

İMMUNOLOJİK TEST YÖNTEMLERİNİN SÜT SANAYİNDE KULLANIMI

THE USE OF IMMUNOLOGICAL TEST METHODS IN DAIRY INDUSTRY

Atilla YETİŞMEYEN

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara

ÖZET: İmmunolojik yöntemler antijen ve antikorların kalitatif ve kantitatif tesbitini sağlamaktadır. Antijenler kendilerine karşı hazırlanmış antikorlar ile reaksiyona girebilmektedir.

Antijen-antikor reaksiyonunun spesifik olmasından dolayı reaksiyonda antikorların kendi antijenlerini bulabilmesi için ideal-uygun örneklerin reaksiyonu gerekir. İmmunolojik bir testin doğruluğu için kullanılan antikorun kalitesi yani antijenlere karşı olan spesifikasyonu çok önemlidir.

Gıda maddeleri analizinde selektif-immunolojik test yöntemleri gittikçe artan bir önem kazanmaktadır. Süt ve ürünleri alanında ise son yıllarda çeşitli mikroorganizmaların antibiyotikler, sülfonamidler vb. tesbiti yanında, koyun ve keçi sütü veya ürünlerinde inek sütü varlığının belirlenmesi için immunolojik bir test olan ELISA testinden yararlanılmaktadır.

ABSTRACT: Immunological methods can be used for the detection of antigens and antibodies both qualitatively and quantitatively. Antigens can react with antibodies which are prepared against antigens. Due to the specificity of antigen-antibody reaction, suitable probes must be provided to find antibody's antigen. The quality of antibody used and its specificity to antigen is important for the reliability of the immunological test.

Selective-immunological test techniques are getting more important in food analyses. Recently, in dairy technology, ELISA method, as an immunological test, is used for the detection of existence of cow's milk in sheep's and goat's milk and products in addition to detection of various microorganisms, antibiotics, sulfonamids etc.

GİRİŞ

Tıp alanında hastalıkların teşhisinde uzun zamandır uygulanmakta olan immunolojik hızlı testler son yıllarda gıda hijyeninde de kullanılmaktadır (SCHNEIDER et al. 1994). Seksenli yılların ortalarından beri tıp alanında örneğin gebelik testinde, yara ve tümör belirlenmesinde bakteri ve virüs antijenlerinin kontrolünde yararlanılan bu testler gıda kontrollerinde de uygulanmaktadır.

Tüketicinin gıda hijyeni konusunda bilinçlenmesi, özellikle son onbeş yılda gıdalardaki kimyasal kalıntı ve katkıların oluşturduğu problemlerin aktüel bir önem kazanması, geniş bir ürün spektrumunda kullanılan çeşitli etkin maddelerin kritik olmayan miktarlarının belirlenmesini zorunlu kılmıştır. Bir taraftan artan çevre bilincinin zorlaması, diğer taraftan modern analiz yöntemlerinin gelişmesi bu tür maddelerin çok cüzzî konsantrasyonlarının bile saptanmasına olanak sağlamıştır (MARTLBAUER, Tarihsiz).

Gıdalarda kontaminantlar hakkında geniş araştırma imkanı veren immunolojik yöntemler fiziksel-kimyasal metotlara göre daha ucuz olma, çalışma aşamalarının kolaylığı, otomasyon ve organik maddelerin daha az kullanımı gibi avantajlara sahiptir.

Biotip araştırmalarda, klinik testlerde ve birçok gıda araştırmalarında son zamanlarda da kalıntı analizlerinde kullanılan immunolojik test yöntemleri antikorların yeteneğine dayanmaktadır. Aşağıda gıda kontrollerinde önemli olan ve immun testi ve saptanabilen substanz (antibiyotikler, hormonlar, toksinler vb.) ve mikroorganizmaların genel bir gruplaması görülmektedir (MARTLBAUER, Tarihsiz).

Uzun zamandır gıdalarda hijyenik olarak yüksek moleküllü antijenlerin tespitinde uygulanan immun kimyasal yöntemlerin aksine ilaçlar, pestisitler, çevre kontaminantları ve toksinler gibi düşük moleküllü maddelerin belirlenmesi için kullanılan Immuno-assay'ın (immun test) gelişimi nispeten daha geç başlamıştır. Bu alanda yaklaşık on yıldan beri antibiyotik ve sülfanomitlere göre daha çok mikotoksinler konusunda çalışılmıştır.

Sütte antibiyotik ve sülfanomit kalıntılarının tespiti hem AB'de (Avrupa Birliği) kabul edilmiş yeni sınır değerler bakımından, hem de fermente ürünler üretiminde üretim sorunları ve bozulmalardan kaçınmak için gereklidir. Geleneksel yöntemlerle bu substanzlara ilişkin belirlemeler kesin olamamakta ve özellikle fermente ürünler için uygun olmayacak şekilde oldukça da uzun zaman almaktadır (SCHNEIDER et al. 1994).

Gıda Maddeleri Analizinde İmmustestler

Kategori	Örnek
Bakteriyel toksinler	S.aureus toksinleri
Mikotoksinler	Aflatoksin
Anabolikler	Nortestosteron
Antibiyotikler	Kloramfenikol
Pestisitler	DDT, Aldrin
Kontaminanlar	PCB's
Vitaminler	B ₁₂ , D
Enzimler	Plasmin, Papain
Doğal hormonlar	Somatotropin
Yabancı protein	Soya
Bakteriler	Salmonella
Küf mantarları	Penisilyum

- Kısa test süresi
- Kolay uygulanabilirlik
- Yüksek hassasiyet
- Laboratuvar donanımlarına bağımlı olmama
- Basit değerlendirilebilirlik (mümkün olduğunca çıplak gözle)
- Testin güvenilirliği

Oysa immünojenik testler bu ihtiyaçlara cevap verebilmekte, yani kolay, hızlı ve daha hassas çalışılmaktadır. Antibiyotik ve sülfanomit kalıntıları immünojenik yöntemle antijen-antikor reaksiyonuna dayalı olarak belirlenmektedir. Bunun yanında halen kullanılan β -laktam-antibiyotik hızlı testleri de enzim ve protein bağlanması esasına dayanmaktadır.

İmmünojenik testlerde standart metod olarak mikro içerikli plakalar (Mtp) (mikroekivalant düzeyinde saf madde içeren) kullanılır. Genelde ELISA (Enzym-Linked Immunosorbent Assay) veya EIA (Enzym-Immuno-Assay) olarak tanımlanan bu Mtp testleri, fiziksel-kimyasal testlerle karşılaştırıldığında yukarıda ifade edildiği gibi nispeten daha hızlı, daha kolay ve daha çok örnekle çalışılmaktadır. İmmünojenik testlerin seçiminde aşağıdaki kriterler gözönünde tutulmalıdır (SCHNEIDER et al., 1994).

Bu taleplere büyük ölçüde cevap veren immünojenik hızlı testler son yıllarda diğer alanlarda olduğu gibi gıda hijyeni alanında da gelişmiştir. Süt sanayiinde genelde alan testi olarak kullanılan bu yöntemler başta süt üretim çiftliklerinde, mandıra ve işletmelerde, çiğ sütlerde antibiyotik kontrolü ve mikrobiyolojik kontroller olmak üzere, teknolojik olarak da koyun, keçi sütlerinde inek sütünün tespiti gibi amaçlarla kullanılmaktadır.

İMMUNOLOJİK TESTLERİN PRENSİBİ

İmmünojenik yöntemin prensibi; belirli maddelerin özgün moleküler yapılarını tanımlamak ve bu yapıyı bağlamak için antikorlardan yararlanmaktır. Bu prensibe göre EIA testi oldukça yaygınlaşmıştır. EIA-testinde enzimatik olarak katalize edilmiş bir dönüşüm yardımıyla immünojenik bağlanma reaksiyonu tespit edilmektedir. bunun için her iki reaksiyon partnerinden (antijen veya antikor) biri bir enzime bağlanmaktadır.

Örneğin antibiyotik ve sülfanomitler düşük moleküllü substanzlar olduğu için sadece bir antikor bağlanma yeri (epitop) gösterirler. Bu maddelerin hem fermente süt ürünleri teknolojisinde sorunlar yaratması, hem de insan sağlığına olan zararları nedeniyle kontrol edilmesi gerekir (SCHNEIDER et al., 1994). Bunun için immün testlerden sadece kompetitif sistem (rekabet sistemi) kullanılmaktadır. Burada test örneğinin serbest antijenleri ve enzim işaretli antijenler özgün antikorların sınırlı sayıdaki bağlanma yerleri için rekabet ederler (direkt kompetitif sistem). Bir örnekte serbest yani aranan antijenlerin miktarı ne kadar fazlaysa antikorlar tarafından daha az enzim işaretli enzimi renkli bir ürüne dönüştüren bir substrat ilave edilir. Kompetitif yöntemde fotometrede ölçülen çoğunlukla enzim işaretli antijenin bağlanan fraksiyonudur. Bu nedenle ölçüm sinyali büyüklüğü örneğin serbest antijen konsantrasyonu ile ters orantılıdır, yani aranan substanz ne kadar az ise enzim reaksiyonunda renk gelişimi o kadar azalmaktadır.

Uygulama alanında hızlı test sonuçlarının değerlendirilmesi genellikle çıplak gözle bir veya daha çok renk değerleri olan referans ile karşılaştırılarak yapılır.

İmmünojenik yöntemlerde belirli kimyasallar yardımı ile antijen-antikor reaksiyonlarının tespiti, diğer metodlarla karşılaştırıldığında deney hassasiyetinin daha iyi olduğu görülmektedir. Gıda maddeleri analizinde antijenlerin belirlenmesi için kullanılan yöntem esasen iki farklı sisteme ayrılmaktadır. Daha sonra antijen konsantrasyonları ya reaksiyona giren antijen moleküllerinin (Ag) sayısının belirlenmesiyle veya reaksiyona katılan antikor moleküllerinin (AK) ölçülmesiyle hesaplanabilir. Pratik uygulamalarda bu metodlar için ölçülebilir büyüklük olarak işaretli antijen (Ag*) veya işaretli antikor (AK*) gerekir (MARTLBAUER, Tarihsiz).

İmmunolojik yöntemler için ilk prensip yukarıda anıldığı gibi özgün antikor moleküllerinin sınırlı bir sayısı için serbest antijen ve işaretli (tanımlanmış) antijenlerin rekabetidir ve bu prensip aşağıda şematik olarak formülize edilmiştir.



Bu kompetitif yöntemde ölçüm büyüklüğü ya antijen-antikor kompleksine bağlanmış işaretli antijen (Ag^*AK) veya serbest işaretli antijendir (Ag^*). Kompetitif yöntemde genelde antikor bağlanma yerlerinin sınırlı bir sayısına sahip işaretlenmiş ve işaretlenmemiş antijenlerin rekabeti söz konusudur.

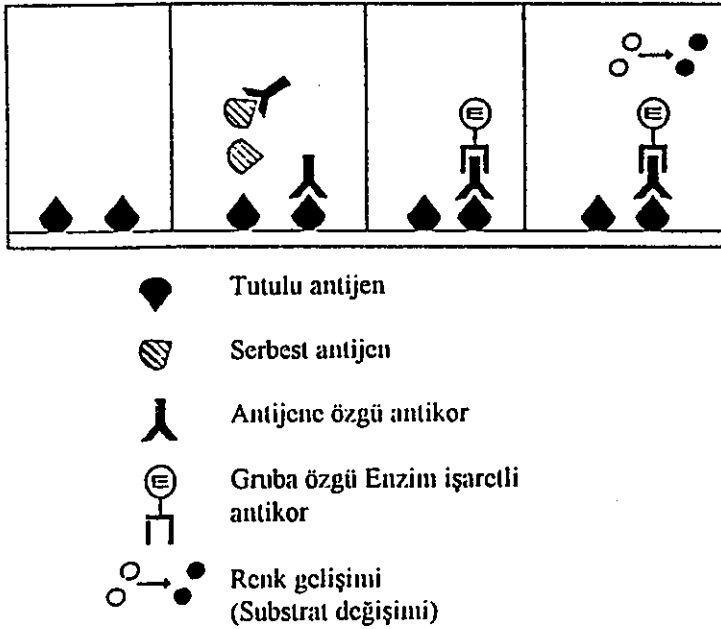
İmmunolojik yöntemlerde ikinci prensip kısmen işaretlenmiş özgün antikorlar tarafından antijen moleküllerinin sınırlı bir sayıda bağlanmasıdır.



Kompetitif olmayan yöntemdeki ölçüm büyüklüğü ya antijen-antikor kompleksinde bağlanmış-ışaretili antikor ($AKAgAK^*$) veya serbest işaretli antikordur (AK^*). Kompetitif olmayan testler, antijenlerle kıyaslandığında artan kısımda bulunan işaretli antikorları kullanır (MARTLBAUER, Tarihsiz).

Her iki sistem değişik karakteristiklere bağlı olarak değişik kısımlara ayrılabilir. Bu karakteristikler; ilave edilen kimyasalların dizin sırası, bağlanan ve bağlanmayan kimyasalların ayrılması, işaretlenmiş kimyasalların bağlanmış veya serbest fraksiyonlarının ölçümü gibi özelliklerdir.

Şekil 1 Şematik olarak indirekt kompetitif yöntemin uygulanmasını göstermektedir (STAPF, 1993).



Şekil 1. İndirekt kompetitif yöntem.

İndirekt kompetitif yöntemde antijen sabit faza bağlanmaktadır. Bağlanmayan antijen fraksiyonlarının uzaklaştırılmasından sonra muamele edilmiş sabit faz aynı zamanda serbest antijenler ve limit sayıda ki antijen özgünlüğü olan antikorlar ile inkübe olmaktadır. Antikorlara limit sayıda bağlanmış antijenler ile serbest antijenler arasında bir rekabet ortaya çıkmaktadır. Enzim işaretli olabilen antikorlar ile bağlanmış antikor fraksiyonu substrat ilavesinden sonra enzim reaksiyonu yoluyla görünebilir duruma gelmektedir. Yıkama aşamasından sonra ilkinde doğru yönlenecek ikinci bir işaretli antikor ilave edilerek reaksiyon görünür duruma gelir. Böylelikle mevcut antikor konsantrasyonu indirekt olarak bağlanmış antikor konsantrasyonu üzerinden ölçülür. Muhtemelen iki antikorum bir kullanımı sinyalin kuvvetlenmesine olanak sağlar, fakat spesifik olmayan bağlanma tehlikesi de keza görülebilmektedir (STAPF, 1993).

Direkt kompetitif yöntemde özgün antikor sabit (sıkı) faza bağlanmaktadır. Bağlanmayan antikor fraksiyonunun uzaklaştırılmasından sonra sıkı sabit faz işaretlenmiş ve işaretlenmemiş antijen ile aynı anda inkübe olur.

Böylece immobilize (taşınamaz) antikorlar için işaretlenmiş ve işaretlenmemiş antijenler arasında bir rekabet başlamaktadır. Devam eden bir ayırma aşamasından sonra bağlanmış işaretli antijen konsantrasyonu enzim kısmı üzerinden direkt belirlenir.

İndirekt kompetitif yöntemde antijen sabit faza bağlanmaktadır. Bağlanmayan antijen fraksiyonlarının uzaklaştırılmasından sonra muamele edilmiş sabit faz aynı zamanda serbest antijenler ve limit sayıda ki antijen özgünlüğü olan antikorlar ile inkübe olmaktadır. Antikorlara limit sayıda bağlanmış antijenler ile serbest antijenler arasında bir rekabet ortaya çıkmaktadır. Enzim işaretli olabilen antikorlar ile bağlanmış antikor fraksiyonu substrat ilavesinden sonra enzim reaksiyonu yoluyla görünebilir duruma gelmektedir. Yıkama aşamasından sonra ilkinde doğru yönlenecek ikinci bir işaretli antikor ilave edilerek reaksiyon görünür duruma gelir. Böylelikle mevcut antikor konsantrasyonu indirekt olarak bağlanmış antikor konsantrasyonu üzerinden ölçülür. Muhtemelen iki antikorum bir kullanımı sinyalin kuvvetlenmesine olanak sağlar, fakat spesifik olmayan bağlanma tehlikesi de keza görülebilmektedir (STAPF, 1993).

SÜT ÜRÜNLERİ KONTROLLARINDA İMMUNOLOJİK TEST YÖNTEMLERİNİN KULLANIMI

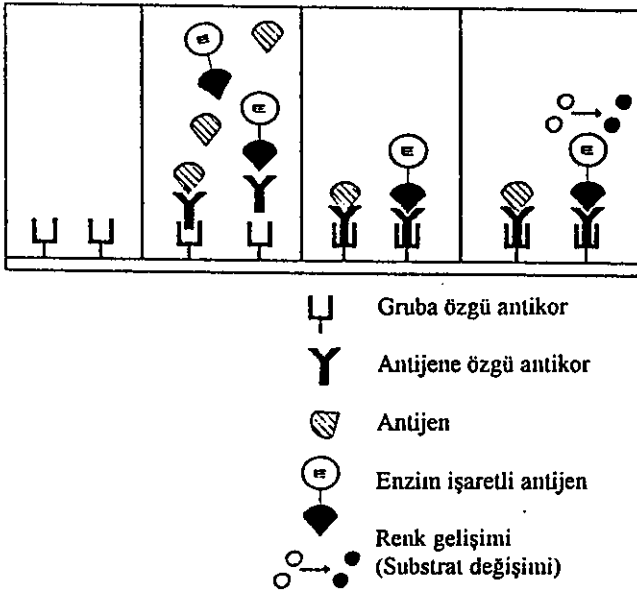
Söz konusu testler birçok gıdada olduğu gibi süt ürünlerinde de bazı mikroorganizma ve enzimlerin tespitinde kullanılmaktadır. Örneğin TSAI ve COUSIN (1990) yaptıkları çalışmada Cheddar, Mozzarella ve Cottage peynirleri ile yoğurta oluşabilen *Aspergillus versicolor*, *Cladasporium herbarum*, *Geotricum candidum*, *Rhizomucor circinelloides* ve *Penicillium chrysogenum* küllerini çıplak gözle görülmeden iki gün önce ELISA metoduyla saptayabilmüşlerdir. Peynirde ve kimi gıdalarda *Salmonella* ve *Listeria* grubu bazı türlerin saptanmasında ELISA metodu, diğer mikrobiyolojik yöntemler gibi olumlu sonuçlar vermiştir (BEUMER et al., 1990; DURHAM et al., 1990).

Nispeten basit ve az ekipmanlara sahip küçük laboratuvarlarda Sandwich ELISA tekniği ile gıdalarda 0.1 mg/100g'dan daha az sayıdaki *Staphylococcus enterotoksineri* saptanıp, sonuçlar üç saat içinde alınırken (JURG and TERPLAN, 1990) HAMMER et al. (1993) sütte *Brusella* lipopolisakkarit antijeninin belirlenmesinde indirekt Sandwich ELISA yöntemini geliştirmişler ve ROBINSON (1993)'da aynı yöntemi süt, peynir, dondurma, et ve balık gibi gıdalarda *Salmonella*, *Listeria* ve hemorragik *E.coli*'nin tespitinde kullanmıştır.

Mikrobiyolojik amacın dışında da ELISA yönteminden yararlanılmaktadır. Sığırlarda mastitis hastalığının belirlenmesinde (O'SULLIVAN et al., 1992), sütte aflatoksin kontrolünde (HAHNE, 1993) ELISA yöntemi kullanılmaktadır.

Ayrıca süt pıhtılaştırıcı enzim preparasyonlarında domuz pepsininin aranması için ELISA testi geliştirilmiştir. Sığır renneti ve *Rhizomucor miehei* renneti içinde domuz pepsini bu yöntem ile hızlı, hassas bir şekilde saptanabilmektedir (EL-SATAWY et al., 1993).

HUGO (1993) isimli araştırmacı süt ürünlerinde özellikle inek sütü + soya sütü karışımları ve soyaya dayalı bebek mamalarında soya proteininin belirlenmesinde hızlandırılmış ELISA testini kullanmıştır. Bu yöntemle bir süt ürününde %0.1'e kadar olan soya proteini saptanabilmektedir. Metodun hızlı, duyarlı ve oldukça da etkili olduğu Hugo tarafından bildirilmektedir.



Şekil 2. Direkt kompetitif yöntem (DASP-Teknik)

Beer et al. (1996) ise koyun ve keçi sütü peynirlerinde inek sütü varlığının kontrolü için ELISA testini kullanmışlardır. Bu amaçla peynir örneklerinde doğal ve ısı ile denatüre edilmiş inek β -laktoglobulininin belirlenmesinde AB (Avrupa Birliği) tarafından onaylanmış indirekt kompetitif ELISA testini başarıyla uygulamışlardır. Araştırmacılar sıcaklıkla denatüre olan β -laktoglobuline karşı tavuklardan elde ettikleri poliklonal antikorları immunadsorbsiyon kromatografide CNBr ile aktive sepharose'ye bağlanmış doğal inek, koyun ve keçi β -laktoglobulinlerinde rafine etmişlerdir. Koyun, keçi ve inek laktoglobulinleri çok benzer aminoasit dizilişine sa-

Süt ürünlerinde teknolojik olarak da ELISA tekniğinden yararlanılmaktadır.

Son yıllarda koyun sütü veya peynirlerinde inek sütü karışımlarının saptanması amacıyla çeşitli ELISA yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin geleneksel yöntemlere kıyasla çok daha spesifik ve duyarlı olduğu, ayrıca örnek hazırlama işlemlerinin daha basit ve çabuk olması ile çok sayıda numunenin kısa sürede analizine olanak sağladığı bildirilmektedir (MUTLUER ve ark., 1994). Araştırmacılar tavşanlardan elde ettikleri poliklonal antikorları inek sütü kazeini kolonlarında immunoabsorbsiyonla saflaştırmışlardır. Antikorlar biotinle işaretlenerek liyofilize koyun ve keçi kazeini ile bloklanıp inek sütü kazeinine spesifik hale getirilmiştir. Spesifik antijenlere bağlanacak biotinle işaretli antikorların belirlenmesi için araştırmacılar extravidin peroksidaz kullanmışlar ve indirekt ELISA tekniği ile salamura - beyaz koyun peynirlerinde %1 oranına kadar olan inek sütü karışımlarının saptanabileceğini belirlemişlerdir.

hip oldukları halde çapraz reaktivite bu işlem ile tamamen elimine edilmiştir. Ticari bir keçi-anti-tavuk alkalifosfataz konjugatı, immobilize ısı ile denatüre olmuş siğir β -laktoglobulinine bağlı anti-ısı ile denatüre olmuş siğir β -laktoglobulinini belirlemek için ikinci bir antikor olarak kullanılmıştır. Bu metodun tespit edilebilirliği koyun ve keçi peynirlerinde %0,1-0,2 inek sütü veya 100 ng/ml doğal siğir laktoglobulinini olarak bulunmuştur. AB'de geçerli metod çalışmalarında ELISA testi, koyun ve keçi sütü peynirlerinde doğal ve ısı ile denatüre olmuş siğir serum proteinlerinin belirlenmesinde başarı ile uygulanmıştır.

Benzer bir çalışmada koyun ve keçi sütleri ile bunlardan yapılan peynirlerde kazeinat ve inek sütünün belirlenmesi için indirekt kompetitiv ELISA metodu RICHTER et al. (1997) tarafından geliştirilmiştir. Araştırmacılar siğir γ_3 -kazeinine karşı tavuk ve tavşanlarda poliklonal antikorlar oluşturmuşlar ve birinci affinite kromatografi aşamasında kazeinleri taşıyan antikorları siğir kazein-sepharose üzerine absorbe etmişlerdir. Koyun ve keçi sütü proteini ile çapraz reaksiyona giren antikorlar, gerçek koyun ve keçi sütünden ekstrakte edilmiş protein ve koyun kazeini içeren sabit faz üzerine immunadsorbsiyon ile dialize edilmiş sıvıdan tamamen uzaklaştırılmıştır. ELISA testinin belirleme sınırı %0,1 olarak bulunmuş ve araştırmacılar AB ile yaptıkları ortak bir çalışma kapsamında bu metodun diğer metotlara göre başarı ile uygulandığını saptamışlardır.

DONAUBAUER (1997) peyniraltı suyu ürünlerinde ve mamalarda allerjik özellik gösteren sıcaklıkla denatüre olmuş β -laktoglobulinin tespitinde antikor-antijen reaksiyonuna dayanan immünojenik bir test olan ELISA yöntemini kullanmış ve bu yöntemi daha önce uygulanan HPLC-kromatografi ve SDS-Elektroforez metodlarıyla karşılaştırmıştır. Sıcaklıkla denatüre olan β -laktoglobulinin HPLC ile tespitinin mümkün olmadığı, ancak doğal β -laktoglobulin ile toplam β -laktoglobulin arasındaki farkın hesaplanması ile tesbit edilebileceği ifade edilmektedir. HPLC ile sadece doğal β -laktoglobulin, SDS-PAGE elektroforez ile doğal ve denatüre β -laktoglobulin bir arada tespit edilirken, ELISA yöntemi ile sadece sıcaklıkla denatüre olan β -laktoglobulin saptanmaktadır. Belirleme sınırı ile HPLC, SDS-PAGE ve ELISA yöntemleri arasında sırasıyla 10-20 μ g/ml, 1-5 μ g/ml ve 20 ng/ml dir. Yani ELISA ile daha cüzi miktarlar tespit edilebilmektedir.

SONUÇ

Yukarıda verilen bilgilere göre antikor-antijen reaksiyonuna dayanan immünojenik bir test olan ELISA analiz yöntemi ile gıda ve süt teknolojisi alanında sadece mikrobiyolojik veya kimyasal unsurların tespiti değil, bunun dışında hile amacıyla veya teknolojik yanlışlıklarla ürünlerdeki yabancı kalıntı veya katkıların belirlenmesi de mümkün olabilmektedir.

KAYNAKLAR

- BEER, M., KRAUSE, I., STAPF, M., SCHWARZER, C., KLOSTERMEYER, H. 1996. Indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of native and heat-denatured bovine β -lactoglobulin in ewes' and goats' milk cheese. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* (1998) 204:21-26.
- BEUMER, R.R.; COX, L.J.; STOELHORST, I.; SHERBINH, M., 1990. Detection of *Listeria* species in cheese. *Dairy Science Abstracts* 1990 (52) 8, 7543.
- DONAUBAUER, G. 1997. Bestimmung von hitzedenaturiertem β -lactoglobulin in Molkenprodukten und Babynahrung mittels ELISA. Diplomarbeit, 48 Seite. TUM-Weihenstephan, Lehrstuhl für Milchwissenschaft. 31.11.1997.
- DURHAM, R.J.; ROBINSON, B.J.; BUTMAN, B.T. 1990. ELISA methods for rapid detection of *Listeria* Salmonella. *Dairy Science Abstracts* 1990 (52) 8, 7544.
- EL-BATAWY, M.; ZHRIN, A.S. MADKOR, S.A.; SMITH, C.J. 1993. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of porcine pepsin a milk clotting enzyme. *Dairy Science Abstracts* 1993 (55) 11, 7668.
- HAHNE. 1993. Enzyme immunological detection of Aflatoxin M1 in milk. Experiences with Kieler Peori ELISA. *Dairy Science Abstracts* 1993 (55) 7, 4691.
- HUGO, A. 1993. Dedection of soya protein in milk products by means of an accelerated ELISA technique. *Dairy Science Abstracts* 1993 (55) 9, 6046.
- HAMMER, P.; GREISER-WILKE, I.; HAHRU G. 1993. Enhanced sensitivity of a sandwich ELISA for the detection of *Brucella melitensis* in milk by immunoprecipitation. *Dairy Science Abstracts* 1993 (55) 6, 3824.
- JUNG, R.; TERPLAN, G. 1990. Dot ELISA for detection of staphylococcal enterotoxins in cultures and foods. *Dairy Science Abstracts* 1990 (52) 8, 6059.
- MARTLBAUER, E. 1993. Enzymimmuntests für antimikrobiell wirksame Stoffe. Habilitationarbeit. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1993. 230 Seite.
- MARTLBAUER, E. Tarihsiz. Grundlagen von immunchemischen Nachweisen. R. Blopharm GmbH, Rößlerstr. 94, 6100 Darmstadt.
- MUTLUER, B., AKGÜN, S., DİNÇER, B. 1994. Koyun Sütü ve Salamura Beyaz Peynirlerinde İnek Sütü Karışımlarının ELISA Yöntemi ile Saptanması. TÜBİTAK, Proje No: VHAG-959.
- O'SULLIVAN, C.A., JOYRE, P.J; SLOAN, T.; SHATTOCK, A.G. 1992. Capture immunoassay for the diagnosis of bovine mastitis using a monoclonal antibody to polymorphonuclear granulocytes. *Dairy Science Abstracts* 1992 (54) 6, 3551.
- RICHTER, W., KRAUSE, I., GRAF, C., SPERRER, I., SCHWARZER, C. AND KLOSTERMEYER, H. 1997. An indirect competitive ELISA for the detection of cows' milk and caseinate in goats' and ewes' milk and cheese using polyclonal antibodies against bovine γ -caseins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* (1997) 204: 21-26.
- ROBINSON, B.J. 1993. Use of ELISA for rapid detection of food borne pathogens. *Dairy Science Abstracts* 1993 (55) 2, 1254.
- STAPF, M. 1993. Antikörper aus Eidottern als Reagenzien zum Nachweis von bovinem β -lactoglobulin. Dissertationarbeit, 122 Seite.
- SCHNEIDER, E., SCHNAPPINGER, P., DIETRICH, R., USLEBER, E., M. RTLBAUER, E. UND TERPLAN, G. 1994. Schnelldiagnose von Antibiotika und Sulfonamidrückständen in Milch unter Berücksichtigung von technologischen Störgrenzen und Höchstmengen. *Die Molkereizeitung Welt der Milch*. 48 Jahrgang 1994/1, 3-7.
- TSAI, G.; COUSIN, M.A. 1990. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of molds in cheese and yogurt. *Dairy Science Abstract* 1990 (52) 3, 1933.