los productos alimenticios.

## Uso previsto

Veratox para el alérgeno de la avellana está diseñado para realizar el análisis cuantitativo de residuos de la proteína de la avellana en productos alimenticios, ingredientes y sistemas de limpieza in situ (CIP). También se puede realizar el análisis cualitativo de hisopados ambientales.

El kit Veratox de Neogen<sup>®</sup> para el alérgeno de la avellana está diseñado para ser utilizado en las industrias de alimentos y bebidas por parte de personal capacitado. Neogen no ha documentado el uso de este producto en otras industrias que no sean de alimentos o bebidas. Por ejemplo, Neogen no ha documentado este kit para analizar muestras farmacéuticas, cosméticas, clínicas o veterinarias. El kit Veratox de Neogen para el alérgeno de la avellana no se ha evaluado con todos los productos alimenticios, procesos alimentarios y protocolos de prueba posibles.

## Usuario previsto

Este kit de prueba está diseñado para que lo use personal de control de calidad y otras personas familiarizadas con alimentos posiblemente contaminados por avellanas o productos con avellanas. 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 para el alérgeno de la avellana es un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo sándwich. La proteína de la avellana 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 la avellana 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 la avellana 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 de avellana expresada en partes por millón (ppm) de avellana.

## 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.

## Materiales incluidos

1. 48 micropocillos recubiertos con anticuerpos
2. 48 pocillos de transferencia marcados con rojo

3. 5 frascos con etiqueta amarilla de controles de avellana de 0, 2,5, 5, 10 y 25 ppm
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 solvente 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. 50 g de aditivo de extracción en un recipiente para muestras
10. Cuchara de plástico para medir el aditivo de extracción

### **Materiales requeridos, no incluidos**

1. Kit de extracción (artículo 8429 de Neogen)
  - a. 20 frascos plásticos desechables para extracción
  - b. 20 tubos para recolección de muestras (de 12 x 75 mm) con tapas
2. Kit de hisopado para alérgenos ambientales (artículo 8432S de Neogen)
  - a. 100 hisopos estériles
  - b. 100 goteros
3. Baño de agua con agitación con capacidad para mantener  $60 \pm 1$  °C, con gradillas para frascos de plástico desechables de 250 ml (productos Neogen 9298, 9299)
4. Filtros Whatman n.º 4 o equivalentes (artículo 9429 de Neogen)
5. Centrifugador (opcional)
6. Pipeteador regulable de 50 a 200 µl (producto Neogen 9276)
7. Pipeteador de 12 canales (artículo 9273 de Neogen)
8. Puntas de pipeta (artículo 9410, 9407, 9417 de Neogen)
9. Temporizador (artículos 9426 y 9452 de Neogen)
10. Lector de micropocillos con filtro de 650 nm (artículo 9303 de Neogen)
11. Frasco de 1 l para preparar solución de lavado (artículo 9472 de Neogen)
12. Frasco resistente al calor de 1 l para preparar solución de extracción (artículo 9472 de Neogen)
13. Toallas de papel desechables o de un material absorbente equivalente
14. Gradilla para micropocillos (artículo 9402 de Neogen)
15. Marcador impermeable
16. Piseta de lavado (artículo 9400 de Neogen)
17. Agua destilada o desionizada
18. 3 reservorios de reactivos para pipeteador de 12 canales (artículo 9435 de Neogen)
19. Cilindro graduado con capacidad para 125 ml (artículo 9368 de Neogen)
20. Balanza con capacidad de  $5 \pm 0.1$  g (artículo 9427 de Neogen)

### **Precauciones**

1. Los componentes de Veratox para el alérgeno de la avellana, 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 manipular 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 descomposición de las proteínas en pequeños péptidos o aminoácidos, es posible que esta prueba no logre su detección, pero aún podrían ser alergénicas y provocar una reacción alérgica.
4. No se deben usar esponjas para la recolección de muestras 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 se deben congelar los kits de prueba.

6. No use los componentes del kit que hayan pasado de su fecha de vencimiento.
7. No mezcle los reactivos de un kit con un número de serie con los reactivos de una serie diferente.
8. No use más de 24 pocillos por prueba.
9. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas (p. ej., cebar las puntas y usar puntas limpias).
10. Use solo los tiempos de incubación especificados. Otros tiempos pueden ofrecer resultados inexactos.
11. Permita que todos los componentes del kit alcancen una temperatura ambiente de entre 18 y 30 °C (64-86 °F) antes de usarlos.
12. Evite el almacenamiento prolongado de los kits a temperatura ambiente.
13. 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.

## Responsabilidad del usuario

Los usuarios son responsables de familiarizarse con las instrucciones y la información del producto. Visite nuestro sitio web en [neogen.com](http://neogen.com) o póngase en contacto con su representante o distribuidor local de Neogen para obtener más información. Al igual que con todos los métodos de prueba utilizados para el análisis de alimentos, la matriz de prueba puede influir en los resultados. Al seleccionar un método de prueba, es importante reconocer que hay factores externos como los métodos de muestreo, los protocolos de prueba, la preparación de muestras, el manejo y la técnica de laboratorio que pueden influir en los resultados. La misma muestra de alimento puede influir en los resultados. Es responsabilidad del usuario, al seleccionar cualquier método de prueba o producto, evaluar un número suficiente de muestras para satisfacerlo de que el método de prueba elegido cumple con sus criterios. También es responsabilidad del usuario determinar que los métodos y resultados de las pruebas cumplen con los requisitos de sus clientes y proveedores. Al igual que con cualquier método de prueba, los resultados obtenidos del uso de cualquier producto de Neogen no constituyen una garantía de la calidad de las matrices o procesos probados.

## Notas de procedimiento

1. **Sustrato**  
El sustrato 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. **Conjugado**  
El conjugado que se proporciona con este kit viene listo para usar. Un frasco alcanza para 24 pocillos. Cubra el reservorio para mantener el conjugado protegido de la luz directa y otros factores contaminantes.
3. **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.
4. **Solución de extracción**  
Prepare la solución 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).
5. **Solución amortiguadora de lavado**  
Prepare la solución amortiguadora 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 de 1 L 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:** 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. Mediante su procedimiento de muestreo y extracción, obtenga una muestra representativa 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 plástico desechable de 250 ml.
5. Agregue una cucharada rasa del aditivo de extracción al frasco de la muestra.
6. Vierta 125 ml de la solución de extracción a 60 °C (140 °F) en el frasco de plástico de la muestra.
7. Tape el frasco para evitar que el contenido salpique durante la extracción.
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. Si se extrajo un producto alimenticio sólido, espere 5 minutos para que la muestra se asiente antes de la filtración en el paso 10.
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.

### Preparación y extracción de hisopos ambientales

1. Prepare la solución de extracción como se describe en las notas de procedimiento.
2. Prepare una solución de trabajo combinando 125 ml de la solución de extracción en un recipiente separado y agregue una cucharada rasa de aditivo de extracción a un recipiente. Prepare una nueva solución de trabajo todos los días.  
**Nota:** Prepare 125 ml de solución de trabajo por cada 25 hisopos ambientales que se vayan a analizar.
3. Precaliente la solución de trabajo a 60 °C (140 °F). Agite el recipiente para disolver el aditivo.
4. Recoja la muestra con un hisopo, utilizando uno de los métodos siguientes:  
**Para superficies secas:** Abra un hisopo nuevo y humedezca con la solución de extracción. Frote un área de 10 x 10 cm utilizando una técnica de rayado cruzado. No use solución de trabajo para humedecer los hisopos.  
**Para superficies húmedas:** Abra un hisopo nuevo y frote un área de 10 x 10 cm utilizando una técnica de rayado cruzado. No lo humedezca antes de usarlo.
5. Vuelva a colocar el hisopo en su tubo original una vez que se complete la muestra. Recuerde etiquetar cada tubo.
6. Retire el hisopo de su tubo y agregue 5 ml de solución de trabajo a 60 °C al tubo. Mezcle colocando el hisopo nuevamente en el tubo y agitando durante 2 minutos a mano (invirtiendo el tubo) o durante 30 segundos con un mezclador de vórtice.
7. Retire el hisopo de su tubo.
8. Coloque un nuevo gotero de muestra en el tubo. La solución del tubo ahora sirve como muestra.  
**Nota:** Tenga cuidado al invertir el tubo, ya que puede gotear algo de líquido.

### 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 5 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 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 hasta dos tiras de 12 pocillos a la vez.

|    |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |        |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
| 0  | 2,5 | 5   | 10  | 25  | M1  | M2  | M3  | M4  | M5  | M6  | M7  | Tira 1 |
| M8 | M9  | M10 | M11 | M12 | M13 | M14 | M15 | M16 | M17 | M18 | M19 | Tira 2 |

5. Coloque puntas 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. Con una piseta de lavado, llene bien cada pocillo con la solución amortiguadora de lavado y luego vacíelos. Repita el lavado cinco veces, luego voltee los micropocillos y golpéelos ligeramente sobre una toalla de papel hasta eliminar toda la solución de lavado restante.
8. Vierta el volumen necesario del conjugado del frasco con etiqueta azul en un reservorio limpio para reactivo.
9. Con un pipeteador de 12 canales y puntas nuevas, transfiera 100 µl del conjugado en 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 y luego realice la lectura en un lector de micropocillos con un 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 el lector de micropocillos de Neogen o en un lector de tiras equivalente. Si utiliza un lector de tiras, calcule los resultados con nuestro software Veratox 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 recomiendan 5 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 amortiguadora de lavado y luego sacúdalos bien hasta vaciarlos por completo. Repita el procedimiento 5 veces. Para retirar el exceso de solución amortiguadora de lavado, voltee los pocillos y golpéelos con fuerza sobre una toalla de papel.
7. Agregue 100 µl del conjugado en el frasco con etiqueta azul 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 amortiguadora de lavado y luego sacúdalos bien hasta vaciarlos por completo. Repita el procedimiento 5 veces. Para retirar el exceso de solución amortiguadora 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 avellana 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 avellana 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 (OD) más alta que el pocillo de control, el resultado de la muestra es positivo, ya que la muestra contiene más contaminación de avellana 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 avellana que el control utilizado.

## Características de desempeño

Límite de cuantificación: 2,5 ppm de avellana total (descrito como el punto de concentración más bajo en la curva de calibración en el que esta prueba puede detectar avellana de manera fiable).

Margen de cuantificación: De 2,5 a 25 ppm de avellana total (para cuantificar muestras por encima de 25 ppm, comuníquese con un representante de Neogen para obtener instrucciones de dilución).

Detección de alérgenos: Esta prueba detecta proteína de la avellana y los resultados se expresan en ppm de avellana total.

Reactividad cruzada: Tiene reactividad cruzada con la nuez pecán y la nuez. Consulte el informe de validación de Veratox para la avellana para obtener más información.

Conversión de proteínas: Los resultados del kit de prueba se expresan como avellana total. Para expresar los resultados como proteína, multiplique el resultado de la avellana por 0,15 (p. ej., 2,5 ppm de avellana total x 0,15 = 0,375 ppm de proteína de la avellana). \*En promedio, la avellana contiene un 15 % de proteína.

\*Fuente: base de datos nacional de nutrientes para referencia estándar del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), versión 28, N.º 12120 - Nueces o avellanas.

## Servicio al cliente

Puede comunicarse con el servicio técnico y el servicio al cliente de Neogen en [neogen.com](http://neogen.com). También ofrecemos capacitación a pedido para nuestros productos.

## 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](http://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](http://neogen.com)