

## ALLERGEN'S CLASSIFICATION AND METHODS FOR THEIR DETECTION

Haidei O. S., Novozhytska J. M.

State Scientific Research Institute of Laboratory Diagnostic and Veterinary-Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

The aim of work was to analyze and systematize information about allergen's classification and methods of their detection.

There are a diverse number origin of allergens, depend on their origin they could be: infectious allergens: Bacteria (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Escherichia coli*, *Proteus*, etc.); Viruses; Fungi (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Rizopus*, *Alternaria*, *Candida*, *Cladosporium*, *Pleurotus*, etc.); Protozoa, Parasites (*Helminths*, *Toxocara*, *Lambliа* and others).

Noninfectious allergens – respiratory allergens: household allergens, pollen allergens, products of chemical production, enteral allergens, parenteral allergens, endoallergens.

Despite the wide variety of allergens of both natural origin and industrial products, food allergens take the leading place among them. The most widespread food allergens include: milk, sea fish and seafood, egg's protein, cereals, legumes, fruits and berries, nuts.

For detection allergens use serological (ELISA) and molecular genetic methods (RT-PCR), depending the laboratorie's equipment and technical capabilities.

Conclusions. Given the relevance of the matter and the large number of people of different ages who suffer from food allergies, there is a need for monitoring of food products for the presence of food allergens. In this context, monitoring of cross-contamination in raw materials and production lines, correct labeling of food products is an important part of quality control in the food industry.

Establishment of an complex control system and development of regulatory and legislative framework for food allergens in Ukraine, will provide food labeling and improve public awareness on this issue.

**Keywords:** food allergens, classification, laboratory diagnostics, ELISA, molecular genetic methods, real-time polymerase chain reaction (RT-PCR)

УДК 619:615.099.036.11:632.954

## ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ ТЕБУКОНАЗОЛУ ДЛЯ САМОК ПЕРЕПЕЛІВ

Доценко Р. В., Романько М. Є.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,  
м. Харків, Україна, e-mail: romdtox@ukr.net

У статті наведені результати визначення гострої токсичності тебуконазолу для перепелів за перорального введення. При цьому клінічна картина отруєння у перепелів характеризувалася пригніченням (ступор – птиця сиділа на одному місці), порушенням координації рухів. Загибель птиці відбувалася протягом перших двох діб після введення тебуконазолу. Патологоанатомічна картина, за гострого отруєння, характеризувалася збільшенням об'єму серця, кровонаповненням судин внутрішніх органів; кровонаповненням печінки. За результатами досліджень встановили, що  $LD_{50}$  тебуконазолу, за одноразового перорального уведення перепелам самкам, складає  $709,10 \pm 83,99$  мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його, згідно з гігієнічною класифікацією пестицидів за Л. І. Медведьом (1987) та ДСП 8.8.1.2.002-98, до речовин середньо токсичних (3-й клас небезпеки).

**Ключові слова:** тебуконазол, перепели, гостре отруєння,  $LD_{50}$

Тебуконазол [(RS) -1P-хлорфеніл-4,4-диметил-3- (1H-1,2,4-триазол-1-іл-метил) пентан-3-іл] - пестицид, ефективний системний фунгіцид для обробки насіння зернових культур у боротьбі з фітопатогенами. Також він використовується для обробки вегетуючих рослин ріпаку, зернових злаків, винограду та інших сільськогосподарських рослин. Тебуконазол відноситься до триазолів третього покоління. [1, 2].

Широке застосування пестицидів у сільському господарстві обумовлює їх потрапляння до раціону сільськогосподарських тварин та птиці, що призводить до негативного впливу на метаболічні процеси організму, та як наслідок зниження продуктивності тварин і птиці [3]. Одним з перспективних напрямів у птахівництві є перепелівництво, головне завдання якого – забезпечення населення якісним та екологічно безпечним м'ясом і яйцем, що володіють дієтичними властивостями [4].

Визначення гострої токсичності пестицидів призначено для одержання первинної інформації щодо небезпечності досліджуваної речовини. Метою проведення дослідів зі встановлення гострої токсичності є класифікація речовин, яка виражається показником середньої летальної дози ( $LD_{50}$ ), що визначається як статистично вірогідна доза речовини, від якої може

загинути 50 % тварин експериментальної групи [5]. Тому, **метою нашої роботи** було визначити гостру токсичність тебуконазолу на моделі перепелів техаських.

**Матеріали та методи.** В експериментах використовували препаративну форму тебуконазолу концентрацією 250 г/дм<sup>3</sup>. Експерименти були проведені на 91 самці перепелу техаського, середньою масою 200,0±20,0 г, що утримувались за оптимальних умов у віварії. Птиця мала вільний доступ до води та корму [5].

У попередньому досліді за принципом аналогів було сформовано 4 дослідні групи, яким вводили тебуконазол у формі водної емульсії у дозах – 200, 1000, 2000 і 3000 мг/кг маси тіла, відповідно (n=7). В основному експерименті, за принципом аналогів було сформовано 7 дослідних груп птиці, із застосуванням наступних доз: 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 і 1400 мг/кг маси тіла, відповідно (n=7). Також було сформовано дві контрольні групи птиці. У кожній групі було по 7 перепелів.

Досліди проводили відповідно до існуючих нормативних документів, що регламентують організацію робіт із використанням експериментальних тварин і дотримання принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) [6].

За клінічним станом дослідної птиці спостерігали упродовж 14 діб. Відмічали появу та розвиток клінічних ознак отруєння, терміни загибелі або відновлення стану організму до норми. Після загибелі птиці проводили патологоанатомічний розтин для виявлення макроскопічних змін в органах і тканинах [7].

За результатами загибелі птиці вираховували  $DL_{50}$ ,  $DL_{16}$ ,  $DL_{84}$ ,  $DL_{100}$  та похибку  $DL_{50}$  методом пробіт-аналізу в модифікації В. Б. Прозоровського.

Токсикометричні параметри розраховували за методом найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності. Встановлено відсоток летальності, пробіти (Y), вагові коефіцієнти пробітів (Z). Для побудови графіка, обчислення  $DL_{50}$  та її помилки використовували формулу прямої пропорційної залежності [8].

Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням пакету програм StatPlus 5.9.8.5 і представлені у вигляді середніх значень зі стандартним відхиленням за рівня довірчої ймовірності 95 %.

**Результати досліджень.** У попередньому досліді встановили, що одноразове внутрішньошлункове введення водної емульсії тебуконазолу перепелам I дослідної групи не викликало їхньої загибелі. Птиця була активною, добре реагувала на зовнішні подразники, активно споживала корм і воду. Загибель птиці відмічали у II–IV групах протягом першої доби після введення тебуконазолу (табл. 1).

**Таблиця 1 –** Динаміка загибелі перепелів у попередньому досліді визначення гострої токсичності тебуконазолу (n=7)

Термін загибелі птиці	Групи птиці і дози пестициду, мг/кг маси тіла				
	Контроль	I (200,0)	II (1000,0)	III (2000,0)	IV (3000,0)
0 – 3 год	–	–	2	2	3
3 – 12 год	–	–	2	3	3
12 – 24 год	–	–	1	2	1
2 доба	–	–	–	–	–
3 доба	–	–	–	–	–
4 – 14 діб	–	–	–	–	–
Усього загинуло	–	–	5	7	7

В основному досліді, під час спостереження за перепелами I дослідної групи, не відмічали картини гострого отруєння.

У птиці II–VII дослідних груп протягом першої години досліді реєстрували розвиток пригнічення, зниження реакції на зовнішні подразники, перепела втрачали координацію рухів, що проявлялося в хиткій ході та падінні на бік. У перші три доби у птиці реєстрували майже повну відмову від корму та води. Загибель самок перепелів відмічали протягом перших двох діб після введення препарату (табл. 2).

У перепелів, що залишилися живими протягом перших трьох діб, спостерігали загальне пригнічення (ступор), відсутність апетиту, фекалії були водянистої консистенції білого кольору. На четверту добу спостерігали поступову нормалізацію загального стану птиці: клінічний стан характеризувався незначним пригніченням, перепела почали прийом корму та води. Починаючи з п'ятої доби, у птиці не виявляли ознак отруєння і в подальшому її загальний стан не відрізнявся від стану перепелів контрольної групи. Термін спостереження склав 14 діб.

Таблиця 2 – Динаміка загибелі перепелів в основному досліді при визначенні гострої токсичності тебуконазолу (n=7)

Терміни загибелі птиці	Групи птиці і дози препарату, мг/кг маси тіла							
	контроль	I (200,0)	II (400,0)	III (600,0)	IV (800,0)	V (1000,0)	VI (1200,0)	VII (1400,0)
0 – 3 год	–	–	–	–	–	–	–	–
3 – 12 год	–	–	–	–	–	2	1	2
12 – 24 год	–	–	–	2	2	2	4	4
2 доба	–	–	–	1	2	2	2	1
3 доба	–	–	1	–	–	–	–	–
4 – 14 діб	–	–	–	–	–	–	–	–
Усього загинуло	–	–	1	3	4	6	7	7

Після загибелі перепелів проводили патологоанатомічний розтин. Зовнішній вигляд трупів птиці перед розтином: змін пір'яного покриву і видимих слизових оболонок не відмічали, реєстрували рідкі виділення з клоаки білого кольору. На розтині не реєстрували змін слизових оболонок ротової порожнини, трахеї, глотки та стравоходу; у волі спостерігали залишки препарату, в області вола відмічали гіперемію підшкірної клітковини; реєстрували збільшення об'єму серця; кров не згорнута; печінка – збільшена, темно-вишневого кольору, жовчний міхур – наповнений жовчю; селезінка та підшлункова залоза – без змін; нирки – коричневого кольору, збільшені в об'ємі; на слизовій оболонці залозистого шлунку – білий наліт, м'язовий шлунок – порожній; судини брижі тонкого кишечника кровонаповнені, в дванадцятипалій кишці та тонкому кишечнику – катарально-геморагічне запалення слизової оболонки.

Наступним етапом вивчення токсикологічних характеристик тебуконазолу було визначення середньолетальної дози  $DL_{50}$  та її стандартної похибки,  $DL_{16}$ ,  $DL_{84}$ ,  $DL_{100}$ .

Середньолетальну дозу ( $DL_{50}$ ) розраховували методом графічного пробіт-аналізу. Для побудови графіка на осі абсцис відкладали значення доз (мг/кг), а на осі ординат – значення ефекту (%). Графічне зображення кривої, що характеризує залежність «доза-ефект» для самок перепелів відображено на рис. 1.

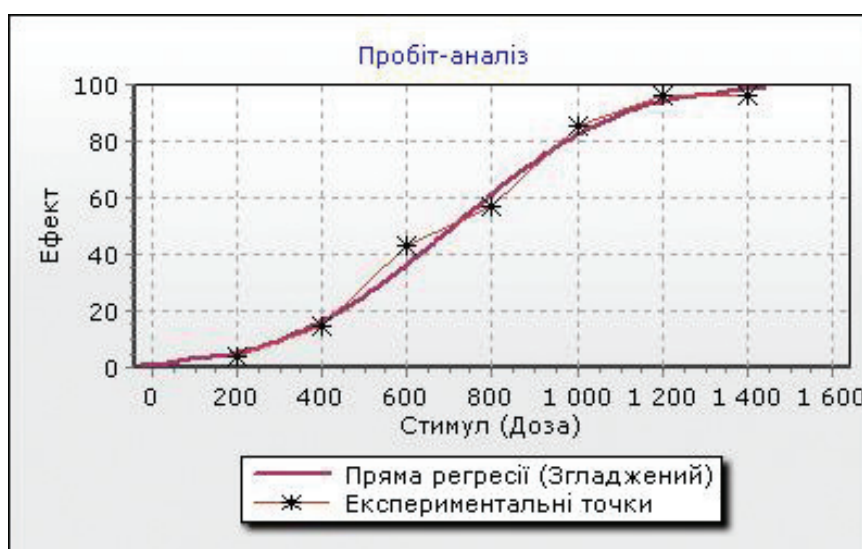


Рис. 1. Крива летальності перепелів за умов одноразового введення тебуконазолу

За результатами досліджень встановили, що  $LD_{50}$  препарату за одноразового перорального введення складає  $709,10 \pm 83,99$  мг/кг,  $LD_{10}$  — 306,30 мг/кг,  $LD_{16}$  — 394,83 мг/кг,  $LD_{84}$  — 1023,37 мг/кг,  $LD_{90}$  — 1111,91 мг/кг,  $LD_{100}$  — 1180,50 мг/кг маси тіла відповідно (табл. 3).

**Таблиця 3** – Результати обчислення летальних доз тебуконазолу за умов одноразового перорального введення перепелам

Стимул (Доза)	Відсоток (%)	N	Пробіт (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)
200	0,036	7	3,20	1,39
400	0,143	7	3,93	3,30
600	0,429	7	4,82	4,82
800	0,571	7	5,18	4,82
1000	0,857	7	6,07	3,30
1200	0,964	7	6,80	1,39
1400	0,964	7	6,80	1,39
<b>Регресійна статистика</b>				
<b>LD<sub>50</sub></b>	709,10	<b>LD<sub>50</sub> Стандартна похибка</b>		83,99
<i>LD<sub>16</sub></i>	306,30	<i>LD<sub>16</sub></i>	394,83	
<i>LD<sub>84</sub></i>	1023,37	<i>LD<sub>90</sub></i>	1111,91	
<i>LD<sub>100</sub></i>	1180,50			

Отже, згідно з гігієнічною класифікацією пестицидів за Л. І. Медведьом [9, 10] та ДСП 8.8.1.2.002-98 тебуконазол за ступенем токсичності слід віднести до речовин середньо токсичних (3-й клас небезпеки).

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** 1. LD<sub>50</sub> тебуконазолу, за одноразового перорального введення перепелам самцям, складає 709,10±83,99 мг/кг маси тіла, що дозволяє віднести його до речовин середньо токсичних (3-й клас небезпеки).

2. Гостре отруєння тебуконазолом самок перепелів теляських проявлялося ступором та зниженням реакції на зовнішні подразники, а також втратою координації рухів. Загибель птиці настає протягом перших двох діб після введення препарату. За результатами проведеного патологоанатомічного розтину виявляли: гіперемію підшкірної клітковини в області вола, не згорнуту кров; печінку збільшену в об'ємі, темно-вишневого кольору; перенаповнений жовчний міхур; судини брижі тонкого кишечника кровонаповнені; на слизовій оболонці дванадцятипалої кишки катарально-геморагічне запалення.

3. Наступним етапом буде проведення досліджень щодо визначення параметрів токсикокінетики та токсикодинаміки тебуконазолу на перепелам.

#### Список літератури

- Ohta K (1991). HWG 1608 technical - Acute oral toxicity study on rats (study no. 91A016).
- Pesticide toxicology and international regulation. Timothy T. Marrs, Bryan Ballantyne / John Wiley & Sons, 2004. 592 p.
- Ісаєнко В.М. Основи екологічної токсикології./ В.М. Ісаєнко — Київ: НАУ, 2007.— 67 с.
- Харчук Ю. Разведение и содержание перепелов / Ю. Харчук // Ростов н/Д: Феникс, 2005. – 96 с. ISBN 5-222-07498-6.
- US Environmental Protection Agency. Avian acute oral toxicity test / Washington, DC: 2012. Ecological effects test guidelines OCSP 850.2100.
- Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // Official Journal of the European Communities L 358. – 1986. – P. 1–29.
- Жаров А.В. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных / А.В. Жаров, И.В. Иванов, А.П. Стрельников. – М.: Колос, 2003. – 400 с.
- Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – Вып. 3–4. – С. 2090–2120.
- Медведь Л.И. Гигиеническая классификация пестицидов по основным параметрам вредности / Л.И. Медведь, Ю.С. Каган, Е.И. Спыну // Ветеринарная токсикология. – М., 1987. – 187 с.
- Державні санітарні правила і гігієнічні норми «Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності». ДСП 8.8.1.2.002-98.

## ACUTE TOXICITY OF THE TEBUCONAZOLE IN QUAILS

*Dotsenko R. V., Roman'ko M. E.**National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine*

*The goal of the work. The aim of our work was to determine the acute oral toxicity of tebuconazole in quails model.*

*Materials and methods. Range of doses was defined in the preliminary experiment. Four test groups were administered tebuconazole as aqueous emulsion in doses 200, 1000, 2000 and 3000 mg/kg of body weight. In the second experiment 7 groups of quails were formed for preparation application in doses 200, 400, 600, 800, 1000, 1200 and 1400 of body weight. Also, two control groups were formed. Each group had 7 quail (n = 7).*

*Results of research and discussion. Acute poisoning of quails with tebuconazole showed the following clinical symptoms: depression, lack of appetite, decreased reaction to external stimuli. The death of the birds observed during the first two days after administration of tebuconazole. Pathologic signs of acute poisoning characterized by increase in atrial and liver size, vessels of the internal organs were filled with blood.*

*Conclusions and prospects for further research. It has been determined, that the LD<sub>50</sub> value of tebuconazole after single oral treatment in female quail is 709,10±83,99 mg/kg of body weight, which can be attributed to medium toxic substances (3<sup>rd</sup> class of danger) in accordance with hygienic classification of pesticides by Medved L.I. (1987) and DSP 8.8.1.2.002-98 to. Determination of toxicokinetic and toxicodynamic parameters of tebuconazole for quail will be next stage of our research.*

**Keywords:** tebuconazole, quail, acute poisoning, LD<sub>50</sub>

УДК: 637.112"32"639

## ПОКАЗНИКИ КОЗИНОГО МОЛОКА В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД СЕЗОНУ РОКУ І ПЕРІОДУ ЛАКТАЦІЇ

*Зажарська Н. М., Костюченко К. Г.**Дніпропетровський державний аграрно-економічний університет,  
м. Дніпро, Україна, e-mail: zzharskayan@gmail.com*

*Були проведені моніторингові дослідження молока від 8 кіз із села Мар'янське Апостолівського району Дніпропетровської області (всього 211 проб) з 2013 р. по 2015 р. Були проаналізовані зміни показників жиру, білка та кількості соматичних клітин у молоці кіз за сезонами року. Вивчали розподіл соматичних клітин у порціях молока підчас доїння, а також у залежності від періоду лактації. Вимірювали добовий надій молока кіз на серпень 2014 року. Вміст білку в козиному молоці восени суттєво збільшувався по відношенню до літнього і весняного показників (P<0,001). Виявлено, що жирність влітку менша весняного показника на 33,7 % (P<0,001), осіннього – на 16,3 % (P<0,01), зимового – на 43,1 % (P<0,05). Восени та взимку кількість соматичних клітин у 3,7 і 5 разів відповідно більша весняно-літнього показника (P<0,01). У перший місяць лактації молоко кіз містило дуже низьку кількість соматичних клітин від 33 до 107 тис/мл. Низький і досить постійний вміст соматичних клітин (від 15 до 63 тис/мл) відмічений в молоці кіз-первісток, хоч і перша лактація в них продовжувалася тільки 7 міс.*

**Ключові слова:** козине молоко, кількість соматичних клітин, жир, білок, надій, сезон, період лактації

Субклінічний мастит є великою проблемою в молочних стадах, і показник кількості соматичних клітин широко використовується для діагностики стану здоров'я вимені. На кількість соматичних клітин в козиному молоці, на відміну від коров'ячого, дуже впливають як інфекційні, так і неінфекційні фактори. Цей показник збільшується наприкінці лактації і з віком кіз, після багатоплідних окотів; також впливає кількість доїння на день, сезонність та годівля [1, 2].

Pleguezuelos F. J. з колегами досліджували молоко від 132 стад кіз в Іспанії протягом п'яти років щомісяця. Виявили кореляційний зв'язок між низькими надоями молока, великою кількістю соматичних клітин та високим вмістом жиру і білка. Результати підкреслюють важливість визначення кількості соматичних клітин, як лімітуючого фактору для прибутку в молочному козівництві [2].

Вчені США досліджували вплив дієтичної добавки OmniGen-AF (полісахариди манан і глюкан, діоксид кремнію, мінеральна глина) на козине молоко. Відмічено позитивний вплив на імунну систему жуйних, покращення якості молока, здоров'я молочних залоз, зниження кількості соматичних клітин, підвищення вмісту молочного жиру та білку в лактуючих кіз [3].

Багато власних досліджень присвячено покращенню санітарній якості козиного молока завдяки застосуванню фітопрепаратів для обробки вимені тваринам після доїння, моніторингу показників коров'ячого і козиного молока [4–6].