**Разработка иммунохроматографической тест-системы для определения тетрациклина в молоке**

***Гербст А.Г.1,2, Моисеева А.А.1, Семейкина А.А.1***

*Студент, 1 курс магистратуры*

*1Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, факультет биотехнологии и промышленной экологии, Москва, Россия*

*2Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

*E-mail: Gerbst-Alexander@yandex.ru*

Тетрациклин — это антибиотик широкого спектра действия, который часто используют в ветеринарии для лечения различных инфекций животных, вызванных бактериями. При использовании антибиотика для крупного рогатого скота препарат может попадать в молоко вследствие пассивной диффузии через эпителий молочной железы. Употребление молока с высоким его содержанием может привести к развитию устойчивых к антибиотикам бактерий у людей. Это представляет собой серьезную проблему, поскольку резистентные патогены трудно поддаются лечению и могут привести к серьезным и потенциально опасным для жизни инфекциям.

Иммунохроматографический анализ выделяется среди многочисленных методов определения содержания антибиотиков в молоке, доступных на рынке, как наиболее перспективный. Поэтому целью данной работы является разработка иммунохроматографической тест-системы для определения антибиотика тетрациклина в молоке.

Для реализации данного проекта в качестве маркера были использованы частицы цветных латексов, которые были конъюгированы с антителами против тетрациклина карбодиимидно-сукцинимидным методом.

Гаптен-белок для конкурентного иммунохроматографического анализа синтезирован посредством реакции Манниха. При синтезе гаптен-белка проведен подбор концентрации активного вещества тетрациклина (от 10 до 60 мкг/мл), а также количества белка-носителя БСА (от 50 до 200 мкг/мл) для достижения низкого предела детекции. По результатам экспериментальных данных подобраны оптимальные концентрации для синтеза, а именно: тетрациклин – 30 мкг/мл, БСА – 100 мкг/мл.

Для разработки иммунохроматографической тест-системы выполнена оптимизация состава мультимембранного композита. Проведена сравнительная оценка рабочих мембран («Sartotius», Германия), а также мембран для образца и конъюгата («KinBio», Китай). Использование стекловолоконной мембраны для образца CB-06 и стекловолоконной мембраны для конъюгата SB-06 фирмы «KinBio» обеспечивает более высокую чувствительность и интенсивность сигнала в сравнении с другими типами мембран. В качестве рабочей мембраны была выбрана CN-95 («Sartotius»), которая обеспечивает равномерное прохождение антигена в молоке к биореагентам в тестовой и контрольной зоне.

Так же в ходе экспериментов подобрана реакционная среда для достижения низкого предела обнаружения. Были проверены 3 буферных раствора на основе: триса, бората и фосфатных солей. Исследованы показатели pH (от 6 до 8) и молярности (от 50 мМ до 200 мМ) в выбранной основе реакционной среды. Оптимальные характеристики тест-системы были достигнуты при использовании 200 мМ фосфатно-солевой буферной основы, pH=7.

Предел обнаружения разработанной иммунохроматографической тест-системы для определения антибиотика тетрациклина в молоке при визуальной детекции составляет 10 нг/мл. Длительность анализа 15 минут. Полученные показатели соответствуют Российскому законодательству (СанПиН 2.3.2.1078-01), что делает тест-систему пригодной для контроля наличия тетрациклина в молоке.