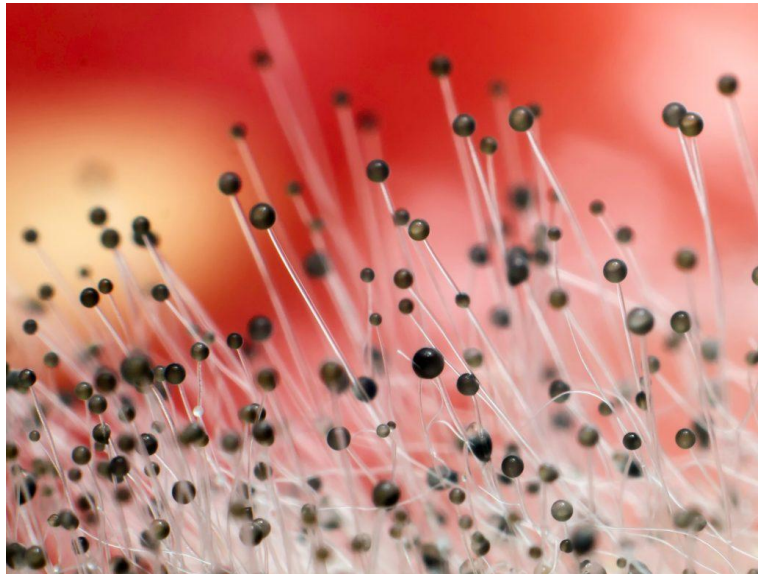
Экспресс-анализ зерна и кормов на микотоксины - ROSA-тест

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	Диапозон определения	Основное оборудование и реактивы
Афлотоксин	ИФА	25 мин	4 ppb	4-40 ppb	Ридер, микротитровальный планшет, 8-канальная пипетка, таймер; стандартные растворы афлатоксина, коньюгат, субстрат, остановочный раствор
	ROSA	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, коньюгат, субстрат, остановочный раствор, концентрат промывочного раствора; ридер, микротитровальный планшет, воронки
	ROSA	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	Диапозон определения	Основное оборудование и реактивы
Зеараленон	ИФА	25 мин	25 ppb	25–1000 ppb	Стандартные растворы зеараленона, коньюгат, субстрат, остановочный раствор; ридер, микротитровальный планшет, таймер
	ROSA	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, коньюгат, субстрат, остановочный раствор; ридер, микротитровальный планшет, таймер
	ROSA	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	Диапозон определения	Основное оборудование и реактивы
Т2-токсин	ИФА	25 мин	75 ppb	75–500 ppb	Стандартные растворы Т2, коньюгат, 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, коньюгат, 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-agravision-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 иммуноферментном 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.

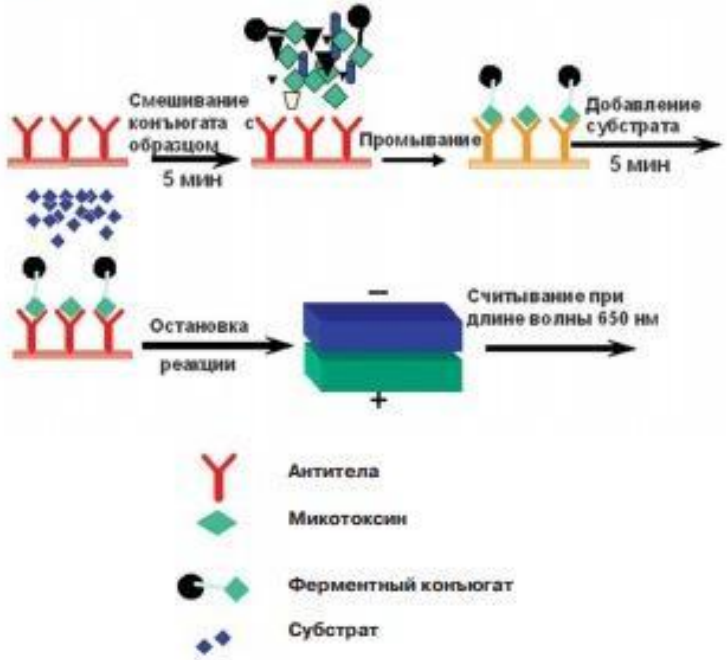


Рис. 5. Изменение цвета субстрата в зависимости от концентрации микотоксинов

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

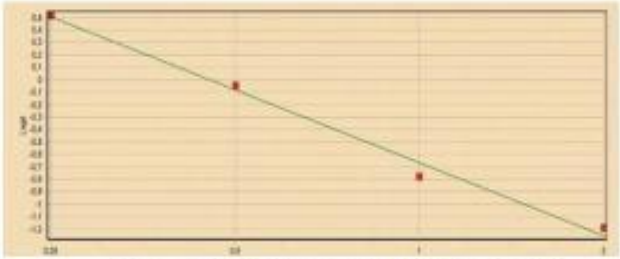


Рис. 7. Калибровочная кривая для количественного определения содержания микотоксинов

https://grainlab.ru/catalog/oborudovanie-dlya-analiza-zerna/ekspress-testy/test-sistema-veratox-dlya-kolichestvennogo-opredeleniya-prirodnyx-toksinov/

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.

Соответствующая вакцина
Правильное хранение вакцины
Высокий уровень поствакцинального имунитета
Ожидаемые результаты (высокий уровень производства)
Отсутствие имунодефицита
Правильно избранная программа вакцинации
Отсутствие стресов
Правильная техника вакцинации
Хорошее состояние здоровья птицы

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 иммуного 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 «коктелем» антигена, коньюгат, 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.

CK108	ORT	Набор для выявления антител к возбудителю Орнитобактериоза (ORT)	480 тестов
CK109	MM	Набор для выявления антител к возбудителю Mycoplasma meleagridis (Микоплазма Мелеагридис)	480 тестов
CK110	REO	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного реовируса (REO)	480 тестов
CK112	EDS	Набор для выявления антител к возбудителю Синдрома Снижения Яйценоскости – (EDS)	480 тестов
CK113	IBD	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционной бурсальной болезни (IBD)	480 тестов
CK114	MG	Набор для выявления антител к возбудителю M.Gallisepticum (MG)	480 тестов
CK115	MS	Набор для выявления антител к возбудителю M.Synoviae (MS)	480 тестов
CK116	NDV	Набор для выявления антител к возбудителю Болезни Ньюкасла (NDV)	480 тестов
CK117	GpD	Набор для выявления антител к возбудителю Chicken Salmonella (LPS Group D)	480 тестов
CK118	GpB	Набор для выявления антител к возбудителю Chicken Salmonella (LPS Group B)	480 тестов
CK119	IBV	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного бронхита (IBV)	480 тестов

CK120	ART	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного ринотрахеита (ART)	480 тестов
CK121	AI Ab	Набор для выявления антител к возбудителям Гриппа птицы Avian Influenza	480 тестов
CK123	AE	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного энцефаломиелита (AE)	480 тестов
CK124	ILT	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционного Ларинготрахеита (ILT)	480 тестов
CK125	REV	Набор для определения антител к возбудителю Ретикулоэндотелиоза (REV)	480 тестов
CK126	CAV	Набор для выявления антител к возбудителю инфекционной Анемии (CAV)	480 тестов
CK131	BLS	Набор обнаруживает и определяет количество антител к Увеличенная Печень и Селезенка (BLS)	480 тестов
CK132	FADV	Набор для обнаружения антител к Аденовирозу группы 1	480 тестов
CK215	MG/MS	Набор для выявления антител к возбудителю M.Gallisepticum (MG) и M.Synoviae (MS)	480 тестов
CK218	SE/ST	Набор для обнаружения антител к возбудителю сальмонеллеза птиц типов B и D методом	480 тестов
CK301	AI Ag	Набор для определения антигена гриппа птиц (тип A)	192 теста

CK401	AI Mult	Набор для определения антител типа А вируса гриппа у всех видов с-х животных и птицы	480 тестов
CK422	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 приборести следующую тест-систему.

Информация для заказа

Область использования: • 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: ХЕМАTest Глютен X380.2 (2 тест-полоски) .
Примечание: Иммунохроматографический тест для качественного выявления глютена (глиадина) в пищевых продуктах и смывах.

https://www.ld.ru/IFA/item-611765.html

Спасибо
за внимание