**Разработка методики определения содержания макролидных антибиотиков в кормах и кормовых добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием**

|  |  |
| --- | --- |
| **Тема** | Разработка методики определения содержания макролидных антибиотиков в кормах и кормовых добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием |
| **Период выполнения** | 2021 год |
| **Актуальность** | Макролиды представляют собой класс антибиотиков, основу химической структуры которых составляет макроциклическое лактонное кольцо. В зависимости от числа атомов углерода в кольце макролиды подразделяются на 14-членные (эритромицин, рокситромицин, кларитромицин), 15-членные (азитромицин) и 16-членные (мидекамицин, спирамицин, джозамицин). Основное клиническое значение имеет активность макролидов в отношении грамположительных кокков, таких как *S.pyogenes*, *S.pneumoniae*, *S.aureus* (кроме [MRSA](http://www.antibiotic.ru/ab/microbiol_termins.shtml#mrsa)), а также в отношении внутриклеточных возбудителей (микоплазмы, хламидии, кампилобактеры, легионеллы).  Эта группа антибиотиков активно используется для лечения широкого спектра инфекций в медицинской и ветеринарной практике, что привело к появлению антибиотикорезистентных штаммов кампилобактерий и других микроорганизмов. Макролиды хорошо усваиваются при приеме внутрь и аккумулулируются в легких, печени и почках. Объединенной экспертной группой ФАО/ВОЗ/МЭБ макролиды отнесены к критически важным антибиотикам для медицины и ветеринарии.  По механизму действия антимикробный эффект макролидов обусловлен нарушением синтеза белка на рибосомах микробной клетки. Как правило, макролиды оказывают бактериостатическое действие, но в высоких концентрациях способны действовать бактерицидно на БГСА, пневмококк, возбудителей коклюша и дифтерии. Макролиды проявляют ПАЭ в отношении грамположительных кокков. Кроме антибактериального действия они обладают иммуномодулирующей и умеренной противовоспалительной активностью.  Макролиды относят к числу наименее токсичных антибиотиков, но несмотря на это наличие остатков антибиотиков в пищевых продуктах может вызывать аллергические реакции у людей.  Азитромицин превосходит другие макролиды по активности в отношении *H.influenzae*, а кларитромицин – против *H.pylori* и атипичных микобактерий (*M.avium* и др.). Действие кларитромицина на *H.influenzae* и ряд других возбудителей усиливает его активный метаболит - 14-гидроксикларитромицин. Спирамицин, азитромицин и рокситромицин активны в отношении некоторых простейших (*T.gondii*, *Cryptosporidium* spp.). Китасамицин, принадлежащий к ряду макролидных антибиотиков, имеет антибактериальную активность, схожую с активностью тилозина, эритромицина, спирамицина и олеандомицина. Способ действия заключается в подавлении процесса синтеза белка. Спектр ингибирования включает микоплазмы, грамположительные бактерии, некоторые грамотрицательные бактерии, лептоспиры, риккетсии. Он также подавляет большинство бактерий, устойчивых к штаммам пенициллина, окситетрациклина, хлортетрациклина, эритромицина и хлорамфеникола. Этот антибиотик был одобрен Министерством сельского хозяйства в 2001 году в качестве добавки, стимулирующей рост у домашней птицы и свиней, для контроля и профилактики заболеваний органов пищеварения и дыхательных путей. Тилдипирозин, как и другие макролиды, ингибирует синтез белка, блокируя пролонгацию и высвобождение полипепитодов. Спектр активности тилдипирозина ограничен грамположительными бактериями и некоторыми грамотрицательными бактериями, которые вызывают респираторные заболевания у крупного рогатого скота и свиней. Как и азитромицин, тилдипирозин может обладать множественными иммуномодулирующими эффектами, которые, вероятно, способствуют терапевтическому эффекту при респираторных инфекциях и, возможно, других заболеваниях.  Микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. и *Acinetobacter* spp. обладают природной устойчивостью ко всем макролидам. На территории РФ утвержден и применяется государственный стандарт ГОСТ 34136-2017 «Продукты пищевые, продовольственное сырье. Метод определения остаточного содержания макролидов, линкозамидов и плевромутилинов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием». Следует отметить, что область применения указанного документа не распространятся на корма и кормовые добавки. Кроме этого с момента разработки ГОСТ 34136-2017 зарегистрирован ряд новых макролидов, также не вошедших в область применения указанной методики; т.е можно утверждать, что на территории Российской Федерации не существует подтверждающих методов определения содержания макролидов в кормах и кормовых добавках.Препараты, имеющие в своем составе указанные антибиотики, зарегистрированы в Российской Федерации и Республике Беларусь, и, следовательно, применяются на территории Таможенного Союза. Учитывая вышесказанное, а также ориентируясь на требования ЕС и иных государств, торговых партнеров Российской Федерации, необходим надежный, быстрый и воспроизводимый метод определения остаточного содержания макролидных антибиотиков в кормах и кормовых добавках. |
| **Цель исследования** | Целью исследований является разработка методики определения содержания - спирамицина, эритромицина, кларитромицина, тулатромицина, тилмикозина, тилозина, тилвалозина, азитромицина, китасамицина, тилдипирозина, олеандромицина, гамитромицина, джозамицина, диритромицина, мидекамицина, рокситромицина в кормах и кормовых добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. |
| **Планируемые результаты** | Будут найдены и по возможности унифицированы способы одномоментной экстракции макролидов, в том числе эмерджентных в кормах и кормовых добавках (корма, их компоненты, кормовое сырье, концентраты для обогащения кормов органического и неорганического происхождения). Полученные экспериментальные данные имеют методическую и практическую ценность, так как подобная задача ранее не решалась. Информация будет иметь прикладной характер и ляжет в основу методики определения остаточных количеств антибиотиков макролидной группы в кормах и кормовых добавках. Методика будет предназначена, в первую очередь, для применения в лабораториях, осуществляющих государственный надзор за безопасностью и качеством кормов и кормовых добавок.  Уникальные методические наработки, полученные в рамках планируемой работы будут оформлены/зарегистрированы в качестве заявки на оформление патента. |