

PRINCÍPIOS DE UTILIZAÇÃO

O Kit QUAN-TOX de Aflatoxina - Tubo da Beacon é um teste imunológico competitivo enzimático, utilizado para a quantificação de Aflatoxina em grãos e seus derivados.

A Aflatoxina é extraída de uma amostra moída e processada em uma mistura de água e metanol. O extrato é diluído em água, e em seguida é filtrado para utilização no teste imunológico. O conjugado enzimático de Aflatoxina-HRP é pipetado em tubos de ensaio, seguido de calibradores e extratos de amostras. Em sequência a Solução de Anticorpos de Aflatoxina é pipetada nos tubos de ensaio para iniciar a reação. Durante o período de incubação de **10 minutos**, 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 é capturado no tubo de ensaio. Findo o período de 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 reage com o conjugado de Aflatoxina-HRP ligada causando a conversão para uma coloração azulada. Após uma incubação de **10 minutos**, a reação é interrompida ao ser acrescida a Solução "Stop", ocorrendo mudança de cor para um tom amarelado, e a intensidade de cor em cada tubo é lida. A leitura da intensidade de cor das amostras desconhecidas é medida através de um filtro cromático de 450 nm. A relação da amostra com o calibrador zero (0,0 ppb) é calculada (%B/Bo), e a concentração de Aflatoxina na amostra é derivada da Curva de Calibração.

MATERIAIS FORNECIDOS NO KIT QUAN-TOX DE AFLATOXINA

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, embalados a vácuo, em uma embalagem aluminizada, com dessecante indicador.
- 1 frasco contendo 8 mL de Controle Negativo.
- 1 frasco contendo 8 mL de Controle Positivo (10 ppb).
- 5 frascos, cada um contendo calibradores de Aflatoxina correspondendo a 0 ppb, 2,0 ppb, 7,5 ppb, 25 ppb e 100 ppb (µg/L) de Aflatoxina*.
- 1 frasco contendo 24 mL de Conjugado Enzimático de Aflatoxina - 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.)
- Folheto de Instruções para Análise e Planilha da Curva de Calibração do Kit.

*A concentração de Aflatoxina nos calibradores é 10 % do valor declarado para compensar o fator de diluição 1:10 na preparação da amostra. Não é necessário fazer quaisquer outras correções para retornar à concentração original da amostra.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

ESPECIFICIDADE

O Kit QUAN-TOX de Aflatoxina - Tubo da Beacon permite medir o total de Aflatoxina presente na amostra extraída. A especificidade de outras Aflatoxinas é demonstrada pela medição da Reatividade Cruzada (%CR) em relação à Aflatoxina B1, como na tabela seguinte.

COMPOSTO	%CR
AFLATOXINA B2	28%
AFLATOXINA G1	20%
AFLATOXINA G2	4%

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS

- Água destilada ou deionizada com padrão de qualidade laboratorial.
- Metanol, grau ACS.
- Cloreto de sódio, grau reagente.
- Cilindro graduado, com capacidade de 100 ml ou superior.
- Filtro de papel (filtro para café).
- Filtro de fibra de vidro (Fisher Scientific G6 ou equivalente).
- Pipeta com ponteiros descartáveis para pipetagem de 500 µL.
- Colorímetro com filtro de 450 nm para leitura de tubos de 12mm de diâmetro.
- Temporizador, Misturador de alta velocidade, Balança de precisão.
- Toalhas de papel ou material absorvente similar.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

SEÇÃO 1

Quando o teste é efetuado utilizando-se um kit pela primeira vez a Curva de Calibração "completa" deverá ser gerada utilizando-se todos os calibradores. Selecione até **8 tubos**; sendo um para cada Calibrador (0 ppb, 2 ppb, 7,5 ppb, 25 ppb e 100 ppb), Controle Positivo (10 ppb) e um para cada uma das **duas** amostras a serem testadas.

Nota: Devido ao tempo total de pipetagem resultante do intervalo de tempo entre um tubo e outro, é recomendado que o número total de tubos a serem utilizados no ensaio seja no máximo de 8 tubos.

Inira os valores das absorbâncias na Seção 1 da Planilha de Resultados e Curva de Calibração (Eletrônica) fornecida com o Kit.

SEÇÃO 2**

Após a primeira geração da Curva de Calibração Completa, **em testes subsequentes não será mais necessário** a execução desse procedimento na íntegra. Será necessária somente a verificação de novos valores dos controles Negativo e Positivo.

Neste caso serão utilizados apenas **dois tubos** para os controles acima mencionados, e até **seis tubos** para as amostras, perfazendo um total de **oito tubos**.

1. Siga o **PROCEDIMENTO DE ENSAIO**.
2. Inira os valores do Controle Negativo, Controle Positivo e das amostras na **Seção 2** da Planilha de Resultados para calcular os resultados do teste.
3. Verifique se o Controle Positivo (10 ppb) está dentro da faixa de tolerância de variação $\pm 30\%$ (7 – 13 ppb). Se o Controle Positivo estiver dentro da faixa o resultado da amostra é válido. Caso contrário refaça a Curva de Calibração Completa e insira os valores de absorbância dos calibradores para obter uma nova Curva de calibração.
4. Os resultados das amostras já lançados na **Seção 2** da Planilha serão recalculados automaticamente e os níveis corretos de Aflatoxina serão apresentados.

**Se o valor do Controle Positivo estiver dentro da faixa de tolerância de variação não é necessário refazer a Curva de

Calibração. É recomendado refazer a Curva de Calibração após longos períodos de estocagem (> 1 mês) sem uso ou eventual variação da temperatura de armazenagem do kit, acima da faixa de refrigeração recomendada; 4 a 8 °C.

PREPARAÇÃO DA SOLUÇÃO DE EXTRAÇÃO DE AMOSTRA

1. Para preparar a solução de Metanol a 80% misture 8 partes de metanol ACS com 2 partes de água destilada ou deionizada.
2. Armazene a solução em um recipiente bem vedado para minimizar a evaporação.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA (Para amendoim, grãos diversos e derivados)

1. Moa as amostras de modo a permitir 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. Pese **50 g** de uma amostra moída e **5,0 g** de NaCl, e transfira para um recipiente limpo para proceder a mistura.
3. **Acrescente 100 mL** da mistura 80% metanol/água ao recipiente.
4. **Misture por 1 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 o extrato de amostra na relação 1:5** com água deionizada (5 mL do extrato com 20 mL de água). Misture bem por 30 segundos.
7. **Filtre** utilizando um filtro de fibra de vidro.
8. **Use o produto filtrado como amostra para o ensaio.**

PROCEDIMENTO DE TESTE

1. Permita que todos os reagentes e amostras do kit estejam estabilizados à temperatura ambiente (aproximadamente 30 minutos) 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 em um recipiente tipo "ziplock" com dessecante os tubos não utilizados.
3. **Acrescente 500 µL de Conjugado Enzimático** 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. **Utilize uma pipeta limpa para cada elemento diferente a ser pipetado.**
5. **Acrescente 500 µL de Solução Anticorpo** a cada tubo de teste.
6. Agite o suporte de tubos delicadamente para misturar o conteúdo. Deixe incubar 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 laboratorial, 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, com os tubos invertidos aplique movimentos rápidos (lambadas) a cada tubo individualmente para remover a maior quantidade possível da solução de lavagem.
9. **Acrescente 500 µL do Substrato** a cada poço.
10. Agite o suporte de tubos gentilmente. 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 absorvâncias dos tubos utilizando um colorímetro com filtro de 450 nm.
13. Insira os valores de absorvância dos Calibradores, Controles e amostras na Planilha de Resultados. Leia os **RESULTADOS CALCULADOS**.

PRECAUÇÕES

1. Cada reagente é otimizado para utilização específica no Kit Quan-Tox de Aflatoxina -Tubo da Beacon. Não utilize reagentes de nenhum outro fabricante no kit de teste Beacon. Não misture reagentes de outros kits Quan-Tox de Aflatoxina que possuam números de lote diferentes.
2. São requeridos 50 g de sub-amostra para a extração apropriada da amostra.
3. Siga os métodos de pipetagem e homogeneização das soluções prescritos.
4. Diluição ou adulteração dos reagentes ou amostras não instruídos nos procedimentos poderão gerar resultados incorretos.
5. Não use reagentes com data de validade expirada.
6. Os kits devem ser armazenados a temperaturas entre 4 a 8 °C. Os reagentes do kit devem ser estabilizados a uma temperatura ambiente entre 20 a 28 °C antes de serem utilizados nos testes. Evite expor o kit a períodos prolongados sob a temperatura ambiente (> 24 °C). A exposição do kit à temperaturas ambiente elevadas (> 28 °C) poderá gerar resultados imprecisos.
7. A Aflatoxina é uma substância tóxica. Descarte todos os líquidos em um recipiente plástico que contenha água sanitária de uso doméstico, diluída (30% 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, enxágue imediatamente com água.
8. **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, enxágue imediatamente com grandes quantidades de água corrente.

Notas:

1. Amostras com concentrações abaixo do menor calibrador ou acima do maior calibrador devem ser reportadas como < 2 ppb ou > 100 ppb, respectivamente.
2. É recomendada a utilização do aplicativo Microsoft Excel para "rodar" a Planilha de Resultados. Alternativamente os seguintes aplicativos podem ser utilizados:
 - OpenOffice
 - Google Docs

Exemplo Típico de Valores B/Bo de Calibradores

Concentração do Calibrador	Faixa de B/Bo
0 ppb	100
2 ppb	73,1 – 77,3
7,5 ppb	41,2 – 46,3
25 ppb	18,9 – 21,3
100 ppb	7,3 – 9,81

ASSISTÊNCIA TÉCNICA

Se tiver dúvidas a respeito deste kit ou caso necessite 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](mailto:df@dftecnocientifica.com.br)) 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 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 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.

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



QUAN-TOX

Kit de Aflatoxina - Tubo

Cat. No. 20-0230

Lote # 0000

Folheto de Instruções

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

FINALIDADE DE UTILIZAÇÃO

O Kit QUAN-TOX de Aflatoxina - Tubo é um teste método ELISA competitivo para a análise quantitativa de Aflatoxina em amendoim, castanhas, grãos diversos e derivados.



DF Tecno-Científica

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

Rev. 02/03/2016