- 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 <u>http://dx.doi.org/10.1039/B200757F</u>.
- 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 <u>https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.02.028</u>.

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<sup>1</sup>, J. K. Serdioucov<sup>2</sup>, L. P. Yakymenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kharkiv State Zooveterinary Academy, Kharkiv, Ukraine, Academitchna street, 1, Mala Danilivka, Dergachi district, Kharkiv region, Ukraine, 62341 <sup>2</sup>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  $\mu$ m, 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.

## СУДОВО-ВЕТЕРИНАРНЕ ВСТАНОВЛЕННЯ ОТРУЄНЬ ТВАРИН ПРЕПАРАТАМИ, ЩО МІСТЯТЬ СЕРЦЕВІ ГЛІКОЗИДИ, ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ПАТОМОРФОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

І. В. Яценко<sup>1</sup>, Я. К. Сердюков<sup>2</sup>, Л. П. Якименко<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харківська державна зооветеринарна академія, Харків, Україна вул. Академічна, 1, смт. Мала Данилівка, Дергачівський район, Харківська обл., 62341 <sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, Україна, вул. Героїв Оборони, 15, Київ, 03041

Детально описано мікроструктуру різних органів і тканин тварин (на прикладі кролів) за впливу серцевих глікозидів. Отримано нові дані про зміни в деяких органах за даного виду отруєння. Розроблено критерії патоморфологічної діагностики отруєнь тварин серцевими глікозидами. **Ключові слова**: судова ветеринарія, отруєння, серцеві глікозиди, патоморфологічне дослідження.

### Вступ

Актуальність теми. Серцеві глікозиди безазотисті хімічні сполуки рослинного походження, які впливають на серце через виражений кардіотонічний ефект (Batushkin, & Solonynka, 2017). Лікарські препарати, що їх містять, застосовують пюлям тваринам 3 органічними функціональними ураженнями серця. Нерідко трапляються випадки отруєння цими речовинами тварин. Це буває або за передозування лікарських препаратів, або у випадках отримання твариною вільного доступу до цих ліків (Rouder, 2003). Такі випадки трапляються в практиці лікаря ветеринарної медицини – патологоанатома, а інколи – й судововетеринарного експерта. Морфологічна діагностика отруєнь глікозидами ускладнюється тим, що під час розтину трупів тварин, які загинули внаслідок токсичного впливу даної отрути, фактично не виявляється виразних макроскопічних змін, які були б доказовими для експертизи у подібних випадках.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. У літературних джерелах відсутні чіткі критерії постановки патолого-анатомічного діагнозу при подібних отруєннях. Взагалі патоморфологія даного виду отруєння в літературних джерелах практично не описана (Cardiac Glycosides Poisoning in Dogs). Певні дані про отруєння серцевими глікозидами отримані лише вченими в галузі людської медицини (Batushkin, & Solonynka, 2017; Diadyk, Bahrii, Halaieva, & Diadyk, 2003). У джерелах у галузі ветеринарної медицини трапляються повідомлення отруєння іншими видами про глікозидів (ціанглікозиди, тіоглікозиди та ін.), але не серцевими (Zon, & Ivanovska, 2012).

Мета роботи – дослідити патологоморфологічні зміни в організмі тварин (на прикладі кролів) за отруєння серцевими глікозидами та розробити критерії їх патоморфологічної діагностики та судово-експертного дослідження.

Завданням дослідження було виявити та детально описати морфологічні зміни у внутрішніх органах дослідних тварин (кролів) за отруєння серцевими глікозидами, сформувати критерії мікроскопічної діагностики даного виду отруєнь та список питань, які ставлять перед експертом у подібних випадках.

#### Матеріал і методи досліджень

Дослід ставили на кролях породи шиншила, віком 3 місяці, що утримувалися в віварії факультету ветеринарної медицини НУБІП України. Було сформовано 3 групи тварин. В контрольну групу було відібрано 2 клінічно здорових кролів, обидва – самці. У першу дослідну групу було відібрано 2 тварини (самець і самка), яким перорально було задано препарат «Дигоксин» в таблетках по 0,25 мг кожна, що дорівнює дозі однократного введення та перевищує терапевтичну дозу в 5 разів. У другу дослідну групу було відібрано 3 тварини, усі – самці, яким перорально було задано препарат «Дигоксин» в таблетках по 0,25 мг кожна, усього доза однократного введення складала 0,5 мг, що перевищує терапевтичну дозу в 10 разів.

Тварини 2 дослідної групи загинули наступного дня після введення препарату «Дигоксин», тварини 1 дослідної групи – на третій день. Кролів контрольної групи евтаназували препаратом «Тіопентал натрію».

Відібрані шматочки органів тварин фіксували у 10 % забуференому розчині формаліну за Ліллі, заливали в парафін, виготовляли необхідну кількість зрізів товщиною 10 мкм, фарбували гематоксиліном Караці та еозином, вивчали під світловим мікроскопом micros mcq 2000 та виконували мікрофотозйомку (Horalskyi, Khomych, & Kononskyi, 2015).

### Результати та їх обговорення

За результатами макроскопічного дослідження в жодної з тварин, які були задіяні у досліді, не було виявлено виразних макроскопічних змін. Внутрішні органи тварин контрольної групи нічим не відрізнялися від таких у тварин дослідних груп.

За результатами мікроскопічного дослідження гістологічна будова внутрішніх органів тварин контрольної групи не відрізнялася від описаної в літературі. У тварин першої та другої дослідних груп зміни були подібними, але в останніх були значно більш виразними.

Шлунок. Із патологічних змін було виявлено лише набряк власної пластинки. Відсутність змін запального характеру в слизовій оболонці шлунка може бути пояснена нетривалістю знаходження в шлунку отрути, яка надійшла перорально. Набряк сполучної тканини слизової оболонки, ймовірно, виник не внаслідок безпосередньої дії отруйних речовин на стінку шлунка, а внаслідок впливу отрути, яка вже всмокталася в кров через стінку судин, що кровопостачають шлунок. Тонка кишка. Виявляли гострий катаральний ентерит (рис. 1).

Ознаками його були десквамація епітелію, переповнення крипт слизовою речовиною, набряк та незначна лімфоцитарна інфільтрація волокнистої сполучної тканини, гіперемія судин. Таке ураження нетипове для отруєнь, за яких отрута надходить перорально, оскільки, як правило, отрути, більшість з яких є сильнодіючими речовинами, спричиняють набагато тяжчі пошкодження кишечника у вигляді геморагічного або некротичного запалення. Наявність найбільш поширеної форми запалення кишечника – гострий катаральний, ймовірно, обумовлена високим ступенем розчинності серцевих глікозидів і великою швидкістю всмоктування їх через стінки кишки у кров. Однак певна реакція з боку слизової оболонки тонкої кишки на вплив серцевих глікозидів присутня. У товстій кишці достовірних мікроскопічних змін ми не спостерігали. Це можна пояснити тим, що переважна більшість отрути всмоктується у тонкій кишці.

Печінка. Гепатоцити мали округлу або неправильну форму, більшість із них мали погано профарбовані ядра і неоднорідно забарвлену

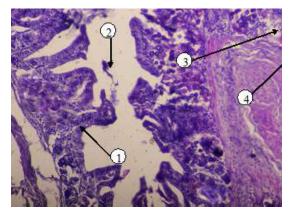
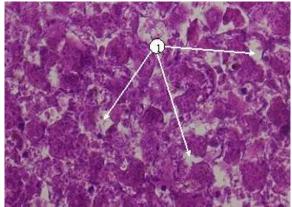


Рис. 1. Тонка кишка тварин 2 дослідної групи. Лімфоцитарна інфільтрація (1), десквамація епітелію в просвіт кишки (2), набряк сполучної тканини власної пластинки (3), гіперемія судин (4). Фарбування гематоксиліном Караці та еозином, х 400.

Серце. У міокарді спостерігали зернисту дистрофію кардіоміоцитів. Вважаємо, що розвинулась вона внаслідок як загальної інтоксикації організму, так і вибіркової, спрямованої дії серцевих глікозидів на міокард.

Крім того, виявляли початок некрозу міокарду, що морфологічно було виражене руйнуванням окремих кардіоміоцитів (рис. 3). Ці зміни можна вважати притаманними саме дії серцевих глікозидів; вважаємо, що ця ознака претендує на статус патогномонічної, що, однак, повинно бути підтверджене подальшими

цитоплазму з характерним зернистим, «пінистим» виглядом. По всьому простору печінкових часточок виявляли відкладення білірубіну у вигляді зерен жовтувато-коричневого кольору. В окремих часточках спостерігали розширення просторів Діссе, в яких містилася майже незафарбована субстанція. Таким чином, в печінці спостерігали чітко виражену зернисту дистрофію гепатоцитів та початкову стадію розвитку серозного гепатиту Виявлена в печінці зерниста дистрофія гепатоцитів, у стані якої перебувала більшість цих клітин, пояснюється розвитком загальної інтоксикації організму і, як наслідок, впливом отрути на цитоплазматичні структури гепатоцитів. Такі зміни є типовими для практично всіх видів отруєнь. Така ознака, як набряки просторів Діссе (рис. 2), свідчить про початок розвитку серозного неспецифічного реактивного гепатиту. Повної вираженої картини гепатиту ми не спостерігали, оскільки дослідні тварини досить швидко загинули і повністю ознаки гепатиту розвинутись не встигли.



**Рис. 2**. Печінка тварин 2 дослідної групи. Набряк просторів Діссе (1). Фарбування гематоксиліном Караці та еозином, х 400.

дослідженнями. Вважаємо, що набряк міжм'язової сполучної тканини (рис. 3) був спричинений впливом токсичних речовин, які надійшли через судини, що кровопостачають серце. Ці ж причини, вочевидь, призвели до інфільтрації сполучної тканини гістіоцитами.

Пегені. Набряк легень (рис. 4) є зміною, типовою для всіх видів отруєнь, і виник внаслідок дії токсинів на стінку судин легень. Ознаками його були наявність трансудату в ряді альвеол та геморагічна інфільтрація міжальвеолярної сполучної тканини.

ВЕТЕРИНАРІЯ, ТЕХНОЛОГІЇ ТВАРИННИЦТВА ТА ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ, 2018, №2 Науково-практичний журнал Харківської державної зооветеринарної академії

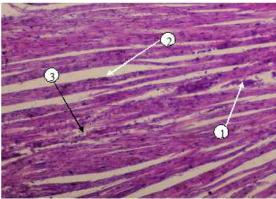


Рис. 3. Міокард тварин 2 дослідної групи. Руйнування кардіоміоцитів (1), набряк міжм'язової сполучної тканини (2) та її гістіоцитарна інфільтрація (3). Фарбування гематоксиліном Караці та еозином, х 100.

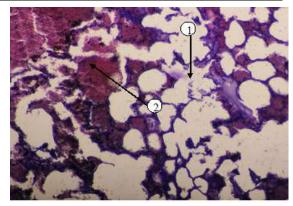
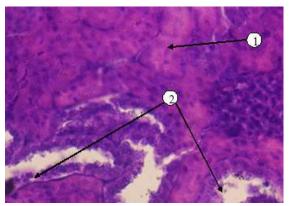


Рис. 4. Легені тварин 2 дослідної групи. Трансудат та десквамований епітелій в просвіті альвеол (1), геморагічний набряк міжальвеолярної сполучної тканини (2). Фарбування гематоксиліном Караці та еозином, х 200.

Нирки. В окремих клубочках спостерігали наявність простору між судинами клубочка й капсулою. Цей простір містив блідо-рожеву, ледь зафарбовану субстанцію. Епітеліоцити канальців були значно збільшені у розмірах, просвіти канальців мали незначний діаметр, а в більшості випадків були відсутніми. Цитоплазма епітеліоцитів була еозинофільно зафарбована, неоднорідна, зерниста на великих збільшеннях. Ядра епітеліоцитів були погано профарбовані. В окремих канальцях спостерігали десквамацію епітеліоцитів у просвіт, і їх руйнування (рис.5). Спостерігалися численні міжканальцеві крапкові крововиливи, які на великих збільшеннях мали округлу чи овальну форму (рис. 6).

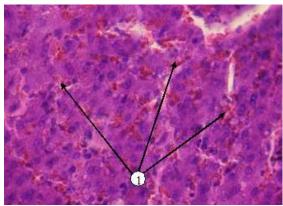


**Рис. 5.** Нирка тварин 2 дослідної групи. Зерниста дистрофія епітеліоцитів канальців (1), руйнування епітелію канальців (2). Фарбування гематоксиліном Караці та еозином, х 400.

Серозний екстракапілярний гломерулонефрит виник, ймовірно, внаслідок впливу отруйних речовин на стінку судин клубочків. Дистрофічні зміни в епітелії канальців у вигляді білкового та некротичного нефрозу зумовлені загальною інтоксикацією організму і є типовими для більшості отруєнь.

Виходячи з виявлених морфологічних змін та обставин, за яких в тварин може виникнути отруєння серцевими глікозидами, вважаємо, що перед судово-ветеринарним експертом у таких випадках доцільно ставити такі запитання:

- 1. Чи тварина за життя хворіла на захворювання серця?
- Чи призначали та задавали їй лікарські препарати, що містять серцеві глікозиди? Які препарати, в яких дозах?
- Чи не приймав власник тварини, члени його родини або люди, що доглядали



**Рис. 6.** Нирка тварин 2 дослідної групи. Міжканальцеві крововиливи (1). Фарбування гематоксиліном Караці та еозином, х 400.

тварину, лікарські препарати, що містять серцеві глікозиди?

- Чи могла в такому разі тварина отримати вільний доступ до лікарських препаратів, що містять серцеві глікозиди?
- 5. Чи виявляли під час розтину макроскопічні зміни, особливо в серці?
- Чи виявляли за мікроскопічного дослідження комплекс змін, подібний до вищеописаного?

#### Висновки

1. Підсумовуючи, критерієм для постановки мікроскопічного діагнозу на отруєння серцевими глікозидами можна вважати такий комплекс мікроскопічних ознак: дистрофія зерниста кардіоміоцитів; некроз міокарду; гострий зерниста катаральний ентерит; дистрофія гепатоцитів; серозний екстракапілярний

гломерулонефрит; білковий та некротичний нефроз; гіперемія і набряк легень.

2.	У	випадках	судово-ветеринарної		
експертизи	за	підозри	на	отруєння	тварин

серцевими глікозидами доцільно ставити перед експертом вищенаведені запитання.

3. Подальшими дослідженнями необхідно встановити патоморфологію отруєнь серцевими глікозидами в інших видів тварин.

References

- Batushkin, V. V., & Solonynka, H. Ya. (2017). Zastosuvannia dyhoksynu v kardiolohichnii praktytsi. *Kardyolohyia: ot nauky k praktyke*, 1, 53-70 (In Ukrainian).
- Horalskyi, L. P., Khomych, V. T., & Kononskyi, O. I. (2015). Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii (Vyd. 3-ye, vypr. i dopov.). Zhytomyr: Polissia (In Ukrainian).
- Zon, H. A., & Ivanovska, L. B. (2012). Osnovy sudovo-veterynarnoi ekspertyzy otruien i toksykoziv tvaryn. Sumy: Mriia-1 (In Ukrainian).

Rouder Dzhozef, D. (2003). Veterynarnaia toksykolohyia. Moskva: Akvaryum Buk (In Russian).

Diadyk, A. I., Bahrii, A. Ye., Halaieva, Ya. Yu., & Diadyk, I. O. (2003). Suchasni uiavlennia pro mekhanizmy dii sertsevykh hlikozydiv. *Liky*, 3(4), 32-37 (In Ukrainian).

Cardiac Glycosides Poisoning in Dogs. Retreieved from https://wagwalking.com/condition/cardiac-glycosides-poisoning.

UDC 638.162:346.7

doi: 10.31890/vttp.2018.02.28

## ASSESSMENT OF CONFORMITY TO THE LEGISLATION OF HONEY SAMPLES OF DIFFERENT VARIETIES OF BOTANICAL ORIGIN

S. A. Tkachuk, S. V. Bilyk

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine E-mail: ohdin@ukr.net

The Ukrainian market sells honey of different botanical origin, there are at least 30 titles (buckwheat, locust tree, rapeseed, sunflower, clover, lime tree and others).

Today, bee honey is enough to meet the needs of a wide range of consumers. However, the attractive price of a product often leads to the appearance of counterfeit or poor-quality honey. Therefore, when it is implemented in various trading networks, it is necessary to carry out an assessment of quality, and to prevent the occurrence of counterfeit to the consumer.

The purpose of the work is to investigate the honey of various botanical origin by physical and chemical indices.

The task of the study is to establish the conformity of the investigated samples of honey of different botanical origin to the requirements of the current DSTU 4497:2005 Natural honey. Technical conditions for physical and chemical indicators.

Materials for research were selected samples of honey of different botanical origin: flower, sunflower, acacia, buckwheat and grass.

Tests of honey samples for research were conducted according to DSTU 4497: 2005 Natural honey. Technical conditions.

The investigated honey samples of color and other organoleptic parameters corresponded to the current standard. Thus, the flavor was specific, pleasant, without foreign smells, well pronounced, delicate, depending on the botanical origin of honey. The taste of samples of honey of different botanical origin was sweet, tender, pleasant, irritating the mucous membrane of the oral cavity, without foreign flavors. By consistency, samples of honey were, in most cases, *liquid and viscous. Symptoms of fermentation and mechanical impurities are not established.* 

According to physico-chemical parameters, samples of honey of different botanical origin corresponded to those specified in DSTU 4497: 2005 Natural honey. Technical conditions. At the same time, in the sample of the buckwheat honey, the indicator of the mass fraction of sucrose was 6,44  $\pm$  0,12 %, which is 1,07 % and 2,9 % higher than the requirements of the current standard for honey 1 and higher the brand.

The content of sucrose characterizes honey from the standpoint of its maturity, benignity and may be one of the indicators of botanical origin. The increased rate of sucrose may contribute to the implementation of insufficiently mature, counterfeit sugar, or sugar honey. For falsification of honey by sucrose, its organoleptic properties deteriorate, diastase activity decreases, mineral content and invert sugar decreases, and the sucrose content rises. We believe that the investigated honey samples are obtained due to insufficient maturation.

In our study, based on the values of hydroxymethylfurfural content, only samples of acacia honey and honey from herbs corresponded to the higher grade, the rest – to the first. According to the electrical conductivity only samples of flower honey and honey from different herbs responded to the highest grade, the rest – to the first. According to the values of proline content, honey samples from buckwheat and herbs corresponded to the higher grade of the others for the first.

*Key words:* honey, monophloric, polyphloric, national standard.