

Модельные системы непрямого иммуноферментного анализа тетрациклинов

Семёнов Д.А.¹, Куприенко О.С.¹, Вашкевич И.И.¹, Круглик А.С.², Шарко О.Л.², Шманай В.В.², Свиридов О.В.¹

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск

²Институт физико-органической химии НАН Беларуси, г. Минск,

E-mail: dsiamionau@gmail.com

Тетрациклин является антибиотиком широкого спектра действия в отношении большого числа грамположительных и грамотрицательных бактерий. Он используется как в чистом виде, так и в смеси с такими аналогами как хлортетрациклин, окситетрациклин или доксициклин. Эти антибиотики применяются в ветеринарии для лечения от бактериальных инфекций различных сельскохозяйственных животных, включая крупный рогатый скот, свиней, птиц, рыб. Однако, наличие остатков тетрациклинов в продуктах питания оказывает вредное воздействие на здоровье людей и способствует развитию штаммов бактерий, устойчивых к этим антибиотикам.

Определение остатков антибиотиков в основном осуществляется микробиологическими и инструментальными методами, но в последние годы все чаще появляются сообщения об использовании иммунохимических подходов. Микробиологические методы, как правило, сложны, отнимают много времени и не имеют специфичности, тогда как инструментальные методы требуют дорогостоящего оборудования, больших объемов органических растворителей и длительных процедур пробоподготовки. Иммунохимический анализ является высокочувствительным, простым и рентабельным, что делает его особенно полезным в повседневной лабораторной практике.

Нашей целью было получение специфических иммунореагентов на основе тетрациклина и разработка тест-системы для непрямого иммуноферментного анализа тетрациклинов.

Получены конъюгаты тетрациклина и окситетрациклина с бычьим сывороточным альбумином, а также тетрациклина с тиреоглобулином человека реакцией Манниха. Конъюгаты окситетрациклина с бычьим сывороточным альбумином и тетрациклина с тиреоглобулином человека использовались соответственно как гаптен- и белок-гетерологичные твердофазные антигены для улучшения чувствительности тест-системы. В качестве иммуногена для получения поликлональных антител к антибиотикам тетрациклинового ряда применялся конъюгат тетрациклина с бычьим сывороточным альбумином. В модельной системе иммуноферментного анализа определены количественные параметры связывания антител с антигеном, иммобилизованным на твердой фазе. Концентрация тетрациклина, вызывающая 50%-ное ингибирование связывания, оказалась равной 7.4 нг/мл, линеаризованный диапазон определения тетрациклина составил 0.5 нг/мл – 50 нг/мл. Относительно взаимодействия тетрациклина с антителами (100%) перекрестные реакции его аналогов имели следующие значения: хлортетрациклин – 5%, окситетрациклин – 3%, доксициклин – менее 0.1%. Таким образом, полученные антитела являются высокоспецифичными по отношению к тетрациклину.

Задачей дальнейшего исследования является расширение групповой специфичности антител к антибиотикам тетрациклинового ряда.