

PRINCÍPIOS DE UTILIZAÇÃO

O Kit de Tubo de Aflatoxina Beacon é um teste imunológico competitivo enzimático.

A Aflatoxina é extraída de uma amostra moída e processada em uma mistura de água e metanol. O extrato é diluído com água em seguida é filtrado para utilização no teste imunológico. O composto de Aflatoxina – enzima HRP é colocado em tubos de ensaio mediante o uso de pipetas, seguido de calibradores e extratos de amostras. Em seguida a Solução de Anticorpos de Aflatoxina é colocada nos tubos de ensaio, mediante o uso de pipetas, para iniciar a reação. Durante o período de incubação de 10 minutos, a Aflatoxina da amostra e o composto de Aflatoxina – enzima HRP competem entre si por uma ligação com o anticorpo de Aflatoxina, que, por sua vez, é capturado no tubo de ensaio. Finda essa incubação de 10 minutos, o conteúdo dos tubos é removido através de um procedimento de lavagens sequenciais para eliminar qualquer toxina não ligada ao anticorpo. Após essa etapa de lavagem, o substrato é acrescido aos tubos e os compostos de enzima ligada-toxina presentes causam a conversão para uma coloração azulada. Após uma incubação de 10 minutos, a reação é interrompida, e a intensidade de cor em cada tubo é lida. A cor das amostras desconhecidas é comparada à cor dos calibradores e a concentração de Aflatoxina das amostras é determinada.

MATERIAIS FORNECIDOS NO KIT DE TUBO DE AFLATOXINA BEACON

O kit mantido na sua embalagem original, quando armazenado a uma temperatura de 2 a 8 °C, pode ser usado até o fim do mês indicado no rótulo da caixa.

- 40 tubos de ensaio revestidos com anticorpos de coelho (IgG), embalados a vácuo, em uma embalagem aluminizada, com dessecante indicador.
- 5 frascos, cada um contendo 5 mL de calibradores de Aflatoxina correspondendo a 0 ppb, 2,0 ppb, 7,5 ppb, 25 ppb e 100 ppb (µg/L) de Aflatoxina.

Observação: Devido à diluição de 1:10 da amostra de grão na etapa de extração, os calibradores, de fato, contêm 1/10 do valor declarado. Não é necessário fazer mais nenhuma correção para retornar à concentração da amostra de grão original.

- 1 frasco contendo 24 mL de Composto de Aflatoxina – enzima HRP.
- 1 frasco contendo 24 mL de anti-corpo anti-Aflatoxina.
- 1 frasco contendo 24 mL de Substrato
- 1 frasco contendo 24 mL de solução stop. (Atenção! 1N HCl. Manuseie com cuidado.)
- Manual de Procedimentos de Análise

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECIFICIDADE

O Kit de Tubo de Aflatoxina Beacon não estabelece a diferença entre as várias Aflatoxinas, mas detecta a sua presença em diferentes graus de ocorrência. A tabela a seguir mostra os valores relativos para 50% B₀ e a porcentagem de reatividade cruzada contra Aflatoxina b1. As concentrações são em partes por bilhão (ppb).

| COMPOSTO | 50% B ₀ | %CR |
|---------------|--------------------|-----|
| AFLATOXINA B2 | 39 | 25% |
| AFLATOXINA G1 | 39.5 | 25% |
| AFLATOXINA G2 | 221 | 4% |

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Água destilada ou deionizada com padrão de qualidade de laboratório
- Metanol, grau ACS
- Cloreto de sódio, grau reagente
- Cilindro graduado, com capacidade de 100 ml ou superior
- Misturador de alta velocidade
- Frascos para coleta de amostras e extratos
- Filtro de papel (filtro para café)
- Filtro de fibra de vidro Whatman GF/A ou equivalente
- Pipeta com ponteiros descartáveis para pipetagem de 500 µL.
- Toalhas de papel ou material absorvente similar.
- Colorímetro com filtro de 450 nm para leitura de tubos de 12mm de diâmetro.
- Temporizador
- Balança de precisão

PRECAUÇÕES

1. Cada reagente é otimizado para utilização no Kit de Tubo de Aflatoxina Beacon específico. Não utilize reagentes de nenhum outro fabricante no kit de teste Beacon. Não misture reagentes de outros no Kit de Tubo de Aflatoxina Beacon que possuam números de lote diferentes.
2. A diluição ou a adulteração de reagentes ou amostras não mencionados no procedimento poderá produzir resultados imprecisos.
3. Não use reagentes após a data de vencimento.
4. Os reagentes deverão estar à temperatura ambiente, de 20 a 28°C (62 – 82°F), antes de serem utilizados. Evite a exposição do kit por longos períodos de tempo (> 24 horas) à temperatura ambiente.
5. A Aflatoxina é um substância muito tóxica. Descarte todos os líquidos em um recipiente plástico que contenha água sanitária de uso doméstico diluída (10% no mínimo) em água de torneira. Todos os recipientes do laboratório devem ser enxaguados por pelo menos 1 hora em uma solução de água sanitária de uso doméstico. Evite o contato da pele e membranas mucosas com reagentes e extratos de amostras, usando luvas e roupas de proteção. Em caso de exposição da pele e membranas mucosas aos líquidos, enxágüe imediatamente com água.
6. A Solução Stop é ácido clorídrico 1N. Evite o contato com a pele e membranas mucosas. Elimine imediatamente quaisquer derramamentos e lave a área com grandes quantidades de água corrente. Em caso de contato, enxágüe imediatamente com grandes quantidades de água corrente.

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE EXTRAÇÃO

1. Meça cuidadosamente 20 ml de água destilada ou deionizada para cada 100 ml que estiverem sendo preparados e transfira para um recipiente de vidro limpo com uma tampa bem fechada.
2. Meça cuidadosamente 80 ml de metanol para cada 100 ml que estiverem sendo preparados e acrescente ao recipiente.
3. Tampe e agite para obter uma mistura completa. Para minimizar a evaporação, armazene o recipiente bem vedado.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

1. Moa as amostras de modo que as mesmas passem em uma peneira de malha #20. Misture bem antes de proceder à sub-amostragem. As amostras que não forem analisadas imediatamente devem ser armazenadas em ambiente refrigerado.
2. Prepare o solvente de extração, misturando 80 ml de metanol com 20 ml de água.
3. Pese uma amostra moída de 50 g e 5.0 g de NaCl e transfira para um recipiente limpo para proceder a mistura.
4. Acrescente 100 ml da mistura metanol/água ao recipiente.
5. Misture por 1 minuto em um misturador de alta velocidade.
6. Filtre um mínimo de 10 ml utilizando um filtro adequado (recomenda-se o uso de um filtro de papel para café).
7. Dilua 5 ml do extrato com 20 ml de água e misture bem.
8. Filtre utilizando um filtro de fibra de vidro.

PROCEDIMENTO DE TESTE

Nota: A utilização de tubos em duplicata para cada um dos calibradores e amostras resultará em um ensaio com resultados mais precisos.

1. Permita que todos os reagentes e amostras do kit estejam estabilizados (aproximadamente 30 minutos) à temperatura ambiente antes de iniciar o teste.
2. Coloque a quantidade apropriada de tubos de ensaio em um suporte para tubos. Não deixe de voltar a lacrar os tubos não utilizados em um recipiente tipo “ziplock” com dessecante.
3. Acrescente 500 µL de Composto de Enzima em cada tubo de ensaio.
4. Usando uma pipeta com ponteiros descartáveis, acrescente 500 µL de calibradores e amostras aos seus respectivos tubos de ensaio. Não deixe de usar uma pipeta limpa para cada elemento diferente.
5. Acrescente 500 µL de Solução Anticorpo a cada tubo de teste.
6. Agite o suporte de tubos delicadamente para misturar o conteúdo. Incube os tubos de ensaio por 10 minutos.
7. Despreze o conteúdo dos tubos em um recipiente de descarte apropriado. Inunde completamente os tubos, até que transbordem, com água de qualidade de laboratório, destilada ou deionizada, e despeje. Repita essa etapa de lavagem quatro vezes, perfazendo um total de cinco lavagens.
8. Após a última lavagem do ensaio, inverta os tubos sobre papel absorvente, para remover a maior quantidade possível da solução de lavagem.
9. Acrescente 500 µL of Substrato a cada poço.
10. Agite o suporte de tubos delicadamente. Deixe incubar por 10 minutos.
11. Acrescente 500 µL de Solução Stop a cada poço de teste. Agite o suporte de tubos delicadamente para homogeneizar.
12. Leia e registre as absorbâncias dos tubos a 450 nm utilizando um colorímetro com filtro de 450 nm.

CALCULE OS RESULTADOS

1. Resultados semi-quantitativos podem ser obtidos por meio de uma simples comparação entre as absorvâncias das amostras e as absorvâncias dos tubos de calibrador: A amostra que apresentar menos cor do que um calibrador terá uma concentração de Aflatoxina superior à concentração do calibrador. As amostras que apresentarem mais cor do que um calibrador terão uma concentração inferior à concentração do calibrador.
2. A interpretação quantitativa requer uma representação gráfica das absorvâncias dos calibradores (eixo Y) versus o registro da concentração do calibrador (eixo X) em papel semi-log. Uma linha reta é traçada, passando pelos pontos do calibrador, e as absorvâncias da amostra são localizadas na linha. O ponto correspondente no eixo Y é a concentração da amostra. As amostras com absorvâncias superiores à do mais baixo calibrador ou inferiores à do mais alto calibrador devem ser relatadas como < 2 ppb ou > 100 ppb, respectivamente. Uma planilha que executará o ajuste da curva e os cálculos das amostras se encontra disponível no nosso website, www.beaconkits.com, ou pode ser fornecida mediante solicitação à DF Tecno-Científica (e-mail: df@dftecnocientifica.combr).

CÁLCULOS DAS AMOSTRAS

| Conteúdo do Tubo | OD | | Méd. OD | SD* | %RSD | %Bo* | ppb Afb1 |
|------------------|-------|-------|---------|-------|------|-------|----------|
| 0 ppb | 1,773 | 1,702 | 1,738 | 0,050 | 2,89 | | |
| 2 ppb | 1,320 | 1,312 | 1,316 | 0,008 | 0,43 | 75,7% | 1,9 |
| 7,5 ppb | 0,825 | 0,837 | 0,831 | 0,008 | 1,02 | 47,8% | 8,2 |
| 25,0 ppb | 0,464 | 0,454 | 0,459 | 0,007 | 1,54 | 26,4% | 25,4 |
| 100 ppb | 0,187 | 0,184 | 0,186 | 0,002 | 1,14 | 10,7% | 95,9 |
| Amostra | 0,663 | 0,706 | 0,685 | 0,030 | 4,44 | 39,4% | 12,4 |

Os valores reais podem variar. Estes dados são apresentados somente como exemplos.

* Desvio padrão

** %Bo é igual à absorvância da amostra média dividida pela absorvância de controle negativa média vezes 100%.

ASSISTÊNCIA TÉCNICA

Se tiver dúvidas a respeito deste kit ou se necessitar de informações adicionais a respeito dos produtos Beacon, ligue para: (12) 3933-2369 / (12) 3933-2496.

SEGURANÇA

Se desejar receber informações de segurança referentes a este produto, entre em contato com a DF Tecno-Científica (e-mail: df@dftecnocientifica.combr), e solicite as Folhas de Dados de Segurança de Material.

A Solução Stop é ácido clorídrico 1N. Manuseie com cuidado.

Garantia Geral Limitada

A Beacon Analytical Systems, Inc. ("Beacon") proporciona garantia dos produtos que fabrica contra defeitos de material e fabricação, quando os mesmos são usados em conformidade com as respectivas instruções, por um período que não exceda a data impressa de validade do produto. A BEACON NÃO PROPORCIONA OUTRAS GARANTIAS, EXPRESSAS OU IMPLÍCITAS. NÃO HÁ GARANTIA DE COMERCIALIZABILIDADE OU ADEQUAÇÃO A UMA FINALIDADE ESPECÍFICA. A garantia apresentada neste documento, e os dados, especificações, e descrições dos produtos Beacon, que aparecem em catálogos publicados, e na literatura referente aos produtos, não podem ser alterados, a não ser mediante acordo expresso, por escrito, assinado por um diretor da Beacon. Declarações, orais ou por escrito, que não estiverem em conformidade com esta garantia ou tais publicações, não estão autorizadas, e, se ocorrerem, não devem ser levadas em consideração.

Caso ocorra uma quebra da garantia acima descrita, a única obrigação da Beacon será reparar ou substituir, a seu critério, qualquer produto ou parte do mesmo que comprovadamente apresente defeito de material ou fabricação dentro do prazo de garantia, desde que o cliente notifique a Beacon prontamente a respeito da ocorrência de tal defeito. Não fica configurada uma falha da solução aqui prevista, no que se refere ao cumprimento da finalidade a que se destina, desde que a Beacon esteja disposta, e seja capaz de reparar ou substituir qualquer produto ou peça que não apresente o desempenho adequado. A Beacon não será responsável por quaisquer danos consequenciais, incidentais, especiais, ou quaisquer outros danos indiretos que resultem de prejuízos econômicos, ou danos materiais sofridos por um cliente, em virtude do uso dos seus produtos. No entanto, em alguns países, o comprador pode ter direitos, em conformidade com a legislação local, além dos direitos apresentados nesta garantia.



Kit de Aflatoxina - Tubo

Cat. No. 20-0099

Folheto de Instruções

LEIA ESTA PUBLICAÇÃO ATÉ O FIM ANTES DE USAR ESTE PRODUTO.

FINALIDADE

O Kit de Tubo de Aflatoxina é um teste método ELISA competitivo para a análise quantitativa de aflatoxina em castanhas, grãos e derivados.

BEACON ANALYTICAL SYSTEMS, INC.
82 Industrial Park Road
Saco, ME 04072
Tel. (207) 571-4302
Fax (207) 602-6502
www.beaconkits.com



Produto importado por DF Tecno-Científica Ltda.
Av. Cidade Jardim 1245, conj. 22 – 23, Jd. Satélite
São José dos Campos – SP – CEP 12231-675
Telefax: 12 3933-2369 Telephone: 12 3933-2496
www.dftecnocientifica.com.br