

PRINCÍPIOS DE UTILIZAÇÃO

O Kit de Aflatoxina – Placa produzido pela Beacon é um teste imunológico competitivo enzimático.

A Aflatoxina é extraída da amostra do produto bruto através de um processo de moagem ou trituração e em seguida por um reprocessamento em uma mistura com água e metanol. Essa mistura resultante é então diluída e filtrada para ser testada através do imunoenensaio. O conjugado enzimático de Aflatoxina-HRP é pipetado nos poços das microplacas, seguido pelos calibradores e amostras. O anticorpo de Aflatoxina é então pipetado nos poços para iniciar a reação.

Durante um período de 10 minutos de incubação a Aflatoxina da amostra e o conjugado enzimático de Aflatoxina –HRP competem entre si por uma ligação com o anticorpo de Aflatoxina que por sua vez encontra-se nos poços. Finda essa incubação de 10 minutos o conteúdo dos poços é removido através de um procedimento de lavagens sequenciais para eliminar qualquer Aflatoxina da amostra ou do conjugado Aflatoxina não ligada ao anticorpo. Após essa etapa de lavagem, o substrato é acrescido aos poços e os conjugados enzimáticos presentes causam a conversão da solução para uma coloração azulada. Após um período de incubação de 10 minutos a reação é interrompida, e a intensidade de cor em cada poço é lida. A cor das amostras ainda desconhecidas é comparada à cor dos calibradores e a concentração de Aflatoxina nas amostras é determinada.

MATERIAIS FORNECIDOS NO KIT DE AFLATOXINA TUBO BEACON

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

- 1 placa contendo 12 tiras de teste com 8 poços cada, embalados a vácuo em uma embalagem aluminizada, com dessecante indicador.
- 5 frascos de vidro, contendo cada um 2 mL dos calibradores de Aflatoxina correspondente a 0 ppb, 2,0 ppb, 7,5 ppb, 25 ppb e 100 ppb (µg/L) de Aflatoxina.
- 1 frasco contendo 8 mL de Conjugado Enzimático de Aflatoxina – enzima HRP.
- 1 frasco contendo 8 mL de anticorpo anti- Aflatoxina.
- 1 frasco contendo 14 mL de Substrato.
- 1 frasco contendo 14 mL de Solução “Stop”. (Atenção! 1N HCl. Manuseie com cuidado.)
- 1 Manual de Procedimentos de Análise.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

ESPECIFICIDADE

O kit de Aflatoxina da Beacon não detecta diferença entre os vários tipos de Aflatoxina, mas detecta a sua presença em diferentes graus.

A tabela a seguir mostra os valores de porcentagem de reatividade cruzada de Aflatoxina B1.

| COMPOSTO | % CR |
|---------------------------|------|
| AFLATOXINA B ₂ | 8% |
| AFLATOXINA G ₁ | 24% |
| AFLATOXINA G ₂ | 6% |

SENSITIVIDADE

| | LOD | LOQ |
|----------|---------|---------|
| Milho | 0,4 ppb | 1,2 ppb |
| Amendoim | 0,6 ppb | 1,8 ppb |

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Água destilada ou deionizada com padrão de qualidade laboratorial.
- Metanol com graduação ACS.
- Cilindro graduado; 100mL ou maior.
- Recipientes de vidro para extração da amostra e guarda das amostras.
- Filtro de papel (filtro de café)
- Pipeta com ponteiros descartáveis para pipetagem de 50 µL.
- Pipeta multicanal com 8 canais com capacidade para 50 µL e 100 µL.
- Toalhas de papel ou material absorvente similar.
- Temporizador.
- Água destilada para o processo de lavagem.
- Leitora de Placas com filtro de 450 nm.

PRECAUÇÕES

1. Os kits devem ser preservados a uma temperatura entre 4° C e 8° C quando não estiverem sendo utilizados.
2. Cada reagente é otimizado para utilização no Kit de Aflatoxina - Placa, específico da marca Beacon. Não utilize reagentes de nenhum outro fabricante no kit de teste Beacon. Não misture reagentes de outros Kits de Aflatoxina que possuam números de lote diferentes, mesmo que sejam da marca Beacon.
3. A diluição ou a adulteração de reagentes ou amostras não mencionados no procedimento poderá produzir resultados imprecisos.
4. Não utilize reagentes após a data de vencimento.
5. Os reagentes deverão estar à temperatura ambiente, de 20°C 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.
6. A Aflatoxina é um substância tóxica e por isso deve ser manuseada com cuidado. Descarte todos os produtos líquidos utilizados no teste em um recipiente contendo uma solução de alvejante doméstico diluído em água a 10%, no mínimo. Os demais utensílios utilizados no teste deverão permanecer imersos em solução idêntica por um período mínimo de 1:00 hora. Evite contato da pele e membranas mucosas com reagentes e amostras. Utilize luvas e outros EPIs. Se tais contatos vierem a ocorrer, lave a parte atingida imediatamente com água corrente em abundância.
7. 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, enxague imediatamente com grandes quantidades de água corrente.
8. A utilização deste kit deve ser efetuada por técnico devidamente treinado. Familiarização com o método ELISA é recomendada. O processo de pipetagem requer permanente atenção e técnica apurada. Os erros de pipetagem são geralmente a maior causa de erros na metodologia de imunoenaios. Favor consultar a DF Técnico-Científica em caso de alguma questão quanto à utilização deste kit.

9. O uso de pipetas multicanal para os reagentes é recomendado para testes em que venham a ser utilizadas duas tiras ou mais.

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO PARA EXTRAÇÃO DA AMOSTRA

1. Meça com precisão 20 mL de água destilada ou deionizada para cada 100 mL de solução de extração a ser preparada e transfira para um recipiente de vidro com tampa.
2. Meça com precisão 80 mL de Metanol para cada 100 mL de solução de extração de amostra a ser preparado e adicione ao recipiente de vidro contendo os 20 mL de água.
3. Feche bem fechado o recipiente de vidro com a solução e agite-o para homogeneizar a solução de extração de amostra

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

Milho e outros grãos

1. Moa a(s) amostra(s) grão de modo que a(s) mesma(s) passe(m) 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. Pese 50 g da amostra de grão peneirada e 5.0 g de NaCl e transfira para um recipiente limpo para proceder a mistura.
3. Transfira 100 mL da solução de extração de amostra para o mesmo recipiente.
4. Misture por um minuto em um misturador de alta velocidade.
5. Filtre um mínimo de 10 mL utilizando um filtro adequado (recomenda-se o uso de um filtro de papel para café).
6. Dilua 5 ml do extrato com 20 ml de água e misture bem.
7. Filtre utilizando um filtro de fibra de vidro.

Pasta de Amendoim

1. Pese 50 g da amostra de amendoim moída e transfira para um recipiente limpo com tampa de boa vedação.
2. Adicione 100 mL da solução de extração de amostra (água-20%/metanol-80%).
3. Misture por um minuto em um misturador de alta velocidade.
4. Filtre um mínimo de 10 mL utilizando um filtro adequado (recomenda-se o uso de um filtro de papel para café).
5. Dilua 5 mL do extrato da amostra de amendoim filtrada em 20 mL de água destilada ou deionizada.

Esta última solução não necessita de filtragem adicional antes de ser submetida à análise.

PROCEDIMENTOS DE ENSAIO

Nota: A utilização de tubos em duplicata para cada um dos calibradores e amostras resultará em maior precisão e acurácia dos resultados.

1. Deixe os reagentes e extratos de amostras estabilizarem (30 minutos) à temperatura ambiente (20°C a 28°C) antes de iniciar o teste.
2. Coloque a quantidade necessária de tiras de poços no suporte de micro placas apropriado. Não deixe de voltar a lacrar as tiras de placa não utilizadas na embalagem aluminizada, bem como o dessecante.
3. Pipete **50 µL do Conjugado Enzimático** em cada poço de

teste.

- Usando uma pipeta com ponteiros descartáveis, acrescente **50 µL de calibradores e amostras** nos seus respectivos poços de ensaio. Certifique-se de usar uma pipeta limpa para cada elemento diferente.
- Pipete **50 µL de Solução Anticorpo** em cada poço de teste.
- Agite o suporte de placas gentilmente por 30 segundos para misturar o conteúdo. Deixe ocorrer a incubação nos poços por um período de **10 minutos**.
- Despreze o conteúdo dos tubos em um recipiente de descarte apropriado. Inunde completamente os poços, até que transbordem, com água destilada ou deionizada com padrão laboratorial, e despeje. Repita essa etapa de lavagem quatro vezes, perfazendo um total de cinco lavagens.
- Após a última lavagem do ensaio, inverta os poços sobre papel absorvente para remover a maior quantidade possível da água de lavagem remanescente nos poços.
- Pipete **100 µL de Substrato** em cada poço.
- Agite o suporte de placas gentilmente. Deixe incubar por **10 minutos**.
- Pipete **100 µL de Solução Stop** em cada poço de teste. Agite o suporte de tubos gentilmente para homogeneizar.
- Leia e registre as absorbâncias dos poços utilizando uma leitora de placas com filtro de 450 nm.

CALCULE OS RESULTADOS

- Resultados semiquantitativos podem ser obtidos por meio de uma simples comparação entre as absorbâncias das amostras e as absorbâncias dos poços de calibradores: A amostra que apresentar menor intensidade de cor do que a de um calibrador terá uma concentração de Aflatoxina superior à concentração daquele calibrador. As amostras que apresentarem maior intensidade de cor do que um calibrador terão uma concentração de Aflatoxina inferior à concentração do calibrador.
- A interpretação quantitativa requer uma representação gráfica das absorbâncias dos calibradores (eixo Y; LOGIT) versus o registro da concentração do calibrador (eixo X; LOG) em papel gráfico Log-Logit. Uma linha reta é traçada, passando pelos pontos dos calibradores, e as absorbâncias da amostra são localizadas na linha. O ponto correspondente no eixo Y é a concentração da amostra.

CÁLCULOS DAS AMOSTRAS

| Conteúdo dos Poços | Densidade Ótica (OD) | | OD Média | SD* | %RSD | %Bo** | Afb ppb |
|--------------------|----------------------|-------|--------------|-------|------|--------------|-------------|
| 0 ppb | 1,773 | 1,702 | 1,738 | 0,050 | 2,89 | -- | -- |
| 2 ppb | 1,320 | 1,312 | 1,316 | 0,006 | 0,43 | 75,7% | 1,9 |
| 7,5 ppb | 0,825 | 0,837 | 0,831 | 0,008 | 1,02 | 47,8% | 8,8 |
| 25 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 absorbância da amostra média dividida pela absorbância de controle negativo 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.com.br), e solicite a Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico - FISPQ.
- 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 COMERCIALIZAÇÃO 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 deverão 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 consequências, sejam elas 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.

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



Kit de Aflatoxina B1 - Placa

Cat. No. 20-0017

Folheto de Instruções

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

FINALIDADE

O Kit de Aflatoxina – Placa é um teste método ELISA competitivo para a análise quantitativa de Aflatoxina em castanhas, amendoim, grãos diversos e seus derivados.



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 Telefone: 12 3933-2496
www.dftecnocientifica.com.br