

CALCULE OS RESULTADOS

1. Resultados sem quantitativos 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 M1 superior à concentração daquele calibrador. As amostras que apresentarem maior intensidade de cor do que um calibrador terão uma concentração de Aflatoxina M1 inferior à concentração do calibrador.
2. A interpretação quantitativa requer uma representação gráfica das absorbâncias 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 dos calibradores, e as absorbâncias da amostra são localizadas na linha. O ponto correspondente no eixo X é a concentração da amostra. As amostras com absorbâncias superiores à do mais baixo calibrador ou inferiores à do mais alto calibrador devem ser relatadas como < 1,5 ppt ou > 100 ppt, respectivamente. Uma planilha que executará o ajuste da curva e os cálculos das amostras se encontra disponível no website, www.beaconkits.com, ou poderá ser fornecida mediante solicitação à DF Tecno-Científica (e-mail: df@dftecnocientifica.combr).

CÁLCULOS DAS AMOSTRAS

Conteúdo dos Poços	OD		Méd. OD	SD*	%RSD	%Bo*
0 ppt Controle Negativo	2,041	2,069	2,055	± 0,020	0,97	100
1,5ppt Calibrador	1,748	1,731	1,739	± 0,012	0,72	85
3,0 ppt Calibrador	1,544	1,543	1,543	± 0,0004	0,03	75
10 ppt Calibrador	1,926	0,930	0,928	± 0,003	0,29	45
30 ppt Calibrador	0,502	0,500	0,501	± 0,001	0,18	24
100 ppt Calibrador	0,356	0,355	0,356	± 0,0004	0,1	17

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 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 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 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 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

Beacon
Analytical Systems Inc.



Kit de Aflatoxina M1- Placa Cat. No. 20-0201

Folheto de Instruções

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

FINALIDADE

O Kit de Aflatoxina M1 – Placa é um teste método ELISA competitivo para a análise quantitativa de Aflatoxina M1 em leite fresco e leite em pó.



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

PRINCÍPIOS DE UTILIZAÇÃO

O Kit de Aflatoxina M1 – Placa produzido pela Beacon é um teste imunológico competitivo enzimático.

As amostras e os calibradores são colocados em poços da microplaca de ensaio mediante o uso de pipetas, seguido do conjugado de Aflatoxina M1 para iniciar a reação. Durante este período de incubação a Aflatoxina M1 da amostra e o conjugado de Aflatoxina M1 – enzima HRP competem entre si por uma ligação com o anticorpo de Aflatoxina M1. Finda essa incubação o conteúdo dos poços é removido através de um procedimento de lavagens sequenciais para eliminar qualquer Aflatoxina M1 da amostra ou do conjugado Aflatoxina M1 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 uma incubação de 30 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 M1 nas 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.

- 1 placa contendo 12 tiras de teste com 8 micro poços cada, embalados a vácuo em uma embalagem aluminizada, com dessecante indicador.
- 1 frasco de vidro contendo o Controle Negativo; 0,0 ppt de Aflatoxina M1.
- 5 frascos de vidro, contendo cada um 2 mL dos calibradores de Aflatoxina M1 correspondente a 1,5 ppt, 3,0 ppt, 10 ppt, 30 ppt e 100 ppt (ng/L) de Aflatoxina M1.
- 1 frasco contendo 12 mL de Conjugado de Aflatoxina M1 – enzima HRP.
- 1 frasco contendo 14 mL de Substrato.
- 1 frasco contendo 14 mL de Solução “Stop”. (Atenção! 1N HCl. Manuseie com cuidado.)
- 1 frasco contendo 50 mL de Solução de Lavagem 10X.
- 1 Manual de Procedimentos de Análise.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Água destilada ou deionizada com padrão de qualidade de laboratório.
- 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.
- Leitora de Placas com filtro de 450 nm.
- Temporizador.
- Frasco para a solução de lavagem.
- Microcentrifugadora e respectivos tubos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

ESPECIFICIDADE

A tabela a seguir mostra os valores de porcentagem de reatividade cruzada de Aflatoxina M1.

COMPOSTO	% CR
AFLATOXINA M1	100%
AFLATOXINA M2	11%

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 M1 - 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 M1 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 use reagentes após a data de vencimento.
5. 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.
6. A Aflatoxina é um substância tóxica e por isso deve ser manuseada com cuidado.
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. 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.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

A) Amostra de Leite em Pó

1. Efetue a pesagem de 3,0 gramas de leite em pó seco em um recipiente limpo e adicione 30 mL de água destilada ou deionizada, com padrão laboratorial.
2. Misture gentilmente até que o leite em pó esteja completamente diluído.
3. Transfira 1,2 a 1,4 mL da amostra de leite já diluída para 2 tubos de centrifugação limpos. Centrifugue por 5 minutos a 12.000 rpm.
4. Cuidadosamente transfira a camada de líquido do meio (terço médio do volume nos 2 tubos) para um tubo de vidro limpo. Evite transferir porções da camada lipídica superior (não solúvel). Misture bem o material transferido para o tubo de vidro limpo.
5. Utilize 100 µL em cada poço para o ensaio.

B) Leite Fresco (Cru)

1. Inicie a preparação da amostra a partir do item 3, acima.

*A diluição apropriada da amostra deve ser baseada no nível de contaminação.

PROCEDIMENTOS DE ENSAIO

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

1. Prepare uma solução de lavagem 1X adicionando o conteúdo do frasco de solução de lavagem concentrada X10 (50 mL) a um frasco contendo 450 mL de água destilada ou ionizada com padrão laboratorial.

Notas:

- *A solução de lavagem pode ser preparada utilizando-se volumes menores da solução concentrada X10 (50 mL). Entretanto a relação de diluição 1:10 deve ser mantida.*
 - *No caso em que se utiliza a totalidade do frasco de solução de lavagem concentrada X10 (50 mL) para a preparação da solução 1X (diluída), deve-se guardar o restante da solução preparada para lavagens dos poços em outros ensaios em que o mesmo kit venha a ser utilizado.*
2. Permita (aproximadamente 30 minutos) que todos os reagentes e amostras do kit estejam estabilizados à temperatura ambiente antes de iniciar o teste.
 3. Coloque a quantidade necessário 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, com o dessecante.
 4. Usando uma pipeta com ponteiros descartáveis, acrescente 100 µL de calibradores e amostras nos seus respectivos poços de ensaio. Não deixe de usar uma pipeta limpa para cada elemento diferente.
 5. Agite o suporte de placas gentilmente por 30 segundos para misturar o conteúdo. Incube os tubos de ensaio por 30 minutos. **Não lave os poços antes de adicionar o conjugado enzimático.**
 6. Pipete 100 µL de conjugado enzimático em cada poço.
 7. Agite a placa de tiras gentilmente por 30 segundos e deixe incubar por 15 minutos.
 8. 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 três vezes, perfazendo um total de quatro lavagens.
 9. Após a última lavagem do ensaio, inverta os poços sobre papel absorvente para remover a maior quantidade possível da solução de lavagem.
 10. Pipete 100 µL de Substrato em cada poço.
 11. Agite o suporte de placas gentilmente. Deixe incubar por 30 minutos.
 12. Pipete 100 µL de Solução Stop em cada poço de teste. Agite o suporte de tubos gentilmente para homogeneizar.
 13. Leia e registre as absorbâncias dos poços utilizando uma leitora de placas com filtro de 450 nm.