Виявлено, що за вмістом БГКП і золотистого стафілококу, дана риба в 90,9±2,7 % проб відповідала вимогам ДСТУ, що в 18,9 та 9,3 раза ($p < 0,05$) відповідно більше, порівняно з такою рибою без вмісту антибактеріальних препаратів (рис 2).

Висновки

1. Встановлено, що досліджені проби замороженої риби, які за біохімічними показниками відносилися до несвіжої, але не містили залишки антибактеріальних препаратів, у 95,2±2,7 % випадків за вмістом МАФАнМ не відповідають вимогам ДСТУ, а за вмістом психротрофів всі 100 % проб не відповідали цьому рівню. За вмістом БГКП, кількість проб риби, які вкладалися у стандартний норматив становила 4,8±0,2 %, а за вмістом золотистого стафілококу 9,7±0,3 %.

2. Заморожена риба, яка за біохімічними показниками відносилася до несвіжої, але містила залишки антибактеріальних препаратів, у 68,3±2,9 % випадках за вмістом МАФАнМ відповідала вимогам стандарту. Санітарно-показові мікроорганізми (БГКП і золотистий стафілокок) у замороженій рибі із вмістом залишків антибактеріальних препаратів також виділялися в значно меншій мірі, порівняно з рибою без антибіотиків.

3. Виявлено, що кількість психротрофної мікрофлори замороженої риби перевищує вміст МАФАнМ і більш повно характеризує біохімічні процеси, які визначають її свіжість. Тільки комплексний контроль замороженої риби, яка імпортується в Україну, за біохімічними, мікробіологічними показниками та визначенням залишків антибактеріальних препаратів дозволить виявити і вибракувати небезпечну продукцію.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні родового і видового складу психротрофної мікрофлори, залежно від вмісту залишків антибактеріальних препаратів та біохімічних показників, які характеризують її якість.

References

Akinbowale, O. L., Peng, H., & Barton, M. D. (2006). Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. *Journal of Applied Microbiology, 100, 5, 1103–1113.*

Bayer, E. V., Novozhitskaya, Yu. N., Shevchenko, L. V., & Mykhalska, V. M. (2017). Monitoring of residues of veterinary preparations in food products. *Ukrainian Journal of Ecology, 7, (3), 251–257. doi: 10.15421/2017_76*

Chouliara, I., Savvaidis, I. N., Panagiotakis, N., Kontominas, M. G. (2004). Reservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. *Food Microbiology, 21, 351–359.*

Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P., & Villani, F. (2009). Mesophilic and Psychrotrophic Bacteria from Meat and Their Spoilage Potential In Vitro and in Beef. *Applied and environmental microbiology, 75, 1990–2001.*

Grynevych, N., Sliusarenko, A., Dyman, T., Sliusarenko, S., Gutyj, B., Kukhtyn, M. … Kushnir, V. (2018). Etiology and histopathological alterations in some body organs of juvenile rainbow trout Oncorhynchus mykiss (Walbaum, 1792) at nitrite poisoning. *Ukrainian Journal of Ecology, 8, 1, 402–408. doi:* 10.15421/2018_228

Mulic, R., Giljanovic, S., Ropac, D., & Katalinic, V. (2004). Some epidemiologic characteristics of foodborne intoxications in Croatia during the 1992–2001 period. *Acta Medica Croatica, 58, 421–427.*

Riba samorozhena. Technitschni umowi. (2007). *HOST 4868:2007 from 01th January 2008.* Kiev Nazional'nij ctandart Ukraïni (in Ukrainian).

Salata, W. S., & Kuchtin, M. D. (2017). Mikrovlora ocholodzhenoi i primorozhenoi jalowitschini sa cholodil'nogo sberigannja. *Problemy zooinzhenerii ta veterynarnoi medytsyny: Zbirnyk naukovykh prats Kharkivskoi derzhavnoi zooveterynarnoi akademii, 2, 34, 332–336* (in Ukrainian).

Salata, W. S., Kukhtyn, M. D., Semanjuk, V. I., & Perkij, Y. B. (2017). Dynamika mikroflory okholodzhenoi i prymorozhenoi yalovychyny za yii zberihannia. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii im. S. Z. Hzhytskoho, 19, 73, 178-182.* (in Ukrainian).

Topic Popovic, N., Benussi Skukan, A., Dzidara, P., Coz-Rakovac, R., Strunjak-Perovic, I., Kozacinski, L. … Brlek-Gorski, D. (2010). Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicina, 55, 5, 233–241.*

Zambuchini, B., Fiorini, D., Verdenelli, M. C., & Orpianesi, C. (2008). Inhibition of microbiological activity during sole (*Solea solea L.*) chilled storage by applying ellagic and ascorbic acids. *Food Science and Technology, 41, 1733–1738.*

UDC 636.09: 614.3:577.182.76:638.124 doi: 10.31890/vttp.2018.02.26

ADVANCEMENT OF THE METHOD OF NON-COMBINED DEFINITION OF NON-MIOCYIN IN CHARACTERISTICS THE METHOD OF IMMUNOFERMAL ANALYSIS

K. S. Myagka[1], S.A.Tkachuk[2]
[1]State Research Institute with laboratory diagnostics and veterinary-sanitary expertise Expertise, Kyiv, Ukraine
E-mail: katerina_miagka@meta.ua
[2]National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine,
E-mail: ohdin@ukr.net

Improving the methods for detecting antibiotics, in particular from the class of aminoglycosides, is an actual problem of modern laboratory work for the purpose of carrying out state control over their content in honey

The determination of residual amounts of neomycin was carried out by ELISA on the Tecan Sunrise immunoassay analyzer (Sunrise, Austria) using the test systems for competitive immunoassay for EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. No .: 5111NEO) (The Netherlands). It is a test kit for ELISA, complete with the necessary reagents, which are serially controlled by the ISO-9000 quality system and are intended to detect small concentrations of neomycin in honey.

Our conditions for sample preparation and assessment of the suitability of the methodology were carried out in accordance with the criteria set out in the Decision of the European Commission 2002/657 / E of 12 August 2002 on the implementation of analytical methods and the interpretation of their results, and in accordance with the recommendations of the European Union Reference Laboratories in the field of control of residual quantities (CRLs) 20/1/2010 on the assessment of the suitability of screening methods for the determination of residual quantities of veterinary drugs. For performing such actions, the following concepts are analyzed: correctness (accuracy, reliability) – the correspondence between the results of the test and generally accepted reference values; specificity - the ability of the method to distinguish analyte, which is determined from other substances; cut-off limit is the limit of the response or signal obtained when the method is used, indicating the presence of an analyte sample at the concentration level or above; robustness - the ability of the analytical technique not to be influenced by small changes controlled by the analyst in the conditions of the implementation of the methodology. For validation of this screening technique, 20 samples of the matrix (control pure honey) and 20 enriched specimens were examined with a standard neomycin solution at 30.0 μg / kg. Preparation of the samples was performed according to the developed method, and the study in accordance with the instructions to the test system provided by the manufacturer. The analysis was carried out on different days, taking into account possible changes in the operating regime, which have a direct impact on the performance of these studies. Statistical processing of the results was performed by Excel software.

Validation characteristics for determining the residue of neomycin in honey samples are established, such as: the detection capability (by this screening method is 30.0 μg / kg), the cut-off level is 25.7 μg / kg.

The lowest content of neomycin, which can be detected by ELISA using the test system for competitive immunoassay, is EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. No .: 5111NEO) of 15.63 μg / kg.

Key words: *validation characteristics, honey, enzyme immunoassay, neomycin.*

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДУ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ НЕОМІЦИНУ У ЗРАЗКАХ МЕДУ МЕТОДОМ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

К. С. Мягка[1], С. А. Ткачук[2]

[1]Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи Київ, Україна

E-mail: katerina_miagka@meta.ua

[2]Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна

E-mail: ohdin@ukr.net

Встановлені валідаційні характеристики щодо визначення залишків неоміцину у зразках меду, такі як: здатність виявлення (за даним скринінг-методом становить 30,0 мкг/кг), рівень відсічення – 25,7 мкг/кг. Найменший вміст неоміцину, що може бути виявленим методом ІФА за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. No.: 5111NEO) становить 15,63 мкг/кг.

Ключові слова: *валідаційні характеристики, мед, імуноферментний аналіз, неоміцин*

Вступ

С. Богданов (Швейцарія), виступаючи на болгарському форумі Апімондія у 2010 році, підкреслив, що головними забруднювачами меду залишаються застосовувані в різних країнах для контролю американського і європейського гнильців антибіотики: сульфаміди, аміноглікозиди, тетрацикліни, амфеніколи, макроліти, бета лактами, нітрофурани тощо. Вони ж є забруднювачами маткового бджолиного молочка, прополісу і особливо воску (Ponomariv, & Faramazian, 2010).

Аміноглікозиди – це клас антибіотиків, який часто використовується у тваринництві. Якщо антибіотики застосовуються з недотриманням інструкції, їх залишки визначають у харчових продуктах тваринного походження та навколишньому середовищі. Ефективне виявлення їх залишків є важливою частиною захисту здоров'я людей (Yi-Fang Tian, Guan-Hua Chen, Li Hui, Guo Xin, Guo Xiao, & Yun Mei, 2015).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Так антибіотик з групи аміноглікозидів I покоління, що є комплексом антибиотиків (неоміцин А, неоміцин В, неоміцин С), що утворюються у процесі життєдіяльності променевого гриба (актиноміцет – Streptomyces fradiae) або споріднених мікроорганізмів є неоміцин (*Entsiklopediya Lekarstv Tovarov Aptechnoho Assortymenta*, 2018).

Для кількісного визначення вмісту антибіотиків у меді застосовують імуноферментний аналіз (далі – ELISA), який вигідно вирізняється серед інших скринінгових методів високою чутливістю, специфічністю, простою та швидкістю виконання, доступністю і стабільністю реагентів, можливістю комп'ютерної обробки результатів вимірювань та автоматизації етапів виконання аналізу, що забезпечує високу продуктивність випробувань. Найбільш розповсюджена модифікація методу ELISA — конкурентний твердофазний аналіз, реалізована в широкому асортиментів тест-наборів,

які застосовують для скринінгових досліджень багатьма лабораторіями незалежно від їх продуктивності та рівня матеріального забезпечення, аналітичного і пост аналітичного (Yanovych, Zasadna, Kislova, Pazderska, & Maiba, 2014).

Значна частка досліджень вченими далекого зарубіжжя присвячена визначення методології визначення залишків аміноглікозидів за допомогою високоефективної рідинної хроматографії, рідинної хроматографії-мас-спектрометрії та капілярного електрофорезу, більша частка з них це різні імунологічні аналізи. Можливим напрямом з удосконалення цих методів є застосування високоселективних антитіл або аптамерів. Оскільки аміноглікозиди не мають корисної абсорбції, їх деривативація стає важливою частиною попередньої обробки зразку, де головною складовою даного процесу є очищення зразків. Високою селективністю до цього класу антибіотиків володіє застосування саме твердофазного адсорбційного матеріалу (McGlinchey, Rafter, Regan, McMahon, 2008).

У світовій практиці зустрічаються удосконалені методи з виявлення аміноглікозидів. Розроблений електрохімічний паперовий імуносенсор для специфічного виявлення неоміцину є більш швидким порівняно з класичним методом ELISA, і весь процес виявлення триває менше 30 хвилин (універсальний датчик LOD 0,04 нг мл-1) (Chuanlai, Libing, Xiaoling, Hua, Wei, & Wei, 2011; McGlinchey, Rafter, Regan, McMahon, 2008).

Також можливе швидке визначення неоміцину в біологічних зразках з використанням квантових точок з подвійно-селективними сайтами зв'язування (Ying-chun Wan et al., 2018).

Дослідження (випробування) з імуно-біосенсорного інгібування для виявлення аміноглікозидів, зокрема стрептоміцину у меді, зумовлюють необхідність розведення зразків з буфером. Межа виявлення стрептоміцину з вільних зразків (n = 20) меду становила 15 мкг у 1 кг.

Розрахунки ґрунтувалися на відтворюваності (відносному стандартному відхиленні), максимальна межа визначення залишків (MRL), що склали 9,5 % (20 мкг у 1 кг меді). Але такі межі визначення не встановлені в жодних вимогах європейського законодавства (Ferguson, Baxter, McEvoy, Stead, Rawlings, & Sharman, 2002).

Таким чином, удосконалення методів виявлення антибіотиків, зокрема з класу аміноглікозидів, є актуальною проблемою сучасної лабораторної справи з метою проведення державного контролю їх вмісту у меді.

Мета роботи – визначити залишкові кількості неоміцину у меді методом ELISA.

Завдання дослідження: провести валідацію методу ELISA для визначення залишків неоміцину у зразках меду.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на базі Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ м. Київ). Матеріалом для дослідження слугував розчин неоміцину з концентрацією 1000 нг/мл.

Визначення залишкових кількостей неоміцину проводили методом ELISA на імуноферментному аналізаторі «Tecan Sunrise» (виробництво «Sunrise», Австрія) за допомогою тест-систем для конкурентного імуноферментного аналізу EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. No.: 5111NEO) (Нідерланди) (Yi-Fang Tian, Guan-Hua Chen, Li Hui, Guo Xin, Guo Xiao, & Yun Mei, 2015). Вона представляє собою тест-систему для ELISA в комплекті із необхідними реагентами, що випускаються серійно під контролем системи якості ISO-9000 і призначені для визначення малих концентрацій неоміцину у меді.

Результати та їх обговорення

Розроблені нами умови пробопідготовки та оцінка придатності методики проводилась відповідно до критеріїв зазначених у Рішенні Єврокомісії 2002/657/ЄС (Yanovych, Zasadna, Kislova, Pazderska, & Maiba, 2014) від 12 серпня 2002 року щодо виконання аналітичних методів та інтерпретації їх результатів, та відповідно до рекомендацій референс-лабораторій Європейськьго Союзу в галузі контролю залишкових кількостей (CRLs) 20/1/2010 щодо оцінки придатності скринінгових методів за проведення визначення залишкових кількостей ветеринарних препаратів. За виконання таких дій аналізуються наступні поняття: правильність (точність, надійність) – відповідність між результатами випробування і загальноприйнятим еталонним значенням; специфічність – здатність методу відрізнити аналіт, який визначається від інших субстанцій; межа відсікання – межа відповіді або сигналу, одержаного під час застосування методу, що вказує на наявність у зразку аналіту на рівні цільової концентрації або вище; робасність – здатність аналітичної методики не зазнавати впливу малих контрольованих аналітиком змін в умовах виконання методики (Yanovych, & Mysko, 2014). Для проведення валідації даної скринінг-методики було досліджено 20 зразків матриці (контрольного чистого меду) та 20 збагачених зразків стандартним розчином неоміцину на рівні 30,0 мкг/кг. Підготовку зразків виконували за розробленою методикою, а дослідження згідно з інструкцією до тест-системи, наданої фірмою-виробником. Аналіз проводили у різні дні, з урахуванням можливих змін експлуатаційного режиму, що мають безпосередній вплив на виконання даних досліджень. Статистичну обробку результатів проводили програмним забезпеченням Excel.

Таким чином, для проведення скороченої валідації, досліджували контрольні зразки матриці та зразки, що збагачені на рівні – 30,0 мкг/кг. Підбирали контрольні зразки (мед), що не містять аналіту (або містять його в незначній кількості). Розподіл зразків зазначено у таблиці 1 та 2.

Таблиця 1

Проведення дослідження контрольних зразків

№ зразка	*День*	*Тип зразка*	*№ зразка*	*День*	*Тип зразка*
1	1	мед	11	2	мед
2	1	мед	12	2	мед
3	1	мед	13	2	мед
4	1	мед	14	3	мед
5	1	мед	15	3	мед
6	1	мед	16	3	мед
7	2	мед	17	3	мед
8	2	мед	18	3	мед
9	2	мед	19	3	мед
10	2	мед	20	3	мед

Таблиця 2

Проведення дослідження збагачених зразків

№ зразка	*День*	*Тип зразка*	*№ зразка*	*День*	*Тип зразка*
1	1	мед	11	2	мед
2	1	мед	12	2	мед
3	1	мед	13	2	мед
4	1	мед	14	3	мед
5	1	мед	15	3	мед
6	1	мед	16	3	мед
7	2	мед	17	3	мед
8	2	мед	18	3	мед
9	2	мед	19	3	мед
10	2	мед	20	3	мед

Для отримання, у кінцевому підрахунку, концентрації аналіту – 30,0 мкг/кг.

Добавку стандарту антибіотику розраховували наступним чином:

1. визначали кількість аналіту, що потрібно внести у зразок об'ємом 100 г за допомогою пропорції:

30,0 мкг аналіту в 1000г зразку,

де: Х – мкг аналіту в 100 г зразку. Відповідно отримали: Х =30,0 х 100/1000=3,0 мкг;

2. Визначали в якому об'ємі розведеного стандарту (1000 мкг/кг) знаходиться визначена кількість аналіту, застосувавши пропорцію:

1000 мкг аналіту в 1000г, а 3,0 мкг аналіту у Х мл, відповідно Х = 3,0 х 1000 / 1000 = 3,0 мл.

Таким чином, для внесення на 100 г нульового зразку потрібно взяти 3000 мкл розчину стандарту з концентрацією 1000 мкг/кг. Зразки з внесеною добавкою ретельно перемішували.

Зразки досліджували згідно методичних вказівок (Miahka, Kostiuk, & Tkachuk, 2018**).** Отримані результати дослідження зазначено у таблиці 3.

Таблиця 3

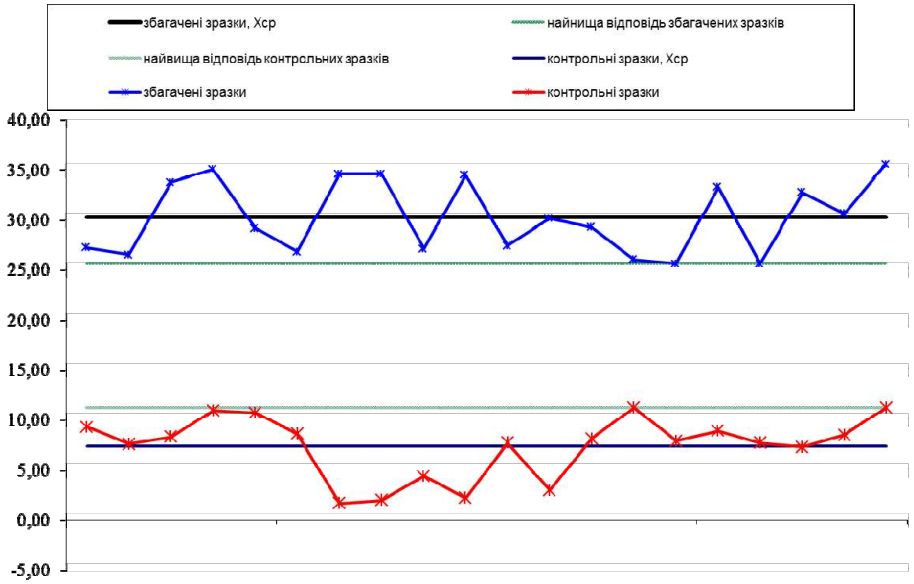
Результати аналізу контрольних та збагачених зразків неоміцином, мкг/кг

№ зразка	*Контрольні зразки*	*Збагачені зразки на рівні – 30,0 мкг/кг*
1	9,3	27,3
2	7,6	26,6
3	8,3	33,8
4	11,0	35,1
5	10,8	29,2
6	8,6	26,9
7	1,7	34,6
8	2,0	34,6
9	4,4	27,2
10	2,2	34,5
11	7,7	27,5
12	3,0	30,2
13	8,1	29,3
14	***11,3***	26,1
15	7,9	***25,7***
16	8,9	33,3

17	7,7	***25,7***
18	7,3	32,8
19	8,5	30,7
20	***11,3***	35,6
X середнє	**7,36**	**30,3**
SD	3,1	3,6
RSD, %		11,9
Recovery, %		101,0

Згідно з даними, наведеними у таблиці 3 найвища відповідь, визначена для контрольних зразків становить 11,3 мкг/кг, а найнижча відповідь, визначена для збагачених зразків – 25,7 мкг/кг. Жодна з відповідей для збагачених зразків не збігається з діапазоном відповідей контрольних зразків, тому ми можемо зробити висновок, що ССβ цього скринінг-методу менша або дорівнює 30,0 мкг/кг (β-помилка < 5%) і рівень відсічення цього тесту – 25,7 мкг/кг.

На рисунку зображено графічне подання технічного порогу та межі відсікання.



Висновки

1. Встановлені валідаційні характеристики щодо визначення залишків неоміцину у зразках меду, такі як: здатність виявлення (за даним скринінг-методом становить 30,0 мкг/кг), рівень відсічення – 25,7 мкг/кг.

2. Найменший вміст неоміцину, що може бути виявленим методом ІФА за допомогою тест-системи для конкурентного імуноферментного аналізу EuroProxima Neomycin ELISA (Cat. No.: 5111NEO) становить 15,63 мкг/кг.

3. До переліку антибіотиків, внесених у ДСТУ 4497:2005 "Мед натуральний. Технічні умови", додати неоміцин і встановлений максимально допустимий рівень визначення – 30,0 мкг/кг.

У перспективі плануємо проаналізувати експериментальні дані щодо вмісту неоміцину у меді після застосування різних способів обробки бджолосімей антибактеріальними препаратами.

References

Miahka, K. S., Kostiuk, M. V., & Tkachuk, S. A. (2018*). Metodychni rekomendatsii z kilkisnoho vyznachennia neomitsynu za dopomohoiu test-systemy dlia imunofermentnoho analizu EuroProxima Neomycin ELISA* (Cat. No.: 5111NEO). Kyiv : DNDILDVSE (in Ukrainian).

Ponomariv, A. S., & Faramazian, A. S. (2010). *Orhanichne bdzhilnytstvo y orhanichnyi med*. Retreieved from http://kamnu.net/index.php/bdjoli/6976-organichne-bdzhilnictvo-j-organichnij med.html (in Ukrainian).

Entsiklopediya lekarstv tovarov aptechnoho assortymenta. (2018). Retreieved from https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_1014.htm. (in Russian).

Yanovych, D. V., Zasadna, Z. S., Kislova, S. M., Pazderska, O. M., & Maiba, N. A. (2014). Zastosuvannia imunofermentnoho metodu dlia skryninhu zalyshkovykh kilkostei veterynarnykh preparativ ta kontaminantiv u produktakh tvarynnoho pokhodzhennia. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten*, 15, 1, 249–255 (in Ukrainian).

Yanovych, D. V., & Mysko, H. L. (2014). *Otsinka prydatnosti metodyky vyznachennia zalyshkiv sulfanilamidiv dlia provedennia skryninhovykh vyprobuvan*. Retreieved from file:///C:/Users/Svetlana/Downloads/Ntbibt_2014_15_4_45%20(1).pdf (in Ukrainian).

Chuanlai, X., Libing, W., Xiaoling, W., Hua, K., Wei, C., & Wei, M. (2011). *Versatile electrochemical paper-immunosensor and method for detection of aminoglycoside antibiotics by using the sensor*. Jiangnan University. Retreieved from https://patents.google.com/patent/US8926808B2/en

Ferguson, J. P., Baxter, G. A., McEvoy, J. D. G., Stead, S., Rawlings, E., & Sharman, M. (2002). Detection of streptomycin and dihydrostreptomycin residues in milk, honey and meat samples using an optical biosensor. *Analyst*, 127, 951–956. Retreieved from http://dx.doi.org/10.1039/B200757F.

McGlinchey, T. A., Rafter, P. A., Regan, F., McMahon, G. P. (2008). A review of analytical methods for the determination of aminoglycoside and macrolide residues in food matrices. *Analytica Chimica Acta*, 624, 1, 1–15. Retreieved from https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.05.054.

Yi-Fang Tian, Guan-Hua Chen, Li Hui, Guo Xin, Guo Xiao, & Yun Mei. (2015). Detection of Aminoglycoside Residues. *Food Analytical Methods*, 8, 7, 1842–1857.

Ying-chun Wan, Yan-jie Liu, Chen Liu, Hui-ting Ma, Hui-fang Yu, Jia-wei Kang … Bin Lu. (2018). Rapid determination of neomycin in biological samples using fluorescent sensor based on quantum dots with doubly selective binding sites. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 154, 30, 75–84. Retreieved from https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.02.028.

UDC 636.92.09:615.9-37 doi: 10.31890/vttp.2018.02.27

FORENSIC VETERINARY INSTALLATION OF POISONING OF HEALTH DRUGS BY CONTAINING CARDIAC GLYCOSIDES, BY RESULTS OF PATHOMORPHOLOGICAL STUDY

I. V. Yatsenko[1], J. K. Serdioucov[2], L. P. Yakymenko[2]
[1]Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine,
Academitchna street, 1, Mala Danilivka, Dergachi district, Kharkiv region, Ukraine, 62341
[2]National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine, Heroiv Oboronyi street, 03041

In literary sources there are no clear criteria for formulating a pathologic-anatomical diagnosis with such poisonings. In general, the pathomorphology of this type of poisoning in literary sources is practically not described. Certain data on poisoning with cardiac glycosides have been obtained only by scientists in the field of human medicine. In sources in the field of veterinary medicine there are reports of poisoning with other types of glycosides (cyanglycosides, thioglycosides, etc.), but not cardiac.

Experiments were carried out on rabbits of chinchilla breed, at the age of 3 months. Three groups of animals were formed. In the control group, 2 clinically healthy rabbits were selected, both males. In the first experimental group, 2 animals (male and female) were randomly assigned to receive the drug "Digoxin" in tablets of 0.25 mg each, equal to a single dose and to exceed the therapeutic dose by 5 times. In the second experimental group, 3 animals were selected, all – males, who orally received the drug "Digoxin" in tablets of 0.25 mg each, the total single dose was 0.5 mg, which exceeds the therapeutic dose by 10 times.

Animals of 2 experimental groups died the day after the introduction of the drug "Digoxin", animals 1 experimental group - on the third day. Rabbits of the control group euthanized with the drug "Tiopental sodium".

The selected batches of animal organs were fixed in 10% of formalin buffered saline buffer for Lilli, poured into paraffin, the required number of sections was cut in a thickness of 10 μm, stained with hematoxylinum of Karazzi and eosin, studied under a microscope micros mcq 2000 and microphotographed.

According to the results of a macroscopic study, none of the animals that were involved in the experiment showed any distinct macroscopic changes. Internal organs of animals in the control group did not differ from those in experimental group animals.

Summing up, the following criteria for microscopic diagnosis of cardiac glycoside poisoning can be considered as a complex of microscopic signs: grainy dystrophy of cardiomyocytes; necrosis of the myocardium; acute catarrhal enteritis; granular hepatocytes dystrophy; serous extracapsular glomerulonephritis; protein and necrotic nephrosis; hyperemia and pulmonary edema.

2. In cases of forensic veterinary expertise for suspected poisoning of animals with cardiac glycosides it is advisable to ask the expert questions. Based on the revealed morphological changes and the circumstances in which the animals may be poisoning with cardiac glycosides, we believe that before the forensic expert in such cases, it is advisable to ask the following questions:

1. Was the animal ill with heart disease during life?

2. Have they prescribed and prescribed her drugs containing cardiac glycosides? What drugs are doses?

3. Did not the owner of the animal, his family members, or people who looked after the animal, received drugs containing cardiac glycosides?

4. In this case, could the animal have free access to drugs containing cardiac glycosides?

5. Did macroscopic changes occur during autopsy, especially in the heart?

6. Is a microscopic study of a complex of changes similar to those described above?

Further researches need to establish the pathomorphology of poisoning with cardiac glycosides in other species of animals.

***Key words**: forensic veterinary, poisoning, cardiac glycosides, pathomorphological research.*