



dF Tecno-Científica

Distribuidor Exclusivo Beacon Analytical Systems Inc.

Beacon
Analytical Systems Inc.

SAXITOXINA - PLACA

Cat # 20-0173-CA

Procedimentos de Análise



dF Tecno-Científica

Distribuidor Exclusivo Beacon Analytical Systems Inc.

Beacon
Analytical Systems Inc.

PÁGINA EM BRANCO



dF Tecno-Científica

Distribuidor Exclusivo Beacon Analytical Systems Inc.

Beacon
Analytical Systems Inc.

KIT BEACON SAXITOXINA PLACA

INSTRUÇÕES DE ANÁLISE

INTRODUÇÃO

O “Kit” Beacon - Saxitoxina Placa é um teste imunológico laboratorial para análise quantitativa de Saxitoxina presente em moluscos, e água bruta ou tratada destinada ao consumo humano.

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

- Cada reagente é otimizado para utilização no Kit de Saxitoxina – Placa, específico da marca Beacon. Não utilize reagentes de nenhum outro fabricante no kit de teste Beacon.
- Não misture reagentes de outros Kits de Saxitoxina que possuam números de lote diferentes, mesmo que sejam da marca Beacon.
- A diluição ou a adulteração de reagentes ou amostras não mencionados no procedimento poderá produzir resultados imprecisos.
- Não use reagentes após a data de vencimento.
- Quando não estiverem em uso os componentes do “Kit” devem permanecer armazenados a temperaturas entre 4 °C e 8 °C.
- Não permita que os componentes do “Kit” sejam expostos a temperaturas inferiores a 0 °C ou superiores a 37 °C.
- Os reagentes deverão estar à temperatura ambiente (20 °C a 28 °C / 62 °F – 82°F), antes de serem utilizados. Evite a exposição do kit por longos períodos de tempo (> 24 horas) à temperatura ambiente.
- Durante os procedimentos de pipetagem, transfira os reagentes suavemente para as placas, evitando jatos que possam resultar em respingos na ponteira da pipeta e consequente transferência de reagentes diferentes de um poço para o outro.
- 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.
- Utilize uma ponteira nova para cada elemento distinto (reagentes, calibradores “ppb” etc.) a ser pipetado durante a análise.
- A fim de evitar a formação de bolhas no interior dos poços aproxime, sem deixar encostar, a ponteira do fundo dos poços, quando vazios, ou da superfície líquida já pipetada.
- A Saxitoxina é uma substância tóxica e por isso deve ser manuseada com cuidado.
- 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.

MATERIAIS FORNECIDOS NO KIT DE SAXITOXINA-PLACA

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/ano indicado no rótulo da caixa.

- 1 placa contendo 12 tiras de teste, com 8 micro poços cada, embalada a vácuo em uma embalagem aluminizada, com dessecante indicador.
- 6 frascos de vidro, cada um contendo 2 mL de calibradores de Saxitoxina correspondentes a 0 ppb, 0,02 ppb, 0,04 ppb, 0,08 ppb, 0,16 ppb, e 0,4 ppb (µg/L).
- 1 frasco contendo 2 mL de Controle Positivo 0,75 ppb ± 0,015 ppb.
- 1 frasco contendo 7 mL de Conjugado Enzimático de Saxitoxina-HRP.
- 1 frasco contendo 7 mL de Anticorpo de Saxitoxina Policlonal.
- 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.
- 1 frasco contendo 15 mL de Diluente para preservação de Amostras.
- 1 frasco contendo 15 mL de Diluente para Amostras com altas concentrações de Saxitoxina.
- 1 Manual de Procedimentos de Análise.



dF Tecno-Científica

Distribuidor Exclusivo Beacon Analytical Systems Inc.

ACESSÓRIOS PARA O TESTE (Não fornecidos com o “Kit”)

- Agitador Orbital – (opcional).
- Água destilada ou deionizada com padrão de qualidade de laboratório.
- Frascos de vidro para coleta e diluição de amostras
- Frasco de Vidro Graduado de 100 ml ou maior
- Frasco de Vidro para coleta de resíduos
- Frasco para a solução de lavagem (Pisseta) – 500 ml
- Lavadora de Placas – (opcional).
- Leitora de Placas com filtro para 450 nm.
- Papel Toalha absorvente
- Parafilme ou Filme de PVC.
- Pipeta de precisão de 50 µl
- Pipeta Multicanal de Precisão de oito ponteiros (para pipetagem de 50 µl e 100 µl)
- Ponteiros descartáveis compatíveis.
- Temporizador

PROCEDIMENTOS PARA A ANÁLISE

Nota: A utilização de poços em duplicatas de calibradores e amostras proporcionará maior precisão e acurácia nos resultados da análise.

1. Deixe os reagentes do “Kit” e amostras de água estabilizarem à temperatura ambiente entre (20° C a 28° C) antes de iniciar o teste (aproximadamente 30 minutos).
2. Prepare a Solução de Lavagem 1X adicionando o conteúdo do frasco de Solução de Lavagem Concentrada 10X a um frasco contendo 450 mL de água destilada ou deionizada.
3. Coloque a quantidade necessária de tiras de poços no suporte de microplacas apropriado. Não deixe de voltar a lacrar as tiras de placa não utilizadas na embalagem aluminizada, com o dessecante.

Nota: A embalagem original contendo as tiras restantes deve ser lacrada e acondicionada com o dessecante de forma apropriada para restringir a exposição à umidade.

4. Agite ou submeta os frascos de reagentes do kit a um processo de vorticidade antes de iniciar a pipetagem, a fim de promover uma maior homogeneidade dos mesmos.
5. Usando uma pipeta com pontas descartáveis adicione 50 µL de Conjugado Enzimático em cada poço.
6. Usando uma pipeta com ponteiros descartáveis, acrescente 50 µL de calibradores (0 ppb, 0,02 ppb, 0,04 ppb, 0,08 ppb, 0,16 ppb, e 0,4 ppb), e amostras nos seus respectivos poços de ensaio. Não deixe de usar uma pipeta limpa para cada elemento diferente.
7. Pipete 50 µl de Solução de Anticorpo de Saxitoxina (Anti-Saxitoxin) em cada poço.
8. Agite a placa de tiras gentilmente por 30 segundos para garantir uma melhor homogeneização da solução, cubra-a com Parafilme ou Filme de PVC, e deixe incubar por 30 minutos.
9. Despreze o conteúdo dos poços em um recipiente de descarte apropriado. Inunde completamente os poços, até que transbordem, com Solução de Lavagem, e despeje. Repita essa etapa de lavagem três vezes, perfazendo um total de quatro lavagens.
10. Após a última lavagem do ensaio, inverta os poços sobre papel absorvente para remover a maior quantidade possível da solução de lavagem resultante deste processo.
11. Pipete 100 µl de Substrato (Substrate) em cada poço.
12. Agite o suporte de placas gentilmente. Deixe incubar por 30 minutos.

Notas:

- *Durante a incubação deverá ocorrer uma mudança de coloração da solução para um tom azulado.*
- *A intensidade da tonalidade de cor azulada é inversamente proporcional a concentração de Saxitoxina presente nos poços:*
Mais claro = Maior concentração de Saxitoxina
Mais escuro = Menor concentração de Saxitoxina



13. Pipete 100 µl de Solução “STOP” em cada poço na mesma ordem em que foi pipetado o Substrato. Agite o suporte de poços gentilmente para homogeneizar a solução.

ATENÇÃO!

- A Solução “STOP” é Ácido Clorídrico 1N. Manuseie com cuidado.
- Evite o contato com a pele ou membrana mucosa. Limpe imediatamente qualquer respingo e lave a área afetada com água corrente em abundância.

14. Determine as absorbâncias do conteúdo de cada poço usando uma Leitora de Placas com filtro de 450 nm.

15. Para a interpretação dos resultados a “Planilha para Redução de Dados” (Figura 1) fornecida pela DF, em formato digital, deverá ser compilada de acordo com as seguintes instruções:

Estas instruções aplicam-se à equação de regressão lógica de quatro –parâmetros⁽¹⁾ utilizando-se a função “Solver” no Excel. Certifique-se que esta função está instalada no seu computador e selecione “Habilitar Conteúdo” se uma caixa de diálogo aparecer ao se abrir o arquivo. Compile dados somente nas células sombreadas em azul, pois a inserção de dados em outras células resultará no comprometimento da memória de cálculo da tabela.

- I. Entre com os dados referentes à Operador, Data, Identificação do Ensaio, Número do Lote e ID da Amostra.
- II. Após executar o ensaio e registrar os valores das absorbâncias dos calibradores, entre com esses valores na coluna “ABS” da tabela, na Seção I da Planilha, Standards Data. Considere também os fatores de diluição das amostras.
- III. Observe o valor em evidência na célula achurada D29.
- IV. Selecione “Solver” no menu “Ferramentas” ou menu “Dados” em versões mais recentes do Excel.
- V. Pressione “Enter” ou selecione “Solve”.
- VI. Pressione “Enter” ou selecione “OK”

⁽¹⁾A DeLean, P Munson, and D Robard, "Simultaneous Analysis of Families of Signoidal Curves: Applications to Bioassay, Radioligand Assay and Physiological Dose Response Curves," *American Journal of Physiology* 235 (1978): 97-102.

Beacon Analytical Systems, Inc.								
Saxitoxin ELISA Data Reduction Worksheet								
Operator:								
Date:								
Assay ID:								
Kit Lot#:								
Section I) Standards Data								
		Sample #	ppb STX	ABS	% Bo			
			0,00	1,920	100,0			
			0,02	1,520	79,2			
			0,04	1,200	62,5			
			0,08	0,840	43,8			
			0,16	0,490	25,5			
			0,40	0,290	15,1			
Section II) Curve Fitting								
Starting/Final values for Parameters A - D								
		A	B	C	D			
		99,90	1,25	0,05	7,67			
Squares of differences between actual and calculated curves								
	x	0,00	0,02	0,04	0,08	0,16	0,40	
	Y Predicted	99,90	79,43	62,57	42,85	26,62	14,66	
	(Y-Y Pred.) ²	0,01	0,07	0,00	0,80	1,22	0,20	
Minimize sum of square of differences				Correlation Coeff.				
	Min. (Y-Y Pred.) ² =	2,3		R ² =	0,981			
Section III) Sample Calculations								
	#	Sample	ID	L1	L2	ABS	% Bo	ppb STX
						#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
						#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Reviewed & Accepted:					Date:			

Figura 1 – Planilha para Redução de Dados

--- § ---



dF Tecno-Científica

Distribuidor Exclusivo Beacon Analytical Systems Inc.

Beacon
Analytical Systems Inc.

PÁGINA EM BRANCO



dF Tecno-Científica

Distribuidor Exclusivo Beacon Analytical Systems Inc.

Beacon
Analytical Systems Inc.

LINHA DE PRODUTOS BEACON

ALGAL TOXINS	CÓDIGO	LIMITES DE DETECÇÃO
Cylindrospermopsin Plate Kit	(Cat # 20-0149)	0,1 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
Nodularina 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-Metolachor 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 (1.000 ppt = 1 ppb)
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
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



dF Tecno-Científica

Distribuidor Exclusivo Beacon Analytical Systems Inc.

Beacon
Analytical Systems Inc.



dF Tecno-Científica