

Экспресс-анализ зерна и кормов на МИКОТОКСИНЫ - ROSA-тест

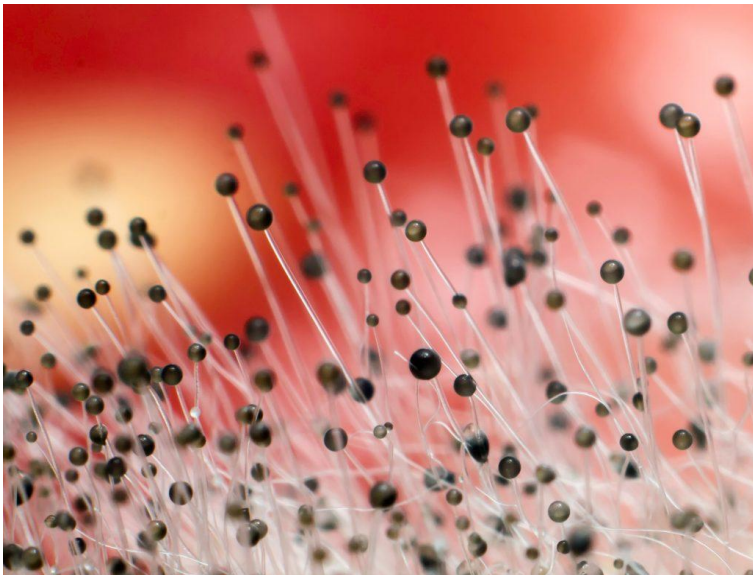


Алексей Кондаков



Введение

Микотоксины - представляют собой природные загрязнители зерна злаковых, бобовых, семян подсолнечника, а также овощей и фруктов. Они образуются при хранении во многих пищевых продуктах под действием развивающихся в них микроскопических грибов.



Вследствие приема зараженной пищи животные могут страдать:

- Токсикозом печени и почек;
- Нарушением гормонального баланса;
- Разрушение нервной и кровеносной системы;
- Снижение иммунитета.

! Микотоксикозы **не поддаются лечению**, именно поэтому особенно большое значение имеют первичные мероприятия по предотвращению заражения.

Для постоянного контроля сельхозсырья используется иммуноферментный метод анализа (ИФА или ELISA). Из-за высокой чувствительности, быстроты, сравнительно низкой стоимости оборудования этот метод считается **оптимальным**.



Несколько лет назад компанией Charm (США) был разработан еще более быстрый метод определения микотоксинов, который называется **ROSA-тест**.

К преимуществам этого метода относятся:

- Быстрота анализа пробы (не более 10 мин.),
- Универсальность (возможность тестирования сырья различного происхождения)
- Простота и удобство.

Сравнительная таблица методов ИФА и ROSA

		Время анализа пробы	Предел обнаружения	Диапазон определения	Основное оборудование и реактивы
Афлотоксин	ИФА	25 мин	4 ppb	4-40 ppb	Ридер, микротитровальный планшет, 8-канальная пипетка, таймер; стандартные растворы афлатоксина, конъюгат, субстрат, остановочный раствор
	ROS A	10 мин	< 2 ppb	0-150 ppb	Инкубатор, ридер; буферный раствор AFQ, положительный контроль
Дон	ИФА	25 мин	250 ppb	250-5000 ppb	Стандартные растворы ДОН, конъюгат, субстрат, остановочный раствор, концентрат промывочного раствора; ридер, микротитровальный планшет, воронки
	ROS A	10 мин	< 250 ppb	0-6 ppm	Буферный раствор ДОН, положительный контроль; инкубатор, ридер

Сравнительная таблица методов ИФА и ROSA

		Время анализа пробы	Предел обнаружения	Диапазон определения	Основное оборудование и реактивы
Зеараленон	ИФА	25 мин	25 ppb	25–1000 ppb	Стандартные растворы зеараленона, конъюгат, субстрат, остановочный раствор; ридер, микротитровальный планшет, таймер
	ROS A	10 мин	< 10 ppb	0–300 ppb	Буферный раствор AFQ, положительный контроль; инкубатор, ридер
Охратоксин	ИФА	25 мин	2 ppb	2–40 ppb	Стандартные растворы охратоксина, конъюгат, субстрат, остановочный раствор; ридер, микротитровальный планшет, таймер
	ROS A	10 мин	< 1 ppb	0–12 ppb	Буферный раствор охратоксина, положительный контроль; инкубатор, ридер

Сравнительная таблица методов ИФА и ROSA

		Время анализа пробы	Предел обнаружения	Диапазон определения	Основное оборудование и реактивы
Т2-токсин	ИФА	25 мин	75 ppb	75–500 ppb	Стандартные растворы Т2, конъюгат, субстрат, остановочный раствор; ридер, микротитровальный планшет, таймер
	ROSA	10 мин	< 10 ppb	0–250 ppb	Буферный раствор Т2-НТ2, положительный контроль; инкубатор, ридер
Фумонизин	ИФА	25 мин	250 ppb	250–5000 ppb	Стандартные растворы фумонизина, конъюгат, субстрат, останавливающий раствор; ридер, микротитровальный планшет, таймер
	ROSA	10 мин	< 250 ppb	0–6 ppm	Буферный раствор фумонизина, положительный контроль; инкубатор, ридер

Экспресс-тест ROSA



Экспресс-тест ROSA портативен и прост в использовании. Для работы с ним требуется минимум базисного оборудования:

- Тест-полоски;
- Инкубатор
- Ридер (только если требуется количественный результат анализа).



Принцип работы

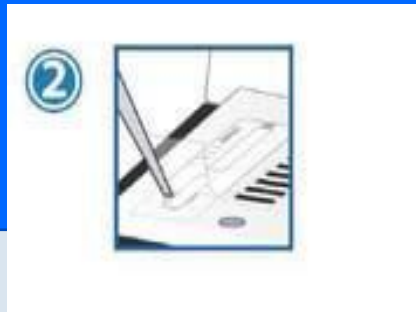
1

На тест-полоску добавляется подготовленный экстракт образца



2

После чего образец помещается в термостат или инкубатор



3

Через некоторое время получаем наглядный результат, позволяющий определить наличие микотоксинов визуально



Оценку количественных результатов тестирования проводят с помощью ROSA-ридера.

Результаты

Итак, результаты могут оцениваться как **визуально**, так и **спектрофотометрически**.

Визуально

Качественный результат позволяет обнаружить микотоксины **через 3 мин.** методом сравнения тестовой линии с контрольной. Также с помощью отдельных тест-полосок можно произвести количественный подсчет, сравнив две тестовые линии с контрольной на основании контрольной шкалы.

Спектрофотометрически

Метод основан на измерении количества интенсивности тестовой линии. Ридер выводит результат в виде числового значения.



В основу ROSA-теста ученые заложили способность рецепторов коллоидного золота притягивать частицы микотоксинов. Это специфичная реакция «антитело–антиген», позволяющая с высокой точностью определить содержание микотоксина в анализируемой пробе.



Предложения

Для выполнения экспресс исследования необходимо приобрести тест-системы и спектофотометр.

Наименование	Описание	Артикул	Предел обнаружения
AgraStrip® Pro Сумма Афлатоксинов WATEX®	40 тестов	10006322	2/1 мкг/кг*
AgraStrip® Pro Деосиниваленол WATEX®	40 тестов	10006320	0.1 мг/кг
AgraStrip® Pro Сумма Фумонизинов WATEX®	40 тестов	10006318	0.1 мг/кг
AgraStrip® Pro Зеараленон WATEX®	40 тестов	10006316	25 мкг/кг
AgraVision™ Pro Ридер	Ридер	10006324	
Микроцентрифуга с ускорением 200g			
Дозатор на 100 мкл			

Цена на уточнении

<https://atl-ltd.ru/kupit/agrastrip-pro-watex-agravisision-pro/>



Предложения

В качестве альтернативного метода исследования нужно приобрести другой спектрофотометр для измерения микотоксинов и набор реагентов с тест-системой.

! Однако, в отличие от предыдущего метода исследования, в этом случае время для выполнения может быть затрачено несколько больше.

Механизм определения VERATOX

Для определения Neogen использует три варианта реакций, основанных на твердофазном гетерогенном иммуферментном анализе – ELISA (enzyme linked immunosorbent assay). Ниже рассмотрен порядок проведения прямого фермент-связанного иммуносорбентного анализа (CD-ELISA) на полистирольных планшетах (лунках), который применяется при определении гистаминов и микотоксинов.

1. Планшеты покрыты антителами, специфичными к исследуемому веществу.
2. Конъюгат реагирует с исследуемым и/или контрольным образцами для связывания с участками антител.
3. Конъюгат и исследуемое и/или контрольное вещества остаются в связанном состоянии в планшете.
4. Для изменения окраски добавляется субстрат.
5. Результаты выявляются визуально или с помощью спектрофотометра - чем меньше синего цвета и больше красного, тем больше концентрация искомого вещества.

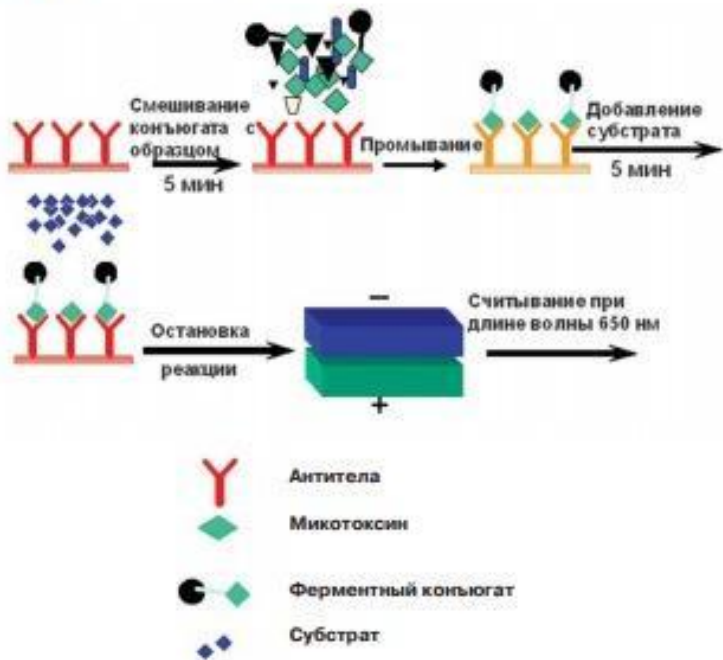


Рис. 5. Изменение цвета субстрата в зависимости от концентрации микотоксинов



Рис. 6. Спектрофотометр StatFax 321 для количественного определения содержания микотоксинов

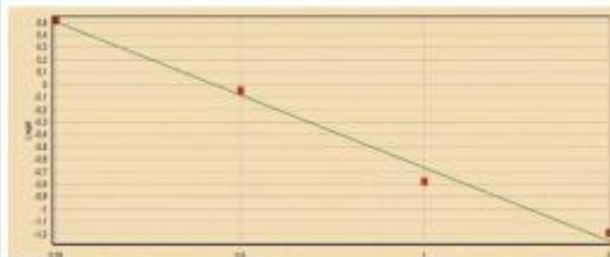


Рис. 7. Калибровочная кривая для количественного определения содержания микотоксинов

Применение метода ИФА в птицеводстве

Введение

Наблюдая за эволюцией распространения болезней птицы в мире, становится понятным, что пришло время концентрировать свои усилия на предотвращении заболеваний, а не на их лечении. К такому выводу подталкивают две предпосылки:

- Сужается гамма разрешенных к применению в птицеводстве лекарственных средств
- Расходы, которые возникают в результате заболевания птицы (даже если поголовье вылечено), становятся слишком большими.

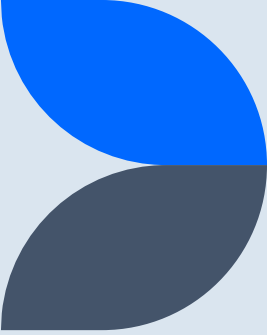
Исходя из этого, стратегия предотвращения заболеваний должна базироваться на **качестве** обслуживания ферм, генетической **стойкости** птицы и на **комплексе** диагностических и профилактических мероприятий. Именно максимально ранняя диагностика инфекционных заболеваний является гарантом снижения возможных экономических потерь.



Основа применения

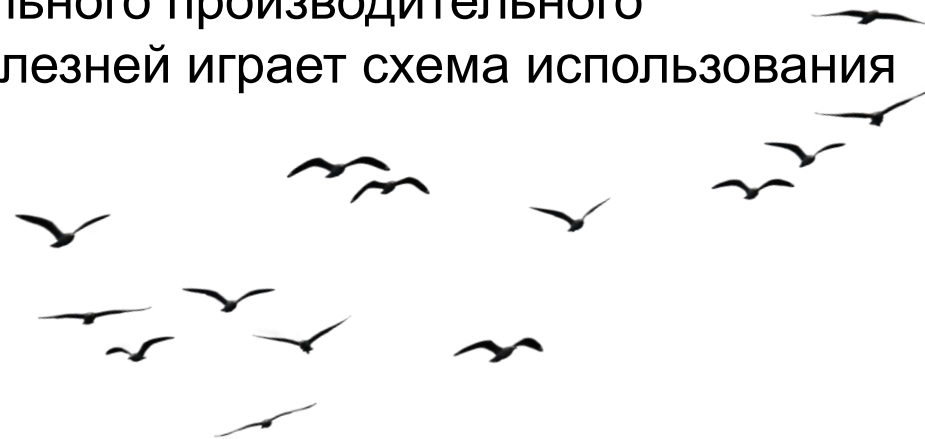
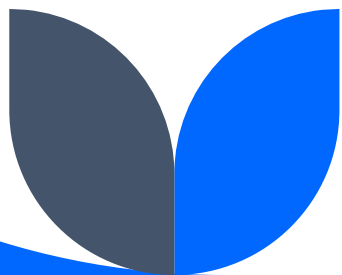
Использование иммуноферментного анализа от «BioChek» предоставляет следующие возможности:

- 1 Создать собственную систему контроля** (референтный контроль и референтная куриная сыворотка), что позволяет быть уверенным в правильности работы компонентов набора, соблюдения условий и методики реакции.
- 2 Составить и проанализировать эпизоотическую ситуацию** относительно особенно опасных вирусных болезней птицеводства. Оценить степень иммунитета поголовья и потенциальных проблем со здоровьем и продуктивностью птицы.
- 3 Создать собственную базу титров птицефабрики** в программе «BioChek», что в последующем облегчает обработку и хранение результатов. Интерпретация полученных результатов нуждается в опыте, который нарабатывается путем сбора и хранения информации и дальнейшего сравнения ее с ранее полученными результатами.
- 4 Разработка и применение схемы серомониторинга** для ремонтных, родительских и товарных стад с помощью методических указаний «BioChek»
- 5 Провести мониторинг вакцинации.** Оптимизация время проведения вакцинации, вид программы, метод применения вакцины.



Мониторинг племенной птицы проводится в установленные моменты после первичной и вторичной вакцинации.

- **Первичный** ответ антител в сыворотке крови птицы после контакта с инфекционным агентом или вакцинации можно обнаружить уже через 7–10 дней, и обычно они достигают пика в течение 2–3 недель. Уровень антител обычно снижается через несколько дней после пика, поскольку патоген инактивируется и выводится.
- **Вторичный** иммунный ответ наступает быстрее после вторичного заражения или ревакцинации, чем при первичном ответе. Обычно уровень антител при вторичном ответе снижается медленнее в течение более длительного времени. Правильно проведенная первичная вакцинация очень важна для получения высоких и стойких титров в течение 40-недельного производительного цикла. Важную роль в профилактике этих болезней играет схема использования вакцинных препаратов



Предложения

В данном исследовании можно приобрести только тест-системы для определения иммунного ответа у птиц.

Данные тесты имеют широкий спектр выполнения тех или иных исследований.



Тесты ИФА компании BioChek являются специфическими для определения антител или антигенов при заболеваниях, распространенных у разного вида животных. В каждый набор входят: планшеты, с наслоённым на дно «коктейлем» антигена, конъюгат, специфичный для каждого заболевания, растворитель, субстрат с таблетками, набор солей для приготовления промывочного буфера, а также положительный и отрицательный контроли. Для проведения непрерывного контроля качества собственных результатов применяется предварительно разведенный референсный контроль. Результаты тестов выдаются в числовых значениях оптической плотности (ОП), что позволяет осуществить их количественную интерпретацию.

СК108	ORT	Набор для выявления антител к возбудителю Орнитобактериоза (ORT)	480 тестов
СК109	MM	Набор для выявления антител к возбудителю <i>Mycoplasma meleagridis</i> (Микоплазма Мелеагридис)	480 тестов
СК110	REO	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного реовируса (REO)	480 тестов
СК112	EDS	Набор для выявления антител к возбудителю Синдрома Снижения Яйценоскости – (EDS)	480 тестов
СК113	IBD	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционной бурсальной болезни (IBD)	480 тестов
СК114	MG	Набор для выявления антител к возбудителю <i>M.Gallisepticum</i> (MG)	480 тестов
СК115	MS	Набор для выявления антител к возбудителю <i>M.Synoviae</i> (MS)	480 тестов
СК116	NDV	Набор для выявления антител к возбудителю Болезни Ньюкасла (NDV)	480 тестов
СК117	GpD	Набор для выявления антител к возбудителю <i>Chicken Salmonella</i> (LPS Group D)	480 тестов
СК118	GpB	Набор для выявления антител к возбудителю <i>Chicken Salmonella</i> (LPS Group B)	480 тестов
СК119	IBV	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного бронхита (IBV)	480 тестов

СК120	ART	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного ринотрахеита (ART)	480 тестов
СК121	AI Ab	Набор для выявления антител к возбудителям Гриппа птицы Avian Influenza	480 тестов
СК123	AE	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного энцефаломиелита (AE)	480 тестов
СК124	ILT	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного Ларинготрахеита (ILT)	480 тестов
СК125	REV	Набор для определения антител к возбудителю Ретикулоэндотелиоза (REV)	480 тестов
СК126	CAV	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционной Анемии (CAV)	480 тестов
СК131	BLS	Набор обнаруживает и определяет количество антител к Увеличенная Печень и Селезенка (BLS)	480 тестов
СК132	FADV	Набор для обнаружения антител к Аденовиروзу группы 1	480 тестов
СК215	MG/M S	Набор для выявления антител к возбудителю M.Gallisepticum (MG) и M.Synoviae (MS)	480 тестов
СК218	SE/ST	Набор для обнаружения антител к возбудителю сальмонеллеза птиц типов В и D методом	480 тестов
СК301	AI Ag	Набор для определения антигена гриппа птиц (тип А)	192 теста

СК401	AI Mult	Набор для определения антител типа А вируса гриппа у всех видов с-х животных и птицы	480 тестов
СК422	LLAG	Набор для определения количества антигена лейкоза птиц	480 тестов
RF11	Chicken ref	Референсный контроль птицеводство	5 мл
	RCR	Конъюгатный реагент. Специфичен для каждого набора	55 мл
	RSR	Субстратный реагент. Является неспецифичным и универсальным для любого набора.	55 мл

Время на выполнение и цена на уточнении

<https://vicgroup.ru/catalog/diagnosticheskie-test-sistemy-biochek/>

Иммуноферментный метод определения глютена

Введение



Глютен — сложный белок, который содержится в ячмене, ржи, пшенице, овсе. Он обеспечивает питание зародышей культуры на стадии роста и развития. Название происходит от английского gluten (glue — клей), поэтому в народе встречается другое название — клейковина. Он не имеет цвета, запаха в сухом виде, но при соединении с водой становится похожим на серый кисель.

Суть ИФА

Тест основан на использовании пары моноклональных антител и позволяет определить **глиадин** с максимальной чувствительностью и специфичностью, в том числе после продолжительной тепловой обработки пищевых продуктов.

Тест определяет также секалин (проламин ржи), в меньшей степени гордеин (проламин ячменя). НЕ определяет аналогичные антигены в составе овса, кукурузы, риса, гречихи, бобовых, орехов и других растений

В водных растворах определяет глиадин в концентрации около 1 ppm (1 мкг/г), что соответствует 2 ppm глютена.

Данный тест НЕ предназначен для анализа материалов, в которых глютен был заведомо подвергнут ферментативному или химическому разрушению (гидролизу) – например, пива, кваса, соусов. Фрагменты глиадина неспособны связать оба антитела ввиду своего малого размера.

При сомнительных результатах рекомендуется проводить определение глиадина лабораторными методами (например, ИФА ХЕМА)



Выполнение теста

Для выполнения данного теста нужен простейший **таймер** и хорошо **освещенное место**.

- 1 Все компоненты теста должны быть доведены до комнатной температуры.
- 2 Погрузите тест-полоску ДО РИСКИ в подготовленный жидкий образец и подержите 5–10 секунд.
- 3 Положите полоску горизонтально на **ЧИСТУЮ** поверхность; не трогайте и не перемещайте полоску.
- 4 Считывать результат следует через 15 мин. после погружения полоски в образец.

! **ВНИМАНИЕ:** данный тест настроен на высокую чувствительность определения; очевидные образцы, содержащие глютен в высокой концентрации, могут в некоторых случаях показывать кажущееся ослабление результата из-за перегрузки теста («эффект прозоны»). Если такая ситуация возможна, после переноса капли экстракта в Пробирку для анализа добавьте в нее кипяченую воду доверху.

Интерпретация результатов

- Тест считается **ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМ** если появились **ДВЕ** цветные линии. Не важно, которая из линий сформировалась первой.
- Тест считается **ОТРИЦАТЕЛЬНЫМ**, если видна только одна цветная линия.
- Если не сформировалась **НИ ОДНА** видимая цветная линия, тест считается **недействительным**.

В среднем время выполнения составляет **около 30 минут**.



Предложения

В данном исследовании необходимо приобрести следующую тест-систему.

Информация для заказа

Область использования: <ul style="list-style-type: none">• ИФА наборы для определения антибиотиков, микотоксинов, гормонов (food safety & drug residues)	Производство:	ООО "Хема"
	Метод:	
	Объем:	
	Кат. номер:	X380.2
Цена (с НДС 20%):	по запросу	В корзину 🛒

Наименование: ХЕМАТест Глютен Х380.2 (2 тест-полоски) .
Примечание: Иммунохроматографический тест для качественного выявления глютена (глиадина) в пищевых продуктах и смывах.

<https://www.id.ru/IFA/item-611765.html>



**Спасибо
за внимание**