

Санитария, экология, микробиология

УДК 636/639:614.31:619

МЕТОДЫ САНИТАРНОГО КОНТРОЛЯ ЖИВОТНОВОДЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ. СООБЩЕНИЕ VII. ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ СТРЕПТОМИЦИНА*

М.А. БУРКИН¹, И.А. ГАЛЬВИДИС¹, Г.П. КОНОНЕНКО²

Поликлональные кроличьи антитела к стрептомицину, конъюгированному с бычьим сывороточным альбумином в реакции с диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола, показали высокую специфичность в отношении стрептомицина и его ближайшего структурного аналога дигидрострептомицина. В условиях непрямого конкурентного иммуноферментного анализа с иммобилизованными антигенами, гетерологичными иммуногену по белковому носителю и методам синтеза, предел определения стрептомицина составил 0,1 нг/мл. Показана возможность применения разработанных иммуноферментных тест-систем для контроля за остатками антибиотика в молоке и яйцах — с чувствительностью 10 мкг/кг, в мясе — 20 мкг/кг.

Ключевые слова: стрептомицин, молоко, яйца, мясо, иммуноанализ.

Keywords: streptomycin, milk, eggs, meat, immunoassay.

Стрептомицин (СМ), антибиотик группы аминогликозидов, несмотря на опасные побочные эффекты в виде аллергических реакций, нарушений нервно-мышечной проводимости и ототоксичности, многие годы широко применяется в нашей стране и за рубежом в составе препаратов для лечения острых инфекционных заболеваний животных (1, 2). В настоящее время для практического контроля его остаточного содержания в продукции животноводства все более востребованным становится иммуноферментный анализ (ИФА). В ряде стран уже завершены разработки аналитических тест-систем в разных форматах, в том числе с использованием биосенсорной технологии (3-12). Российскими исследователями также предложена тест-система на основе прямого ИФА и оценочный тест с использованием иммунохроматографии для контроля СМ в молоке и молочных продуктах (13, 14).

Нашей целью было получение специфических иммунореагентов на основе стрептомицина, оптимизация условий непрямого конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа и оценка возможности его применения для контроля за содержанием остатков этого антибиотика в молоке, яйцах и мясе.

Методика. В работе использовали сульфат стрептомицина, диглицидиловый эфир 1,4-бутандиола, дигидразид адипиновой кислоты, гидрохлорид 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (КДИ), трансферрин человека (ТЧ) («Sigma», США), боргидрид натрия («Serva», Германия), дигидрострептомицин (НИИ новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, г. Москва), диметилформамид («Fluka», Германия), бычий сывороточный альбумин (БСА), желатин (Жел) и антивидовой ферментный конъюгат, полученный согласно описанию (15) из пероксидазы хрена (КФ 1.11.1.7) и антисыворотки осла к иммуноглобулинам кролика, периодат натрия отечественного производства. ИФА выполняли на высокосвязывающих полистирольных планшетах («Costar», США) с применением фотометра Dynatech MR 5000 («Dynatech», Германия).

* Сообщения I, II, III, IV, V и VI см. в журналах «Сельскохозяйственная биология» № 4 и № 6 за 2010 год, № 2 и № 4 за 2011 год, № 2 и № 4 за 2012 год.

Для получения в реакции с диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола конъюгатов СМ с БСА и Жел — БСА-СМ(100)э, Жел-СМ(10)э, Жел-СМ(30)э и Жел-СМ(100)э к 6,8 мг сульфата СМ (10 мкмоль) в 1 мл 1 % NaHCO_3 добавляли 14 мкл (10 мкмоль) 10 % раствора диглицидилового эфира 1,4-бутандиола в диметилформамиде и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 сут. Затем к 4 мг БСА (0,06 мкмоль) в 0,5 мл 0,05 М карбонат-бикарбонатного буфера (КББ, pH 9,5) добавляли 600 мкл этой смеси (100-кратный мольный избыток гаптена), а к трем порциям по 4 мг Жел (0,025 мкмоль) в 0,5 мл КББ — соответственно 25; 75 и 250 мкл (10-, 30- и 100-кратные мольные избытки), после чего перемешивали в течение 3 ч и подвергали диализу.

Для получения с помощью дигидразида адипиновой кислоты конъюгатов СМ с БСА и Жел — БСА-СМ(100)г, Жел-СМ(10)г, Жел-СМ(30)г и Жел-СМ(100)г сначала к 4 мг БСА (0,06 мкмоль) и 12 мг Жел (0,075 мкмоль) соответственно в 0,5 и 1,5 мл воды добавляли КДИ (навески 15 и 30 мг), перемешивали в течение 30 мин и смесь с Жел разделяли на 3 равные порции. Затем в водный раствор 6,8 мг сульфата СМ (10 мкмоль) вносили 1,8 мг дигидразида адипиновой кислоты и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Далее к порции с БСА добавляли 600 мкл смеси, содержащей продукт взаимодействия дигидразида адипиновой кислоты с СМ (100-кратный мольный избыток), а к порциям с Жел — соответственно 25; 75 и 250 мкл (10-, 30- и 100-кратные мольные избытки), после чего перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре и подвергали диализу.

Методика получения конъюгатов ТЧ-СМ(30) и ТЧ-СМ(100) не отличалась от описанной ранее (16). К 20 мг ТЧ (0,26 мкмоль) в 3 мл воды добавляли 17 мг периодата натрия и перемешивали на магнитной мешалке 15 мин. Продукт диализовали против 5 л 10 мМ ацетатного буфера (pH 5,0) в течение 1 сут при 4 °С. Полученный диализат делили на 2 равные порции, добавляли к ним соответственно 2,6 и 8,8 мг сульфата СМ (30- и 100-кратные мольные избытки) в 1 мл КББ и инкубировали 2 ч при перемешивании. Затем в реакционные смеси вносили по 100 мкл водного раствора боргидрида натрия с концентрацией 2 мг/мл и перемешивали еще 2 ч.

Продукты реакций диализовали против двух смен воды (по 5 л), после чего к диализатам добавляли равный объем глицерина и хранили при температуре -10...-15 °С. Иммунизацию кроликов-самцов серой масти (2-3 кг) проводили конъюгатами БСА-СМ(100)э, БСА-СМ(100)г и ТЧ-СМ(100). В 1-ю и 2-ю инъекцию животные получали по 200 мкг иммуногена в полном адьюванте Фрейнда подкожно в 10-15 точек области спины, во все последующие — по 100 мкг иммуногена в физиологическом растворе. Через 7 сут после каждой повторной инъекции, осуществляемой с интервалом 1 мес, у животных из краевой вены уха отбирали кровь, отделяли сыворотку, добавляли равный объем глицерина и хранили при -10...-15 °С. Тестирование сывороток, оценка специфичности антител, испытания конъюгатов в качестве твердофазных антигенов и ИФА не отличались от описанных ранее (17).

Для анализа использовали пробы молока, яиц, мяса из торговой сети г. Москвы. Молоко и гомогенизированное содержимое яиц (белок и желток) перед анализом разбавляли ФСБ-т в 100 раз. Мясо (говядина) тщательно измельчали, навески гомогената помещали в градуированные пробирки и добавляли 0,15 М фосфатно-солевой буфер (pH 7,5), состоящий из 0,01 М Na_2HPO_4 , 0,14 М NaCl и содержащий 0,05 % Твина 20 (ФСБ-т), из расчета 1 г в 5 мл, интенсивно встряхивали и оставляли на

1 сут при 4 °С. Далее пробирку с содержимым инкубировали при 60 °С в течение 10 мин и центрифугировали. Порцию надосадочной жидкости разбавляли ФСБ-т в 40 раз и использовали в ИФА. Для оценки метрологических показателей методик измеряли количество СМ, внесенное в пробы молока, яиц и мяса.

Результаты. В специальной литературе описаны несколько вариантов синтеза иммуногенов с целью получения антител к СМ, и в каждом случае на их основе создавались тест-системы для контроля продукции животноводства. В 1993 году были выделены антитела на белковые конъюгаты СМ, модифицированного карбоксиметилоксимом по альдегидной группе (3, 4, 8, 12, 13). Позднее применялись реакция СМ с глутаровым альдегидом и карбодиимидная конденсация (9), связывание по метиламиногруппе с хлорангидридом циануровой кислоты (11, 14) и модификация СМ дигидразидом адипиновой кислоты (6, 7, 10).

Белковые конъюгаты, синтезированные в реакции СМ по метиламиногруппе с другим бифункциональным реагентом — диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола, были использованы в качестве улавливающих иммунореагентов, а также иммобилизованных антигенов и показали при этом высокую реактивность (5, 9, 11).

В настоящей работе кроликам вводили иммуногены на основе БСА, синтезированные разными способами, и конъюгат СМ с предварительно окисленным трансферрином человека, полученный методом восстановительного аминирования. Ранее с помощью подобного иммуногена выделяли антитела к неомицину (16).

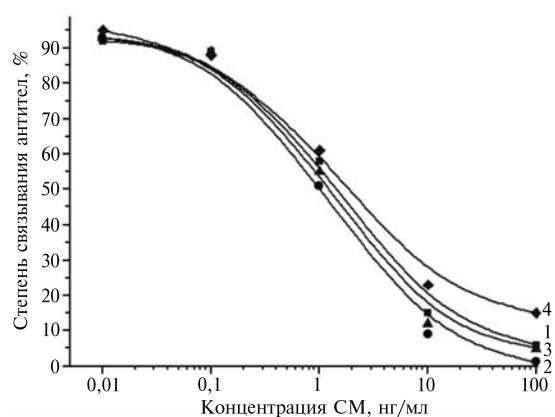


Рис. 1. Степень связывания антител к БСА-СМ(100)э, полученных при 2-5-м отборах крови (1-4), с твердофазным антигеном Жел-СМ(30)г в присутствии СМ в буфере ФСБ-т: БСА, Жел, СМ — соответственно бычий сывороточный альбумин, желатин, стрептомицин, ФСБ-т — фосфатно-солевой буферный раствор, содержащий Твин 20 (ИФА).

СМ с БСА, а также с Жел конъюгировали с использованием двух бифункциональных реагентов — диглицидилового эфира 1,4-бутандиола и дигидразида адипиновой кислоты по упрощенным модифицированным методикам. В отличие от приема, описанного в работе R.A. Abuknesha с соавт. (11), реакцию СМ-сульфата с диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола осуществляли в водной среде без добавления диметилсульфоксида и продукт не очищали экстракцией в хлороформ. Реакционную смесь инкубировали с растворами белков 3 ч вместо 16 ч. При конъюгировании СМ с дигидрази-

ном адипиновой кислоты на первой стадии вместо 90 мин кипячения смеси веществ в водном метаноле и выделения продукта реакции в кристаллическом виде согласно описанию (6, 10) их просто перемешивали при комнатной температуре 2 ч. Карбоксильные группы белков активировали одним реагентом (КДИ), а не двумя (N-гидроксисукцинимид и КДИ) в растворе ацетата натрия. На заключительной стадии реакция с белками вместо ночи продолжалась 2 ч при комнатной температуре.

В связи с тем, что спектрофотометрически подтвердить и оценить степень гаптенной нагрузки в конъюгатах не представлялось воз-

можным из-за отсутствия у СМ поглощения в УФ-области, в качестве иммуногенов были взяты конъюгаты БСА и ТЧ с наибольшим избытком гаптена в реакции — БСА-СМ(100)г, БСА-СМ(100)э и ТЧ-СМ(100). Остальные синтезированные конъюгаты использовали в качестве твердофазных антигенов.

Антисыворотки к БСА-СМ(100)г и ТЧ-СМ(100) активно взаимодействовали со всеми иммобилизованными конъюгатами, но присутствие свободного антибиотика даже в концентрации 1 мкг/мл не тормозило связывания. Напротив, иммунизация конъюгатом БСА-СМ(100)э позволила уже при 1-м отборе крови получить антисыворотку, содержащую антитела, которые распознавали свободный СМ (рис. 1). Третье введение иммуногена животным (2-й отбор крови) обеспечило получение антител с рабочим титром 1:2000-1:3000 и возможность определения СМ в растворах до концентрации 0,1 нг/мл. Продолжение процедуры иммунизации до 5-го получения сыворотки крови сопровождалось снижением рабочего титра антител до 1:500 при незначительном изменении чувствительности анализа (табл. 1).

1. Характер взаимодействия антител к БСА-СМ(100)э в сыворотках от 2-5-го отборов крови с разными иммобилизованными антигенами в присутствии СМ (ИФА)

Отбор крови	Иммобилизованный антиген			
	Жел-СМ(30)г		ТЧ-СМ(100)	
	рабочий титр	ИК ₅₀	рабочий титр	ИК ₅₀
2-й	1:2000	1,4	1:3000	1,1
3-й	1:1000	1,0	1:1000	0,9
4-й	1:800	1,2	1:800	0,9
5-й	1:500	1,9	1:500	0,9

Примечание. СМ, БСА, Жел, ТЧ — соответственно стрептомицин, бычий сывороточный альбумин, желатин, трансферрин человека. ИК₅₀ — концентрация, приводящая к 50 % торможению связывания антител.

В качестве твердофазных антигенов иммунореактивными оказались все синтезированные конъюгаты, однако чувствительность анализа СМ была несколько выше при использовании гетерологичных иммуногену конъюгатов Жел-СМ(30)г и ТЧ-СМ(100).

Оценка специфичности антител показала, что в отношении дигидрострептомицина (ближайшего структурного аналога СМ) перекрестная реактивность оказалась в 2 раза выше и составила 200 %. По данным литературы, для поликлональных антител на конъюгаты СМ с альбуминами, полученные разными методами, перекрестная реактивность с дигидрострептомицином была сопоставимой: при синтезе по метиламиногруппе с помощью хлорангидрида циануровой кислоты — 75 % (11), при использовании дигидразида адипиновой кислоты — 80 % (10) и 103 % (7), при связывании по альдегидной группе с карбоксиметил оксимом — 85,7 % (3), 118 % (12) и 149 % (4). У полученных нами антител необычно высокое узнавание дигидроаналога, возможно, связано с особенностями ориентации гаптена на БСА в иммуногене из-за выбранных условий конъюгирования с помощью диглицидилового эфира 1,4-бутандиола. С другими аминокозидами (неомицин, гентамицин, сизомицин, канамицин, тобрамицин, амикацин и апрамицин) даже в концентрации 10 000 нг/мл торможения связывания не наблюдали.

Калибровочные графики ИФА СМ в вариантах с антисывороткой от 4-го отбора крови и твердофазными антигенами Жел-СМ(30)г и ТЧ-СМ(100) не различались. Аналитические показатели ($n = 4$), полученные в лаборатории в условиях промежуточной прецизионности ежедневно или с интервалом 1-2 сут, имели относительное стандартное отклонение не бо-

лее 0,05, что указывало на стабильный характер функционирования тест-

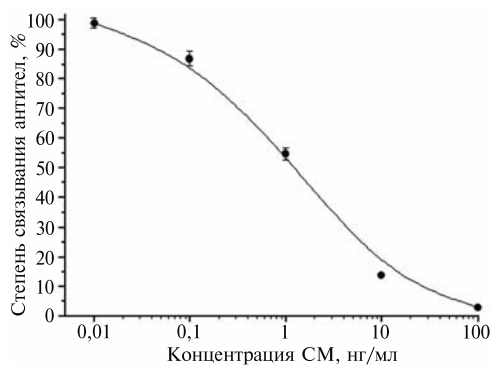


Рис. 2. Калибровочный график ИФА СМ ($n = 4$) при использовании антисыворотки к БСА-СМ(100)э от 4-го отбора крови и иммобилизованного Жел-СМ(30)г. БСА, Жел, СМ — соответственно бычий сывороточный альбумин, желатин, стрептомицин.

также стабильное функционирование

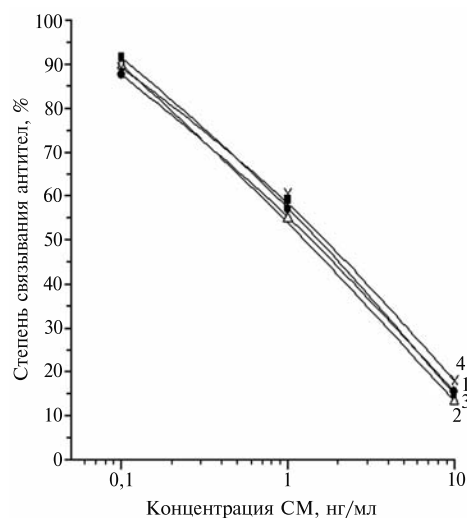


Рис. 3. Калибровочные графики для ИФА СМ с антисывороткой к БСА-СМ(100)э от 4-го отбора крови и твердофазным антигеном Жел-СМ(30)г в буфере ФСБ-т (1), в молоке при 100-кратном разбавлении ФСБ-т (2), в гомогенате яйца при 100-кратном разбавлении ФСБ-т (3) и в экстракте мяса при 40-кратном разбавлении ФСБ-т (4). БСА, Жел, СМ, ФСБ-т — соответственно бычий сывороточный альбумин, желатин, стрептомицин, фосфатно-солевой буферный раствор, содержащий Твин 20.

могенизированных образцов, полученных с ФСБ-т и затем разбавленных в 40 раз, практически не отличались от таковых для буферного раствора (см. рис. 3). В варианте с описанной пробоподготовкой значения для нижней и верхней границы определения СМ составляли соответственно 20 и 2000 мкг/кг. Согласно действующим рекомендациям, остатки СМ, которые допускаются в мясе и печени всех видов убойных животных (500 мкг/кг), а также в почках (1000 мкг/кг) (18), находятся в пределах достигаемого диа-

паза при обычных колебаниях внешних факторов (рис. 2). Чувствительность определения СМ 0,1 нг/мл была сравнима с приведенной Н. Watanabe с соавт. (8) и превосходила указанную во всех остальных сообщениях по непрямым и прямым ИФА-системам, иммунохроматографическому анализу и иммуноанализу на основе оптических биосенсоров. Для дигидрострептомицина достигался близкий предел определения (учитывая, что специфичность антител к этому антибиотику была выше всего в 2 раза).

Специфичность и высокая чувствительность определения СМ, а разработанных тест-систем позволили изучить возможность их применения для контроля животноводческой продукции — молока, яиц и мяса. Калибровочные графики, полученные в ФСБ-т и в молоке, разбавленном этим буфером в 100 раз (рис. 3), практически не различались и обеспечивали измерения СМ в диапазоне концентраций от 0,1 до 10 нг/мл. При проверке загрязненности молока с помощью такого метода за 3,5-4,0 ч можно обследовать десятки проб на содержание СМ в количестве от 10 до 1000 мкг/кг (действующий норматив составляет не более 200 мкг/кг, или 0,2 мг/кг) (18).

В гомогенатах яиц после разведения ФСБ-т в 100 раз калибровочный график также не изменялся (см. рис. 3). Проверка выборки из 37 образцов продукции, произведенной в 28 птицеводческих хозяйствах, не выявила СМ в количествах более 10 мкг/кг.

При оценке возможности определения СМ в говядине калибровочные графики для экстрактов го-

пазона измерений.

Оценка метрологических показателей методик продемонстрировала вполне удовлетворительную сходимость результатов и правильность определения (табл. 2).

2. Результаты определения СМ в пробах молока, яиц и мяса с внесением разных количеств антибиотика при выполнении ИФА с антисывороткой к БСА-СМ(100)э от 4-го отбора крови и иммобилизованным антигеном Жел-СМ(30)г ($n = 4$)

Образец	Внесено СМ, нг/г	Обнаружено СМ, нг/г	Правильность определения, %
Молоко	100	100±16	100
	200	212±36	106
Яйцо	250	288±8	115
	500	637±6	127
	1000	1157±130	116
Мясо	500	452±40	90

Примечание. СМ, БСА, Жел — стрептомицин, бычий сывороточный альбумин, желатин.

По коэффициентам вариации (или относительным стандартным отклонениям) было получено среднее значение 12,5 %, что указывает на отсутствие существенного влияния изменений в условиях на аналитический результат. Отклонение найденных количеств СМ от номинальных в относительном выражении составило в среднем по вариантам эксперимента 12,3 %, что свидетельствует о корректности выполняемых измерений.

Таким образом, поликлональные кроличьи антитела к стрептомицину, конъюгированному с бычьим сывороточным альбумином в реакции с диглицидиловым эфиром 1,4-бутандиола, показали высокую специфичность в отношении стрептомицина (СМ) и его ближайшего структурного аналога дигидрострептомицина. В условиях непрямого конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА) с иммобилизованными антигенами, гетерологичными иммуногену по белковому носителю и методам синтеза, предел определения стрептомицина составил 0,1 нг/мл. Возможность определения СМ в продукции животноводства с помощью простых приемов пробоподготовки и непрямого иммуноферментного анализа открывает перспективы разработки соответствующих методик и тест-систем для практического использования. Наш успешный опыт применения простых двухстадийных методических схем, состоящих из экстракции и непрямого варианта ИФА, в отношении большого спектра противомикробных препаратов (антибиотики тетрациклиновой группы, бацитрацин, гентамицин, цiproфлоксацин и его аналоги, сульфадимидин, левомецетин, стрептомицин) свидетельствует о возможности создания в России унифицированной методологической базы для контроля за остаточным содержанием антибиотиков в продукции животноводства и внедрения ее в практику работы испытательных лабораторий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кленова И.Ф., Яременко Н.А. Ветеринарные препараты в России. Справочник. М., 2001.
2. Справочник ветеринарных препаратов /Под ред. Е.А. Панковца. Минск, 1996.
3. Dietrich R., Schnappinger P., Usleber E., Terplan G. Entwicklung und Anwendung von monoklonalen Antikörpern gegen Streptomycin. Milchwissenschaft, 1993, 48: 588.
4. Schnappinger P., Usleber E., Martlbauer E., Terplan O. Enzyme immunoassay for the detection of streptomycin and dihydrostreptomycin in milk. Food Agric. Immunol., 1993, 5: 67-71.
5. Verheijen R., Osswald I.K., Dietrich R., Haasnoot W. Development of a one step strip test for the detection of (dihydro)streptomycin residues in raw milk. Food Agric. Im-

- munol., 2000, 12(1): 31-40.
6. Baxter G.A., Ferguson J.P., O'Connor M.C., Elliott C.T. Detection of streptomycin residues in whole milk using an optical immunobiosensor. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49: 3204-3207.
 7. Ferguson J.P., Baxter G.A., McEvoy J.D.G., Stead S., Rawlings E., Sharman M. Detection of streptomycin and dihydrostreptomycin residues in milk, honey and meat samples using an optical biosensor. *Analyst*, 2002, 127: 951-956.
 8. Watanabe H., Statake A., Kido Y., Tsuji A. Monoclonal-based enzyme-linked immunosorbent assay and immunochromatographic rapid assay for dihydrostreptomycin in milk. *Analyt. Chim. Acta*, 2002, 472(1-2): 45-53.
 9. Haasnoot W., Loomans E., Cazemier G., Dietrich R., Verheijen R., Bergwerff A.A., Stephany R.W. Direct versus competitive biosensor immunoassays for the detection of (dihydro)streptomycin residues in milk. *Food Agric. Immunol.*, 2002, 14(1): 15-27.
 10. Faridah S., Zamri I., Tan C.S., Wong H.K., Engku Azahan E.A., Gayah A.R., Ahmad Tarmzi S. Development of direct competitive enzyme immunoassay kit for the detection of streptomycin residues in chicken meat and feed. *J. Trop. Agric. Fd. Sc.*, 2004, 32(2): 179-186.
 11. Abuknesh A., Luk C. Enzyme immunoassays for the analysis of streptomycin in milk, serum and water: development and assessment of a polyclonal antiserum and assay procedures using novel streptomycin derivatives. *Analyst*, 2005, 130: 964-970.
 12. Wu J.X., Zhang S.T., Zhou X.P. Monoclonal antibody-based ELISA and colloidal gold-based immunochromatographic assay for streptomycin residue detection in milk and swine urine. *J. Zhejiang Univ-Sci (Biomed & Biotechnol)*, 2010, 11(1): 52-60.
 13. Samsonova J.V., Bashkurov M.L., Ivanova N.L., Rubtsova M.Y., Egorov A.M. ELISA of streptomycin in buffer and milk: effect of reagents' structure and analysis format on assay performance. *Food Agric. Immunol.*, 2005, 16(1): 47-57.
 14. Vyzova N.A., Zvereva E.A., Zherdev A.V., Eremin S.A., Sveshnikov P.G., Dzantiev B.B. Pretreatment-free immunochromatographic assay for the detection of streptomycin and its application to the control of milk and dairy products. *Analyt. Chim. Acta*, 2011, 701: 209-217.
 15. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugation. *J. Histochem. Cytochem.*, 1974, 22(2): 1084-1091.
 16. Буркин М.А., Гальвидис И.А. Разработка и использование непрямого конкурентного иммуноферментного анализа для определения неомицина в молоке. *Прикладная биохимия и микробиология*, 2011, 47(3): 355-361.
 17. Буркин А.А., Кононенко Г.П., Буркин М.А. Методы санитарного контроля животноводческой продукции. Сообщение I. Иммуноферментный анализ тетрациклинов. *С.-х. биол.*, 2010, 4: 110-117.
 18. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. СанПиН 2.3.2.2804 -10.

*¹ФГБУ НИИ вакцин и сывороток
им. И.И. Мечникова РАМН,
105064 г. Москва, Малый Казенный пер., 5а,
e-mail: instmech@iitp.ru;*

*²ГНУ Всероссийский НИИ ветеринарной
санитарии, гигиены и экологии
Россельхозакадемии,
123022 г. Москва, Звенигородское ш., 5,
e-mail: kononenkogp@mail.ru*

*Поступила в редакцию
3 марта 2012 года*

METHODS FOR SANITARY SURVEILLANCE OF LIVESTOCK PRODUCTION. VII. ENZYMOIMMUNOASSAY OF STREPTOMYCIN

M.A. Burkin¹, I.A. Gal'vidis¹, G.P. Kononenko²

S u m m a r y

The polyclonal rabbit antibodies against streptomycin conjugated with bovine serum albumin in reaction with diglycidyl ether of 1,4-butanediol presents high specificity to streptomycin and its similar structural analog — dihydrostreptomycin. In the conditions of indirect competitive enzyme immunoassay with immobilized antigens, heterologous to immunogene on protein carrier and methods of synthesis, the limit of streptomycin detection is 0.1 ng/ml. The authors consider the use of developed immunoenzyme test-systems for control of antibiotic contamination in milk and eggs with the limit of detection of 10 mkg/kg and in meat with the limit of 20 mkg/kg.