



Microcistina Placa

Cat. # 20-0068

PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE

LEIA ESTE MANUAL COMPLETAMENTE ANTES DE UTILIZAR O KIT



[WWW.epa.gov/etv](http://www.epa.gov/etv)

Microcystin plate kit was verified by the U.S. EPA ETV
(Environmental Technology Verification) program.

<http://www.epa.gov/nrmrl/std/etv/vt-ams.html#itkm>

PÁGINA EM BRANCO

FINALIDADE DE USO

O Kit de Microcistina Placa é um teste ELISA competitivo para a análise quantitativa de Microcistina em água bruta ou tratada.

PRINCÍPIOS DO TESTE

O Kit de Microcistina – Placa produzido pela Beacon é um teste imunológico competitivo enzimático. O conjugado enzimático de Microcistina-HRP é pipetado seguido dos calibradores e das amostras, em seus respectivos poços na microplaca. A Solução de Anticorpos de Microcistina é então colocada nos poços de ensaio para iniciar a reação. Durante um período de 30 minutos incubação a Microcistina da amostra e o conjugado enzimático e de Microcistina-HRP competem entre si por uma ligação com o anticorpo de Microcistina. Findo o período de incubação de 30 minutos o conteúdo dos poços é removido através de um procedimento de lavagens sequenciais para eliminar qualquer Microcistina das amostras e o Conjugado Enzimático de Microcistina-HRP não ligados a Anticorpos de Microcistina-HRP. Após essa etapa de lavagem, o substrato (incolor) é acrescido aos poços e os conjugados enzimáticos presentes causam a conversão da solução para uma coloração azulada. Após mais uma incubação de 30 minutos, a reação é interrompida, através da adição da Solução “Stop”, 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 Microcistina nas amostras é determinada. A intensidade da cor é inversamente proporcional à quantidade de Microcistina presente na amostra.

MATERIAL FORNECIDO NO KIT

O kit mantido na sua embalagem original, quando armazenado a uma temperatura de 4 °C a 8 °C, pode ser usado até o fim do mês/ano 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.
- **5** frascos de vidro, contendo cada um 2 mL de **Calibradores de Microcistina** correspondentes a 0,0 ppb, 0,1 ppb, 0,3 ppb, 0,8 ppb e 2,0 ppb de Microcistina-LR.
- **1** frasco contendo 2 mL de **Controle Positivo de Microcistina-LR** (1,0 ppb).
- **1** frasco contendo 8 mL de **Conjugado Enzimático de Microcistina-HRP**.
- **1** frasco contendo 8 mL de **Anticorpo de Microcistina**.
- **1** frasco contendo 14 mL de **Substrato**.
- **1** frasco contendo 14 mL de **Solução “Stop”**. (**Atenção! 1N HCl - Manuseie com cuidado.**)
- **1** frasco contendo 25 ml de **Dilúente para Amostras**
- **1** frasco contendo 25 ml de **Solução de Lavagem** (Diluir antes de usar. Veja

item 2 dos PROCEDIMENTOS DE ENSAIO)

• **1 Manual de Procedimentos de Análise.**

MATERIAIS REQUERIDOS MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT

• Leitora de Placas ou de Tiras com filtro de 450 nm.	• Toalhas de papel ou outro absorvente similar
• Água destilada ou deionizada com padrão de qualidade de laboratório.	• Relógio (Temporizador)
• Pipeta com ponteiros descartáveis para pipetagem de 50 µL.	• Frasco para a solução de lavagem.
• Pipeta multicanal com 8 canais com capacidade para 50 µL e 100 µL.	• Agitador Vórtex

ESPECIFICIDADE

O kit Beacon de Microcistina Placa e capaz de detectar diversos tipos congêneres de microcistina. A percentagem de reatividade cruzada (baseada no IC₅₀) dos congêneres relativos à Microcistina-LR é mostrado na tabela abaixo.

CONGENERES	REATIVIDADE CRUZADA - %
Microcistina-LR	100
Microcistina-RR	73
Microcistina-YR	58
Microcistina-LA	2
Microcistina-LF	3
Microcistina-LW	4
Nodularina	126

MANUZEIO E PRECAUÇÕES

- A utilização de calibradores e amostras em duplicata deverá otimizar a precisão e acurácia dos resultados do ensaio.
- Armazene o kit a temperaturas entre 4 °C e 8 °C quando não estiver sendo usado.
- Cada reagente é otimizado para utilização no Kit de Microcistina - Placa, específico da marca Beacon. Não utilize reagentes de nenhum outro fabricante no kit de teste Beacon. Não misture reagentes de outros Kits de Microcistina que possuam números de lotes diferentes, mesmo que sejam da marca Beacon.
- A diluição ou a adulteração de amostras ou reagentes não mencionados no procedimento poderá produzir resultados imprecisos.
- Não use reagentes do kit após a data de vencimento.
- Os reagentes deverão estar à temperatura ambiente, de 20 °C a 28 °C (68 °F a 82 °F), antes de serem utilizados. Evite a exposição do kit por longos períodos de tempo (> 24 horas) à temperatura ambiente.
- A Microcistina é uma substância tóxica e por isso deve ser manuseada com

cuidado e segurança.

- A Solução Stop é ácido clorídrico 1N e é corrosivo e irritante para a pele. 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.
- O processo de pipetagem requer permanente atenção e técnica apurada. A precisa transferência das amostras e calibradores utilizando-se uma pipeta adequada e calibrada é crucial para a obtenção de resultados apropriados durante o ensaio. Os erros de pipetagem são geralmente a maior causa de erros na metodologia de imunoenaios. O processo de pipetagem requer permanente atenção e técnica apurada. Efetue a pipetagem cuidadosamente.
- No caso de utilização de duas ou mais tiras de poços no teste, é recomendável a utilização de pipetas multicanal para a pipetagem dos reagentes Conjugado Enzimático, Solução Anticorpo, Substrato e Solução “Stop”.
- Quando armazenado em sua embalagem original e mantido à temperatura entre 4 °C a 8 °C o kit poderá ser utilizado com qualidade até o final do mês de validade indicado na caixa original do kit. O prazo de validade do Kit de Microcistina é de 1 (um) ano, contado a partir da sua data de fabricação.
- Não congele os componentes do kit ou os exponha a temperaturas superiores a 37 °C (99 °F).
- O kit deve ser utilizado por técnicos com prática de laboratório compatível com a atividade requerida para a realização dos testes aplicáveis. Familiarização com testes ELISA é recomendável. Favor contatar a Beacon ou a DF Tecnológica para o suporte técnico, caso surja alguma questão relacionada com a devida utilização deste kit.
- Amostras que tenham concentrações conhecidas ou esperadas acima de 5,0 ppb devem ser diluídas antes de iniciar o ensaio.

PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

- As amostras de água devem ser livres de partículas e ajustadas para um pH neutro.
- Caso seja necessário, centrifugue ou filtre as amostras antes de iniciar o teste.

PROCEDIMENTOS DE ENSAIO

1. Permita que os reagentes do kit e as amostras estabilizem à temperatura ambiente laboratorial (20 °C a 28 °C (68 °F a 82 °F)).
2. Prepare a solução de lavagem 1X diluindo o concentrado 100X (i.e., 5 mL do concentrado 100X adicionado a 495 ml de água destilada ou deionizada em um frasco com capacidade para 500 ml).
3. Remova da embalagem aluminizada a quantidade necessária de tiras de poços e coloque-as no suporte de microplacas apropriado. Volte a lacrar as tiras de placa não utilizadas na embalagem aluminizada, com o dessecante, a fim

de evitar exposição prolongada à umidade.

4. Usando uma pipeta com pontas descartáveis adicione **50 µL de Conjugado Enzimático** em cada poço.
5. Usando uma pipeta com ponteiros descartáveis, acrescente **50 µL de Calibradores, Controle Positivo e Amostras** nos seus respectivos poços de ensaio. Certifique-se de utilizar uma pipeta limpa para cada elemento diferente a ser pipetado.
6. Dispense **50 µL de Solução Anticorpo de Microcistina** em cada poço.
7. Agite a placa de tiras gentilmente, com movimentos laterais, por 30 segundos para homogeneizar a solução contida nos poços. Deixe incubar por 30 minutos à temperatura ambiente laboratorial.
8. Após concluir a incubação, despreze o conteúdo dos poços em um recipiente de descarte apropriado. Inunde completamente os poços, até que transbordem, com a **Solução de Lavagem 1X**, e descarte. Repita essa etapa de lavagem quatro vezes, perfazendo um total de cinco 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. Agite o suporte de placas gentilmente, com movimentos laterais, por 30 segundos.
11. Deixe incubar por 30 minutos à temperatura ambiente laboratorial.
12. Pipete **100 µL de Solução Stop** em cada poço de teste. Agite o suporte de poços gentilmente para homogeneizar o conteúdo dos poços.
13. Efetue as leituras e registre as absorbâncias dos poços utilizando uma leitora de tiras ou de placas com filtro de 450 nm. Se a leitora de placas tiver recurso de ajuste seletivo de comprimento de onda para leitura de placas, selecione 450nm. Jamais utilize outro valor de ajuste.
14. Se a absorbância de uma amostra for menor que a do maior calibrador (2,0 ppb), isto significa que a concentração de Microcistina na amostra é muito alta e encontra-se fora da faixa da curva de calibração. Dilua a amostra utilizando o Diluente Para Amostra, ou água destilada ou deionizada, com padrão laboratorial, e refaça o teste com a amostra diluída. A amostra deverá ser diluída para se obter uma concentração de Microcistina que se encontre dentro da faixa de detecção da curva de calibração (0,1 ppb a 2,0 ppb). O resultado deverá ser multiplicado pelo fator de diluição utilizado.
15. O valor do Controle Positivo 1,0 ppb deverá estar dentro da faixa de 0,8 ppb a 1,3 ppb.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

1. 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 determinado calibrador terá uma concentração de Microcisti-

na LR superior à concentração daquele calibrador. As amostras que apresentarem maior intensidade de cor do que um determinado calibrador, terão uma concentração de Microcistina inferior à concentração daquele calibrador.

2. Preferivelmente os resultados do teste ELISA devem ser determinados através do aplicativo disponível comercialmente; usando a curva de 4 parâmetros. Alternativamente a curva semilog pode ser utilizada se o aplicativo para a curva de 4 parâmetros não estiver disponível.
3. As amostras com absorvâncias superiores à do mais baixo calibrador ou inferiores à do mais alto calibrador devem ser relatadas como < 0,1 ppb ou > 2,0 ppb, respectivamente. Alternativamente, se encontra disponível no website uma planilha que permite executar o ajuste da curva e os cálculos das amostras, ou poderá ser fornecida pela Beacon Analytical Systems, Inc. ou pelo seu distribuidor local, mediante solicitação.

CÁLCULO DAS AMOSTRAS

Conteúdo dos Poços	OD	Méd. OD ± SD*	% RSD	**% Bo	MIC (ppb)
Calibrador 0,0 ppb	1,478-1,552	1,515±0,052	3,50	100	0
Calibrador 0,1 ppb	1,255-1,194	1,225±0,043	3,50	80,8	0,1
Calibrador 0,3 ppb	0,941-0,932	0,937±0,006	0,68	61,8	0,3
Calibrador 0,8 ppb	0,626-0,602	0,614±0,017	2,80	40,5	0,8
Calibrador 2,0 ppb	0,389-0,386	0,388±0,002	0,55	25,6	2,0
Amostra	0,769-0,771	0,770±0,001	0,18	50,8	0,495

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

* Desvio padrão

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

PÁGINA EM BRANCO

ASSISTÊNCIA TÉCNICA

Para questões referentes a este kit ou para informações adicionais sobre os produtos Beacon, contate a Beacon através do telefone (207)571-4302 ou do e-mail info@beaconkits.com, ou do seu representante local.

Segurança

Para receber informações completas de segurança a respeito deste produto, contate a Beacon Analytical /systems, Inc. e solicite as Folhas de Dados de Segurança.

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.

PÁGINA EM BRANCO

LINHA DE PRODUTOS BEACON

ALGAL TOXINS	CÓDIGO	LIMITES DE DETECÇÃO
Cylindrospermopsin Plate Kit	(Cat # 20-0149)	0,1 ppb - 2,0 ppb
Cylindrospermopsin Plate Kit (N)	(Cat # 20-0149-N)	0,05 ppb - 2,0 ppb
Microcystin Plate Kit	(Cat # 20-0068)	0,1 ppb - 2,0 ppb
Microcystin Tube Kit	(Cat # 20-0098)	0,3 ppb - 5,0 ppb
Nodularin Plate Kit	(Cat # 20-0199)	0,04 ppb - 1,0 ppb
ANTIBIOTICS		
AOZ (Nitrfuran) Plate Kit	(Cat # 20-0177)	10 ppt - 540 ppt
Chloramphenicol Plate Kit	(Cat # 20-0140)	0,1 ppb - 3,0 ppb
Fluoroquinolones Plate Kit	(Cat # 20-0152)	0,2 ppb - 16 ppb
Streptomycin Plate Kit	(CAT # 20-0141)	0,4 ppb - 32,4 ppb
Tetracycline Plate Kit	(Cat # 20-0143)	0,4 ppb - 32,4 ppb
CROP PROTECTION & CHEMICALS		
2,4-D Plate Kit	(Cat # 20-0011)	2,0 ppb - 200 ppb
2,4-D Tube Kit	(Cat # 20-0010)	2,0 ppb - 100 ppb
Alachlor Plate Kit	(Cat # 20-0166)	0,1 ppb - 0,75 ppb
Atrazine Plate Kit	(Cat # 20-0002)	0,05 ppb - 5,0 ppb
Atrazine Tube Kit	(Cat # 20-0001)	0,05 ppb - 5,0 ppb
s-Metolachlor Plate Kit	(Cat # 20-0013)	0,05 ppb - 4,0 ppb
s-Metolachlor-ESA Plate Kit	(Cat # 20-0193)	0,1 ppb - 5,0 ppb
ENVIRONMENTAL CHEMICALS		
Estrone (E1) Plate Kit	(Cat # 20-0216)	200 ppt – 500 ppt
FOOD SAFETY		
Capsaicin High Sensitivity Plate Kit	(Cat # 20-0027)	1,0 ppm – 100 ppm
Capsaicin Plate Kit	(Cat # 20-0072)	0,1 ppm - 2,0 ppm
Melamine McAb Plate Kit	(Cat # 20-0220)	2,0 ppb - 50 ppb
Melamine Plate Kit	(Cat # 20-0158)	20 ppb - 500 ppb
Progesterone Plate Kit	(Cat # 20-0242)	2,5 ppb - 50 ppb
INDUSTRIAL CONTAMINANTS		
Bisphenol A Plate Kit	(Cat # 20-180)	0,1 ppb - 10 ppb
Toxaphene in Soil Tube Kit	(Cat # 20-0148)	2,0 ppm – 50 ppm
MYCOTOXINS		
Aflatoxin M1 Plate Kit	(Cat # 20-0201)	1,5 ppt - 100 ppt
Aflatoxin Plate Kit	(Cat # 20-0017)	2,0 ppb - 100 ppb
Aflatoxin Tube Kit	(Cat # 20-0099)	2,0 ppb - 100 ppb
Aflatoxin Quan-Tox Tube Kit	(Cat # 20-0230)	
Aflatoxn Rapid Strip Test	(Cat # 20-0286)	
Deoxynivalenol (DON) Plate Kit	(Cat # 20-0016)	0,2 ppm - 2,5 ppm
Fumosin Plate Kit	(Cat # 20-0018)	0,3 ppm - 6,0 ppm
Ochratoxin Plate Kit	(Cat # 20-0113)	2,0 ppb - 25 ppb
T2 Toxin Plate Kit	(Cat # 20-0020)	25 ppb - 500 ppb
Zearalenone Plate Kit	(Cat # 20-0019)	20 ppb - 1.000 ppb
SHELLFISH TOXINS		
Brevetoxin	(Cat # 20-0200)	0,1 ppb - 2,5 ppb
Neo-Saxitoxin	(Cat # 20-0194)	0,03 ppb - 1,0 ppb
Okadaic Acid	(Cat # 20-0184)	0,2 ppb - 5,0 ppb
Saxitoxin	(Cat # 20-0173)	0,02 ppb - 0,32 ppb

