



## **Cilindrospermopsina Placa**

**Cat. # 20-0149-CA**

# **PROCEDIMENTOS DE ANÁLISE**

**LEIA ESTE MANUAL COMPLETAMENTE ANTES DE UTILIZAR O KIT**

PÁGINA EM BRANCO

---

## FINALIDADE DE USO

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

---

## PRINCÍPIOS DE UTILIZAÇÃO

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

O conjugado enzimático de Cilindropermopsina-HRP é pipetado nos poços da microplaca seguido dos calibradores e das amostras. A Solução de Anticorpos de Cilindropermopsina é então colocada nos poços de ensaio para iniciar a reação. Durante um período de 45 minutos incubação a Cilindropermopsina da amostra e o conjugado enzimático e de Cilindropermopsina-HRP competem entre si por uma ligação com o anticorpo de Cilindropermopsina. Findo o período de incubação de 45 minutos o conteúdo dos poços é removido através de um procedimento de lavagens sequenciais para eliminar qualquer Cilindropermopsina das amostras e o Conjugado Enzimático de Cilindropermopsina-HRP não ligados a Anticorpos de Cilindropermopsina-HRP. 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 45 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 Cilindropermopsina nas amostras é determinada. A intensidade da cor é inversamente proporcional à quantidade de Cilindropermopsina presente na amostra.

---

## MATERIAL FORNECIDO NO KIT DE CILINDROSPERMOPSINA (-N) BEACON

- 1 **Placa** contendo 12 tiras de teste com 8 micro poços cada, embalados a vácuo em uma embalagem aluminizada, com dessecante indicador.
- 7 frascos de vidro, contendo cada um 2 mL de **Calibradores de Cilindropermopsina** correspondentes a 0,0 ppb, 0,05 ppb, 0,1 ppb, 0,3 ppb, 0,5 ppb, 1,0 ppb e 2,0 ppb.
- 1 frasco contendo 2 mL de **Controle Positivo de Cilindropermopsina** (0,75 ppb).
- 1 frasco contendo 7 mL de **Conjugado Enzimático de Cilindropermopsina-HRP**.
- 1 frasco contendo 7 mL de **Anticorpo de Cilindropermopsina 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 25 mL de **Diluyente para Amostras /Diluyente Zero**, para diluição de amostras com altas concentrações de Cilindrospermopsina, acima da faixa da curva de calibração padrão, e também utilizado como **Diluyente Zero** (LRB – Laboratory Reagent Blank).
- 1 **Manual de Procedimentos de Análise**.

---

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

### ESPECIFICIDADE

O kit de Cilindrospermopsina Beacon não diferencia a Cilindrospermopsina de outros componentes similares, porém detecta as suas presenças na amostra em diferentes graus.

COMPONENTES	% REF. CRUZADA
Cilindrospermopsina	100 %
Microcistina-LR	< 1%
Nodularina	< 1%

---

## MATERIAIS REQUERIDOS MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT

- Leitora de Placas ou de Tiras com filtro de 450 nm.
- 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.
- Relógio (Temporizador)
- Frasco para a solução de lavagem.
- Frasco para coleta e diluição de amostra (quando aplicável)
- Toalhas de papel ou material absorvente similar.
- Agitador Vórtex

---

## MANUZEIO E PRECAUÇÕES

1. A utilização de calibradores e amostras em duplicata deverá otimizar a precisão e acurácia dos resultados do ensaio.
2. Os reagentes deverão estar à temperatura ambiente, de 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.
3. Quando armazenado em sua embalagem original e mantido à temperaturas entre 2 °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 Cilindrospermopsina é de 1 (um) ano, contado a partir da sua data de fabricação.
4. Não utilize kits com a data de validade vencida.
5. Não congele os componentes do kit e nem permita que sejam expostos à temperaturas superiores a 37 °C (98 °F).

6. Cilindropermopsina é uma substância tóxica e deve ser manuseada com cuidado e segurança.
7. Não misture reagentes ou tiras de placas de outros Kits de Cilindropermopsina que possuam números de lote diferentes, mesmo que sejam da marca Beacom, ou ainda, originário de outro fabricante.
8. 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 Tecno-Científica para o suporte técnico, caso surja alguma questão relacionada com a devida utilização deste kit.
9. O processo de pipetagem requer permanente atenção e técnica apurada. Os erros de pipetagem são geralmente a maior causa de erros na metodologia de imunoensaios.
10. 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”.
11. A diluição ou a adulteração de reagentes ou amostras não mencionados no procedimento poderá produzir resultados imprecisos.
12. Não use reagentes após a data de vencimento.
13. A Solução Stop é ácido clorídrico 1N, o qual é corrosivo e pode causar irritações. 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.

---

## **PREPARAÇÃO DA AMOSTRA**

1. Colete a amostra em um frasco de vidro limpo.
2. As amostras de água devem ser livres de partículas.
3. Quando ocorrer a necessidade de diluição da amostra utilize o “Diluyente Zero” puro ou simplesmente água destilada ou deionizada com qualidade laboratorial. O fator de diluição deverá ser aplicado ao resultado lido na leitora de microplacas.
4. Caso seja necessário, centrifugue ou filtre as amostras antes de iniciar o teste.

---

## **PROCEDIMENTOS DE ENSAIO**

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

1. Permita que os reagentes do kit e as amostras estabilizem à temperatura ambiente laboratorial.  
Preencha um frasco com água destilada com padrão laboratorial para lavagem.
2. Remova da embalagem aluminizada a quantidade necessária de tiras de po-

ços 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.

3. Usando uma pipeta com pontas descartáveis, adicione 50  $\mu$ L de Conjugado Enzimático em cada poço.
4. Usando uma pipeta com ponteiros descartáveis, acrescente 50  $\mu$ L de calibradores e amostras nos seus respectivos poços de ensaio. Não deixe de usar uma pipeta limpa para cada elemento diferente a ser pipetado.
5. Dispense 50  $\mu$ L de solução Anticorpo de Cilindrospermopsina em cada poço. Agite a placa de tiras gentilmente por 30 segundos para homogeneizar a solução contida nos poços.
6. Deixe incubar por 45 minutos à temperatura ambiente.
7. Após concluir a incubação, despreze o conteúdo dos poços em um recipiente de descarte apropriado. Inunde completamente os poços, até que transbordem, com água destilada ou deionizada com padrão laboratorial, e descarte. Repita essa etapa de lavagem três vezes, perfazendo um total de quatro lavagens.
8. Após a última lavagem do ensaio, inverta os poços sobre papel absorvente para remover a maior quantidade possível da solução de lavagem.
9. Pipete 100  $\mu$ L de Substrato em cada poço. Agite o suporte de placas gentilmente.
10. Deixe incubar por 45 minutos à temperatura ambiente laboratorial.
11. Pipete 100  $\mu$ L de Solução Stop em cada poço de teste. Agite o suporte de poços gentilmente para homogeneizar o conteúdo dos poços.
12. Leia e registre as absorbâncias dos poços utilizando uma leitora de tiras ou de placas com filtro de 450 nm.
13. Se a absorbância de uma amostra for menor que a do maior calibrador (2,0 ppb), isto significa que a concentração de Cilindrospermopsina na amostra é muito alta e encontra-se fora da faixa da curva de calibração. Dilua a amostra com 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 Cilindrospermopsina que se encontre dentro da faixa de detecção da curva de calibração (0,05 ppb a 2,0 ppb). O resultado deverá ser multiplicado pelo fator de diluição utilizado.
14. O valor do Controle Positivo 0,75 ppb deverá estar dentro da faixa de **0,60 ppb a 0,90 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 Cilindrosper-

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

2. A interpretação quantitativa requer uma representação gráfica das absorbâncias dos calibradores (eixo Y) versus o registro do logaritmo da concentração do calibrador (eixo X) em papel semilog. Uma linha reta é traçada, passando pelos pontos dos calibradores, e as absorbâncias das amostras 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 < 0,05 ppb ou > 2 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 DF Tecno-Científica (e-mail: [df@dftecnocientifica.com.br](mailto:df@dftecnocientifica.com.br)) mediante solicitação.

## CÁLCULO DAS AMOSTRAS

Conteúdo dos Poços	OD	Média. OD ± SD*	% RSD	**% Bo	CONCENTRAÇÃO DE CILINDROSPERMOPSINA
0 ppb Calibrador	2,073 2,115	2,09 ± 0,030	1,42	100	N/A
0,05 ppb Calibrador	1,891 1,828	1,86 ± 0,044	2,37	88,8	N/A
0,1 ppb Calibrador	1,751 1,699	1,73±0,037	2,13	82,4	N/A
0,3 ppb Calibrador	1,016 1,018	1,02 ± 0,001	0,14	49,6	N/A
0,5 ppb Calibrador	0,718 0,696	0,71 ± 0,016	2,26	33,8	N/A
1,0 ppb Calibrador	0,413 0,435	0,42 ± 0,016	3,72	20,2	N/A
2,0 ppb Calibrador	0,221 0,231	0,23 ± 0,008	3,41	10,8	N/A
Amostra	0,988 0,979	0,98 ± 0,006	0,65	47,0	0,324

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

\* Desvio padrão

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



**PÁGINA EM BRANCO**



## **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.

BEACON ANALYTICAL SYSTEMS, INC.

82 Industrial Park Road

Saco, ME 04072

Tel. (207) 571-4302

Fax (207) 602-6502

[www.beaconkits.com](http://www.beaconkits.com)

### LINHA DE PRODUTOS BEACON

<b>ALGAL TOXINS</b>	<b>CÓDIGO</b>	<b>LIMITES DE DETECÇÃO</b>
Cylindrospermopsin Plate Kit (-CA)	(Cat # 20-0149-CA)	0,1 ppb - 2,0 ppb
Cylindrospermopsin Plate Kit (-N)	(Cat # 20-0149-N)	0,05 ppb - 2,0 ppb
Microcystin Plate Kit (Std)	(Cat # 20-0068)	0,1 ppb - 2,0 ppb
Microcystin Plate Kit (-N)	(Cat # 20-0068-N)	0,1 ppb - 5,0 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
<b>ANTIBIOTICS</b>		
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
<b>CROP PROTECTION &amp; CHEMICALS</b>		
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
<b>ENVIRONMENTAL CHEMICALS</b>		
Estrone (E1) Plate Kit	(Cat # 20-0216)	200 ppt – 500 ppt
<b>FOOD SAFETY</b>		
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
<b>INDUSTRIAL CONTAMINANTS</b>		
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
<b>MYCOTOXINS</b>		
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
<b>SHELLFISH TOXINS</b>		
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 (-FW)	(Cat # 20-0173-FW)	0,02 ppb - 0,32 ppb
Saxitoxin (-CA)	(Cat # 20-0173-CA)	0,02 ppb – 0,4 ppb

PÁGINA EM BRANCO

