

## Informações do Kit

### Introdução

O teste ROSA T2/HT2 é um teste de tira de fluxo lateral que fornece um resultado quantitativo, quando usado em conjunto com a leitora ROSA-M da Charm Sciences Inc. A toxina T2 e a toxina HT2 é extraída da amostra com o emprego de metanol 70%. O extrato da amostra interage com receptores presentes na tira, de modo que a intensidade do resultado esteja relacionada com a concentração de aflatoxina na amostra.

#### Sensibilidade (baseado no fator de diluição):

0 a 250 ppb toxina T2 e HT2

0 a 2500 ppb toxina T2 e HT2

**Limite de Detecção:** menor que 10 ppb toxina T2 e HT2

## Commodities aprovados na Charm

Cevada	Milho	Glúten	Aveia	Sorgo
Farelo de soja	Trigo	Farinha de trigo		

## Conteúdo do Kit e Equipamentos (Necessários e Opcionais)

Fornecido no Kit	Equipamentos <u>Necessários</u> (adquiridos separadamente)	Equipamentos Opcionais (comercializamos)
<ul style="list-style-type: none"><li>Fitas de teste T2/HT2</li><li>Buffer de diluição T2/HT2</li><li>Controle+ T2/HT2</li><li>Manual de Instruções</li><li>Guia Prático</li></ul>	<b>Comercializamos</b> <ul style="list-style-type: none"><li>Incubadora ROSA (45°C)</li><li>Leitora ROSA-M</li><li>Álcool Metílico (methanol)</li><li>Frascos Graduados</li><li>Balança</li><li>Pipetas descartáveis (100/300ul)</li><li>Microtubos</li><li>Seringas 1,0ml</li><li>Filtros RC15 minisart</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>Impressora</li><li>Micropipetas automáticas</li><li>Papel Filtro</li><li>Suporte p/ microtubo</li></ul> <b>Não comercializamos</b> Triturador de grãos

Para detalhes e pedidos favor contatar a Hexis Científica S/A.

## Armazenamento

Armazene as fitas, o tampão e o controle positivo, sob refrigeração (entre 0°C e 7°C).

## Reagentes e armazenamento

Não há necessidade de refrigeração no transporte dos kits.

### Fitas de teste

- Armazene as fitas, dentro do recipiente fechado hermeticamente, no refrigerador.
- Em ambientes com alta umidade, aguardar de 20 a 30 minutos para abrir o recipiente após retirar do refrigerador para atingir a temperatura ambiente e evitar a condensação.
- Verifique o indicador de umidade. O indicador deve apresentar uma coloração azul. Não usar as fitas, se o indicador de umidade estiver avermelhado ou roxo.
- Remova do recipiente, apenas as fitas que serão usadas no dia. As fitas podem ficar na temperatura ambiente por no máximo 12 horas; se ultrapassarem esse período, as fitas expostas que não foram utilizadas devem ser descartadas.
- Guarde o recipiente no plástico, antes de armazená-lo na geladeira.

### Controle Negativo

- Para preparar o controle negativo, adicione 100µl (0,1ml) de metanol 70% em 1.0ml de Solução Tampão T2/HT2.
- Use 300µl e siga o passo 3 do **Procedimento (ver adiante)**.

### Controle Positivo

- O controle positivo é fornecido seco. Deve ser armazenado sob refrigeração.
- Reconstitua o Controle Positivo com 300µl (0.3ml) de Metanol 70% mais 3.0ml do tampão T2/HT2 e agite por 30 seg. Deixe descansar por 10 minutos em temperatura ambiente. Agite novamente antes de usar.
- O Controle Positivo equivale a um extrato diluído preparado com 100 ppb de toxina T2 no milho.
- Estocar o Controle Positivo reidratado sob refrigeração (0°C a 7°C) por até 1 semana ou distribuir em alíquotas (em até 6h após reconstituir) e congelar a -15°C ou menos por até 2 meses. O descongelamento deve ser vagarosamente, deixando no refrigerador no período da noite ou deixando submerso em água fria. Após descongelar as alíquotas, utilizar o controle positivo em até 24 horas. O controle positivo não pode ser congelado novamente.
- Use 300µl e siga o passo 3 do **Procedimento (ver adiante)**.

### Solução Tampão T2/HT2

- Use o tampão específico para as fitas correspondentes.
- Estoque o tampão ou o microtubo contendo o tampão, sob refrigeração.
- Prepare os microtubos com 1.0ml do tampão T2/HT2.
- Use os microtubos com o tampão na temperatura ambiente (18°C a 30°C).

### Solução de Extração

- Prepare uma solução de 1l de metanol 70% utilizando 300ml de água deionizada ou destilada mais 700ml de metanol concentrado.
- Misture, rotule e armazene a solução de extração à temperatura ambiente.

## Teste de Performance

- Diariamente verifique o desempenho da leitora selecionando o canal apropriado (Canal T2 no modo 3-linhas) e pressione Esc, a tecla 5 e em seguida, a tecla ENTER.
- Testar as tiras de calibração para verificar a performance da leitora. As tiras devem ser testadas no modo correto (ex: afla, fumo, zea e etc...).
- Testar semanalmente os controles Negativo e Positivo para verificar a performance do equipamento e as tiras de testes.  
Leituras válidas dos controles abrangem:
  - Controle Negativo:  $\leq 5$  ppb
  - Controle Positivo: 50 a 150 ppb
- Se as tiras de calibração ou controle não apresentarem resultados apropriados, contatar a empresa Hexis Científica para assistência.

**OBS** – para procedimento mais detalhado, olhar o manual do **Teste de Performance**.

## Cuidados

- Resíduos presentes em cima da fita de teste podem alterar a leitura óptica da Leitora ROSA. Manter as fitas limpas antes de serem inseridas no Leitor ROSA.
- A Incubadora ROSA deve ser limpa e a temperatura deve ser de  $45 \pm 1$  ° C (Verificar o indicador de temperatura presente na Incubadora ROSA). Uma verificação diária com termômetro é recomendado. Mantenha a tampa da Incubadora ROSA abaixada, mas não totalmente fechada, a não ser quando realizar o procedimento.
- A Incubadora ROSA pode levar até 10 minutos para atingir a temperatura ideal dependendo da temperatura do ambiente.
- A maior precisão é atingida com uma amostra representativa adequada e a utilização de uma sub-amostra com o volume de 50g.
- Consulte a Hexis Científica antes de realizar o procedimento de análise em um produto (*commodities*) que não esteja listado no manual (formulações podem alterar o teste de performance).

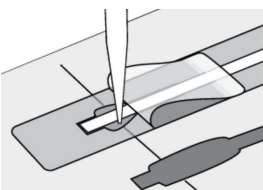
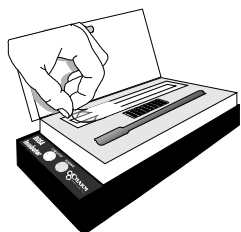
## Extração e Preparo da amostra

1. Obtenha uma amostra representativa (seguir os procedimentos recomendados pelo órgão competente) e triture até uma granulometria de aproximadamente 20-mesh (ex. Farelo). Homogeneizar a amostra.
2. Pese de 10g a **50g** de amostra triturada e adicionar a um frasco limpo e vazio.
3. Adicionar ao frasco contendo a amostra, **2 vezes o peso em volume de metanol 70%** (Ex: 10g de amostra p/ 20ml de metanol 70%; ou **50g de amostra p/ 100ml de metanol 70%**).
4. **Agitar vigorosamente de 1 a 2 minutos.**
5. Aguardar decantar (1-3 minutos) para obter o **extrato da amostra** (padronizar o tempo de decantação necessário para obter um sobrenadante sem partículas). Caso existam partículas suspensas ainda, realize uma centrifugação ou filtração para retirar as partículas do extrato da amostra.
  - Para filtrar, posicionar um papel filtro Whatman 2V ou papel filtro equivalente em um funil, coloque o extrato no interior do funil, e colete o extrato filtrado.
  - Para centrifugar, transfira o extrato da amostra (1.0ml - 1.5ml utilizando uma pipeta de transferência) para um microtubo e centrifugue por 10 seg para obter um extrato purificado.
6. É possível preparar amostras adicionais (até 4 amostras utilizando a Incubadora ROSA), seguindo os passos de 1 a 5 (ver adiante).
7. **Extrato diluído 1** – para amostras com concentrações de 0 a 250 ppb  
**Pipetar 100µl** (0.1ml) do **extrato da amostra** ao tubo contendo **1ml da Solução Tampão T2/HT2** (previamente dispensado), tampar, agitar, e rotular.
8. **Filtrar todos os tipos de produtos (comodities)**, utilizando uma seringa e um filtro MiniSart RC15 e dispensar em um microtubo limpo e vazio. Este é o **Extrato Diluído Filtrado 1**.
9. **Extrato diluído 2** – para amostras com concentrações de 0 a 2500 ppb  
**Pipetar 100µl** (0.1ml) do **extrato diluído 1** no tubo contendo **1ml da Solução Tampão T2/HT2** (previamente dispensado), tampar, agitar, e rotular. Realizar filtração através da seringa (1,0 ml) e o filtro RC15. Dispense o filtrado em um microtubo limpo e vazio. Este é o **Extrato Diluído Filtrado 2**.

## Teste AFLAQ – Procedimento

Ligar a incubadora ROSA e checar a temperatura ( $45 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

**NOTA:** não existem botões na incubadora ROSA, apenas ligue na tomada (aparelho bivolt – 110/220v).



**Passo 1** • **Rotule as fitas teste** com a identificação da amostra;

**Passo 2** • **Coloque as fitas na incubadora ROSA**

- Segure a tira na incubadora e **puxe a fita adesiva até a linha indicada ("Peel")**. Não puxe a fita adesiva acima da linha indicada, isso pode comprometer o teste. Evite levantar a parte de baixo da fita que contém a esponja amarela na hora de abri-la.

**Passo 3** • **Pipete 300 $\mu\text{l}$  ( $\pm 15\mu\text{l}$ ) do extrato diluído filtrado 1 (ou 2) ou controle** no compartimento para amostra da tira. **Nota:** Segure a pipeta verticalmente ( $90^\circ$ ) e pipete o extrato cuidadosamente na linha indicadora que existe na Incubadora ROSA (ver figura ao lado).

**Passo 4** • Sele a fita e verifique se a mesma está encaixada adequadamente no compartimento da incubadora.

- Podem ser analisadas 4 fitas simultaneamente.

**NOTA:** não demorar mais do que 1 minuto para abrir a fita, pipetar e selá-la novamente. Abra, pipete e feche a fita antes de realizar o mesmo procedimento na próxima fita.

**Passo 5** • **Feche a tampa** da incubadora ROSA até travá-la e verifique no visor se a contagem regressiva do tempo se iniciou e a luz vermelha acendeu.

**Passo 6** • Incubar por 10 minutos.

- No final da contagem será emitido um efeito sonoro e a luz amarela e vermelha piscará alternadamente.

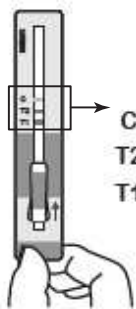
**NOTA:** Não deixar incubar por mais do que 12 minutos.

**Passo 7** • **Retire as fitas e interprete o(s) resultado(s)**. Leia o(s) resultado(s) em até 2 minutos (após os 10 minutos de incubação).

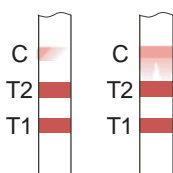
**NOTA:** Tome cuidado para não apertar o compartimento da amostra na fita. Segure a fita com o compartimento da amostra virado para baixo até ser a interpretação no Leitor ROSA e não feche a tampa da incubadora novamente até a leitura de todas as fitas.

## Interpretação visual

Segurar a fita com o compartimento da amostra voltado para baixo. Nunca aperte o compartimento da amostra. Caso haja partículas, como poeira, limpe a fita antes de colocar no Leitor ROSA.



Invalid



O teste é INVÁLIDO caso se observe:

**Linha C (Controle):** Linha Controle ausente

**Linha T1, T2 (Teste) ou C:** manchada ou irregular.

**Linha T1, T2 ou C:** mascaradas pelo extrato.

Se o teste for inválido teste novamente o extrato diluído ou controle com outra fita.

**NÃO COLOQUE RESULTADOS INVÁLIDOS NA LEITORA ROSA-M.**

## Interpretação digital pela leitora ROSA-M



Inserir uma tira limpa e válida na Leitora ROSA-M. Inserir a tira até o final do compartimento. Ler os resultados no canal **T2** (Modo 3-Linha<sup>1</sup>) com a apropriada **MATRIX**<sup>2</sup>. Se desejar, insira o número da amostra (**SAMPLE**) e/ou número do operador (**OPERATOR**). Pressione **ENTER** para realizar a leitura.

Os resultados são sempre salvos na memória e podem ser recuperados a qualquer momento, impressos na impressora, visualizados no display ou baixados em um computador.



**LEITURA:** O número observado é a concentração de T2 e HT2 (ppb) na amostra. O resultado observado na Leitora pode ser convertido em ppm se dividirmos a concentração em ppb por 100 (ex. 100 ppb = 0,1 ppm).

Um "+" no valor de LEITURA significa que a concentração da amostra é maior que a sensibilidade do teste naquela diluição. Ex: um extrato diluído com LEITURA "+250 ppb" na MATRIX 00, indica que a concentração de micotoxina naquela amostra é superior a 250ppb. Neste caso o **extrato diluído 2** deve ser preparado, utilizando uma outra fita T2/HT2, e analisado utilizando a **MATRIX 01** que detecta de 0-2500 ppb.

**Obs. 1:** Ler o manual da Leitora ROSA-M para alternar entre o modo 2-linhas e 3-linhas, bem como para selecionar a MATRIX apropriada.

**Obs. 2:** A MATRIX adequada é a seguinte:

MATRIX 00: Teste com extrato diluído 1 (0 a 250ppb)

MATRIX 01: Teste com extrato diluído 2 (0 a 2500ppb)

## Informações e Garantias

A Charm/Hexis garante que este produto é livre de defeitos nos materiais e manuseio, quando utilizados e armazenados conforme as instruções de aplicação, até a data expressa no rótulo da embalagem.

A Charm/Hexis **NÃO OFERECE NENHUMA OUTRA GARANTIA EXPRESSA OU IMPLÍCITA. NÃO HÁ GARANTIA DE MERCANTIBILIDADE OU CONVENIÊNCIA PARA PROPOSITOS PARTICULARES.**

A Charm/Hexis **NÃO DEVE SER RESPONSABILIZADA POR NENHUMA PERDA OU DANO DIRETO OU INDIRETO RESULTANTE DE PERDAS ECONÔMICAS OU DANOS MATERIAIS SUSTENTADOS PELO COMPRADOR OU CLIENTE DECORRENTE DO USO DESTES PRODUTOS.**