

TOXINAS

OKATEST

El consumo de moluscos contaminados con toxinas del grupo del ácido okadaico (AO, DTX1, DTX2 y sus ésteres) causan la intoxicación diarreica por moluscos (DSP o VDM). La inhibición de la actividad de las enzimas fosfatasa (PP1 y PP2A) por este grupo de toxinas a las que se atribuyen estos desórdenes diarreicos.

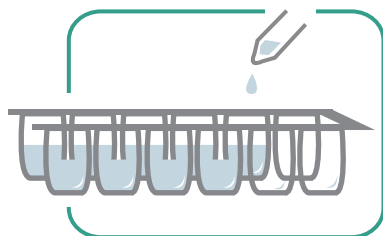
OkaTest es un ensayo colorimétrico basado en la inhibición de la actividad de la fosfatasa PP2A. El kit permite la cuantificación de las toxinas del grupo del ácido okadaico, para el cual la fosfatasa es la diana biológica. Este método es aplicable a moluscos bivalvos como mejillones, almejas, ostras y vieiras.

Detección de las toxinas del grupo AO en moluscos bivalvos

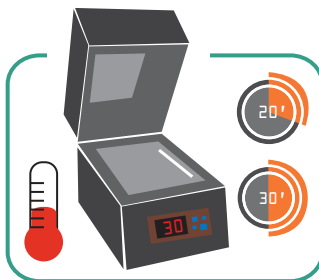


- ✓ **Rápido:** 43 muestras en unas 2.5 horas
- ✓ **Simple :** Sólo 2 etapas de fácil realización
5 estándares de AO listos para usar
- ✓ **Quantitativo:** Rango de trabajo: 63 -352 µg/Kg
LOQ: 56 µg/Kg
- ✓ **Formatos:** Formato de 48 ó 96 muestras
- ✓ **Equipo:** Lector de placas de 405 nm

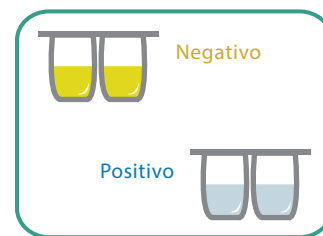
Procedimiento de ensayo



- 1 Extracción de la muestra**
50 µL muestra/estándar
70 µL fosfatasa



- 2 Incubación:** 30°C/20 min
90 µL sustrato -30°C/30 min



- 3 Resultado - lectura**
fotométrica a 405 nm



Parametro	Resultado	
Límite de detección (LOD) n=8	44 µg equivalentes AO /kg (Blanco + 3SD) (mejillón)	
Límite de Cuantificación (LOQ) n= 8	56 µg equivalentes AO /kg (Blanco + 10SD) (mejillón)	
Curva de Calibrado	0.5 nM-2.8 nM	
Rango de trabajo	desde 63 hasta 352 µg equivalentes AO /kg	
Precisión: Repetibilidad (Mejillón)	Concentración añadida (µg equiv. AO /kg)	RSDr (n=8)
	124	3.9%
	276	1.4%
Reproducibilidad intra-laboratorio (Mejillón)	Concentración añadida (µg equiv. AO /kg)	RSDR (n=3)
	88	7.0%
	122	7.8%
	282	2.4%
Exactitud: Recuperación, %, n=5	Concentración añadida (µg equiv. AO /kg)	Recuperación (RSDR)
	80	101% (14.6%)
	160	90% (8.9%)
	240	78% (5.4%)
	80	114% (9.9%)
	160	98% (8.4%)
	240	106% (8.7%)
	80	102% (14.5%)
	160	79% (11.7%)
	240	88% (16.9%)
Dopada con DTX 2 Matriz: mejillón	80	93% (2.3%)
Reproducibilidad estimada entre laboratorios	Concentración (µg equiv. AO /kg)	RSDR
	98.8-275.0	8.0-13.2%



- Los resultados obtenidos de las diferentes estudios y validaciones realizados con OkaTest (Smienk et al. 2012, Smienk et al. 2013) han demostrado que OkaTest cumple con los requisitos exigidos por la legislación para la determinación cuantitativa de las toxinas del grupo del AO en moluscos.
- **OkaTest** puede ser usado como **ensayo complementario al método de referencia para la determinación de las toxinas del grupo del AO en moluscos** de acuerdo con el **Reglamento (CE) No 853/2004 y el No 2074/2005 del Parlamento Europeo**
(http://aesan.msssi.gob.es/en/CRLMB/web/otros_procedimientos/other_crlmb_standard_operating_procedures.shtml)

Referencias

- Smienk et al. 2012 Single Laboratory Validation of A Ready-to-Use Phosphatase Inhibition Assay for Detection of Okadaic Acid Toxins. Toxins, 5, 339-352.
- Smienk et al. 2013. Quantitative Determination of the Okadaic Acid Toxins Group by a Colorimetric Phosphatase Inhibition Assay: Interlaboratory Study. Journal of AOAC International Vol. 96, No. 1.
- Ensayos intercolaborativos Quasimeme 2012-2015

