

U.S. English

Product Number:
8550

 **Veratox[®]**

VIP for Walnut

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

 **NEOGEN[®]**

Veratox[®] VIP for Walnut

Product Number: 8550

Walnut Allergen

Food allergens are proteins in food that can create an immune response in sensitive individuals. Adverse reactions vary and range 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. Food manufacturers protect those with food allergies by clearly labeling their products with a list of ingredients. Testing for the presence of walnut components ensures food manufacturers that an unlabeled — and potentially dangerous — ingredient did not make its way into a food product.

Intended Use

Veratox[®] VIP for Walnut is intended for the quantitative analysis of walnut protein in food products, food ingredients, and clean-in-place (CIP) rinses.

Intended User

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

Assay Principles

Veratox VIP for Walnut is a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (S-ELISA). Walnut residues are extracted from samples with a buffered salt solution, by shaking in a heated water bath, followed by centrifugation or filtration. Extracted walnut residue is sampled and added to capture antibody-coated wells where it binds to the antibody during an incubation. Any unbound walnut residue is washed away and a second detector antibody, which is enzyme labeled, is added. The detector antibody binds to the already bound walnut residue. After a second wash, the substrate is added. Color develops as a result of the presence of bound detector antibody. Red Stop solution 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 exact concentration of walnut residue.

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 or expose to temperatures exceeding 37°C for prolonged periods.

Materials Provided

1. 48 antibody-coated microwells
2. 48 red-marked transfer wells
3. 6 yellow-labeled bottles of 0, 0.15, 0.375, 0.75, 1.5, and 3.75 ppm walnut protein controls
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. One bottle of 20x allergen extraction buffer (AEB). Each bottle is enough to prepare 5 L of extraction solution 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. 200 g of extraction additive in a specimen cup

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. Allergen Environmental Swabbing Kit (Neogen item 8432S)
 - a. 100 sterile swabs
 - b. 100 dropper tips
3. Extraction additive for chocolate samples only (Neogen item 8551)
4. Shaker water bath capable of maintaining $60 \pm 1^\circ\text{C}$ with clamps to hold 250 mL disposable plastic bottles
5. Whatman #4 filters or equivalent (Neogen item 9429 optional)
6. Centrifuge
7. Pipettor, adjustable 50–200 μL (Neogen item 9276)
8. Pipettor, 12-channel (Neogen item 9273)
9. Pipette tips (Neogen item 9410, 9407, 9417)
10. Timer (Neogen item 9426)
11. Microwell reader with a 650 nm filter (Neogen item 9303)
12. 1 L bottle to prepare washing solution (Neogen item 9472)
13. 1 L heat safe bottle to prepare extract solution (Neogen item 9472)
14. Paper towels or equivalent absorbent material
15. Microwell holder (Neogen item 9402)
16. Waterproof marker
17. Wash bottle (Neogen item 9400)
18. Distilled or deionized water
19. 3 reagent boats for 12-channel pipettor (Neogen item 9435)
20. Graduated cylinder capable of measuring 125 mL (Neogen item 9368)
21. Scale capable of weighing 5 ± 0.1 g (Neogen item 9427)

Precautions

1. Components of Veratox VIP for Walnut, such as controls and extraction reagents, may contain one or more of the following potentially allergic materials: casein, whey protein, and walnut 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 breakdown of the proteins to small peptides or amino acids, they may become undetectable by this assay, but still could be allergenic and cause an allergic reaction.
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) prior to use.
7. Cool sample extracts to room temperature prior to testing.
8. Do not use kit components beyond expiration date.
9. Do not mix reagents from one kit serial with reagents from a different kit serial.
10. Do not run more than 24 wells per test when running the quantitative method.
11. When running the screening procedure, do not run more than 6 wells unless using a multichannel pipettor.
12. Follow proper pipetting techniques (e.g., prime tips and use clean tips).
13. Use only incubation times specified. Others may give inaccurate results.
14. 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 and contaminants.
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 one part of the 20x AEB into 19 parts of distilled/deionized water (pH 7.4) (e.g. to make 1 L of extraction solution, add 50 mL of 20x AEB into 950 mL of water). Swirl to mix thoroughly. Cover and store any unused portions refrigerated at 2–8°C (35–46°F).
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 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. For collecting and extracting environmental swabs, refer to the Allergen Environmental Swabbing Kit (Neogen item 8432S) instructions.

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 disposable extraction bottle.
5. Add one scoop of additive to the sample bottle. If testing a known chocolate sample, also add one scoop of the chocolate additive (Neogen item number 8551).
6. Pour 125 mL of the 60°C (140°F) extraction solution to the sample bottle.
7. Cap the sample bottle to prevent contents from splashing during the extraction. Mix or vortex until all components are in solution.
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. Let material settle for 5 minutes to enable some of the sample to settle before proceeding to the next step.
10. Centrifuge at 13,000 g for 5 minutes (20 minutes for lower speeds) using the clear supernatant as a sample.
Or
Filter the extract by pouring at least 5 mL through a Whatman #4 filter and collecting the filtrate as a sample.
11. Allow extracts to cool to room temperature before beginning analysis.
12. 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.

1. 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.
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 red-marked transfer wells as shown in the template below. Only run up to 2, 12-well strips at a time.

0	0.15	0.375	0.75	1.5	3.75	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Strip 1
S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S4	S15	S16	S17	S18	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 red-marked transfer wells.
7. Empty the contents of the wells into a sink. 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 all 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 washing 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 μL 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 μL of Red Stop Solution 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. Air bubbles should be eliminated, as they could affect analytical results. Results should be read within 10 minutes after the addition of Red Stop Solution.
18. Interpret the test's results using Neogen's microwell reader, or an equivalent strip reader. If using a different strip 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 the 0.75 ppm yellow-labeled control bottle to serve as the screening level for the test.
 3. Mix each reagent by swirling its bottle prior to use.
 4. Add 100 μL from the yellow-labeled control bottle to the first well. Add 100 μL from each sample extract to a respective well as indicated in the template below. For environmental swabs, add 3 drops from the swab tube with a 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 μL 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 washing solution, fill each well and shake out. Repeat 10 times. Remove excess washing solution by turning wells upside down and vigorously tapping wells on absorbent towel.
 10. Add 100 μL 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 μL 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 walnut 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 walnut contamination.

Alternative: Read wells (wipe the bottom of wells with a dry cloth or towel 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 walnut 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 walnut contamination.

Performance Characteristics

Limit of quantitation: 0.15 ppm walnut protein (see appendix B). Limit of quantitation is described as the lowest concentration point on the calibration curve that this test can reliably detect walnut.

Range of quantitation: 0.2–3.75 ppm walnut protein (see appendix B). For quantifying samples above 3.75 ppm, contact a Neogen representative for dilution instructions.

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

Cross-reactivity: None shown.

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 Walnut	1–25 ppm
Walnut Protein	0.15–3.75 ppm
Conversion Factor	15% Protein Content

*Based on protein content per USDA National Nutrient Database

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.

Producto Número:
8550

 **Veratox**[®]

VIP para nuez

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

Veratox[®] VIP para nuez

Número del producto: 8550

Alérgenos de la nuez

Los alérgenos alimentarios son proteínas en los alimentos que pueden desencadenar una respuesta inmune en individuos sensibles. Las reacciones adversas son variadas y pueden causar 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. 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 de la nuez, los productores tienen la seguridad de que no haya quedado incorporado ningún ingrediente potencialmente peligroso sin etiquetar en un producto alimenticio.

Uso previsto

Veratox[®] VIP para nuez está diseñado para realizar el análisis cuantitativo de la proteína de nuez en productos alimenticios, ingredientes alimenticios y sistemas de limpieza in situ (CIP).

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 nueces o productos con nueces. 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 nuez es un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo sándwich. Los residuos de la nuez se extraen de las muestras con una solución salina tamponada en un baño de agua caliente con agitación, seguido de centrifugación o filtración. Se toma una muestra del residuo de la nuez extraído y se lo coloca en pocillos revestidos con anticuerpos de captura, donde se une al anticuerpo durante la incubación. Se lava para eliminar todos los residuos de la nuez que no se hayan unido y se agrega un segundo anticuerpo detector, que está marcado con una enzima. El anticuerpo detector se une al residuo de la nuez ya unido. Después de un segundo lavado, se agrega el sustrato. Como resultado de la presencia del anticuerpo detector unido, el líquido toma color. Se agrega la solución 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 los residuos de la nuez.

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 ni exponer a temperaturas que excedan los 37 °C por períodos prolongados.

Materiales incluidos

1. 48 micropocillos recubiertos con anticuerpos
2. 48 pocillos de transferencia marcados con rojo
3. 6 frascos con etiqueta amarilla de controles de proteínas de nuez de 0, 0.15, 0.375, 0.75, 1.5 y 3.75 ppb
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. Un frasco de amortiguador de extracción de alérgenos 20x (AEB). Cada frasco es suficiente para preparar 5 l de solución de extracción 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. 200 g de aditivo de extracción en un recipiente para muestras

Materiales recomendados pero no suministrados

1. Kit de extracción de alérgenos (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. Aditivo de extracción solo para muestras de chocolate (artículo 8551 de Neogen)
4. Baño de agua con agitación con capacidad para mantener 60 ± 1 °C, con abrazaderas para frascos de plástico desechables de 250 ml
5. Filtros Whatman n.º 4 o equivalentes (artículo 9429 de Neogen, opcional)
6. Centrifugador
7. Pipeteador ajustable de 50 a 200 µl (artículo 9276 de Neogen)
8. Pipeteador de 12 canales (artículo 9273 de Neogen)
9. Puntas de pipeta (artículo 9410, 9407, 9417 de Neogen)
10. Cronómetro (artículo 9426 de Neogen)
11. Lector de micropocillos con filtro de 650 nm (artículo 9303 de Neogen)
12. Frasco de 1 l para preparar solución de lavado (artículo 9472 de Neogen)
13. Frasco resistente al calor de 1 l para preparar solución de extracción (artículo 9472 de Neogen)
14. Toallas de papel desechables o de un material absorbente equivalente
15. Gradilla para micropocillos (artículo 9402 de Neogen)
16. Marcador impermeable
17. Piseta de lavado (artículo 9400 de Neogen)
18. Agua destilada o desionizada
19. 3 reservorios de reactivos para pipeteador de 12 canales (artículo 9435 de Neogen)
20. Cilindro graduado con capacidad para 125 ml (artículo 9368 de Neogen)
21. Balanza con capacidad de 5 ± 0.1 g (artículo 9427 de Neogen)

Precauciones

1. Los componentes de Veratox VIP para nuez, como los controles y reactivos de extracción, pueden contener uno o más de los siguientes materiales potencialmente alergénicos: caseína, proteína de lactosuero y proteína de la nuez. 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 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 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 usarlos.
7. Deje que los extractos se enfríen a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.
8. No use los componentes del kit que hayan pasado de su fecha de vencimiento.
9. No mezcle los reactivos de un kit con un número de serie con los reactivos de una serie diferente.
10. No use más de 24 pocillos por prueba cuando utilice el método cuantitativo.
11. Cuando realice el procedimiento de cribado, no use más de 6 pocillos a menos que utilice un pipeteador multicanal.
12. Siga las técnicas de pipeteo apropiadas (p. ej., cebar las puntas y usar puntas limpias).
13. Use solo los tiempos de incubación especificados. Otros tiempos pueden ofrecer resultados inexactos.
14. 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 y de los factores contaminantes.
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 añadiendo una parte de AEB 20x en 19 partes de agua destilada/desionizada (pH 7.4) (p. ej., para preparar 1 l de solución de extracción, agregue 50 ml de AEB 20x en 950 ml de agua). 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 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 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. Para obtener y extraer hisopados ambientales, consulte las instrucciones del Kit de hisopado para alérgenos ambientales (artículo 8432S de Neogen).

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 extracción desechable.
5. Agregue una cuchara del aditivo al frasco de la muestra. Si la prueba se hace en un chocolate conocido, agregue además una cuchara de aditivo de chocolate (artículo número 8551 de Neogen).
6. Vierta 125 ml de la solución de extracción a 60 °C (140 °F) en el frasco de la muestra.
7. Tape el frasco para evitar que el contenido salpique durante la extracción. Mezcle o utilice un vórtice hasta que todos los componentes estén en la solución.
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. Centrifugue a 13 000 rpm durante 5 minutos (20 minutos para velocidades más bajas) usando el sobrenadante transparente como muestra.
O
Filtre el extracto vertiendo, al menos, 5 ml a través de un filtro Whatman n.º 4 y recolecte el filtrado 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	0.15	0.375	0.75	1.5	3.75	S1	S2	S3	S4	S5	S6	Tira 1
S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S4	S15	S16	S17	S18	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 de lavado y luego vacíelos. Repita el lavado 5 veces, luego voltee los micropocillos y golpéelos ligeramente sobre una toalla de papel hasta eliminar toda la solución de lavado.

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 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. Las burbujas de aire deben eliminarse, ya que podrían afectar los resultados analíticos. Los resultados deben leerse dentro de los 10 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 otro lector de tiras, calcule los resultados con el software Veratox® de Neogen para Windows.

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 el frasco de control de 0.75 ppm con etiqueta amarilla para usarlo como nivel de detección para la prueba.
 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 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 |
|---------|----|----|----|----|----|
|---------|----|----|----|----|----|
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 de lavado y luego sacúdalos bien hasta vaciarlos por completo. Repita el procedimiento 10 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 nuez 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 nuez que el control utilizado.

Alternativa: Lea los pocillos (limpie el fondo de los pocillos con una toalla o paño seco antes) 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 nuez 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 nuez que el control utilizado.

Características de desempeño

Límite de cuantificación: 0.15 ppm proteína de la nuez (consulte el apéndice B). El límite de cuantificación se describe como el punto de concentración más bajo en la curva de calibración en el que esta prueba puede detectar nueces de manera fiable.

Margen de cuantificación: 0.2–3.75 ppm proteína de la nuez (consulte el apéndice B). Para cuantificar muestras por encima de 3.75 ppb, comuníquese con un representante de Neogen para obtener instrucciones de dilución.

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

Reactividad cruzada: no se muestra ninguna.

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
Nuez total	1–25 ppm
Proteína de la nuez	0.15–3.75 ppm
Factor de conversión	Contenido de proteínas 15 %

*Basado en el contenido de proteína según la base de datos nacional de nutrientes del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)

Servicio al cliente

Puede comunicarse con el servicio técnico y el servicio al cliente de Neogen en 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 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. damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.

neogen.com