



Министерство здравоохранения  
Республики Беларусь



НИИ гигиены, токсикологии, эпидемиологии,  
вирусологии и микробиологии

# СКРИНИНГОВЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МИКОТОКСИНОВ В ПРОДУКЦИИ И СЫРЬЕ

**АВТОРЫ: Шарамков И.В., Белышева Л.Л., Шарамков В.А., Миклук И.В.**



Область применения:

Контроль безопасности пищевых продуктов, продовольственного сырья животного и растительного происхождения, а также кормов для животных.

Назначение:

Определение микотоксинов в пищевой продукции, сырье и кормах для оценки соответствия нормативным правовым актам.

Цель исследования:

Оценить возможность применения скрининговых методов определения микотоксинов с использованием доступных коммерческих тест-наборов и их валидности для оценки безопасности пищевой продукции, сырья и кормов.

**Микотоксины - это токсичные вторичные метаболиты плесневых грибов с канцерогенным, мутагенным и иммуносупрессивным действием.**

**Оказывают влияние на печень, ингибируют синтез белка человека, вызывает гормональное нарушение у животных.**

Нормативные значения содержания микотоксинов в соответствии с законодательством Республики Беларусь и ЕАЭС\*

| Обозначение микотоксинов  | Предельно допустимые уровни содержания микотоксинов в продукции, мг/кг |           |                              |                |        |                                         |                  |                               |                               |                               |
|---------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------------------|----------------|--------|-----------------------------------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                           | Зерно                                                                  | Комбикорм | Сахар и кондитерские изделия | Мучные изделия | Отруби | Продукты переработки и злаковых культур | Молочные изделия | Продукты для детского питания | БАД на основе пищевых волокон | БАД на основе молочного сырья |
| AF B1                     | 0,005                                                                  | 0,02      | 0,005                        | 0,005          | -      | -                                       | 0,0005           | 0,00015                       | 0,005                         | -                             |
| AF M1                     | 0,005                                                                  | -         | -                            | -              | -      | -                                       | -                | 0,00002                       | 0,0005                        | 0,0005                        |
| DON                       | 0,7                                                                    | 1         | -                            | 0,7            | -      | -                                       | -                | 0,05                          | 0,7                           | -                             |
| T 2                       | 0,1                                                                    | 0,1       | -                            | -              | -      | -                                       | -                | 0,05                          | -                             | -                             |
| ZEN                       | 1                                                                      | 1         | -                            | -              | 1      | 0,2                                     | -                | 0,005                         | 1                             | -                             |
| OT A                      | 0,005                                                                  | 0,05      | -                            | -              | -      | -                                       | -                | 0,0005                        | -                             | -                             |
| Fum                       | 4                                                                      | 5         | -                            | -              | -      | -                                       | -                | 0,2                           | -                             | -                             |
| Summ B1, B2, G1, G2 (AFT) | -                                                                      | 0,02      | -                            | -              | -      | -                                       | -                | -                             | -                             | -                             |

\* НПА, устанавливающие требования: ГН от 25 января 2021 г. № 37, ТР ЕАЭС 047/2018, ТР ТС 015/2011, ТР ТС 033/2013, ТР ТС 021/2011, ТР ТС 029/2012.

## Иммунохроматографический анализ (ИХА)

Качественный, полуколичественный метод. В микролунке с подготовленным образцом находятся лиофилизированные антитела, конъюгированные с частицами золота, специфичные к анализам. При отсутствии анализа в подготовленном образце антитела мигрируют по хроматографической полоске, взаимодействуя с антигеном, формируя цветные линии. При наличии анализа выше предела обнаружения он связывает антитела, предотвращая или ослабляя окрашивание линий относительно контрольной.

## Флуоресцентный анализ

Качественный, полуколичественный метод. Метод сочетает тонкослойную хроматографию и специфическое связывание антиген-антитело с флуоресцентными метками для детекции. Подготовленный образец вносится в специальную тест-кассету, где флуоресцентно-меченные антитела взаимодействуют с анализами. Количественный (полуколичественный) анализ проводится иммунофлуоресцентным ридером, интерполирующим концентрацию анализа по градуировочной кривой с ID-чипа, построенной производителем с использованием стандартных образцов.

## Иммуноферментный анализ (ИФА)

Количественный метод. Прямой твердофазный конкурентный ИФА основан на взаимодействии микотоксинов с иммобилизованными на планшете антителами. В лунки вносят экстракт пробы и конъюгат, инкубируют, отмывают несвязавшиеся компоненты, добавляют субстрат, формирующий окрашенные комплексы. После остановки реакции измеряют оптическую плотность, обратно пропорциональную концентрации микотоксина, с помощью ИФА-анализатора (иммунофлуоресцентного ридера) по градуировочным характеристикам построенным с использованием градуировочных растворов и специального программного обеспечения.

# Порядок проведение анализа различными методами

## Иммунохроматографический анализ (ИХА)



## Флуоресцентный анализ



## Иммуноферментный анализ (ИФА)



# Характеристики некоторых доступных скрининговых методов определения содержания микотоксинов с использованием коммерческих тест-наборов

## Иммунохроматографический анализ (ИХА). Качественный метод.

| Определяемый компонент (микотоксин) | Сумма афлатоксинов             | Зеараленон                            | T-2 Токсин          | Фумонизин        | Дезоксиниваленол                                       | Охратоксин А     | Охратоксин А                 | Афлатоксин М1              | Патулин        |
|-------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---------------------|------------------|--------------------------------------------------------|------------------|------------------------------|----------------------------|----------------|
| Матрица                             | Зерновые и корма               | Зерновые и корма                      | Зерновые и корма    | Зерновые и корма | Зерновые и корма                                       | Зерновые и корма | Зерновые и корма, вино, кофе | Молоко и молочные продукты | Овощи и фрукты |
| Пределы обнаружения, мкг/кг         | 1 / 3-5 / 8-10 / 15-20 / 45-50 | 75-100 / 200-250 / 400-450 / 800-1000 | 300-500 / 1800-2000 | 30 / 5           | 400-500 / 800-1000 / 1500-2000 / 2500-3000 / 4500-5000 | 40-50 / 80-100   | 5 / 2 / 5                    | 0,04-0,05                  | 50             |

## Иммунохроматографический анализ (ИХА). Полуколичественный метод.

|                                                               |                  |                  |                  |                  |                |                            |
|---------------------------------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|----------------|----------------------------|
| Матрица                                                       | Зерновые и корма | Зерновые и корма | Зерновые и корма | Зерновые и корма | Овощи и фрукты | Молоко и молочные продукты |
| Определяемый компонент (микотоксин)                           | Дезоксиниваленол | Афлатоксин В1    | Зеараленон       | Охратоксин А     | Патулин        | Афлатоксин М1              |
| Диапазон определения, мкг/кг                                  | 200-8000         | 2-70             | 60-1000          | 2-50 / 30-400    | 0-200          | 15-150                     |
| Предел обнаружения, мкг/кг                                    | 200              | 2                | 60               | 2 / 30           | 10             | 15                         |
| Предел количественного определения, мкг/кг                    | 500              | 5                | 100              | 5 / 50           | 20             | 50                         |
| Относительное СКО (CV), %                                     | ≤15              | ≤15              | ≤15              | ≤15              | ≤15            | ≤15                        |
| Предел повторяемости $r_{отн}$ , %                            | 42               | 42               | 42               | 42               | 42             | 42                         |
| Предел промежуточной прецизионности $R_{i(ТО)}$ , %           | 42               | 42               | 42               | 42               | 42             | 42                         |
| Относительная расширенная неопределенность при k=2, $U^0$ , % | 50               | 50               | 50               | 50               | 50             | 50                         |

# Характеристики некоторых доступных скрининговых методов определения содержания микотоксинов с использованием коммерческих тест-наборов

## Флуоресцентный анализ. Полуколичественный метод.

|                                                               |                                                             |                                        |                                                             |                                                             |                                        |                                        |                                                             |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Матрица                                                       | Зерно и субпродукты, комбикорма, орехи и растительные масла | Зерно и субпродукты, комбикорма, орехи | Зерно и субпродукты, комбикорма, орехи и растительные масла | Зерно и субпродукты, комбикорма, орехи и растительные масла | Зерно и субпродукты, комбикорма, орехи | Зерно и субпродукты, комбикорма, орехи | Зерно и субпродукты, комбикорма, орехи и растительные масла |
| Определяемый компонент (микотоксин)                           | Афлатоксин В1                                               | Дезоксиниваленол                       | Зеараленон                                                  | Охратоксин А                                                | Т-2 Токсин                             | Фумонизин                              | Сумма афлатоксинов                                          |
| Диапазон определения, мкг/кг                                  | 1-50                                                        | 50-5000                                | 10-1000                                                     | 2,5-50                                                      | 10-1000                                | 100-10000                              | 1-50                                                        |
| Предел обнаружения, мкг/кг                                    | 1                                                           | 50                                     | 10                                                          | 2,5                                                         | 10                                     | 100                                    | 1                                                           |
| Предел количественного определения, мкг/кг                    | 2                                                           | 100                                    | 20                                                          | 5                                                           | 20                                     | 200                                    | 2                                                           |
| Предел повторяемости $r_{отн}$ %                              | 42                                                          | 42                                     | 42                                                          | 42                                                          | 42                                     | 42                                     | 42                                                          |
| Предел промежуточной прецизионности $R_{i(ТО)}$ , %           | 42                                                          | 42                                     | 42                                                          | 42                                                          | 42                                     | 42                                     | 42                                                          |
| Относительная расширенная неопределенность при k=2, $U^0$ , % | 50                                                          | 50                                     | 50                                                          | 50                                                          | 50                                     | 50                                     | 50                                                          |

## Иммуноферментный анализ (ИФА). Количественный метод.

|                                                               |               |            |                  |
|---------------------------------------------------------------|---------------|------------|------------------|
| Определяемый компонент (микотоксин)                           | Афлатоксин В1 | Зеараленон | Дезоксиниваленол |
| Диапазон определения, мкг/кг                                  | 1,5-60        | 10-1000    | 80-8000          |
| Предел обнаружения, мкг/кг                                    | 0,04          | 0,1        | 2                |
| Предел количественного определения, мкг/кг                    | 1,5           | 10         | 80               |
| Предел повторяемости $r_{отн}$ %                              | 28            | 28         | 28               |
| Предел промежуточной прецизионности $R_{i(ТО)}$ , %           | 42            | 42         | 42               |
| Относительная расширенная неопределенность при k=2, $U^0$ , % | 28            | 28         | 28               |

# Заключение

1. В результате проведенных исследований по оцениванию рабочих характеристик (включая показатели точности измерений) и валидации скрининговых методов определения микотоксинов с использованием коммерческих тест-наборов определяются и описываются:
  - методические подходы по организации лабораторного контроля определения содержания микотоксинов, включая правила принятия решения;
  - методы определения содержания микотоксинов с использованием коммерческих тест-наборов и их метрологические характеристики.
2. Обоснована валидность (возможность) применения скрининговых методов с использованием коммерческих тест-наборов для определения микотоксинов в продукции с целью оценки ее в соответствии с действующим законодательством.
3. Использование скрининговых качественных, полуколичественных и количественных экспресс-методов позволяет принять решение о наличии/отсутствии микотоксинов в продукции на уровнях и в диапазоне, указанных инструкциях по применению к тест-наборам и методической документации. Решение о соответствии продукции нормативным значениям и необходимости подтверждения результатов «референтными» методами принимается на основании оценки рисков.
4. Применение методов иммунохроматографического, флуоресцентного, иммуноферментного анализа для осуществления скринга позволит достигать основную цель по повышению эффективности лабораторных исследований путем сокращения времени и затрат на исследование с выдачей достоверного результата.