

**Ветеринарный фармакологический вестник входит в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (по состоянию на 10.06.2024 года)**

| Наименование издания                   | ISSN      | Научные специальности и соответствующие им отрасли науки, по которым присуждаются ученые степени                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Дата включения издания в Перечень |
|----------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Ветеринарный фармакологический вестник | 2541—8203 | 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (биологические науки),<br>4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | с 01.02.2022                      |
|                                        |           | 1.5.4. Биохимия (ветеринарные науки),<br>1.5.5. Физиология человека и животных (ветеринарные науки),<br>3.1.22. Инфекционные болезни (ветеринарные науки),<br>4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (ветеринарные науки),<br>4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (биологические науки),<br>4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность (ветеринарные науки),<br>4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность (биологические науки),<br>4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (сельскохозяйственные науки),<br>4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (биологические науки),<br>4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных (сельскохозяйственные науки),<br>4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных (биологические науки),<br>4.2.6. Рыбное хозяйство, аквакультура и промышленное рыболовство (сельскохозяйственные науки),<br>4.2.6. Рыбное хозяйство, аквакультура и промышленное рыболовство (биологические науки) | с 13.10.2022                      |

Журнал включен в утвержденный ВАК Перечень изданий с 28.02.2020 года, выпускаемых в Российской Федерации, ISSN 2541-8203.

Журнал постоянно размещен в научной электронной библиотеке eLibrary.ru и зарегистрирован в наукометрической базе РИНЦ (Российский индекс научного цитирования) по договору № 75-01 / 2015К от 19 января 2015 г.

Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Журнал включен в 3-й уровень «Белого списка».

Адрес редакции: 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114б  
Тел./факс +7 (473) 253-92-81  
<http://www.nivipat.ru> E-mail: [vetfarm.journal@yandex.ru](mailto:vetfarm.journal@yandex.ru)

# BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

*Scientific-Practical Journal of Theoretical and Experimental Studies in the Field  
of Veterinary Pharmacology and Toxicology*

## FOUNDER AND PUBLISHER

Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy"

Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor) PE No. FS77—69340 dtd. April 6, 2017

Editorial opinion may not coincide with the authors' views. The authors of the materials are responsible for the credibility of facts. The manuscripts are not returned. For a full or partial citing, reprint, reproduction by any means the reference to the source is obligatory.

## EDITORIAL BOARD

### *Chief Editor*

**Shabunin Sergey Viktorovich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Academic Director of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

### *Deputy Chief Editor*

**Kotarev Vyacheslav Ivanovich** — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Deputy Director of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

**Tkacheva Yuliya Aleksandrovna** — Executive Secretary

## EDITORIAL COUNCIL

### *Chairman*

**Shakhov Aleksey Gavrilovich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS, Chief Scientific Associate of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

### *Editorial Council Members*

**Abilov Akhmedaga Imash ogly** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Scientific Associate of FSBSI "Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academician L. K. Ernst", Russia

**Vostroilova Galina Anatolyevna** — Doctor of Biological Sciences, Deputy Director for Science of FSBSI "ARVRIPP&T", Russia

**Dzhavadov Eduard Dzhavadovich** — Doctor of Veterinary Sciences, Prof., Academician of the RAS, Professor of the Department of Epizootology of FSBEI HE "Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine", Russia

**Donnik Irina Mikhaylovna** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Presidium Member of Ural Branch of the RAS, Russia

**Duskaev Galimzhan Kalikhanovich** — Doctor of Biological Sciences, First Deputy Director, Professor of the RAS, Associate Professor of the Federal Scientific Center for Biological Systems and Agricultural Technologies of the Russian Academy of Sciences (FSBSI FSC BST RAS), Russia

**Ermakova Tatyana Igorevna** — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Scientific Secretary of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

**Klimenko Aleksandr Ivanovich** — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of FSBSI "Federal Rostov Agrarian Research Center", Russia

**Kochish Ivan Ivanovich** — Academician of the RAS, Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Head of the Department of Zoohygiene and Poultry Farming of FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin", Russia

**Maykanov Balgabay Sadepovich** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Department of Veterinary Sanitation of "Kazakh Agro-technical University named after S. Seifullin", Republic of Kazakhstan

**Okoniewski Piotr** — DVM PhD, member of PTFARM and EAVPT, Poland

**Parshin Pavel Andreevich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director of FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Russia

**Pozyabin Sergey Vladimirovich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Rector of FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA named after K. I. Skryabin", Russia

**Rypula Krzysztof** — DVM PhD, Professor, Head of Epidemiology Dep., the Faculty of Veterinary Medicine, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences, Poland

**Safonov Vladimir Aleksandrovich** — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Evolutionary Biogeochemistry and Geoecology of the Federal State Budgetary Institution of Science of the Order of Lenin and the Order of the October Revolution Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry named after V. I. Vernadsky of the Russian Academy of Sciences (GEOKhI of the RAS)

**Stekolnikov Anatoliy Aleksandrovich** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS, Department of General, Special and Operative Surgery of FSBEI HE "Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine", Russia

**Chertov Evgeniy Dmitrievich** — Doctor of Engineering Sciences, Professor, Head of the Department of FSBEI HE "Voronezh State University of Engineering Technologies", Russia

**Yunusov Khudaynazar Beknazarovich** — Doctor of Sciences, Academician of the RAS, Rector of Samarkand Institute of Veterinary Medicine, Uzbekistan

**Yatusevich Anton Ivanovich** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Head of the Department of Parasitology and Invasive Diseases, EE "Vitebsk Order 'Badge of Honour' State Academy of Veterinary Medicine", the Republic of Belarus

**Bulletin of Veterinary Pharmacology is included in the list of peer-reviewed scientific periodicals, in which the main scientific results of dissertations for the degree of Candidate of Sciences, for the degree of Doctor of Sciences must be published (as of June 10, 2024)**

| Periodical name                     | ISSN      | Scientific specialties and corresponding branches of science, in which scientific degrees are awarded                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Date of inclusion of the periodical in the List |
|-------------------------------------|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Bulletin of Veterinary Pharmacology | 2541—8203 | 4.2.3. Infectious diseases and animal immunology (Biological Sciences),<br>4.2.3. Infectious diseases and animal immunology (Veterinary Sciences)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Since February 01, 2022                         |
|                                     |           | 1.5.4. Biochemistry (Veterinary Sciences),<br>1.5.5. Physiology of humans and animals (Veterinary Sciences),<br>3.1.22. Infectious diseases (Veterinary Sciences),<br>4.2.1. Animal pathology, morphology, physiology, pharmacology and toxicology (Veterinary Sciences),<br>4.2.1. Animal pathology, morphology, physiology, pharmacology and toxicology (Biological Sciences),<br>4.2.2. Sanitation, hygiene, ecology, veterinary and sanitary examination and biosafety (Veterinary Sciences),<br>4.2.2. Sanitation, hygiene, ecology, veterinary and sanitary examination and biosafety (Biological Sciences),<br>4.2.4. Special zootechnics, feeding, technologies for preparing feeds and producing livestock products (Agricultural Sciences),<br>4.2.4. Special zootechnics, feeding, technologies for preparing feeds and producing livestock products (Biological Sciences),<br>4.2.5. Animal breeding, selection, genetics and biotechnology (Agricultural Sciences),<br>4.2.5. Animal breeding, selection, genetics and biotechnology (Biological Sciences),<br>4.2.6. Fish breeding, aquaculture and industrial fishing (Agricultural Sciences),<br>4.2.6. Fish breeding, aquaculture and industrial fishing (Biological Sciences) | Since October 13, 2022                          |

The journal is included in the List of publications issued in the Russian Federation from February 28, 2020, approved by the Higher Attestation Commission, ISSN 2541-8203.

The articles of the journal are represented in the scientific electronic library (called elibrary.ru) and the journal is registered in the scientometric database of RSCI (Russian Science Citation Index) under the agreement No. 75-01 / 2015K dtd. January 19, 2015.

The journal is included in the List of major peer-reviewed scientific journals and publications recommended by the Higher Attestation Commission of the Russian Federation for the publication of the main scientific results of dissertations in candidacy for the Doctor's and Candidate's science degrees.

The journal is ranked Level 3 of the "White List".

The address of the editorial office: 394087 Lomonosova 114b, Voronezh, Russia Tel./fax + 7 (473) 253-92-81

<http://www.nivipat.ru> E-mail: [vetfarm.journal@yandex.ru](mailto:vetfarm.journal@yandex.ru)

# ВЕТЕРИНАРНЫЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК

*Научно-практический журнал  
теоретических и экспериментальных  
исследований в области ветеринарной  
фармакологии и токсикологии*



Издается  
с июня 2017 года  
Периодичность  
выпуска —  
4 номера в год  
Свидетельство  
о регистрации  
ПИ № ФС 77-69340  
от 6 апреля 2017 г.

№ 3 (36) • 2026

## К 95-летнему юбилею Беляева Василия Ивановича

*Шабунин С. В., Паршин П. А., Востроилова Г. А., Ермакова Т. И. . . . . . 8*

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

### Влияние нового ветеринарного препарата на основе риамиловира и левофлоксацина на внутренние органы крыс в подостром опыте

*Шабунин Б. В., Востроилова Г. А., Хохлова Н. А., Шутиков В. А.,  
Гуныкин Д. В., Ермакова Т. И. . . . . . 10*

### Оценка высвобождения лекарственного препарата «Солумедрол» (МНН: метилпреднизолон) в плазме и сыворотке крови кроликов методом высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии при использовании наноструктурируемых покрытий

*Баннуд Ж., Карамян А. С., Новиков О. О., Карамян С. Т. . . . . . 21*

## КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

### Комплексный способ профилактики послеродового эндометрита у свиноматок

*Перепелкина И. С. . . . . . 31*

### Морфо-иммунологический статус больных субклиническим маститом коров в зависимости от периода лактации

*Фенич О. В., Павленко О. Б., Зимников В. И., Михайлов Е. В., Сашина Л. Ю.,  
Близнецова Г. Н. . . . . . 42*

### Влияние препарата рутацирин на выживаемость и клинический статус стерляди при остром тепловом стрессе

*Пархоменко С. А., Кузьмина Е. В., Семененко М. П. . . . . . 53*

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ,  
ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

**Оценка эффективности нового пробиотического штамма  
*Enterococcus faecium* и хелатного цинка при исследовании  
морфобиохимического статуса крови телят**

Филатов А. В., Соболева Е. С., Николаев С. В. . . . . 66

**Микробные консорциумы в биodeградации  
кератинсодержащих отходов животноводства и навоза**

Нестерова Е. Ю., Буракова И. Ю., Морозова П. Д., Михайлов Е. В.,  
Сыромятников М. Ю. . . . . 78

**Коррекция дисбиоза кишечного микробиоценоза  
свиней при моделировании в системе имитации  
желудочно-кишечного тракта**

Ярушникова Ю. А., Головин С. Н., Седова Д. А., Ханукаев М. М., Шебеко С. К.,  
Тресницкий С. Н., Манжурина О. А., Михайлов Е. В. . . . . 96

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ  
И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

**Динамика биохимических показателей сыворотки  
крови после экспериментального моделирования  
ишемии дистального отдела тощей кишки**

Цыбань А. К., Данников С. П., Квочко А. Н. . . . . 113

**Особенности метаболизма у популярных  
видов сельскохозяйственной птицы  
при трансовариальном применении глутатиона**

Попова В. А., Азарнова Т. О., Василевич Ф. И., Золотухина Е. А. . . . . 128

**Трехфазная модель становления иммунной системы  
у поросят в ранний постнатальный период: интеграция  
гормональной, цитокиновой и метаболической регуляции**

Михайлов Е. В. . . . . 141

**Оптимизация гомеостаза поросят «Проаутоваком-С»  
при вакцинации их против классической чумы свиней**

Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Коцарев В. Н., Востроилова Г. А.,  
Манжурина О. А., Шабанов Д. И., Прокулевич В. А. . . . . 158

**Условия публикации и правила оформления статей . . . . . 170**

# BULLETIN OF VETERINARY PHARMACOLOGY

*Scientific-Practical Journal of Theoretical  
and Experimental Studies in the Field  
of Veterinary Pharmacology and Toxicology*



Established  
in June, 2017

Published  
4 times a year

Registration  
certificate of the  
PE № FS77-69340  
dtd. April 6, 2017

No. 3 (36) • 2026

**On the occasion of the 95<sup>th</sup> anniversary since  
the birth of Vasiliy Ivanovich Belyaev**

*Shabunin S. V., Parshin P. A., Vostroilova G. A., Ermakova T. I. . . . . 9*

## EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

**Effect of a new veterinary drug based on riamilovir and levofloxacin  
on the internal organs of rats in a subacute toxicity study**

*Shabunin B. V., Vostroilova G. A., Khokhlova N. A., Shutikov V. A., Gunkin D. V.,  
Ermakova T. I. . . . . 16*

**Assessment of the release efficacy of the drug “Solumedrol”  
(INN: methylprednisolone) in rabbit blood plasma and  
serum by high-performance liquid chromatography-  
mass spectrometry using nanostructured coatings**

*Bannoud G., Karamyan A. S., Novikov O. O., Karamyan S. T. . . . . 26*

## CLINICAL PHARMACOLOGY

**A combined method for the prevention of  
postpartum endometritis in sows**

*Perepelkina I. S. . . . . 37*

**Morphoimmunological status of cows with subclinical  
mastitis depending on the lactation period**

*Fenich O. V., Pavlenko O. B., Zimnikov V. I., Mikhaylov E. V., Sashnina L. Y.,  
Bliznetsova G. N. . . . . 48*

**Effect of rutacirin on survival and clinical  
status of sterlet under acute heat stress**

*Parkhomenko S. A., Kuzminova E. V., Semenenko M. P. . . . . 60*

=====

## AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION, DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

=====

### Assessment of the efficacy of a new probiotic strain *Enterococcus faecium* and chelated zinc in the study of the blood morphobiochemical indicators of calves

*Filatov A. V., Soboleva E. S.,*

*Nikolaev S. V.* ..... 72

### Microbial consortia in biodegradation of keratin-containing livestock waste and manure

*Nesterova E. Y., Burakova I. Y., Morozova P. D., Mikhaylov E. V.,*

*Syromyatnikov M. Y.* ..... 87

### Correction of intestinal microbiocenosis dysbiosis in pigs in a gastrointestinal tract simulation system

*Yarushnikova Y. A., Golovin S. N., Sedova D. A.,*

*Khanukaev M. M., Shebeko S. K., Tresnitskiy S. N., Mikhaylov E. V.,*

*Manzhurina O. A.* ..... 105

=====

## PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY AND EXPERIMENTAL THERAPY

=====

### Dynamics of serum biochemical indicators after experimental simulation of distal jejunum ischemia

*Tsyban A. K., Dannikov S. P., Kvochko A. N.* ..... 121

### Features of metabolism in popular poultry species in case of transovarial application of glutathione

*Popova V. A., Azarnova T. O., Vasilevich F. I.,*

*Zolotukhina E. A.* ..... 135

### A three-phase model of immune system development in piglets in the early postnatal period: integration of hormonal, cytokine and metabolic regulation

*Mikhaylov E. V.* ..... 150

### Optimization of piglet homeostasis using “Proautovak-S” during vaccination against classical swine fever

*Shakhov A. G., Sashnina L. Y., Kotsarev V. N., Vostroilova G. A.,*

*Parshin P. A., Manzhurina O. A., Shabanov D. I.,*

*Prokulevich V. A.* ..... 164

**Publishing terms and article formatting requirements** ..... 170

Персоналия

УДК 372.863

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.67.18.001

## К 95-ЛЕТНЕМУ ЮБИЛЕЮ БЕЛЯЕВА ВАСИЛИЯ ИВАНОВИЧА

**Сергей Викторович Шабунин, Павел Андреевич Паршин<sup>✉</sup>,  
Галина Анатольевна Востроилова, Татьяна Игоревна Ермакова**

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,  
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, doctor.57@mail.ru<sup>✉</sup>*

В. И. Беляев родился 8 августа 1931 г. в Омске в семье рабочего. После завершения учебы в 1954 г. в Омском ветеринарном институте работал старшим ветеринарным врачом совхоза им. Куйбышева УРСа Кузнецкого металлургического комбината в Кемеровской области. С 1958 г. избран по конкурсу младшим, а с 1963 г. старшим научным сотрудником лаборатории паразитологии Сибирского НИВИ. В октябре 1967 г. В. И. Беляев переходит в Липецкую опытную сельскохозяйственную станцию заведующим отделом животноводства. В 1972 г. его переводят заместителем директора по научной работе Нарьян-Марской опытной сельскохозяйственной станции. С сентября 1975 г. и по настоящее время он работает в ВНИВИПФиТ сначала старшим научным сотрудником, а потом заведующим лабораториями ветеринарной генетики, ветеринарной иммунологии, отделом фармакологии и токсикологии.

Основные направления его исследований — борьба с энтомозами, фармакология и биохимия фосфорорганических, селеносодержащих препаратов, гуматов, биостимуляторов и генетическая устойчивость животных к заболеваниям.

Диссертацию по проблемам фармакологии и токсикологии фосфоорганических соединений и применение их при энтомозах на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук В. И. Беляев защитил в ВИЭВ, а на соискание док-

тора биологических наук — во ВНИИ разведения и генетики животных на тему «Генетические особенности акушерских патологий у коров».

Василий Иванович является пионером в области выявления генетических маркеров устойчивости и предрасположенности сельскохозяйственных животных к незаразным заболеваниям.

В своих работах он обосновал и впервые применил в практике методы отбора животных, наследственно устойчивых к акушерским заболеваниям, препараты для борьбы с арахноэнтомозами и корреляции иммунодефицитов. Совместно с сотрудниками им успешно разработаны и внедрены в практику методы определения и повышения резистентности к заболеваниям, а также ряд препаратов для профилактики и лечения животных.

Он автор 250 научных работ, в том числе 4 монографии, 6 брошюр, 10 патентов, 8 изобретений, 16 методических пособий и рекомендаций по ветеринарии, биохимии и зоотехнии и 7 наставлений по применению лекарственных препаратов в ветеринарии. В. И. Беляев более 30 лет является членом ученого и диссертационного совета при ВНИВИПФиТ.

Под его руководством выполнены и успешно защищены 12 диссертационных работ на соискание научной степени кандидата наук. Василий Иванович награжден многими медалями, дипломами, почетными грамотами и знаками.

Personalia

UDC 372.863

## ON THE OCCASION OF THE 95<sup>TH</sup> ANNIVERSARY SINCE THE BIRTH OF VASILIIY IVANOVICH BELYAEV

**Sergey Viktorovich Shabunin, Pavel Andreevich Parshin<sup>✉</sup>,  
Galina Anatolyevna Vostroilova, Tatyana Igorevna Ermakova\***

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,  
Voronezh, Russia, doctor.57@mail.ru<sup>✉</sup>*

V. I. Belyaev was born on August 8, 1931 in Omsk in a working class family. After completing his studies at Omsk Veterinary Institute in 1954, he worked as a Senior Veterinarian at the state farm named after V. I. Kuibyshev of URC Kuznetsk Metallurgical Plant in Kemerovo region. In 1958, he was elected a Junior Scientific Associate by competition, and in 1963 — a Senior Scientific Associate of the Laboratory of Parasitology of the Siberian SRVI. In October 1967, V. I. Belyaev was transferred to Lipetsk Experimental Agricultural Station as the Head of the Animal Husbandry Department. In 1972, he was transferred to the position of the Deputy Director for Scientific Work of Naryan-Mar Experimental Agricultural Station. Since September 1975 till now, he has been working at ARVRIPP&T, first as a Senior Scientific Associate, and then as the Head of the Laboratories of Veterinary Genetics, Veterinary Immunology, and the Department of Pharmacology and Toxicology.

The main directions of his research are the fight against entomoses, the pharmacology and biochemistry of organophosphorus, selenium-containing drugs, humates, biostimulants, and the genetic resistance of animals to diseases.

V. I. Belyaev defended the dissertation for the degree of Candidate of Veterinary Sciences on the problems of pharmacology and toxicology of organophosphorus compounds and their use in case of entomoses at VIEV, and for the degree of Doctor of Biological

Sciences — at ARRI of Breeding and Genetics of Animals on the topic Genetic Characteristics of Obstetric Pathologies in Cows.

Vasiliy Ivanovich is a pioneer in the field of identifying genetic markers of resistance and predisposition of farm animals to non-communicable diseases.

In his works, Vasiliy Ivanovich substantiated and for the first time applied in practice the methods of selection of animals hereditarily resistant to obstetric diseases, drugs to combat arachnoentomoses and correlations of immunodeficiencies. Together with his colleagues, he has successfully designed and introduced into practice methods for determining and increasing resistance to diseases, as well as a number of drugs for the prevention and treatment of animals.

He is the author of 250 scientific works, including 4 monographs, 6 brochures, 10 patents, 8 inventions, 16 methodological manuals and recommendations on veterinary medicine, biochemistry and animal science, and 7 manuals on the use of medicinal products in veterinary medicine. V. I. Belyaev has been a member of the Scientific and Dissertation Council at ARVRIPP&T for over 30 years.

Under his supervision, 12 dissertations for the degree of Candidate of Sciences were completed and successfully defended. Vasiliy Ivanovich was awarded many medals, diplomas, certificates and badges of honor.

Научная статья

УДК 615.015.3:615.28:636.028

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.29.77.002

## ВЛИЯНИЕ НОВОГО ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ РИАМИЛОВИРА И ЛЕВОФЛОКСАЦИНА НА ВНУТРЕННИЕ ОРГАНЫ КРЫС В ПОДОСТРОМ ОПЫТЕ

Борис Викторович Шабунин<sup>✉</sup>, Галина Анатольевна Востроилова,  
Нина Алексеевна Хохлова, Виктор Алексеевич Шутиков,  
Дмитрий Владимирович Гунькин, Татьяна Игоревна Ермакова

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,  
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, bv.shabunin@gmail.com<sup>✉</sup>*

**Аннотация.** В статье представлены данные о влиянии нового препарата на основе риамиловира и левофloxсацина на внутренние органы крыс в подостром опыте. Применение препарата в течение 14 суток вызывало обратимые изменения в печени, которые характеризовались мелкими очажками лейкоцитарной инфильтрации. Гистологическое исследование почек не выявило альтераций в их строении. Исследование массовых коэффициентов органов (МКО) также не выявило изменений. В целом применение препарата в исследованных дозах 1000 и 200 мг/кг не оказывало значимого влияния на организм лабораторных животных, а видимые изменения были обратимыми.

**Ключевые слова:** риамиловир, левофloxсацин, крысы, печень, гистологическая структура, почки, массовые коэффициенты органов

### ВВЕДЕНИЕ

Токсикологические исследования являются первым шагом при разработке и регистрации новых лекарственных препаратов, как медицинского, так и ветеринарного применения. Наиболее актуальной задачей ветеринарной науки является поиск новых средств для борьбы с инфекционными заболеваниями молодняка. При этом наиболее распространёнными являются болезни желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), которые составляют от 35 % до 85 % от общей заболеваемости молодняка КРС [1, 2].

По данным Alais M. Dall Agno (2021), наиболее часто выявляются ассоциации вирусных и простейших патогенов (37,5 %), за которой следовали вирусные и бактериальные (25 %), вирусные, бактериальные и простейшие (25 %), и только вирусные агенты (12,5 %) [3].

В настоящее время известны комплексные препараты, способные действовать на вирусные и бактериальные патогены. Так, в НПЦ ПроБиоТех (РБ) разработаны комплексные препараты, содержащие в составе антибактериальный компонент и ин-

терферон с противовирусной активностью [4, 5]. Кроме этого существуют препараты, содержащие в составе рибавирин и энрофлоксацин, которые также показывают высокую терапевтическую эффективность [6, 7].

Исследуемый препарат содержит в составе риамиловир — вещество класса азолоазинов, которое является синтетическим аналогом оснований пуриновых нуклеозидов (гуанина) [8]. Данное вещество было разработано российскими учёными и на текущий момент доступно в гуманной медицине под названием «Триазавирин». Препарат одобрен для лечения заболеваний, вызываемых РНК-содержащими вирусами [9]. Вторым компонентом препарата является левофloxсацин — фторхинолон 3 поколения с широким спектром антибактериальной активности.

Доклинические исследования лекарственных средств включают обязательную оценку токсичности препарата при многократном введении, а также оценку действия препарата на органы-мишени и обратимости вызываемых повреждений. Несмотря на существование данных о применении

риамиловира и левофлоксацина лабораторным животным, токсикологические исследования нового комплексного препарата ветеринарного назначения являются обязательными [10, 11].

Целью данной работы являлась оценка влияния нового ветеринарного препарата на основе риамиловира и левофлоксацина на гистологическое строение и массовые коэффициенты органов (МКО) крыс в подостром опыте.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования были проведены в виварии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» с соблюдением международных и российских нормативных актов [12—15]. Содержание подопытных животных и все манипуляции с ними в рамках эксперимента соответствовали требованиям международных и российских законодательных актов (ETS123, Strasbourg, 1986; Директива 2010/63/EU от 22.09.2010 г; ГОСТ 33216—2014, ГОСТ 33215—2014).

План эксперимента предварительно получил одобрение биоэтической комиссии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ».

В рамках исследования параметров острой токсичности не удалось определить LD50. В качестве максимальной дозы было взято значение в 10 000 мг/кг. Для изучения подострой токсичности были сформированы 3 группы крыс. Группа I служила контролем и не получала препарат. Группа II получала 1/50 от максимальной дозы (200 мг/кг), группа III — 1/10 (1000 мг/кг). Крысы содержались в клетках, доступ к воде был неограниченным.

Препарат вводили животным перорально с порцией кашицы, приготовленной на белом хлебе и ультрапастеризованном коровьем молоке. Каждый день проводили взвешивание и рассчитывали навеску препарата, необходимую для каждой особи. Животным контрольной группы кашу давали без добавления препарата. После смешивания, каша разделялась на 10 равных частей, которые давались крысам индивидуально. По окончании 14 суток режим кормления восстанавливали до стандартного.

На 14-е сутки эксперимента и после 10 суток восстановления проводили эвтаназию части животных из каждой группы с целью проведения гистологических исследований внутренних органов. От животных отбирали внутренние органы, которые фиксировали в 10 % забуференном формалине, обезживались в спиртах возрастающей крепости и заливали в гистологический парафин. Срезы органов окрашивали гематоксилином-эозином.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании (табл.) было показано, что применение препарата в течении 14 дней не оказывало влияния на массовые коэффициенты органов (МКО): лёгких, сердца, почек, надпочечников. В печени крыс группы III наблюдалась тенденция на повышение МКО на 13,4 % относительно контрольной группы. Через 10 суток периода восстановления также не было отмечено значимых различий в массовых коэффициентах внутренних органов крыс, что указывает на отсутствие негативного влияния препарата на организм животных.

Таблица

Массовые коэффициенты органов крыс

| Орган                            | Контроль<br>(Группа I) | 200 мг/кг<br>(Группа II) | 1000 мг/кг<br>(Группа III) |
|----------------------------------|------------------------|--------------------------|----------------------------|
| 1                                | 2                      | 3                        | 4                          |
| После 14 дней введения препарата |                        |                          |                            |
| Легкие                           | 4,21 ± 0,161           | 4,18 ± 0,122             | 4,30 ± 0,106               |
| Сердце                           | 2,96 ± 0,164           | 3,05 ± 0,125             | 3,02 ± 0,058               |
| Печень                           | 31,17 ± 0,281          | 32,05 ± 0,519            | 35,44 ± 2,254              |
| Селезенка                        | 3,19 ± 0,164           | 3,59 ± 0,383             | 4,13 ± 0,371               |
| Почки                            | 5,83 ± 0,126           | 5,89 ± 0,092             | 5,86 ± 0,158               |
| Надпочечники                     | 0,18 ± 0,003           | 0,17 ± 0,006             | 0,19 ± 0,007               |

Окончание табл.

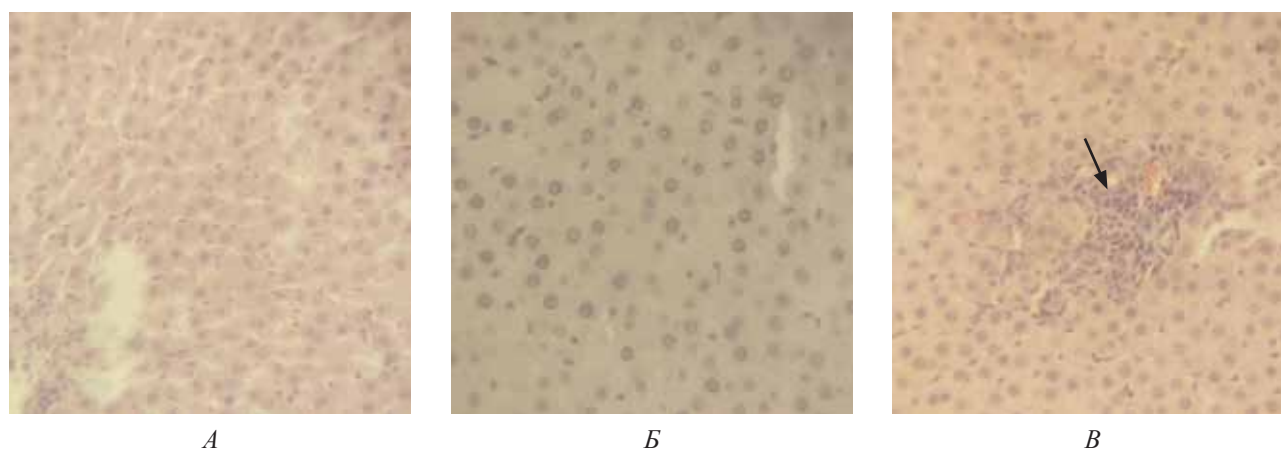
| 1                            | 2                 | 3                 | 4                 |
|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Тимус                        | $1,09 \pm 0,041$  | $1,19 \pm 0,069$  | $1,09 \pm 0,054$  |
| Семенники                    | $11,93 \pm 0,356$ | $11,08 \pm 0,557$ | $12,94 \pm 0,560$ |
| Через 10 дней восстановления |                   |                   |                   |
| Легкие                       | $5,56 \pm 0,188$  | $5,29 \pm 0,360$  | $5,65 \pm 0,070$  |
| Сердце                       | $2,86 \pm 0,096$  | $2,82 \pm 0,094$  | $2,95 \pm 0,058$  |
| Печень                       | $35,24 \pm 2,293$ | $36,75 \pm 2,236$ | $37,7 \pm 2,111$  |
| Селезенка                    | $4,55 \pm 0,223$  | $4,99 \pm 0,173$  | $5,11 \pm 0,558$  |
| Почки                        | $5,89 \pm 0,289$  | $5,65 \pm 0,393$  | $6,16 \pm 0,145$  |
| Надпочечники                 | $0,24 \pm 0,009$  | $0,21 \pm 0,019$  | $0,23 \pm 0,021$  |
| Тимус                        | $1,38 \pm 0,111$  | $1,52 \pm 0,064$  | $1,33 \pm 0,149$  |
| Семенники                    | $12,9 \pm 0,51$   | $13,8 \pm 0,40$   | $12,6 \pm 0,63$   |

Гистологическое исследование печени (рис. 1) показало, что в контрольной группе архитектура органа была типичной, хорошо просматривалось дольчатое и балочное строение, гепатоциты имели полигональную цитоплазму, окрашенную эозинофильно. Ядро располагалось по центру, имело характерный рисунок хроматина. Сосуды были умеренно кровенаполнены.

В группе III в печени отмечали единичные узелки лейкоцитарной инфильтрации (стрелка). Клеточный состав инфильтрата был преимущественно мононуклеарными лейкоцитами.

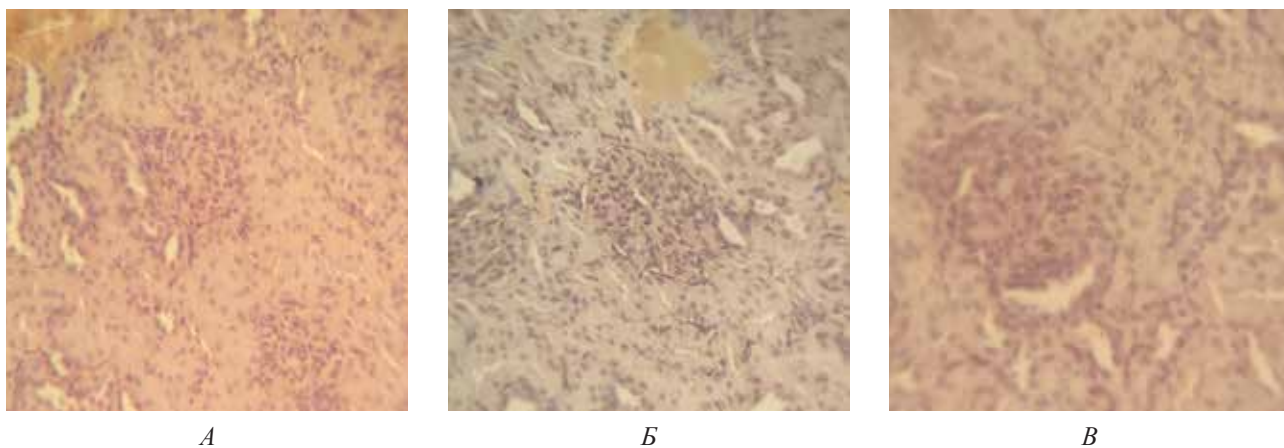
В группе II данных изменений отмечено не было. При гистологическом исследовании почек (рис. 2) установлено, что архитектура органа была сохранена, хорошо визуализировались все слои органа. Просвет канальцев местами был сужен вследствие фиксации формалином.

Эпителий канальцев и сосудистые клубочки имели обыкновенное строение, но просвет капсулы Шумлянско-го также был сужен вследствие фиксации формалином. В опытных группах не было отмечено каких-либо изменений в гистологическом строении органов.



**Рис. 1.** Гистологическое строение печени крыс после 14 дней применения препарата. Окраска — гематоксилин-эозин. Ув. 400х:

A — контроль; B — группа II; B — группа III. Стрелкой помечен узелок инфильтрации



**Рис. 2.** Гистологическое строение почек крыс после 14 дней применения препарата. Окраска — гематоксили-эозин. Ув. 400х:

*A* — контроль; *B* — группа II; *C* — группа III

Повторное исследование органов через 14 дней показало, что в контрольной группе гистологическая структура печени также была типичной для крыс, четко прослеживалось балочное и дольчатое строение.

Сосуды были умеренно наполнены кровью, капиллярная сеть без изменений. Гепатоциты имели цитоплазму полигональной формы, которая была равномерно окрашена (рис. 3).

В группе II отмечали также типичное строение органа. Прослеживалось балочное и дольчатое строение, гепатоциты имели равномерно окрашенную цитоплазму, встречались единичные двухъядерные клетки.

Около части портальных вен отмечали расширение капиллярной сети. В группе III гистологическая структура не имела значимых различий с группой контроля и группой II. Печень имела

типичное строение, клетки были обычного вида. Капиллярная сеть имела типичный вид, просвет капилляров — свободный.

При исследовании почек после восстановительного периода (рис. 4) отмечали, что в контрольной группе орган имел характерную архитектуру. Дистальные и проксимальные канальца имели сохранную эпителиальную выстилку, просвет по большей части был свободным.

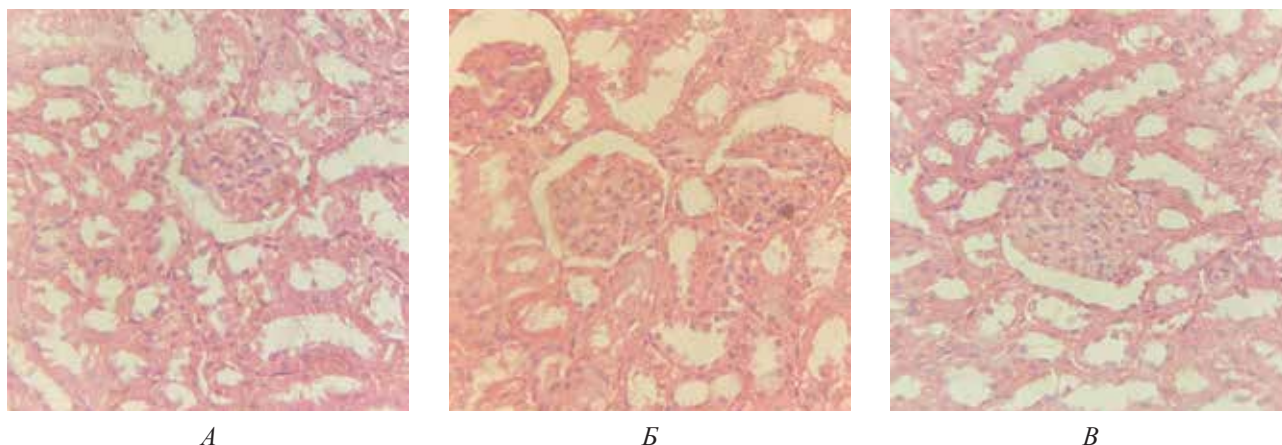
Сосудистые клубочки характеризовались также типичным строением, капсула клубочков имела сохраненный вид.

В группах II и III орган также имел сохраненный вид. Единичные канальца были спавшимися, эпителиальная выстилка сохранена. В сосудистом клубочке отмечали умеренное кровенаполнение капиллярной сети. Капсула Шумлянско-го также была сохранена, просвет капсулы местами был сужен.



**Рис. 3.** Гистологическое строение печени крыс после 10 дней восстановительного периода. Окраска — гематоксили-эозин. Ув. 400х:

*A* — контроль; *B* — группа II; *C* — группа III



**Рис. 4.** Гистологическое строение почек крыс после 10 дней восстановительного периода. Окраска — гематоксили-эозин. Ув. 400х:  
А — контроль; Б — группа II; В — группа III

При анализе результатов по изучению подострой токсичности препарата на основе риамиловира и левофлоксацина при многократном пероральном введении не было выявлено негативного влияния на массовые коэффициенты органов. Гистопатологические исследования позволили выявить альтерации в строении печени — перитриадальную лейкоцитарную инфильтрацию в группе III. Однако данные изменения были обратимыми и через 10 суток восстановительного периода не было выявлено гистопатологических изменений.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показывают, что применение препарата на основе риамиловира вызывало обратимые изменения в печени, которые характеризовались мелкими очажками лейкоцитарной инфильтрации.

Гистологическое исследование почек не выявило альтераций в их строении. Исследование массовых коэффициентов органов (МКО) также не выявило изменений.

В целом, применение препарата в исследованных дозах 1000 и 200 мг/кг не оказывало значимого влияния на организм лабораторных животных, а видимые изменения были обратимыми. Таким образом, препарат может быть использован для дальнейших исследований на продуктивных животных.

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Красочко П. А. Влияние пробиотического препарата на основе продуктов метаболизма симбионтных бактерий и наночастиц биоэлементов на микробиоценоз у телят / П. А. Красочко, М. А. Понаськов // Вете-

ринарный фармакологический вестник, — 2018. — № 4(5). — С. 53—58. — DOI 10.17238/issn2541-8203.2018.4.53. — EDN YTSPVJ.

2. Красочко П. А. Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси / П. А. Красочко [и др.]; Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеселского. — Минск: Беларуская навука. 2016. — 492 с.

3. Dall Agnol A. M. et al. Severe outbreak of bovine neonatal diarrhea in a dairy calf rearing unit with multifactorial etiology //Brazilian Journal of Microbiology. — 2021. — Т. 52. — № 4. — С. 2547—2553.

4. Shakhov A. G. Corrective effect of Gentabiferon-S on weaned piglet immune status and its effectiveness in prevention of intestinal infections. / Shakhov, A. G., Shabunin, S. V., Vostroilova, G. A., Sashnina, L. Y., Parshin, P. A., Cheskidova, L. V., Kantorovich, Y. A. // Russian Agricultural Sciences. — 2019. — № 45(1). С. 89—93.

5. Ческидова Л. В. Перспективные направления создания лекарственных средств нового поколения для животных с применением биотехнологий (обзор) / Ческидова Л. В., Брюхова И. В., Григорьева Н. А. //Ветеринарный фармакологический вестник. — 2019. — № 2. — С. 29—38.

6. Попова О. В. Рифафлокс в комплексной терапии парвовирусного энтерита собак / Попова О. В., Скогорева А. М. // Ветеринарно-санитарные аспекты качества и безопасности сельскохозяйственной продукции. — 2019. — С. 316—319.

7. Кучинский М. П. Острая токсичность и специфическая эффективность комплексного препарата на основе антибактериальной и противовирусной субстанций // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. — 2013. — № 14, № 3—4. — С. 173—178.

8. Киселев О. И. и др. Инъекционный раствор для лечения вирусных заболеваний, выбранных из гриппа h1n1, h3n2, h5n1, клещевого энцефалита и лихорадки западного нила, — 2016,
9. Смирнова Т. Д. Изучение влияния ремантадина, рибавирина и триазавирина на репродукцию вирусов гриппа А в монослойных и лимфобластоидных клеточных линиях человеческого происхождения / Смирнова Т. Д., Даниленко Д. М., Ерошкин М. Ю., Деева Э. Г. Киселев О. И. // *Антибиотики и химиотерапия*. 2011. — № 56. — С. 11—16.
10. Решетникова Т. И. Определение острой токсичности противовирусного препарата Триазавирин / Решетникова Т. И. // *Ветеринарный врач*. — 2018. — № 5. — С. 42—48.
11. Солодкова К. В. Разработка, фармако-токсикологическая оценка и эффективность применения препарата мастигард при мастите у коров. Дисс. канд. вет. наук. — Краснодар. — 2025.
12. Авдеева О. И. Биоэтические и экономические аспекты в основе выбора метода изучения токсичности лекарственных средств при однократном введении / О. И. Авдеева, М. Н. Макарова, А. В. Калатанова, М. А. Ковалева // *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018. — № 1. — С. 4—11. DOI:10.29296/2618723X-2018—01—01.
13. Енгальчева Г. Н., Сюбаев Р. Д., Горячев Д. В. Стандарты качества доклинических фармакологических исследований // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2019. Т. 9. № 4. С. 248—255. DOI 10.30895/1991—2919—2019—9—4—248—255.
14. Бирюкова Н. П., Русаков С. В., Напалкова В. В. Общие принципы доклинической оценки безопасности фармакологических лекарственных средств для ветеринарного применения // *Ветеринарный врач*. 2018. № 1. С. 3—8
15. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. — М.: Гриф и К. — 2012. — 944с.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Б. В. Шабунин** — аспирант, младший научный сотрудник лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем;

**Г. А. Востроилова** — доктор биологических наук, зав. лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем;

**Н. А. Хохлова** — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем;

**В. А. Шутиков** — аспирант, младший научный сотрудник;

**Д. В. Гунькин** — аспирант, младший научный сотрудник;

**Т. И. Ермакова** — кандидат биологических наук, доцент.

Статья поступила в редакцию 10.08.2026.

## EFFECT OF A NEW VETERINARY DRUG BASED ON RIAMILOVIR AND LEVOFLOXACIN ON THE INTERNAL ORGANS OF RATS IN A SUBACUTE TOXICITY STUDY

**Boris Viktorovich Shabunin**<sup>✉</sup>, Galina Anatolyevna Vostroilova, Nina Alekseevna Khokhlova, Viktor Alekseevich Shutikov, Dmitry Vladimirovich Gunkin, Tatyana Igorevna Ermakova

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, bv.shabunin@gmail.com*<sup>✉</sup>

**Abstract.** This article presents the data on the effect of a new drug based on riamilovir and levofloxacin on the internal organs of rats in a subacute toxicity study. Administration of the drug for 14 days caused reversible changes in the liver, characterized by small foci of leukocyte infiltration. Histological examination of the kidneys revealed no structural alterations. The study of the organ-to-body weight ratio/relative organ weight (ROW) also revealed no changes. Overall, administration of the drug at the studied doses of 1000 mg/kg and 200 mg/kg had no significant effect on the laboratory animals, and visible changes were reversible.

**Keywords:** riamilovir, levofloxacin, rats, liver, histological structure, kidneys, relative organ weight

### INTRODUCTION

Toxicological studies are the first step in the design and registration of new drugs, both for human and veterinary use. The most pressing challenge in veterinary science is the search for new means to combat infectious diseases in young cattle. Gastrointestinal (GI) diseases are the most common, accounting for 35 % to 85 % of the total incidence among young cattle [1, 2].

According to Alais M. Dall Agno (2021), associations of viral and protozoan pathogens are the most frequently detected (37.5 %), followed by viral and bacterial (25 %), viral, bacterial and protozoan (25 %), and viral-only agents (12.5 %) [3].

Combination/complex drugs capable of acting against viral and bacterial pathogens are currently known. For example, S&PC ProBioTech has designed combination drugs containing an antibacterial component and interferon with antiviral activity [3, 5]. In addition, there are drugs containing ribavirin and enrofloxacin, which also demonstrate high therapeutic efficacy [6, 7].

The drug under study contains riamilovir, a substance of the azoloazine class, which is a synthetic analogue of purine nucleoside bases (guanine) [8]. This substance was designed by Russian scientists and is currently available in human medicine under the name “Triazavirin”. The drug is approved for the treatment

of diseases caused by RNA-containing viruses [9]. The second component of the drug is levofloxacin, a third-generation fluoroquinolone with a broad spectrum of antibacterial activity.

Preclinical studies of medicinal products include mandatory assessment of drug toxicity following repeated administration, as well as assessment of the drug effect on target organs and the reversibility of damage caused. Despite the existence of the data on the use of riamilovir and levofloxacin in laboratory animals, toxicological studies of a new combination drug for veterinary use are mandatory.

The research objective was to assess the effect of a new veterinary drug based on riamilovir and levofloxacin on the histological structure and the relative organ weight (ROW) of rats in a subacute study.

### MATERIAL AND METHODS

The studies were conducted in the vivarium of FSBSI “ARVRIPP&T” in compliance with international and Russian regulations [12—15]. Keeping conditions for the experimental animals and all manipulations performed during the experiment complied with the requirements of international and Russian legislation (ETS123, Strasbourg, 1986; Directive 2010/63/EU dtd. September 22, 2010; GOST 33216—2014, GOST 33215—2014).

© Shabunin B. V., Vostroilova G. A., Khokhlova N. A., Shutikov V. A., Gunkin D. V., Ermakova T. I., 2026

The experimental plan received preliminary approval from the Bioethics Committee of FSBSI "ARVRIPP&T". An LD50 could not be determined in the acute toxicity study. A maximum dose of 10000 mg/kg was used. For the subacute toxicity study, three groups of rats were formed. Group I served as a control and did not receive the drug. group II received 1/50 of the maximum dose (200 mg/kg), and group III received 1/10 (1000 mg/kg). The rats were kept in cages with unlimited access to water. The drug was administered perorally with a portion of a slurry prepared from white bread and ultra-pasteurized cow milk. Each animal was weighed daily, and the required dose for each individual was calculated. The control group received the slurry without the addition of the drug. After mixing, the slurry was divided into 10 equal portions, which were given to the rats individually. After 14 days, the feeding regimen was restored to standard.

On day 14 of the experiment and 10 days after recovery, some animals from each group were euthanized for histological examination of their internal organs. Internal organs were collected, fixed in 10 % buffered formalin, dehydrated in graded alcohols and embedded in paraffin wax. Organ sections were stained with hematoxylin and eosin.

## STUDY RESULTS AND DISCUSSION

The study (Table) showed that 14-day administration of the drug had no effect on the relative organ weight (ROW) of the lungs, heart, kidneys and adrenal glands. In the liver of group III rats, a trend toward an increase in the ROW by 13.4 % was observed, compared to the control group. After a 10-day recovery period, no significant differences in the ROW of the rats' internal organs were observed, indicating no adverse effects of the drug on the animals' bodies.

**Table**

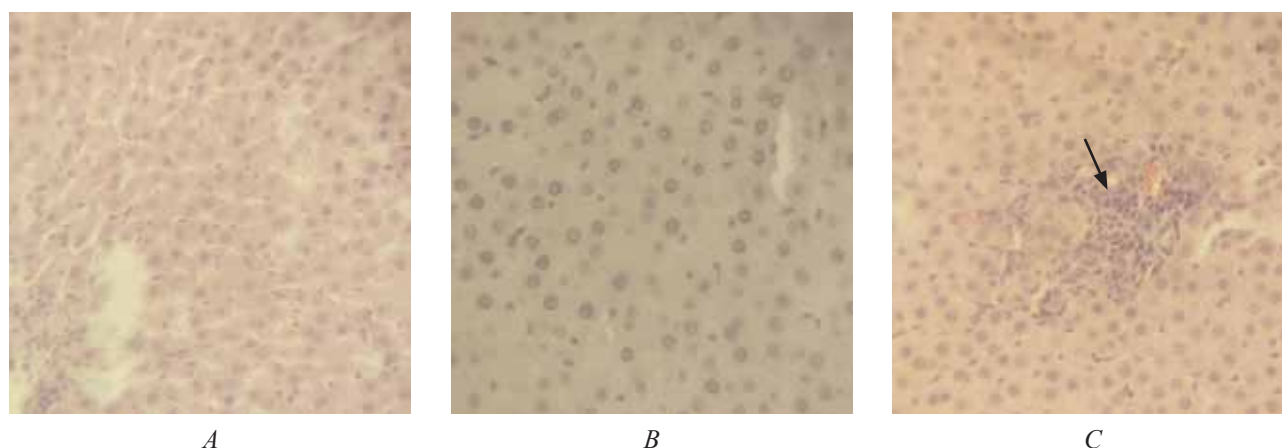
*The ROW coefficients in rats*

| Organ                                | Control (group I) | 200 mg/kg (group II) | 1000 mg/kg (group III) |
|--------------------------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| After 14 days of drug administration |                   |                      |                        |
| Lungs                                | 4.21 ± 0,161      | 4.18 ± 0.122         | 4.30 ± 0.106           |
| Heart                                | 2.96 ± 0,164      | 3.05 ± 0.125         | 3.02 ± 0.058           |
| Liver                                | 31.17 ± 0,281     | 32.05 ± 0.519        | 35.44 ± 2.254          |
| Spleen                               | 3.19 ± 0,164      | 3.59 ± 0.383         | 4.13 ± 0.371           |
| Kidneys                              | 5.83 ± 0,126      | 5.89 ± 0.092         | 5.86 ± 0.158           |
| Adrenal glands                       | 0.18 ± 0,003      | 0.17 ± 0.006         | 0.19 ± 0.007           |
| Thymus                               | 1.09 ± 0,041      | 1.19 ± 0.069         | 1.09 ± 0.054           |
| Testicles                            | 11.93 ± 0,356     | 11.08 ± 0.557        | 12.94 ± 0.560          |
| After 10 days of recovery            |                   |                      |                        |
| Lungs                                | 5.56 ± 0.188      | 5.29 ± 0.360         | 5.65 ± 0.070           |
| Heart                                | 2.86 ± 0.096      | 2.82 ± 0.094         | 2.95 ± 0.058           |
| Liver                                | 35.24 ± 2.293     | 36.75 ± 2.236        | 37.7 ± 2.111           |
| Spleen                               | 4.55 ± 0.223      | 4.99 ± 0.173         | 5.11 ± 0.558           |
| Kidneys                              | 5.89 ± 0.289      | 5.65 ± 0.393         | 6.16 ± 0.145           |
| Adrenal glands                       | 0.24 ± 0.009      | 0.21 ± 0.019         | 0.23 ± 0.021           |
| Thymus                               | 1.38 ± 0.111      | 1.52 ± 0.064         | 1.33 ± 0.149           |
| Testicles                            | 12.9 ± 0.51       | 13.8 ± 0.40          | 12.6 ± 0.63            |

Histological examination of the liver (Fig. 1) revealed that in the control group, the organ architectonics was typical, with a clearly visible lobular and beam-like structure. Hepatocytes had polygonal cytoplasm stained with eosinophils. The nucleus was centrally located and had a characteristic chromatin pattern. The vessels were moderately filled with blood. In group III, isolated nodules of leukocyte infiltration (arrow) were observed in the liver. The cellular composition of the infiltrate was predominantly mononuclear leukocytes. No such changes were observed in group II.

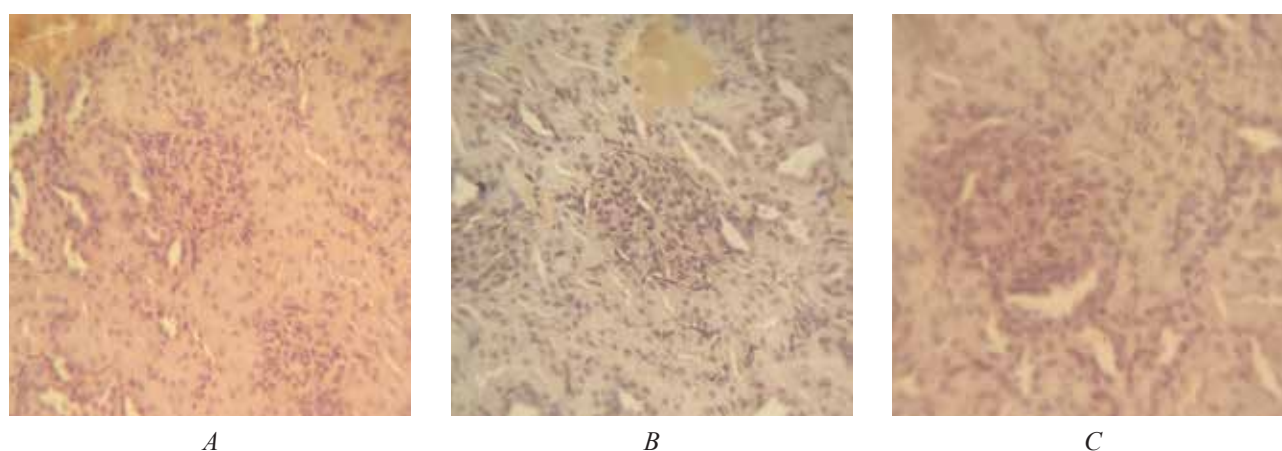
Histological examination of the kidneys (Fig. 2) revealed that the organ architectonics was preserved, with all layers clearly visible. The tubular lumen was locally narrowed due to formalin fixation. The tubular epithelium and glomeruli had a normal structure, but the lumen of the Shumlyansky's capsule was also narrowed due to formalin fixation. No changes in the

histological structure of the organs were noted in the experimental groups. A repeat examination of the organs in 14 days revealed that the histological structure of the liver in the control group was also typical for rats, with a clearly visible beam and lobular structure. The vessels were moderately filled with blood, and the capillary network was unchanged. Hepatocytes had polygonal cytoplasm that was uniformly stained (Fig. 3). In group II, a typical organ structure was also noted. A beam and lobular structure was observed, hepatocytes had uniformly stained cytoplasm, and isolated binucleated cells were present. A dilation of the capillary network was noted near some of the portal veins. In group III, the histological structure did not differ significantly from the control group and group II. The liver had a typical structure, and the cells were of a normal appearance. The capillary network had a typical appearance, and the capillary lumen was free/clear.



**Fig. 1.** Histological structure of rat liver after 14 days of drug administration. Stained with hematoxylin and eosin. Mag. 400x:

*A* — control; *B* — group II; *C* — group III. The arrow marks the infiltration nodule

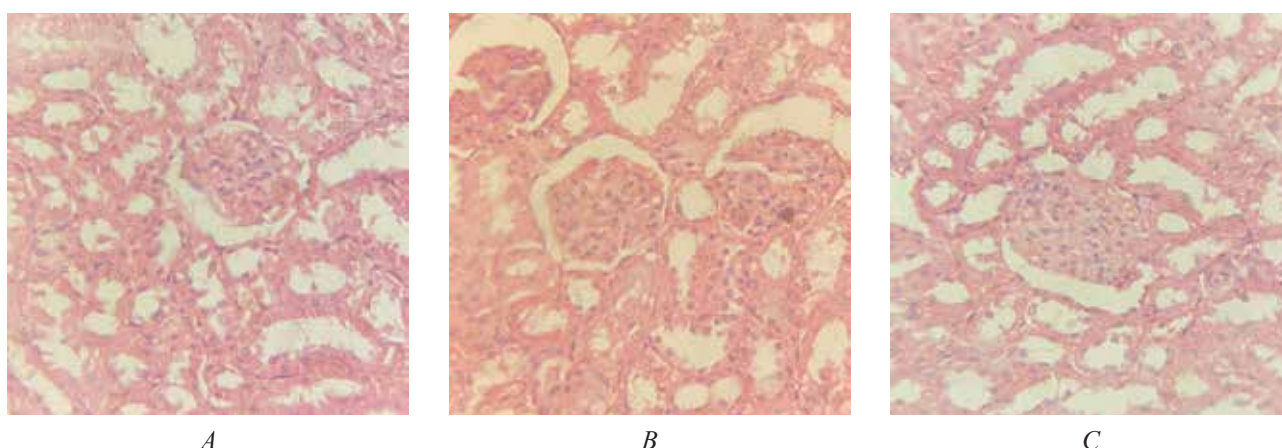


**Fig. 2.** Histological structure of rat kidneys after 14 days of drug administration. Stained with hematoxylin and eosin. Mag. 400x:

*A* — control; *B* — group II; *C* — group III



**Fig. 3.** Histological structure of rat liver after 10 days of recovery period. Stained with hematoxylin and eosin. Mag. 400x:  
A — control; B — group II; C — group III



**Fig. 4.** Histological structure of rat kidneys after 10 days of recovery period. Stained with hematoxylin and eosin. Mag. 400x:  
A — control; B — group II; C — group III

When examining the kidneys after the recovery period (Fig. 4), it was noted that the kidneys in the control group had a characteristic architectonics. The distal and proximal tubules had an intact epithelial lining, and the lumen was mostly clear. The glomeruli also had a typical structure, and the glomerular capsule was intact.

In groups II and III, the kidneys also appeared intact. Individual tubules were collapsed, and the epithelial lining was preserved. Moderate blood filling of the capillary network was noted in the glomerulus. The Shumlyansky's capsule was also preserved, with the lumen of the capsule narrowed in some areas.

The result analysis of a subacute toxicity study of a riamilovir- and levofloxacin-based drug following repeated oral administration revealed no adverse effects on the ROW. Histopathological examination revealed

alterations in liver structure, including peritriad leukocyte infiltration in group III. However, these changes were reversible, and no histopathological changes were detected after a 10-day recovery period.

## CONCLUSION

These studies demonstrate that administration of a riamilovir-based drug caused reversible changes in the liver, characterized by small foci of leukocyte infiltration. Histological examination of the kidneys revealed no alterations in their structure. The relative organ weight (ROW) analysis also revealed no changes. Overall, administration of the drug at the studied doses of 1000 and 200 mg/kg had no significant effect on laboratory animals, and the visible changes were reversible. Therefore, the drug can be used for further studies on production animals.

## REFERENCES

1. *Krasochko P. A.* Effect of a probiotic preparation based on the metabolic products of symbiotic bacteria and nanoparticles of bioelements on the microbiocenosis in calves / P. A. Krasochko, M. A. Ponaskov // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*, — 2018. — No. 4 (5). — P. 53—58. — DOI 10.17238/issn2541-8203.2018.4.53. — EDN YTSPVJ.
2. *Krasochko P. A.* Biological preparations for the prevention of viral diseases of animals: design and production in Belarus / P. A. Krasochko [et al.]; Institute of Experimental Veterinary Science named after S. N. Vyshelesskiy. — Minsk: Belarusian Science. 2016. — 492 p.
3. *Dall Agnol A. M.* et al. Severe outbreak of bovine neonatal diarrhea in a dairy calf rearing unit with multifactorial etiology // *Brazilian Journal of Microbiology*. — 2021. — V. 52. — No. 4. — P. 2547—2553.
4. *Shakhov A. G.* Corrective effect of Gentabiferon-S on weaned piglet immune status and its effectiveness in prevention of intestinal infections. / Shakhov, A. G., Shabunin, S. V., Vostroilova, G. A., Sashnina, L. Y., Parshin, P. A., Cheskidova, L. V., Kantorovich, Y. A. // *Russian Agricultural Sciences*. — 2019. — No. 45(1). P. 89—93.
5. *Cheskidova L. V.* Promising directions for the design of new generation drugs for animals using biotechnology (review) / Cheskidova L. V., Bryukhova I. V., Grigoryeva N. A. // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2019. — No. 2. — P. 29—38.
6. *Popova O. V.* Ribaflox in the complex therapy of canine parvovirus enteritis / Popova O. V., Skogoreva A. M. // *Veterinarno-sanitarnye aspekty kachestva i bezopasnosti selskokhozyaystvennoy produktsii* (Veterinary and sanitary aspects of the quality and safety of agricultural products). — 2019. — P. 316—319.
7. *Kuchinskiy M. P.* Acute toxicity and specific efficacy of a complex drug based on antibacterial and antiviral substances // *Nauchno-tekhnicheskii byulleten Instituta biologii zhivotnykh i Gosudarstvennogo nauchnogo instituta predvaritelnogo kontrolya vetpreparatov i kormovykh dobavok* (Scientific and technical bulletin of the Institute of Biology of Animals and the State Scientific and Preliminary Control Institute of Veterinary Preparations and Feed Additives). — 2013. — No. 14, No. 3—4. — P. 173—178.
8. *Kiselev O. I.* et al., Injection solution for the treatment of viral diseases selected from influenza h1n1, h3n2, h5n1, tick-borne encephalitis and West Nile fever. — 2016.
9. *Smirnova T. D.* Study of the effect of rimantadine, ribavirin and triazavirin on the reproduction of influenza A viruses in monolayer and lymphoblastoid cell lines of human origin / Smirnova T. D., Danilenko D. M., Eroshkin M. Yu., Deeva E. G. Kiselev O. I. // *Antibiotiki i khimioterapiya* (Antibiotics and chemotherapy). 2011. — No. 56. — P. 11—16.
10. *Reshetnikova T. I.* Determination of acute toxicity of the antiviral drug Triazavirin / Reshetnikova T. I. // *Veterinarnyy vrach* (Veterinarian). — 2018. — No. 5. — P. 42—48.
11. *Solodkova K. V.* Development, pharmacotoxicological assessment and efficacy of the drug Mastiguard in case of bovine mastitis. Thesis ... Candidate of Veterinary Sciences. — Krasnodar. — 2025.
12. *Avdeeva O. I.* Bioethical and economic aspects when choosing a method for studying the toxicity of drugs with a single administration / O. I. Avdeeva, M. N. Makarova, A. V. Kalatanova, M. A. Kovaleva // *Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy* (Laboratory animals for research). 2018. — No. 1. — P. 4—11. DOI: 10.29296/2618723X-2018-01-01.
13. *Engalycheva G. N., Syubaev R. D., Goryachev D. V.* Quality standards for preclinical pharmacological studies // *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* (Bulletin of the Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory studies and expertise of medicines). 2019. Vol. 9. No. 4. P. 248—255. DOI 10.30895/1991-2919-2019-9-4-248-255.
14. *Biryukova N. P., Rusakov S. V., Napalkova V. V.* General principles of preclinical safety assessment of pharmacological drugs for veterinary use // *Veterinarnyy vrach* (Veterinarian). 2018. No. 1. P. 3—8.
15. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. — M.: Grif i K. — 2012. — 944 p.

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**B. V. Shabunin** — Postgraduate Student, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Preclinical Studies and Simulation of Biological Systems;

**G. A. Vostroilova** — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Preclinical Studies and Simulation of Biological Systems;

**N. A. Khokhlova** — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate of the Laboratory of Preclinical Studies and Simulation of Biological Systems;

**V. A. Shutikov** — Postgraduate Student, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

**D. V. Gunkin** — Postgraduate Student, Junior Scientific Associate of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

**T. I. Ermakova** — Candidate of Biological Sciences.

The article was submitted 10.08.2026.

Научная статья

УДК 619:615.9:636.4

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.56.90.003

## ОЦЕНКА ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «СОЛУМЕДРОЛ» (МНН: МЕТИЛПРЕДНИЗОЛОН) В ПЛАЗМЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРОЛИКОВ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОСКОПИИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ НАНОСТРУКТУРИРУЕМЫХ ПОКРЫТИЙ

Жорж Баннуд\*, Арфеня Семеновна Карамян\*\*✉, Олег Олегович Новиков\*\*,  
Семен Таронович Карамян\*\*

\*Ветеринарная клиника «Ветлайф», Москва, Россия

\*\*Российский университет дружбы народов, Москва, Россия, [Karamyan-as@rudn.ru](mailto:Karamyan-as@rudn.ru)✉

**Аннотация.** Выбор пути введения лекарственного препарата должен обеспечивать биодоступность препарата, его всасывание, метаболизм и экскрецию из организма животного. Наряду с режимом дозирования, выбором оптимальной дозы, кратностью введения, минимизацией стресса и развития побочных эффектов у животного, крайне важным является оценка фармакокинетических параметров, а именно высвобождение препарата из системы доставки и скорость достижения терапевтической концентрации. Разработка современных систем доставки лекарственных веществ соответствующих регуляторным стандартам является острой проблемой. Контроль качества лекарственного препарата включает в себя обязательное определение количественного содержания лекарственного препарата в образцах сыворотки и плазмы крови лабораторных животных для анализа фармакокинетики препарата и оценки скорости высвобождения и терапевтической эффективности [1]. Нами было проведено сравнительное изучение кинетики высвобождения лекарственного препарата «Солумедрол» (МНН: метилпреднизолон) при различных способах введения (внутривенно, внутримышечно, интратрахеально с использованием современных носителей).

**Ключевые слова:** наноструктурируемые покрытия, глюкокортикостероиды, система адресной доставки, высокоэффективная жидкостная хроматография, ВЭЖХ, ветеринария, фармакотерапия

### ВВЕДЕНИЕ

При использовании метода хромато-масс-спектрометрии для оценки скорости высвобождения становится возможным использование наиболее точного подхода с применением изотопного разбавления. Добавление стандарта до начала всех процедур пробоподготовки позволяет не только с минимальной погрешностью вычислить количество искомого вещества в готовой пробе, но и, точно компенсировав все потери, неизбежные в процессе пробоподготовки, надежно установить концентрацию вещества в исходной пробе-плазме или сыворотке крови.

Такой подход является предпочтительным для количественного хромато-масс-спектрометрического анализа [1—4].

Для решения поставленных задач, связанных с количественным определением метилпреднизолон-гемисукцината и метилпреднизолон, был выбран подход с использованием иного внутреннего стандарта (мегестрола ацетата) [5]. В этом случае интенсивности сигналов анализируемых соединений сравниваются с сигналом стандартного вещества, которое добавляется непосредственно в образец, вводимый в прибор, перед проведением пробоподготовки. Стандарт может использоваться для одновременного определения нескольких соединений, присутствующих в анализируемом образце [6—8].

Цель исследования — оценить скорость и эффективность высвобождения лекарственного препарата «Солумедрол» (МНН: метилпреднизолон)

в плазме и сыворотке крови кроликов при использовании наноструктурируемых покрытий, как современных систем доставки. Для этого был использован современный высокочувствительный метод исследования с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ—МС/МС).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пробоподготовка, включающая стадию экстракции этилацетатом, при существенно большей трудоемкости, нежели общепринятый подход денатурации протеинов двух- или трехкратным объемом органического растворителя (метанол, ацетонитрил), была обусловлена необходимостью измерения максимально возможных низких концентраций лекарственного препарата «СОЛУМЕДРОЛ» (МНН: метилпреднизолон) в сыворотке крови и плазме крови кроликов [9—11].

Анализ образцов проводили с использованием следующего оборудования: система ВЭЖХ Nexera X2 (Shimadzu Corp., Япония), оснащенная насосом, дегазатором и термостатируемым автосэмплером. В качестве детектора использовали тандемный квадрупольный масс-спектрометр Shimadzu 8040 (QQQ).

Регистрацию масс-спектров осуществляли в режиме ионизации электрораспылением (регистрация положительных и отрицательных ионов), диапазон

измеряемых масс 100—1300 Да; расход газа-распылителя — 3 л/мин; расход осушающего газа — 15 л/мин; температура источника 400 °С; температура линии десольватации 250 °С. Управление сбором и обработкой масс-спектральных данных на всех этапах работы осуществлялось с помощью стандартного программного обеспечения масс-спектрометров фирмы Shimadzu, а именно программного обеспечения «Mass Solution».

Испытуемые образцы: 1. Плазма и сыворотка крови кроликов, участвующих в опыте при интратрахеальной установке стентов с наноструктурированным покрытием;

2. Плазма и сыворотка крови кроликов, получивших высокую дозу лекарственного препарата СОЛУМЕДРОЛ® (20,0 мг/кг) при различных стандартных способах введения (внутривенно, внутримышечно).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Определение количественного содержания метилпреднизолон гемисукцинат и метилпреднизолон в модельном опыте, проведенном на шести кроликах, представлены в Табл. 1. Трем кроликам (1—3) вводили внутривенно высокую дозу СОЛУМЕДРОЛА® (20,0 мг/кг), другим трем (4—6) — такую же дозу, но внутримышечно. У всех субъектов осуществляли забор биоматериала в определенные временные точки (табл. 2, 3).

Таблица 1

Концентрации метилпреднизолон гемисукцинат и метилпреднизолон в плазме и сыворотке крови кроликов при внутривенном введении дозы 20,0 мг/кг

| №№ | Точка   | Метилпреднизолон гемисукцинат, мкг/мл |            | Метилпреднизолон, мкг/мл |           |
|----|---------|---------------------------------------|------------|--------------------------|-----------|
|    |         | Плазма                                | Сыворотка  | Плазма                   | Сыворотка |
| 1  | 0 мин   | 0,0 ± 0,0                             | 0,0 ± 0,0  | 0,0 ± 0,0                | 0,0 ± 0,1 |
| 2  | 15 мин  | 13,8 ± 0,2                            | 11,9 ± 0,1 | 0,6 ± 0,1                | 0,5 ± 0,2 |
| 3  | 30 мин  | 5,7 ± 0,1                             | 5,5 ± 0,3  | 1,3 ± 0,2                | 1,1 ± 0,1 |
| 4  | 2 часа  | 2,5 ± 0,1                             | 2,2 ± 0,1  | 2,5 ± 0,1                | 2,2 ± 0,3 |
| 5  | 6 часов | 1,3 ± 0,3                             | 1,5 ± 0,4  | 1,5 ± 0,2                | 1,8 ± 0,2 |
| 6  | 24 часа | 0,1 ± 0,1                             | 0,1 ± 0,1  | 0,0 ± 0,1                | 0,0 ± 0,1 |

Соединения регистрировали в режиме MRM-переходов. Условия ВЭЖХ-разделения: хроматографическая колонка Shim-pack FC-ODS C18 2,0 × 150 мм, 3,0 мкм, подвижная фаза — 0,1 % вод-

ный раствор муравьиной кислоты (А) и ацетонитрил (В). Скорость подачи элюента — 0,4 мл/мин, градиентный режим элюирования. Общее время анализа — 15 мин.

Работу проводили в три этапа: установление масс-спектрометрических характеристик молекул метилпреднизолоната, метилпреднизолоната в форме натрия сукцината и мепрегенола ацетата (внутренний стандарт) для достижения наилучшей чувствительности методики их количественного определения в плазме крови; установление хроматографических характеристик молекул метилпреднизолоната, метилпреднизолоната в форме натрия сук-

цината и мепрегенола ацетата (внутренний стандарт), подбор условий хроматографирования для достижения наилучшей селективности и специфичности методики их количественного определения. Заключительным этапом проводили анализ экспериментальных образцов в соответствии с разработанной и валидированной методикой их ВЭЖХ—МС/МС определения в сыворотке и плазме крови (табл. 2).

Таблица 2

*Концентрации метилпреднизолоната гемисукцината и метилпреднизолоната в плазме и сыворотке крови кроликов при внутримышечном введении дозы 20,0 мг/кг*

| №№ | Точка    | Метилпреднизолоната гемисукцинат, мкг/мл |           | Метилпреднизолон, мкг/мл |           |
|----|----------|------------------------------------------|-----------|--------------------------|-----------|
|    |          | Плазма                                   | Сыворотка | Плазма                   | Сыворотка |
| 1  | 0 мин    | 0,0 ± 0,0                                | 0,0 ± 0,0 | 0,0 ± 0,0                | 0,0 ± 0,0 |
| 2  | 2 часа   | 3,9 ± 0,3                                | 3,8 ± 0,1 | 0,2 ± 0,1                | 0,3 ± 0,4 |
| 3  | 4 часа   | 3,1 ± 0,1                                | 3,2 ± 0,3 | 0,8 ± 0,4                | 0,6 ± 0,1 |
| 4  | 6 часов  | 1,4 ± 0,7                                | 1,2 ± 0,7 | 1,8 ± 0,1                | 1,6 ± 0,3 |
| 5  | 12 часов | 0,5 ± 0,1                                | 0,5 ± 0,2 | 2,2 ± 0,4                | 2,3 ± 0,2 |

Результаты количественного определения содержания метилпреднизолоната гемисукцината и метилпреднизолоната в плазме и сыворотке крови экспериментальных кроликов представлены в Таблице 3.

Следует отметить, что предел обнаружения метилпреднизолоната гемисукцината по разработанной методике, установленный в процессе ее валида-

ции, составил около 20 пг/мл [12]. Для метилпреднизолоната значение предела обнаружения было выявлено на уровне 40 пг/мл. При этом не наблюдалось существенной разницы как для плазмы, так и для сыворотки крови. Таким образом, отмеченные в Таблице 3 позиции «н/о» показывают, что значения концентраций могут быть ниже предела обнаружения исследуемых веществ.

Таблица 3

*Результаты анализа проб плазмы и сыворотки крови кроликов, участвующих в эксперименте по стентированию*

| №№ кролика | Точка  | Метилпреднизолоната гемисукцинат, пг/мл |           | Метилпреднизолон, пг/мл |           |
|------------|--------|-----------------------------------------|-----------|-------------------------|-----------|
|            |        | Плазма                                  | Сыворотка | Плазма                  | Сыворотка |
| 1          | 2      | 3                                       | 4         | 5                       | 6         |
| 3.1        | 0 мин  | н/о                                     | н/о       | н/о                     | н/о       |
|            | 2 дня  | 193,6                                   | 138,2     | 236,2                   | 222,3     |
|            | 8 дней | н/о                                     | н/о       | н/о                     | н/о       |
| 3.2        | 0 мин  | н/о                                     | н/о       | н/о                     | н/о       |

Окончание табл. 3

| 1             | 2      | 3     | 4     | 5     | 6     |
|---------------|--------|-------|-------|-------|-------|
|               | 2 дня  | 622,3 | 594,8 | 314,2 | 330,4 |
|               | 8 дней | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
| 3.3           | 0 мин  | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
|               | 2 дня  | 218,0 | 186,9 | 168,3 | 236,3 |
|               | 8 дней | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
| 3.4           | 0 мин  | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
|               | 2 дня  | 83,2  | 92,5  | 111,6 | 122,9 |
|               | 8 дней | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
| 3.5 (к)       | 0 мин  | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
|               | 2 дня  | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
|               | 8 дней | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
| 3.6 (3.9) (к) | 0 мин  | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
|               | 2 дня  | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
|               | 8 дней | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
| 3.7 (к)       | 0 мин  | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
|               | 2 дня  | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |
|               | 8 дней | н/о   | н/о   | н/о   | н/о   |

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что наряду с изначальной формой лекарственного препарата СОЛУМЕДРОЛ® (метилпреднизолон гемисукцинат) в сыворотке крови и плазме присутствует также метилпреднизолон в форме стероидного спирта со свободной гидроксильной группой.

В ходе исследования установлено, что в плазме определяются более высокие концентрации метилпреднизолон гемисукцината и метилпреднизолон, чем в сыворотке крови. Более оптимальным в дальнейших исследованиях видится подход с отбором только лишь плазмы крови, но в большем объеме, для возможного анализа параллельных проб и повышения точности количественного анализа [13, 14].

Сравнительное исследование позволило учесть зависимость релиза лекарственного препарата СОЛУМЕДРОЛ® при различных способах введе-

ния и подтверждением гипотезы о возможно и равноценном введении препарата интратрахеально на современных лекарственных носителях, установленных на имплантируемых стентах [15].

### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Каллен Дж. М. Краткое изложение руководства Комитета по стандартизации Всемирной ветеринарной ассоциации мелких животных по классификации заболеваний печени у собак и кошек. Ветеринарная клиника для мелких животных. (2009) 39:395—418. doi: 10.1016/j.cvsm.2009.02.003
2. Кушнир М. М., Роквуд А. Л., Робертс В. Л., Юэ Б., Бергквист Дж., Мейкл А. В. Жидкостная хроматография и масс-спектрометрия в тандеме для анализа стероидов в клинических лабораториях. Clin Biochem. (2011) 44:77—88. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.07.008
3. Питт Дж. Дж. Принципы и применение жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии в клинической биохимии. Clin Biochem Rev. (2009) 30:19—34.

4. Санта Т. Реагенты для дериватизации в жидкостной хроматографии/тандемная масс-спектрометрия с электрораспылением ионизацией. Биомед хроматография. (2011) 25:1—10. doi: 10.1002/bmc.1548
5. Санта Т. Дериватизация в жидкостной хроматографии для масс-спектрометрического детектирования. Открытие препарата. (2013) 7:9—17. doi: 10.5582/ddt.2013.v7.1.9
6. Станчик Ф. З., Кларк Н. Дж. Преимущества и проблемы масс-спектрометрических анализов стероидных гормонов. J Steroid Biochem Mol Biol. (2010) 121:491—5.
7. Behrend EN, Kooistra HS, Nelson R, Reusch CE, Scott-Moncrieff JC. Диагностика спонтанного гиперандрокортицизма у собак: консенсусное заявление асвим 2012 года (для мелких животных). J Vet Intern Medicine. (2013) 27:1292—304. doi: 10.1111/jvim.12192
8. Sindeeva OA, Gusliakova OI, Inozemtseva OA, et al. Effect of a controlled release of epinephrine hydrochloride from PLGA microchamber array: in vivo studies. ACS Applied Materials & Interfaces. 2018;10(44):37855—37864. doi:10.1021/acsami.8b15109 EDN: JXQPMW
9. Hiwatashi S, Nakayama Y, Umeda S, Takama Y, Terazawa T, Okuyama H. Tracheal replacement using an in-body tissue-engineered collagenous tube «BIOTUBE» with a biodegradable stent in a beagle model: a preliminary report on a new technique. European Journal of Pediatric Surgery. 2019;29(1):90—96. doi: 10.1055/s0038—1673709
10. Bannoud G., Ibragimova A. N., Mas-Coma S., Troshina N. I., Karamyan A. S. Analysis of the pharmacological efficacy of methylprednisolone in targeted delivery using biodegradable carriers in animals // RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries. — 2026. — Vol. 21. — N. 1. — P. 195—202. doi: 10.22363/2312-797X-2026-21-1-195-202
11. Qin Q, Feng D, Hu C, Wang B, Chang M, Liu X, Yin P, Shi X, Xu G. Parallel derivatization strategy coupled with liquid chromatography-mass spectrometry for broad coverage of steroid hormones. J Chromatogr A. 2020 Mar 15;1614:460709. doi: 10.1016/j.chroma.2019.460709. Epub 2019 Nov 13. PMID: 31784081.
12. Xue B, Liang B, Yuan G, Zhu L, Wang H, Lu Z, Xu Z. A pilot study of a novel biodegradable magnesium alloy airway stent in a rabbit model. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2019 Feb;117:88—95. doi: 10.1016/j.ijporl.2018.10.047. Epub 2018 Nov 22. PMID: 30579096.
13. Gai M, Frueh J, Tao T, Petrov AV, Petrov VV, Sheshterikov EV, Tverdokhlebov SI, Sukhorukov GB. Poly(lactic acid) nano- and microchamber arrays for encapsulation of small hydrophilic molecules featuring drug release via high intensity focused ultrasound. Nanoscale. 2017 Jun 1;9(21):7063—7070. doi: 10.1039/c7nr01841j. PMID: 28513733.
14. Derendorf H, Möllmann H, Rohdewald P, Rehder J, Schmidt EW. Kinetics of methylprednisolone and its hemisuccinate ester. Clin Pharmacol Ther. 1985 May;37(5):502—7. doi: 10.1038/clpt.1985.79. PMID: 3886255.
15. Kozelskaya AI, Rutkowski S, Frueh J, Gogolev AS, Chistyakov SG, Gnedenkov SV, Sinebryukhov SL, Frueh A, Egorkin VS, Choyznzonov EL, Buldakov M, Kulbakin DE, Bolbasov EN, Gryaznov AP, Verzunova KN, Apostolova MD, Tverdokhlebov SI. Surface Modification of Additively Fabricated Titanium-Based Implants by Means of Bioactive Micro-Arc Oxidation Coatings for Bone Replacement. J Funct Biomater. 2022 Dec 8;13(4):285. doi: 10.3390/jfb13040285. PMID: 36547545; PMCID: PMC9781821.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Ж. Баннуд** — ветеринарный врач;

**А. С. Карамян** — доктор биологических наук, кандидат ветеринарных наук, доцент, доцент департамента ветеринарной медицины;

**О. О. Новиков** — доктор фармацевтических наук, профессор департамента ветеринарной медицины;

**С. Т. Карамян** — лаборант.

Статья поступила в редакцию 28.07.2026.

# ASSESSMENT OF THE RELEASE EFFICACY OF THE DRUG “SOLUMEDROL” (INN: METHYLPREDNISOLONE) IN RABBIT BLOOD PLASMA AND SERUM BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY USING NANOSTRUCTURED COATINGS

Georges Bannoud\*, Arfenya Semenovna Karamyan\*\*✉, Oleg Olegovich Novikov\*\*,  
Semen Taronovich Karamyan\*\*

\*Vetlife Veterinary Clinic, Moscow, Russia

\*\*Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia, karamyan-as@rudn.ru✉

**Abstract.** The choice of drug administration route should ensure bioavailability, absorption, metabolism and excretion from the animal's body. Along with the dosing regimen, selection of the optimal dose, frequency of administration, minimization of stress and the development of side effects in the animal, it is crucial to assess pharmacokinetic parameters, namely, drug release from the delivery system and the rate at which therapeutic concentrations are reached. The design of modern drug delivery systems that comply with regulatory standards is a pressing issue. Drug quality control includes mandatory determination of the quantitative content of the drug in blood serum and plasma samples from laboratory animals to analyze the drug pharmacokinetics and assess the release rate and therapeutic efficacy [1]. We conducted a comparative study of the release kinetics of the drug “Solumedrol” (INN: methylprednisolone) using various routes of administration (intravenous, intramuscular, intratracheal, using modern carriers).

**Keywords:** nanostructured coatings, glucocorticosteroids, targeted delivery system, high-performance liquid chromatography, HPLC, veterinary medicine, pharmacotherapy

## INTRODUCTION

Using chromatograph mass spectrometry to assess release rates makes it possible to employ the most accurate approach using isotope dilution. Adding a standard before all sample preparation procedures allows not only for the amount of the target substance in the final sample to be calculated with minimal error, but also, by accurately compensating for all losses inevitable during sample preparation, to reliably determine the concentration of the substance in the original plasma or serum sample. This approach is preferred for quantitative chromatograph mass spectrometry analysis [1—4].

To address the challenges associated with the quantitative determination of methylprednisolone hemisuccinate and methylprednisolone, an approach using a different internal standard (megestrol acetate) was chosen [5]. In this case, the signal intensities of the analyte compounds are compared with the signal of the standard substance, which is added directly to the sample injected into the instrument prior to sample preparation.

The standard can be used for the simultaneous detection of several compounds present in the analyzed sample [6—8].

The research objective was to assess the rate and efficacy of release of the drug “Solumedrol” (INN: methylprednisolone) in rabbit blood plasma and serum using nanostructured coatings as modern delivery systems. A modern, highly sensitive method using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC—MS/MS) was used.

## MATERIAL AND METHODS

Sample preparation, including an ethyl acetate extraction step, is significantly more labor-intensive than the generally accepted approach of protein denaturation with two- or three-fold volume of an organic solvent (methanol, acetonitrile). This was necessary to measure the lowest possible concentrations of the drug “SOLUMEDROL” (INN: methylprednisolone) in rabbit blood serum and plasma [9—11]. The samples were analyzed using the following equipment: a

Nexera X2 HPLC system (Shimadzu Corp., Japan) equipped with a pump, a degasser and a thermostated autosampler. A Shimadzu 8040 (QQQ) tandem quadrupole mass spectrometer was used as a detector. Mass spectra were recorded in the electrospray ionization mode (recording of positive and negative ions), the measured mass range was 100–1300 Da; nebulizer gas flow rate was 3 L/min; drying gas flow rate was 15 L/min; source temperature was 400 °C; desolvation line temperature was 250 °C. Control of mass spectral data collection and processing at all stages of the work was carried out using the standard software for Shimadzu mass spectrometers, namely the Mass Solution software.

Test samples. 1. Blood plasma and serum from rabbits participating in an experiment involving in-

tratracheal placement of stents with a nanostructured coating.

2. Blood plasma and serum from rabbits that received a high dose of the drug SOLUMEDROL® (20.0 mg/kg) via various standard routes of administration (intravenous, intramuscular).

## RESULTS

Quantitative analysis of methylprednisolone hemisuccinate and methylprednisolone in a model experiment conducted on six rabbits is presented in Table 1. Three rabbits (1–3) were administered a high dose of SOLUMEDROL® (20.0 mg/kg) intravenously, while the other three (4–6) were administered the same dose intramuscularly. Biomaterial was collected from all animals at specific time points (Tables 2 and 3).

**Table 1**

*Blood plasma and serum concentrations of methylprednisolone hemisuccinate and methylprednisolone in rabbits after intravenous administration at a dose of 20.0 mg/kg*

| No. | Point  | Methylprednisolone hemisuccinate, µg/ml |            | Methylprednisolone, µg/ml |           |
|-----|--------|-----------------------------------------|------------|---------------------------|-----------|
|     |        | Plasma                                  | Serum      | Plasma                    | Serum     |
| 1   | 0 min  | 0.0 ± 0.0                               | 0.0 ± 0.0  | 0.0 ± 0.0                 | 0.0 ± 0.1 |
| 2   | 15 min | 13.8 ± 0.2                              | 11.9 ± 0.1 | 0.6 ± 0.1                 | 0.5 ± 0.2 |
| 3   | 30 min | 5.7 ± 0.1                               | 5.5 ± 0.3  | 1.3 ± 0.2                 | 1.1 ± 0.1 |
| 4   | 2 h    | 2.5 ± 0.1                               | 2.2 ± 0.1  | 2.5 ± 0.1                 | 2.2 ± 0.3 |
| 5   | 6 h    | 1.3 ± 0.3                               | 1.5 ± 0.4  | 1.5 ± 0.2                 | 1.8 ± 0.2 |
| 6   | 24 h   | 0.1 ± 0.1                               | 0.1 ± 0.1  | 0.0 ± 0.1                 | 0.0 ± 0.1 |

Compounds were detected in an MRM transition mode. HPLC separation conditions: Shim-pack FC-ODS C18 chromatographic column, 2.0 mm x 150 mm, 3.0 µm, mobile phase — 0.1 % aqueous formic acid solution (A) and acetonitrile (B). Eluent flow rate — 0.4 ml/min, gradient elution mode. Total analysis time — 15 min. The work was carried out in three stages: establishing the mass spectrometric characteristics of methylprednisolone molecules, methylprednisolone in the form of sodium succinate, and mepregenol acetate (internal standard) to achieve the best sensitivity of the method for their quantitative determination in blood plasma; establishing the chromatographic characteristics of methylprednisolone molecules, methylprednisolone in the form of sodium succinate, mepregenol acetate (internal standard), and selecting chromatography conditions to achieve the best selec-

tivity and specificity for their quantitative determination. The final stage involved the analysis of the experimental samples in accordance with the developed and validated HPLC—MS/MS method for their determination in blood serum and plasma (Table 2).

The results of quantitative determination of methylprednisolone hemisuccinate and methylprednisolone levels in blood plasma and serum of experimental rabbits are presented in Table 3. It should be noted that the detection limit of methylprednisolone hemisuccinate using the developed method, established during its validation, was approximately 20 pg/ml [12]. For methylprednisolone, the detection limit was found to be 40 pg/ml. No significant difference was observed for either plasma or serum. Thus, the “n/d” items noted in Table 3 indicate that concentration values may be below the detection limit of the substances being studied.

**Table 2**

*Blood plasma and serum concentrations of methylprednisolone hemisuccinate and methylprednisolone in rabbits after intramuscular administration at a dose of 20.0 mg/kg*

| No. | Point | Methylprednisolone hemisuccinate, $\mu\text{g/ml}$ |               | Methylprednisolone, $\mu\text{g/ml}$ |               |
|-----|-------|----------------------------------------------------|---------------|--------------------------------------|---------------|
|     |       | Plasma                                             | Serum         | Plasma                               | Serum         |
| 1   | 0 min | $0.0 \pm 0.0$                                      | $0.0 \pm 0.0$ | $0.0 \pm 0.0$                        | $0.0 \pm 0.0$ |
| 2   | 2 h   | $3.9 \pm 0.3$                                      | $3.8 \pm 0.1$ | $0.2 \pm 0.1$                        | $0.3 \pm 0.4$ |
| 3   | 4 h   | $3.1 \pm 0.1$                                      | $3.2 \pm 0.3$ | $0.8 \pm 0.4$                        | $0.6 \pm 0.1$ |
| 4   | 6 h   | $1.4 \pm 0.7$                                      | $1.2 \pm 0.7$ | $1.8 \pm 0.1$                        | $1.6 \pm 0.3$ |
| 5   | 12 h  | $0.5 \pm 0.1$                                      | $0.5 \pm 0.2$ | $2.2 \pm 0.4$                        | $2.3 \pm 0.2$ |

**Table 3**

*Results of analysis of blood plasma and serum samples from the rabbits included in the stenting experiment*

| Rabbit No.    | Point | Methylprednisolone hemisuccinate, $\text{pg/ml}$ |       | Methylprednisolone, $\text{pg/ml}$ |       |
|---------------|-------|--------------------------------------------------|-------|------------------------------------|-------|
|               |       | Plasma                                           | Serum | Plasma                             | Serum |
| 1             | 2     | 3                                                | 4     | 5                                  | 6     |
| 3.1           | 0 min | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
|               | 2 d   | 193.6                                            | 138.2 | 236.2                              | 222.3 |
|               | 8 d   | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
| 3.2           | 0 min | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
|               | 2 d   | 622.3                                            | 594.8 | 314.2                              | 330.4 |
|               | 8 d   | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
| 3.3           | 0 min | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
|               | 2 d   | 218.0                                            | 186.9 | 168.3                              | 236.3 |
|               | 8 d   | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
| 3.4           | 0 min | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
|               | 2 d   | 83.2                                             | 92.5  | 111.6                              | 122.9 |
|               | 8 d   | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
| 3.5 (c)       | 0 min | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
|               | 2 d   | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
|               | 8 d   | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |
| 3.6 (3.9) (c) | 0 min | n/d                                              | n/d   | n/d                                | n/d   |

Table 3 (the end)

| 1       | 2     | 3   | 4   | 5   | 6   |
|---------|-------|-----|-----|-----|-----|
|         | 2 d   | n/d | n/d | n/d | n/d |
|         | 8 d   | n/d | n/d | n/d | n/d |
| 3.7 (c) | 0 min | n/d | n/d | n/d | n/d |
|         | 2 d   | n/d | n/d | n/d | n/d |
|         | 8 d   | n/d | n/d | n/d | n/d |

## CONCLUSION

It has been shown that, in addition to the original form of the drug SOLUMEDROL® (methylprednisolone hemisuccinate), methylprednisolone in the form of a sterol with a free hydroxyl group is also present in blood serum and plasma. The study has found that higher concentrations of methylprednisolone hemisuccinate and methylprednisolone are detected in blood plasma than in serum.

A more optimal approach for further research would be to collect only blood plasma, but in a larger volume, to allow for the possible analysis of parallel samples and improve the accuracy of quantitative analyses [13, 14].

This comparative study allowed to study the dependence of the drug release rate of SOLUMEDROL® on various routes of administration and confirmed the hypothesis that intratracheal administration of the drug using modern drug carriers installed on implantable stents is possible and equivalent [15].

## REFERENCES

1. Cullen J. M. Summary of the World Small Animal Veterinary Association Standards Committee guidelines for the classification of liver disease in dogs and cats. *Small Animal Vet Clinic*. (2009) 39:395—418. doi: 10.1016/j.cvsm.2009.02.003
2. Kushnir MM, Rockwood AL, Roberts WL, Bingfang Yue, Bergquist J, Meikle AW. Liquid chromatography tandem mass spectrometry for analysis of steroid in clinical laboratories. *Clin Biochem*. (2011) 44:77—88. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2010.07.008
3. Pitt JJ Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *Clin Biochem Rev*. (2009) 30:19—34.
4. Santa T. Derivatization reagents in liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatography*. (2011) 25:1—10. doi: 10.1002/bmc.1548
5. Santa T. Liquid chromatography derivatization for mass spectrometric detection. *Drug Discov. Ther*. (2013) 7:9—17. doi: 10.5582/ddt.2013.v7.1.9
6. Stanczyk FZ, Clark NJ. Advantages and challenges of mass spectrometry assays of steroid hormones. *J Steroid Biochem Mol Biol*. (2010) 121:491—5.
7. Behrend EN, Kooistra HS, Nelson R, Reusch CE, Scott-Moncrieff JC. Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM consensus statement (small animal). *J Vet Intern Medicine*. (2013) 27:1292—304. doi: 10.1111/jvim.12192
8. Sindeeva O. A., Gusliakova O. I., Inozemtseva O. A., et al. Effect of a controlled release of epinephrine hydrochloride from PLGA microchamber array: *in vivo* studies. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2018;10(44):37855—37864. doi:10.1021/acsami.8b15109 EDN: JXQPMW
9. Hiwatashi S, Nakayama Y, Umeda S, Takama Y, Terazawa T, Okuyama H. Tracheal replacement using an in-body tissue-engineered collagenous tube “BIOTUBE” with a biodegradable stent in a beagle model: a preliminary report on a new technique. *European Journal of Pediatric Surgery*. 2019;29(1):90—96. doi: 10.1055/s0038—1673709
10. Bannoud G., Ibragimova A. N., Mas-Coma S., Troshina N. I., Karamyan A. S. Analysis of the pharmacological efficacy of methylprednisolone in targeted delivery using biodegradable carriers in animals // *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. — 2026. — Vol. 21. — N. 1. — P. 195—202. doi: 10.22363/2312-797X-2026-21-1-195-202
11. Qin Q, Feng D, Hu C, Wang B, Chang M, Liu X, Yin P, Shi X, Xu G. Parallel derivatization strategy coupled with liquid chromatography-mass spectrometry for broad coverage of steroid hormones. *J Chromatogr A*. 2020 Mar 15;1614:460709. doi: 10.1016/j.chroma.2019.460709. Epub 2019 Nov 13. PMID: 31784081.
12. Xue B, Liang B, Yuan G, Zhu L, Wang H, Lu Z, Xu Z. A pilot study of a novel biodegradable magnesium alloy airway stent in a rabbit model. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2019 Feb;117:88—95. doi: 10.1016/j.ijporl.2018.10.047. Epub 2018 Nov 22. PMID: 30579096.
13. Gai M, Frueh J, Tao T, Petrov AV, Petrov VV, Sheshterikov EV, Tverdokhlebov SI, Sukhorukov GB. Polylactic

acid nano- and microchamber arrays for encapsulation of small hydrophilic molecules featuring drug release via high intensity focused ultrasound. *Nanoscale*. 2017 Jun 1;9(21):7063—7070. doi: 10.1039/c7nr01841j. PMID: 28513733.

14. Derendorf H, Möllmann H, Rohdewald P, Rehder J, Schmidt EW. Kinetics of methylprednisolone and its hemisuccinate ester. *Clin Pharmacol Ther*. 1985 May;37(5):502—7. doi: 10.1038/clpt.1985.79. PMID: 3886255.

15. Kozelskaya AI, Rutkowski S, Frueh J, Gogolev AS, Chistyakov SG, Gnedenkov SV, Sinebryukhov SL, Frueh A, Egorkin VS, Choyznzonov EL, Buldakov M, Kulbakin DE, Bolbasov EN, Gryaznov AP, Verzunova KN, Apostolova MD, Tverdokhlebov SI. Surface Modification of Additively Fabricated Titanium-Based Implants by Means of Bioactive Micro-Arc Oxidation Coatings for Bone Replacement. *J Funct Biomater*. 2022 Dec 8;13(4):285. doi: 10.3390/jfb13040285. PMID: 36547545; PMCID: PMC9781821.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**G. Bannoud** — Veterinarian;

**A. S. Karamyan** — Doctor of Biological Sciences, Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Veterinary Medicine;

**O. O. Novikov** — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Department of Veterinary Medicine;

**S. T. Karamyan** — Laboratory Assistant.

The article was submitted 28.07.2026.

Научная статья

УДК 619:[616—084:618.07—002]:636.4

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.11.99.004

## КОМПЛЕКСНЫЙ СПОСОБ ПРОФИЛАКТИКИ ПОСЛЕРОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА У СВИНОМАТОК

Ирина Сергеевна Перепелкина

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, Irinka-ne@yandex.ru*

**Аннотация.** В статье представлены материалы изучения эффективности комплексного способа профилактики послеродового эндометрита у свиноматок. Установлено, что введение свиноматкам иммунокорригирующего средства аминоселеферон-С за 72 и 24 часа до опороса и в первые сутки после опороса в дозе 10,0 мл/животное и пробиотического препарата триолин, содержащего микробную массу спорообразующих бактерий *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, за 10 дней до предполагаемого опороса с кормом в дозе 1,5 г на голову в течение 10 дней подряд способствует профилактике острого послеродового эндометрита у 91,7 % животных. Комплексное применение свиноматкам аминоселеферона-С и триолина обеспечивает повышение уровня общих иммуноглобулинов в крови на 18,4—22,4 % ( $P < 0,01—0,001$ ), лизоцимной активности сыворотки крови — на 26,3—31,7 % ( $P < 0,01—0,001$ ), фагоцитарной активности лейкоцитов — на 8,9—10,0 %, фагоцитарного индекса — на 33,7—37,3 % ( $P < 0,001$ ), фагоцитарного числа — на 26,0—47,2 % ( $P < 0,001$ ), при снижении содержания циркулирующих иммунных комплексов на 25,5—28,7 % ( $P < 0,001$ ). В процессе применения аминоселеферона-С и триолина происходит повышение содержания лактобацилл в 1,39—1,93 раза ( $P < 0,01—0,001$ ) бифидобактерий — в 11,9—13,8 раза ( $P < 0,001$ ), при снижении концентрации энтеробактерий — в 6,86—9,21 раза ( $P < 0,001$ ). Таким образом, выраженные изменения показателей общей неспецифической резистентности свиноматок на фоне нормализации микробиоценоза половых путей способствуют снижению заболеваемости животных после опороса острым послеродовым эндометритом.

**Ключевые слова:** свиноматки, аминоселеферон-С, триолин, послеродовый эндометрит, профилактика

Одной из актуальных проблем современных промышленных свиноводческих предприятий являются болезни органов размножения у маточно-поголовья, к которым относятся воспалительные процессы в матке и молочной железе, проявляющиеся в форме гнойно-катарального эндометрита и метрит-мастит-агалактии. Послеродовые заболевания свиноматок имеют широкое распространение, в том числе послеродовой эндометрит — у 31,9—44,4 % и метрит-мастит-агалактия — у 12,5—21,3 % животных [1—3].

В основе лечебно-профилактических мероприятий при остром послеродовом эндометрите у свиноматок является применение антимикробных средств. При этом, использование средств, содержащих антибиотики, в большинстве случаев, носит бессистемный характер, не учитывающий чувствительности микрофлоры. Всё это приводит к сниже-

нию качества получаемой продукции, росту числа антибиотикорезистентных штаммов [4, 5].

Одним из перспективных направлений по профилактике послеродовых осложнений у свиноматок, является использование иммуномодулирующих средств, направленных на оптимизацию иммунологической резистентности организма. В качестве таких средств могут выступать препараты рекомбинантных интерферонов, которые обладают разносторонним спектром действия за счёт активизации иммунной системы [6—8].

Кроме того, получение экологически чистой продукции является трудновыполнимым при массовом применении антибиотических препаратов. Как альтернативой антибиотикам можно рассматривать пробиотические препараты, которые играют важную роль в нормализации микробиоценоза желудочно-кишечного тракта свиноматок, способ-

ствуют активизации синтеза секреторного иммуноглобулина А, снижению циркуляции иммунных комплексов [9, 10]. Применение пробиотических средств также сопровождается коррекцией не только микробиоты кишечника, но и половых путей свиноматок [11, 12]. В связи с этим, разработка и изучение эффективности комплексного способа профилактики послеродового эндометрита у свиноматок, не содержащего антибиотических средств, является одной из актуальных задач ветеринарной акушерской науки.

Цель исследований — изучить эффективность комплексного способа профилактики острого послеродового эндометрита у свиноматок.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполнены на свиноматках ЗАО «Юдановские просторы» Бобровского района Воронежской области. Супоросные свиноматки за 10 дней до предполагаемого опороса по принципу аналогов были разделены на 4 группы. Свиноматки первой группы ( $n = 13$ ) служили в качестве отрицательного контроля, им препараты не назначались. Животным второй группы ( $n = 13$ ) внутримышечно вводили препарат аminosелеферон-С за 72 и 24 часа до опороса и в первые сутки после опороса в дозе 10,0 мл/животное, третьей ( $n = 11$ ) — скармливали пробиотический препарата триолин, содержащий микробную массу спорообразующих бактерий, за 10 дней до предполагаемого опороса с кормом в дозе 1,5 г на голову в течение 10 дней подряд, четвёртой группы ( $n = 12$ ) — аminosелеферон-С и триолин в тех же дозах и в те же сроки, что и свиноматкам второй и третьей групп.

От свиноматок перед введением препаратов и после опороса отобраны пробы крови и шеечно-вагинальной слизи для проведения лабораторных исследований. В крови определено содержание общих иммуноглобулинов, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК), фагоцитарная активность лейкоцитов (ФАЛ) в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных» [13]. В цервикально-маточной слизи определён качественный и количественный состав микробиоты. Видовую принадлежность бактерий устанавливали с помощью определителя Д. Берджи (1997), «определителя зоопатогенных микроорганизмов» под редакцией М. А. Сидорова (1995)

и определителя «Энтеробактерий» под редакцией В. И. Покровского (1984). Биологические свойства выделенных культур микроорганизмов определяли на лабораторных животных. Бифидо- и лактобактерии определены по их культуральным и морфологическим свойствам согласно наставлениям к соответствующим средам (среда МРС- питательная среда для выделения и культивирования *Lactobacillus* spp. и среда типа Блаурокка — для выделения и культивирования бифидобактерий).

Результаты клинико-лабораторных исследований подвергнуты математической обработке с применением программ Statistica 6.0. Различия считали статистически значимыми при  $P < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено (табл. 1), что острый послеродовой эндометрит у интактных свиноматок зарегистрирован у 38,5 % животных. Количество поросят при рождении у свиноматок из группы отрицательного контроля составило  $10,54 \pm 0,34$ , к отёму —  $8,18 \pm 0,22$ . Свиноматки из группы отрицательного контроля проявили половую цикличность 76,9 %, оплодотворилось — 70,0 %.

У животных после применения иммунокорригирующего средства аminosелеферон-С заболеваемость составила 23,1 %, что в 1,67 раза ниже по сравнению с животными из группы отрицательного контроля. После применения супоросным свиноматкам аminosелеферона-С сохранность поросят к отёму повысилась на 8,3 %. Свиноматки этой группы на 7,7 % больше проявляли половую цикличность, чем в отрицательном контроле и на 11,8 % плодотворное осеменение. Скармливание пробиотического препарата триолин свиноматкам до опороса обеспечило профилактическую эффективность на уровне 72,7 %. Сохранность поросят к отёму из группы свиноматок, которым применяли триолин, составила 80,9 %. Оставшиеся клинически здоровыми свиноматки на 4,9 % больше проявили половую цикличность и на 7,8 % — оплодотворились. Наибольшая профилактическая эффективность оказалась при совместном применении аminosелеферона-С и триолина — 91,7, что на 30,2 % больше по сравнению с животными из группы отрицательного контроля и на 14,8—19,0 % по сравнению с другими опытными группами. Комплексное применение иммунокорригирующих и пробиотических средств способствовало повышению процента свиноматок, проявивших половую цикличность на 7,1—14,8 и количества плодотворных осеменений — на 9,1—20,9 %.

Таблица 1

Эффективность комплексного способа профилактики послеродового эндометрита у свиноматок

| Показатели                                 | Отрицательный контроль | Аминоселеферон-С | Триолин      | Аминоселеферон-С + триолин |
|--------------------------------------------|------------------------|------------------|--------------|----------------------------|
| Кол-во животных, гол.                      | 13                     | 13               | 11           | 12                         |
| Заболели послеродовым эндометритом, гол./% | 5/38,5                 | 3/23,1           | 3/27,3       | 1/8,3                      |
| Профилактическая эффективность, %          | 61,5                   | 76,9             | 72,7         | 91,7                       |
| Кол-во поросят при рождении, гол.          | 10,54 ± 0,34           | 10,72 ± 0,42     | 10,64 ± 0,31 | 10,62 ± 0,34               |
| Кол-во поросят к отъёму, гол.              | 8,18 ± 0,22            | 9,21 ± 0,18**    | 8,61 ± 0,21  | 9,92 ± 0,19***             |
| Сохранность к отъёму, %                    | 77,6                   | 85,9             | 80,9         | 93,4                       |
| Проявили половую цикличность, гол./%       | 10/76,9                | 11/84,6          | 9/81,8       | 11/91,7                    |
| Из них оплодотворилось, гол./%             | 7/70,0                 | 9/81,8           | 7/77,8       | 10/90,9                    |

\*\*  $P < 0,01$ \*\*\*  $P < 0,01$  — по сравнению с животными из группы отрицательного контроля

Таким образом, наилучшие показатели клинической эффективности профилактики послеродового эндометрита у свиноматок получены при комплексном применении иммунокорригирующего (аминоселеферон-С) и пробиотического (триолин) средства. Результаты клинических исследований подтверждены данными иммунологических исследований крови свиноматок до и после применения иммунокорригирующих и пробиотических средств (табл. 2).

У свиноматок из группы отрицательного контроля после опороса установлены незначительные изменения показателей иммунологического статуса, выражающиеся в повышении уровня общих иммуноглобулинов, лизоцимной активности сыворотки крови, фагоцитарной активности лейкоцитов, носящие недостоверный характер.

Введение супоросным свиноматкам аминоселеферона-С сопровождается повышением уровня общих иммуноглобулинов на 10,1 % ( $P < 0,05$ ) по сравнению с исходными данными, лизоцимной активности сыворотки крови — на 14,0 % ( $P < 0,05$ ), фагоцитарной активности лейкоцитов — 7,8 % ( $P < 0,05$ ), фагоцитарного индекса — на 16,8 % ( $P < 0,01$ ), фагоцитарного числа — на 22,2 % ( $P < 0,01$ ), свидетельствующее о снижении показателей клеточного и гуморального звена общей неспецифической резистентности организма животных.

Скармливание супоросным свиноматкам спороносодержащего пробиотического препарата трио-

лин обеспечило повышение показателей клеточного звена общей неспецифической резистентности таких как, фагоцитарный индекс — на 15,5 % ( $P < 0,05$ ) и фагоцитарное число — на 20,1 % ( $P < 0,01$ ). Комплексное применение свиноматкам аминоселеферона-С и триолина способствовало повышению уровня общих иммуноглобулинов в крови на 22,4 % ( $P < 0,001$ ) по сравнению с исходными значениями, лизоцимной активности сыворотки крови — на 31,7 % ( $P < 0,01$ ), фагоцитарной активности лейкоцитов — на 10,0 %, фагоцитарного индекса — на 33,7 % ( $P < 0,001$ ), фагоцитарного числа — на 47,2 % ( $P < 0,001$ ), при снижении содержания циркулирующих иммунных комплексов на 28,7 % ( $P < 0,001$ ).

Изменения показателей иммунологического статуса на фоне комплексного применения иммунокорригирующих и пробиотических препаратов также имели достоверные различия по сравнению с животными из группы отрицательного контроля. Так, содержание общих иммуноглобулинов после применения аминоселеферона-С и триолина выше на 18,4 % ( $P < 0,01$ ) по сравнению с интактными свиноматками, бактерицидная активность сыворотки крови — на 7,4 %, лизоцимная активность сыворотки крови — на 26,3 % ( $P < 0,001$ ), фагоцитарная активность лейкоцитов — на 8,9 %, фагоцитарное число — на 26,0 % ( $P < 0,001$ ), фагоцитарный индекс — на 37,3 % ( $P < 0,001$ ), при снижении уровня циркулирующих иммунных комплексов на 25,5 % ( $P < 0,001$ ).

Таблица 2

Иммунологические показатели крови свиноматок при применении им иммунокорригирующих и пробиотических средств для профилактики послеродового эндометрита

| Показатели                           | До введения,<br>$n = 20$ | После опороса                      |                                |                            |                                             |
|--------------------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------------|----------------------------|---------------------------------------------|
|                                      |                          | отрицательный<br>контроль, $n = 5$ | аминоселе-<br>ферон-С, $n = 5$ | триолин, $n = 5$           | аминоселе-<br>ферон-С +<br>триолин, $n = 5$ |
| Общие иммуно-<br>глобулины,<br>мг/мл | $35,7 \pm 1,1$           | $36,9 \pm 1,5$                     | $39,3 \pm 1,3^*$               | $38,1 \pm 1,5$             | $43,7 \pm 1,6^{***\Delta\Delta}$            |
| БАСК, %                              | $80,6 \pm 2,6$           | $78,3 \pm 1,9$                     | $82,1 \pm 1,5$                 | $80,9 \pm 1,6$             | $86,6 \pm 2,1^{\Delta\Delta}$               |
| ЛАСК, мкг/мл                         | $1,64 \pm 0,09$          | $1,71 \pm 0,05$                    | $1,87 \pm 0,06^{*\Delta}$      | $1,73 \pm 0,07$            | $2,16 \pm 0,11^{**\Delta\Delta\Delta}$      |
| ЦИК, мг/мл                           | $0,719 \pm 0,04$         | $0,689 \pm 0,03$                   | $0,615 \pm 0,03^*$             | $0,634 \pm 0,04$           | $0,513 \pm 0,03^{***\Delta\Delta\Delta}$    |
| ФАЛ, %                               | $78,8 \pm 1,2$           | $79,6 \pm 0,9$                     | $82,4 \pm 1,1^{*\Delta\Delta}$ | $81,9 \pm 1,3$             | $86,7 \pm 1,4^{***\Delta\Delta\Delta}$      |
| ФИ                                   | $7,21 \pm 0,37$          | $7,65 \pm 0,29$                    | $8,42 \pm 0,31^{**}$           | $8,33 \pm 0,27^*$          | $9,64 \pm 0,38^{***\Delta\Delta\Delta}$     |
| ФЧ                                   | $5,68 \pm 0,21$          | $6,09 \pm 0,19$                    | $6,94 \pm 0,31^{**\Delta}$     | $6,82 \pm 0,22^{**\Delta}$ | $8,36 \pm 0,37^{***\Delta\Delta\Delta}$     |

\*  $P < 0,05$

\*\*  $P < 0,01$

\*\*\*  $P < 0,01$  — по сравнению с исходными данными (до введения препаратов)

$\Delta$   $P < 0,05$

$\Delta\Delta$   $P < 0,01$

$\Delta\Delta\Delta$   $P < 0,01$  — по сравнению с животными из группы отрицательного контроля

Выраженные изменения показателей общей неспецифической резистентности свиноматок способствовали снижению заболеваемости животных после опороса острым послеродовым эндометритом.

Снижение заболеваемости свиноматок острым послеродовым эндометритом на фоне применения иммунокорригирующих и пробиотических средств также подтверждено результатами бактериологических исследований шеечно-вагинального содержимого животных (табл. 3).

Установлено, что применение аminosелеферона-С и триолина сопровождается повышением содержания лактобацилл в 1,39 раза ( $P < 0,01$ ) по сравнению с исходными данными и в 1,93 раза ( $P < 0,001$ ) по сравнению с интактными свиноматками, бифидобактерий — соответственно в 11,9 раза ( $P < 0,001$ ) и 13,8 раза ( $P < 0,001$ ), при снижении концентрации энтеробактерий — в 6,86 и 9,21 раза ( $P < 0,001$ ). Совместное применение иммунокорригирующих и пробиотических средств обеспечило снижение *E. coli* d 1,76 раза ( $P < 0,01$ ), *Str. agalactiae* — в 1,35 раза ( $P < 0,01$ ), *Staph. aureus* — в 1,61 раза, являющиеся одними из доминирую-

щих микроорганизмами, участвующими в развитии острого послеродового эндометрита у свиноматок. Общая микробная обсемененность шеечно-вагинального содержимого свиноматок при комплексном применении аminosелеферона-С и триолина снизилась в 1,68 раза ( $P < 0,01$ ) по сравнению с исходными данными и в 1,65 раза ( $P < 0,01$ ) — по сравнению со свиноматками из группы отрицательного контроля.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, комплексный способ профилактики острого послеродового эндометрита у свиноматок, предусматривающий применение иммунокорригирующего (аминселеферон-С) и пробиотического (триолин) средства обеспечивает профилактический эффект в 91,7 % случаев. Совместное применение аminosелеферона-С и триолина сопровождается активизацией показателей гуморального и клеточного звена общей неспецифической резистентности на фоне нормализации микробиоценоза и снижения микробной контаминации шеечно-вагинального содержимого свиноматок.

Таблица 3

Микробный пейзаж половых путей свиноматок при применении им иммунокорректирующих и пробиотических средств для профилактики послеродового эндометрита

| Показатели                      | До введения препаратов,<br><i>n</i> = 10 | После опороса                           |                                             |
|---------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------|
|                                 |                                          | отрицательный контроль,<br><i>n</i> = 5 | аминоселеферон-С +<br>триолин, <i>n</i> = 5 |
| Лактобациллы                    | $5,42 \pm 0,41 \cdot 10^3$               | $3,92 \pm 0,11 \cdot 10^{3***}$         | $7,54 \pm 0,45 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |
| Бифидобактерии                  | $3,11 \pm 0,13 \cdot 10^4$               | $2,71 \pm 0,11 \cdot 10^{4*}$           | $3,73 \pm 0,16 \cdot 10^{5***\Delta\Delta}$ |
| Энтеробактерии                  | $2,19 \pm 0,08 \cdot 10^3$               | $2,94 \pm 0,13 \cdot 10^{3***}$         | $3,19 \pm 0,15 \cdot 10^{2***\Delta\Delta}$ |
| <i>E. coli</i>                  | $4,42 \pm 0,57 \cdot 10^3$               | $3,73 \pm 0,26 \cdot 10^3$              | $2,51 \pm 0,27 \cdot 10^{3***\Delta}$       |
| <i>Cit. diversus</i>            | $2,37 \pm 0,19 \cdot 10^3$               | $2,25 \pm 0,21 \cdot 10^3$              | $1,72 \pm 0,11 \cdot 10^{3*}$               |
| <i>Str. agalactiae</i>          | $3,89 \pm 0,21 \cdot 10^3$               | $4,17 \pm 0,39 \cdot 10^3$              | $2,88 \pm 0,22 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |
| <i>Bacillus spp.</i>            | $1,12 \pm 0,05 \cdot 10^2$               | $2,63 \pm 0,18 \cdot 10^{3***}$         | $3,19 \pm 0,27 \cdot 10^{3***}$             |
| <i>Ent. faecalis</i>            | $4,54 \pm 0,26 \cdot 10^3$               | $4,73 \pm 0,19 \cdot 10^3$              | $2,19 \pm 0,17 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |
| <i>Ent. faecium</i>             | $2,94 \pm 0,21 \cdot 10^3$               | $2,81 \pm 0,14 \cdot 10^3$              | $1,59 \pm 0,13 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |
| <i>Staph. aureus</i>            | $1,61 \pm 0,11 \cdot 10^2$               | $1,45 \pm 0,09 \cdot 10^2$              | 0                                           |
| <i>Staph. epidermidis</i>       | $5,02 \pm 0,31 \cdot 10^2$               | $5,66 \pm 0,21 \cdot 10^2$              | $3,89 \pm 0,52 \cdot 10^{2\Delta}$          |
| Общая бакобсемененность, КОЕ/мл | $3,80 \pm 0,44 \cdot 10^3$               | $3,73 \pm 0,29 \cdot 10^3$              | $2,26 \pm 0,18 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |

\*  $P < 0,05$ \*\*  $P < 0,01$ \*\*\*  $P < 0,01$  — по сравнению с исходными данными (до введения препаратов) $\Delta$   $P < 0,05$  $\Delta\Delta$   $P < 0,01$  $\Delta\Delta\Delta$   $P < 0,01$  — по сравнению с животными из группы отрицательного контроля

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Мисайлов В. Д. Половые стероиды, первичная слабость родов и послеродовые болезни у свиноматок / В. Д. Мисайлов, А. Г. Нежданов, Н. И. Шумский, В. Н. Коцарев // Возможности и перспективы радиоиммунологического анализа в животноводстве и ветеринарии: Тезисы докл. научно-координ. совещания 25—28 июня 1985 года. — Иваново, 1985. — С. 77—79.
2. Хлопицкий В. П. Актуальность применения внутриматочных средств для профилактики и лечения свиноматок с послеродовыми заболеваниями / В. П. Хлопицкий, А. В. Филатов, А. В. Минин // Ветеринария. — 2019. — № 8. — С. 12—17.
3. Боев В. Ю. Распространение болезней репродуктивной системы воспалительного характера у свиноматок с различной системой ведения производства /

В. Ю. Боев, В. Н. Коцарев // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2020. — № 3. — С. 68—71.

4. Забровская А. В. Чувствительность к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства / А. В. Забровская // Farm Animals. — 2013. — № 1. — С. 78—83.

5. Ефимочкина Н. Р. Антибиотикорезистентность штаммов *Campylobacter jejuni*, выделенных из пищевых продуктов / Н. Р. Ефимочкина, Ю. В. Короткевич, В. В. Стеценко и др. // Вопросы питания. — 2017. — Т. 86. — № 1. — С. 17—27.

6. Прокулевич В. А. Ветеринарные препараты на основе интерферона / В. А. Прокулевич, М. И. Потапович // Вестник БГУ. — Серия 2. — 2011. — № 3. — С. 51—54.

7. *Vilcek J.* Fifty years of interferon research: aiming at a moving target / J. Vilcek // *Immunity*. — 2006. — V. 25(3). — P. 664.

8. *Шахов А. Г.* Влияние комплексного препарата на основе интерферонов на иммунный статус свиноматок и его эффективность при профилактике послеродовых болезней / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, М. Ю. Жейнес и др. // *Ветеринарный фармакологический вестник*. — 2020. — № 2 (11). — С. 49—60. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2020.2.49.

9. *Бирюков М. В.* Микробиоценоз полового тракта свиноматок до опороса / М. В. Бирюков // *Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях. Материалы международной конференции*. — Воронеж, 2002. — С. 137—139.

10. *Востроилова Г. А.* Гисто-морфометрические показатели слизистой оболочки тонкого кишечника у по-

росят-гипотрофиков при применении Биферона-С и аминокселеферона / Г. А. Востроилова, П. А. Паршин, Е. В. Михайлов и др. // *Ветеринарный фармакологический вестник*. — 2019. — № 2 (7). — С. 21—28.

11. *Николаев С. В.* Характеристика влагалищного микробиома у коров при нормальном и патологическом течении послеродового периода / С. В. Николаев, Е. А. Бессолицына // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. — 2024. — № 12. — С. 77—87.

12. *Филатов А. В.* Микробиота течковой слизи свиноматок после применения пробиотического препарата / А. В. Филатов, Д. Н. Иванов // *Ветеринарный фармакологический вестник*. — 2025. — № 1 (30). — С. 73—83.

13. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, М. И. Рецкий и др. — Методические рекомендации. — Воронеж, 2005. — 116 с.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

**И. С. Перепелкина** — младший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 08.07.2026.

## A COMBINED METHOD FOR THE PREVENTION OF POSTPARTUM ENDOMETRITIS IN SOWS

Irina Sergeevna Perepelkina

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,  
Voronezh, Russia, Irinka-ne@yandex.ru*

**Abstract.** The article presents the data from a study of the efficacy of a combined method for the prevention of postpartum endometritis in sows. It has been found that administration of the immunocorrective agent aminoseleferon-C to sows 72 and 24 hours before farrowing and on the first day after farrowing at a dose of 10.0 ml/animal and the probiotic drug triolin, containing a microbial mass of spore-forming bacteria *Bacillus amyloquelquesiens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, 10 days before the expected farrowing with feed at a dose of 1.5 g per animal for 10 consecutive days contributes to the prevention of acute postpartum endometritis in 91.7 % of animals. The combined use of aminoseleferon-C and triolin in sows provides an increase in the level of total immunoglobulins in the blood by 18.4—22.4 % ( $P < 0.01$ —0.001), serum lysozyme activity — by 26.3—31.7 % ( $P < 0.01$ —0.001), leukocyte phagocytic activity — by 8.9—10.0 %, phagocytic index — by 33.7—37.3 % ( $P < 0.001$ ), phagocytic number — by 26.0—47.2 % ( $P < 0.001$ ), with a decrease in the level of circulating immune complexes by 25.5—28.7 % ( $P < 0.001$ ). During the use of aminoseleferon-C and triolin, the content of lactobacilli increases by 1.39—1.93 times ( $P < 0.01$ —0.001), bifidobacteria — by 11.9—13.8 times ( $P < 0.001$ ), with a decrease in the concentration of enterobacteria by 6.86—9.21 times ( $P < 0.001$ ). Thus, significant changes in the indicators of general nonspecific resistance of sows against the background of normalization of the microbiocenosis of the genital tract contribute to the reduction in the incidence of acute postpartum endometritis in animals after farrowing.

**Keywords:** sows, aminoseleferon-C, triolin, postpartum endometritis, prevention

One of the pressing problems facing modern industrial pig breeding farms is reproductive system diseases in sows, including inflammatory processes in the uterus and mammary gland, manifesting as purulent-catarrhal endometritis and mastitis-metritis-agalactia. Postpartum diseases in sows are widespread, including postpartum endometritis (31.9—44.4 %) and mastitis-metritis-agalactia (12.5—21.3 %) [1—3].

The use of antimicrobial agents is the basis for treatment and prevention of acute postpartum endometritis in sows. However, the use of antibiotic-containing agents is, in most cases, unsystematic, without regard for the microflora sensitivity. All this leads to a decrease in the quality of the resulting products and an increase in the number of antibiotic-resistant strains [4, 5].

One promising approach to preventing postpartum complications in sows is the use of immunomodulatory agents aimed at optimizing the body's immunological resistance. These agents include recombinant

interferons, which have a diverse spectrum of action due to the activation of the immune system [6—8].

Furthermore, producing environmentally friendly products is difficult with the widespread use of antibiotics. Probiotics, which play an important role in normalizing the microbiome of the gastrointestinal tract of sows, can be considered as an alternative to antibiotics, promoting the synthesis of secretory immunoglobulin A and reducing the circulation of immune complexes [9, 10].

The use of probiotics also corrects not only the intestinal microbiota but also the reproductive tract of sows [11, 12]. In this regard, the development and study of the efficacy of a combined method for the prevention of postpartum endometritis in sows that does not contain antibiotics is one of the pressing tasks of veterinary obstetric science.

The research objective was to assess the efficacy of a combined method for preventing acute postpartum endometritis in sows.

## MATERIAL AND METHODS

The study was conducted on sows of Yudanovskie Prostory CJSC in Bobrovskiy district of Voronezh region. Pregnant sows were divided into four groups based on the analog principle 10 days before the expected farrowing. The sows in the first group ( $n = 13$ ) served as the negative controls and were not given any medication. The animals of the second group ( $n = 13$ ) were administered the drug aminoseleferon-C intramuscularly 72 and 24 hours before farrowing, and on the first day after farrowing, at a dose of 10.0 ml/animal, the animals of the third one ( $n = 11$ ) were fed the probiotic drug triolin, containing the microbial mass of spore-forming bacteria, 10 days before the expected farrowing with feed at a dose of 1.5 g per animal for 10 days in a row, the animals of the fourth group ( $n = 12$ ) — aminoseleferon-C and triolin at the same doses and at the same time as the sows of the second and third groups.

Blood and cervical-vaginal mucus samples were collected from sows before administration of the drugs and after farrowing for laboratory testing. The blood was analyzed for total immunoglobulins, circulating immune complexes (CIC), serum bactericidal activity (SBA), serum lysozyme activity (SLA) and leukocyte phagocytic activity (LPA) in accordance with the Methodological Recommendations for Assessing and Correcting the Immune Status of Animals [13].

The qualitative and quantitative composition of the microbiota in the cervical-uterine mucus was determined. The species affiliation of bacteria was established using D. Bergey's guide (1997), the Guide for the Detection of Zoopathogenic Microorganisms edited by M. A. Sidorov (1995), and the Guide for the Detection of Enterobacteria edited by V. I. Pokrovskiy (1984). The biological properties of the isolated microbial cultures were detected on laboratory animals. Bifido- and lactobacilli were identified by their cultural and morphological properties according to the instructions for the corresponding media (MPC medium — a nutrient medium for the isolation and cultivation of *Lactobacillus spp.* and Blaurock medium — for the isolation and cultivation of bifidobacteria).

The results of the clinical and laboratory studies were mathematically processed using Statistica 6.0 software. The differences were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .

## STUDY RESULTS

Acute postpartum endometritis was detected in 38.5 % of intact sows (Table 1). The number of piglets born from the sows from the negative control group was  $10.54 \pm 0.34$ , and at weaning —  $8.18 \pm 0.22$ .

The sows from the negative control group demonstrated 76.9 % of estrous cycle, with a 70.0 % conception rate.

**Table 1**

*Efficacy of a combined method for the prevention of postpartum endometritis in sows*

| Indicators                                      | Negative control | Aminoseleferon-C     | Triolin          | Aminoseleferon-C + triolin |
|-------------------------------------------------|------------------|----------------------|------------------|----------------------------|
| Number of animals                               | 13               | 13                   | 11               | 12                         |
| Incidence of postpartum endometritis, animals/% | 5/38.5           | 3/23.1               | 3/27.3           | 1/8.3                      |
| Preventive efficacy, %                          | 61.5             | 76.9                 | 72.7             | 91.7                       |
| Number of piglets at birth, animals             | $10.54 \pm 0.34$ | $10.72 \pm 0.42$     | $10.64 \pm 0.31$ | $10.62 \pm 0.34$           |
| Number of piglets at weaning, animals           | $8.18 \pm 0.22$  | $9.21 \pm 0.18^{**}$ | $8.61 \pm 0.21$  | $9.92 \pm 0.19^{***}$      |
| Livability at weaning, %                        | 77.6             | 85.9                 | 80.9             | 93.4                       |
| Exhibited estrous cycle, animals/%              | 10/76.9          | 11/84.6              | 9/81.8           | 11/91.7                    |
| Out of which, fertilized, animals/%             | 7/70.0           | 9/81.8               | 7/77.8           | 10/90.9                    |

$^{**} P < 0.01$

$^{***} P < 0.01$  — compared to the animals from the negative control group

In the animals treated with the immunomodulatory agent aminoseleferon-C, the incidence rate has been 23.1 %, which is by 1.67 times lower than in the animals from the negative control group. After administration of aminoseleferon-C to pregnant sows, the survival rate of piglets at weaning increased by 8.3 %. The sows in this group exhibited by 7.7 % more estrous cycles than those in the negative control and by 11.8 % more successful insemination.

Feeding sows with the probiotic drug triolin prior to farrowing resulted in a 72.7 % preventative efficacy. The survival rate of piglets at weaning in the group of the sows treated with triolin was 80.9 %. The sows that remained clinically healthy were by 4.9 % more likely to exhibit estrous cycles and by 7.8 % more likely to become pregnant.

The highest prophylactic efficacy has been demonstrated with the combined use of aminoseleferon-C and triolin — 91.7, which is by 30.2 % higher than in the animals from the negative control group and by 14.8—19.0 % higher than in other experimental groups. The combined use of immunomodulatory and probiotic agents contributed to an increase in the percentage of sows exhibiting estrous cycles by 7.1—14.8 %

and the number of fertile inseminations — by 9.1—20.9 %. Thus, the best clinical efficacy indicators for the prevention of postpartum endometritis in sows were achieved with the combined use of immunomodulatory (aminoseleferon-C) and probiotic (triolin) drugs.

The clinical trial results were confirmed by immunological studies of sow blood before and after administration of immunomodulatory and probiotic agents (Table 2).

In the negative control group, post-farrowing sows showed minor changes in immunological status indicators, including increased levels of total immunoglobulins, serum lysozyme activity and leukocyte phagocytic activity. These changes were inconclusive.

The administration of aminoseleferon-C to pregnant sows is accompanied by an increase in the level of total immunoglobulins by 10.1 % ( $P < 0.05$ ), compared to the initial data, serum lysozyme activity — by 14.0 % ( $P < 0.05$ ), leukocyte phagocytic activity — by 7.8 % ( $P < 0.05$ ), phagocytic index — by 16.8 % ( $P < 0.01$ ), phagocytic number — by 22.2 % ( $P < 0.01$ ), indicating a decrease in the indicators of the cellular and humoral link of the general non-specific resistance of the animal body.

Table 2

Blood immunological indicators of sows after administration of immunomodulatory and probiotic agents for the prevention of postpartum endometritis

| Indicators                   | Before administration, $n = 20$ | After farrowing           |                                |                            |                                          |
|------------------------------|---------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------|------------------------------------------|
|                              |                                 | negative control, $n = 5$ | aminoseleferon-C, $n = 5$      | triolin, $n = 5$           | aminoseleferon-C + triolin, $n = 5$      |
| Total immunoglobulins, mg/ml | $35.7 \pm 1.1$                  | $36.9 \pm 1.5$            | $39.3 \pm 1.3^*$               | $38.1 \pm 1.5$             | $43.7 \pm 1.6^{***\Delta\Delta}$         |
| SBA, %                       | $80.6 \pm 2.6$                  | $78.3 \pm 1.9$            | $82.1 \pm 1.5$                 | $80.9 \pm 1.6$             | $86.6 \pm 2.1^{\Delta\Delta}$            |
| SLA, $\mu\text{g/ml}$        | $1.64 \pm 0.09$                 | $1.71 \pm 0.05$           | $1.87 \pm 0.06^{*\Delta}$      | $1.73 \pm 0.07$            | $2.16 \pm 0.11^{**\Delta\Delta\Delta}$   |
| CIC, mg/ml                   | $0.719 \pm 0.04$                | $0.689 \pm 0.03$          | $0.615 \pm 0.03^*$             | $0.634 \pm 0.04$           | $0.513 \pm 0.03^{***\Delta\Delta\Delta}$ |
| LPA, %                       | $78.8 \pm 1.2$                  | $79.6 \pm 0.9$            | $82.4 \pm 1.1^{*\Delta\Delta}$ | $81.9 \pm 1.3$             | $86.7 \pm 1.4^{***\Delta\Delta\Delta}$   |
| PhI                          | $7.21 \pm 0.37$                 | $7.65 \pm 0.29$           | $8.42 \pm 0.31^{**}$           | $8.33 \pm 0.27^*$          | $9.64 \pm 0.38^{***\Delta\Delta\Delta}$  |
| PhN                          | $5.68 \pm 0.21$                 | $6.09 \pm 0.19$           | $6.94 \pm 0.31^{**\Delta}$     | $6.82 \pm 0.22^{**\Delta}$ | $8.36 \pm 0.37^{***\Delta\Delta\Delta}$  |

\*  $P < 0.05$

\*\*  $P < 0.01$

\*\*\*  $P < 0.01$  — compared to the baseline data (before drug administration)

$\Delta$   $P < 0.05$

$\Delta\Delta$   $P < 0.01$

$\Delta\Delta\Delta$   $P < 0.01$  — compared to the animals from the negative control group

Feeding pregnant sows with the spore-containing probiotic drug triolin ensured an increase in the indicators of the cellular link of general non-specific resistance such as the phagocytic index — by 15.5 % ( $P < 0.05$ ) and the phagocytic number — by 20.1 % ( $P < 0.01$ ). The combined use of aminoseleferon-C and triolin in sows increased the total immunoglobulin level in the blood by 22.4 % ( $P < 0.001$ ), compared to the baseline values, serum lysozyme activity — by 31.7 % ( $P < 0.01$ ), leukocyte phagocytic activity — by 10.0 %, phagocytic index — by 33.7 % ( $P < 0.001$ ), phagocytic number — by 47.2 % ( $P < 0.001$ ), while decreasing the level of circulating immune complexes by 28.7 % ( $P < 0.001$ ).

Changes in immunological status indicators against the background of the combined use of immunocorrective and probiotic drugs also showed reliable differences, compared to the animals from the negative con-

trol group. Thus, the content of total immunoglobulins after the use of aminoseleferon-C and triolin is higher by 18.4 % ( $P < 0.01$ ), compared to the intact sows, serum bactericidal activity is higher by 7.4 %, serum lysozyme activity — by 26.3 % ( $P < 0.001$ ), leukocyte phagocytic activity — by 8.9 %, phagocytic number — by 26.0 % ( $P < 0.001$ ), phagocytic index — by 37.3 % ( $P < 0.001$ ), with a decrease in the level of circulating immune complexes by 25.5 % ( $P < 0.001$ ).

Significant changes in the general nonspecific resistance of sows contributed to a decrease in the incidence of acute postpartum endometritis in animals after farrowing.

The reduction in the incidence of acute postpartum endometritis in sows following the use of immunomodulatory and probiotic agents was also confirmed by the results of bacteriological studies of the animals' cervical-vaginal contents (Table 3).

Table 3

*Microbial landscape of the genital tract of sows treated with immunomodulatory and probiotic agents for the prevention of postpartum endometritis*

| Indicators                       | Before drug administration,<br>$n = 10$ | After farrowing                 |                                             |
|----------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------|
|                                  |                                         | negative control, $n = 5$       | aminoseleferon-C + triolin,<br>$n = 5$      |
| Lactobacilli                     | $5.42 \pm 0.41 \cdot 10^3$              | $3.92 \pm 0.11 \cdot 10^{3***}$ | $7.54 \pm 0.45 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |
| Bifidobacteria                   | $3.11 \pm 0.13 \cdot 10^4$              | $2.71 \pm 0.11 \cdot 10^{4*}$   | $3.73 \pm 0.16 \cdot 10^{5***\Delta\Delta}$ |
| Enterobacteria                   | $2.19 \pm 0.08 \cdot 10^3$              | $2.94 \pm 0.13 \cdot 10^{3***}$ | $3.19 \pm 0.15 \cdot 10^{2***\Delta\Delta}$ |
| E. coli                          | $4.42 \pm 0.57 \cdot 10^3$              | $3.73 \pm 0.26 \cdot 10^3$      | $2.51 \pm 0.27 \cdot 10^{3***\Delta}$       |
| Cit. diversus                    | $2.37 \pm 0.19 \cdot 10^3$              | $2.25 \pm 0.21 \cdot 10^3$      | $1.72 \pm 0.11 \cdot 10^{3*}$               |
| Str. agalactiae                  | $3.89 \pm 0.21 \cdot 10^3$              | $4.17 \pm 0.39 \cdot 10^3$      | $2.88 \pm 0.22 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |
| Bacillus spp.                    | $1.12 \pm 0.05 \cdot 10^2$              | $2.63 \pm 0.18 \cdot 10^{3***}$ | $3.19 \pm 0.27 \cdot 10^{3***}$             |
| Ent. faecalis                    | $4.54 \pm 0.26 \cdot 10^3$              | $4.73 \pm 0.19 \cdot 10^3$      | $2.19 \pm 0.17 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |
| Ent. faecium                     | $2.94 \pm 0.21 \cdot 10^3$              | $2.81 \pm 0.14 \cdot 10^3$      | $1.59 \pm 0.13 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |
| Staph.aureus                     | $1.61 \pm 0.11 \cdot 10^2$              | $1.45 \pm 0.09 \cdot 10^2$      | 0                                           |
| Staph.epidermidis                | $5.02 \pm 0.31 \cdot 10^2$              | $5.66 \pm 0.21 \cdot 10^2$      | $3.89 \pm 0.52 \cdot 10^{2\Delta}$          |
| Total bacterial count,<br>CFU/ml | $3.80 \pm 0.44 \cdot 10^3$              | $3.73 \pm 0.29 \cdot 10^3$      | $2.26 \pm 0.18 \cdot 10^{3***\Delta\Delta}$ |

\*  $P < 0.05$

\*\*  $P < 0.01$

\*\*\*  $P < 0.01$  — compared to the baseline data (before drug administration)

$\Delta$   $P < 0.05$

$\Delta\Delta$   $P < 0.01$

$\Delta\Delta\Delta P < 0.01$  — compared to the animals from the negative control group

It has been established that the use of aminoseleferon-C and triolin is accompanied by an increase in the content of lactobacilli by 1.39 times ( $P < 0.01$ ), compared to the initial data, and by 1.93 times ( $P < 0.001$ ), compared to the intact sows, bifidobacteria — by 11.9 times ( $P < 0.001$ ) and 13.8 times ( $P < 0.001$ ), respectively, with a decrease in the concentration of enterobacteria by 6.86 and 9.21 times ( $P < 0.001$ ). The combined use of immunocorrective and probiotic agents ensured a decrease in *E. coli* by 1.76 times ( $P < 0.01$ ), *Str. agalactiae* decreased by 1.35 times ( $P < 0.01$ ), and *Staph. aureus* decreased by 1.61 times, which are among the dominant microorganisms involved in the development of acute postpartum endometritis in sows. The total microbial contamination of the cervical-vaginal contents of sows treated with the combined use of aminoseleferon-C and triolin decreased by 1.68 times ( $P < 0.01$ ), compared to the baseline data, and by 1.65 times ( $P < 0.01$ ), compared to the sows from the negative control group.

## CONCLUSION

Thus, a combined method for preventing acute postpartum endometritis in sows, involving the use of immunomodulatory (aminoseleferon-C) and probiotic (triolin) drugs, provides a preventive effect in 91.7 % of cases. Combined use of aminoseleferon-C and triolin is accompanied by increased humoral and cellular resistance, along with normalization of the microbiocenosis and a reduction in microbial contamination of the cervical-vaginal contents of sows.

## REFERENCES

1. Misaylov V. D. Sex steroids, primary weakness of farrowing and postpartum diseases in sows / V. D. Misaylov, A. G. Nezhdanov, N. I. Shumskiy, V. N. Kotsarev // Possibilities and prospects of radioimmunoassay in animal husbandry and veterinary medicine: Abstracts of the reports of scientific coordination meeting, June 25—28, 1985. — Ivanovo, 1985. — P. 77—79.
2. Khlopitskiy V. P. Relevance of the use of intrauterine devices for the prevention and treatment of sows with postpartum diseases / V. P. Khlopitskiy, A. V. Filatov, A. V. Minin // Veterinariya (Veterinary science). — 2019. — No. 8. — P. 12—17.
3. Boev V. Yu. Spread of inflammatory reproductive system diseases in sows with different production systems / V. Yu. Boev, V. N. Kotsarev // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medicine). — 2020. — No. 3. — P. 68—71.
4. Zabrovskaya A. V. Sensitivity to antimicrobials of microorganisms isolated from farm animals and livestock products / A. V. Zabrovskaya // Farm Animals. — 2013. — No. 1. — P. 78—83.
5. Efimochkina N. R. Antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* strains isolated from food products / N. R. Efimochkina, Yu. V. Korotkevich, V. V. Stetsenko et al. // Voprosy pitaniya (Nutrition Issues). — 2017. — Vol. 86. — No. 1. — P. 17—27.
6. Prokulevich V. A. Veterinary drugs based on interferon / V. A. Prokulevich, M. I. Potapovich // Vestnik BGU (Bulletin of BSU). — Series 2. — 2011. — No. 3. — P. 51—54.
7. Vilcek J. Fifty years of interferon research: aiming at a moving target / J. Vilcek // Immunity. — 2006. — V. 25(3). — P. 664.
8. Shakhov A. G. The effect of the complex drug based on interferons on the immune status of sows and its efficacy in the prevention of postpartum diseases / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, M. Yu. Zheyne et al. // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 2 (11). — P. 49—60. DOI: 10.17238/issn2541—8203.2020.2.49.
9. Biryukov M. V. Microbiocenosis of the genital tract of sows before farrowing / M. V. Biryukov // Actual problems of diseases of young animals in modern conditions. Proceedings of the international conference. — Voronezh, 2002. — P. 137—139.
10. Vostroilova G. A. Histomorphometric indices of the mucous membrane of the small intestine in hypotrophic piglets in applying biferon-S and aminoseleferon / G. A. Vostroilova, P. A. Parshin, E. V. Mikhaylov et al. // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2019. — No. 2 (7). — P. 21—28.
11. Nikolaev S. V. Characteristics of the vaginal microbiome in cows during the normal and pathological course of the postpartum period / S. V. Nikolaev, E. A. Bessolitsyna // Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya (Veterinary science, zootechnics and biotechnology). — 2024. — No. 12. — P. 77—87.
12. Filatov A. V. Microbiota of sows' estrus mucus after the use of a probiotic preparation / A. V. Filatov, D. N. Ivanov // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2025. — No. 1 (30). — P. 73—83.
13. Methodological recommendations for assessing and correcting the immune status of animals / A. G. Shakhov, Yu. N. Masyanov, M. I. Retskiy et al. — Methodological recommendations. — Voronezh, 2005. — 116 p.

## INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

**I. S. Perepelkina** — Junior Scientific Associate.

The article was submitted 08.07.2026.

Научная статья

УДК 619:618.19—002:636.2:612.664:591.366

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.99.46.005

## МОРФО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ СУБКЛИНИЧЕСКИМ МАСТИТОМ КОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПЕРИОДА ЛАКТАЦИИ

Оксана Владимировна Фенич\*, Ольга Борисовна Павленко\*\*✉,  
Виталий Иванович Зимников\*, Евгений Владимирович Михайлов\*,  
Лариса Юрьевна Сашнина\*, Галина Николаевна Близнецова\*

\*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия

\*\*Воронежский государственный аграрный университет имени императора  
Петра I, Воронеж, Россия, kobra\_64.64@mail.ru✉

**Аннотация.** В статье приведены данные исследования морфо-иммунологического статуса коров и экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов, больных субклиническим маститом в разные периоды лактации. Установлено, что заболевание коров субклиническим маститом в исследуемые периоды лактации сопровождалось повышенной экспрессией генов интерферона- $\lambda$ . При изучении экспрессии генов противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 установлено, что экспрессия в ранний послеродовой период и периоде запуска была ниже в сравнении с уровнем экспрессии коров середины лактации. При изучении иммунного гомеостаза установлено, что у коров находящихся в послеродовом периоде и запуске — более высокий уровень моноцитов — на 30,7 % ( $P < 0,01$ ), циркулирующих иммунных комплексов — на 34,4 % ( $P < 0,01$ ), при снижении активности клеточного звена иммунной системы, фагоцитарной активности лейкоцитов — на 9,9 %, фагоцитарного индекса — на 12,5 % ( $P < 0,05$ ).

**Ключевые слова:** коровы, субклинический мастит, периоды лактации, морфо-иммунологический статус, про- и противовоспалительные цитокины

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы ученые, занимающиеся проблемой мастита, важное значение придают изучению динамики иммунологических показателей организма коров в ответ на возникновение воспаления в молочной железе. Клинико-экспериментальными исследованиями, проведенными Желавским Н. Н. установлено, что «при субклиническом и гнойно-катаральном мастите коров происходят существенные изменения в системном иммунитете. В патофизиологической модели субклинического и гнойно-катарального мастита отмечены нарушения функционального состояния Т-звена специфического иммунитета, угнетение бактерицидной активности сыворотки крови и фагоцитоза, что происходило на фоне изменения цитохимической реактивности фагоцитарных клеток, увеличения уровня циркулирующих иммунных комплексов и молекул средней молекулярной массой» [2, с. 25]. По данным Кочаряна В. Д. и др., «у высокомолочных ко-

ров регистрируется повышенный уровень обмена азотистых соединений. Подобные изменения сказываются на способности организма к сопротивлению внешним и внутренним негативным факторам. Понижается уровень иммуноглобулинов крови, их концентрация была на 10,0—14,9 % меньше, чем у клинически здоровых животных» [1, с. 260].

Изучение уровня иммуноглобулинов у лактирующих коров в норме и при мастите провели Ю. Н. Фёдоров с соавторами, согласно результатам их исследований, «в первые сутки после отёла в секрете молочной железы отмечен самый высокий уровень иммуноглобулинов G, M и A (в среднем 33,7; 27,2 и 16,5 мг/мл) и различие между здоровыми и больными маститом животными незначительно. Развитие воспалительного процесса сопровождается увеличением содержания в секрете молочных желёз иммуноглобулинов G на 3,0...3,5 мг/мл, IgA -на 1,0—1,5 и IgM -на 2...3 мг/мл относительно здоровых животных. Общее количество иммуно-

глобулинов находится в пределах 15,0...32,0 мг/мл. О здоровом состоянии вымени лактирующих коров и отсутствии субклинического и клинического мастита на 7...10-й дни после отёла и до момента запуска свидетельствует содержание иммуноглобулинов в молоке не более: IgG – 3,5...5,0 мг/мл, IgM и IgA – 1,0 мг/мл. Динамика показателей естественной резистентности и иммунологической активности в крови лактирующих коров, больных маститом, коррелирует с таковыми в молоке, однако они менее наглядны и объективны» [8, с. 123—124].

Изучением роли неспецифической иммунобиологической реактивности организма в этиопатогенезе мастита у коров занимался И. А. Родин [6]. По его данным у больных животных в крови наблюдается лейкоцитоз, снижается уровень фагоцитарной активности лейкоцитов, фагоцитарного индекса, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, Т- и В-лимфоцитов. Лизоцимная активность секрета при воспалении вымени не проявлялась или обнаруживалась в виде зоны угнетения роста.

Развитию воспалительного процесса в молочной железе способствуют высокая функциональная активность молочной железы в период лактации, предрасполагающие факторы, тесная взаимосвязь с репродуктивными органами и нейрогуморальной системой [5, с. 134]. В связи с этим целью наших исследований явилось изучение морфо-иммунологического статуса больных субклиническим маститом коров в зависимости от периода лактации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

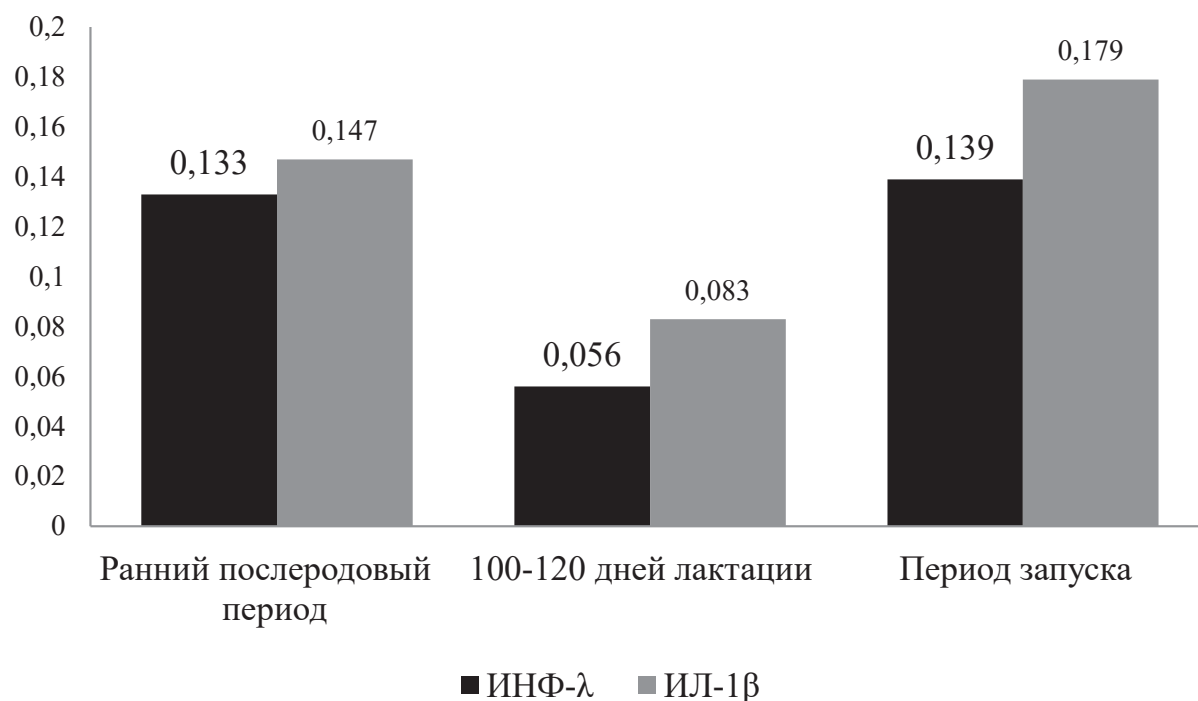
В опыт по изучению морфо-иммунологического статуса больных субклиническим маститом коров в различные физиологические периоды их эксплуатации было подобрано 36 животных. Первая группа ( $n = 12$ ) — коровы находящиеся в послеродовом периоде лактации, вторая группа ( $n = 12$ ) — коровы середины лактации (100—120 дней), третья группа ( $n = 12$ ) — коровы периода запуска. Диагноз на субклинический мастит ставился с помощью молочно-контрольной пластинки (ПМК-2) и экспресс-теста на мастит Dairy Chek производства ООО «НЕРОХИМ». От всех входящих в опыт коров были отобраны пробы крови для проведения морфо-иммунологических и молекулярно-генетических исследований. Изучение относительной экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов проводили по следующей методике: суммарную РНК из крови выделяли

набором РНК-Экстран (Синтол, Россия) согласно протоколу выделения. Выделенная из крови РНК подвергалась обратной транскрипции для получения первой цепи ДНК. Данный этап проводился на приборе «Терцик» (ДНК-Технология, Россия) с использованием набора реактивов MMLV RT Kit (Евроген, Россия), затем с использованием специфичных праймеров для исследуемых генов готовилась ПЦР-смесь. Их подбор производился с помощью программы Primer-Blast на базе нуклеотидных последовательностей Genbank.

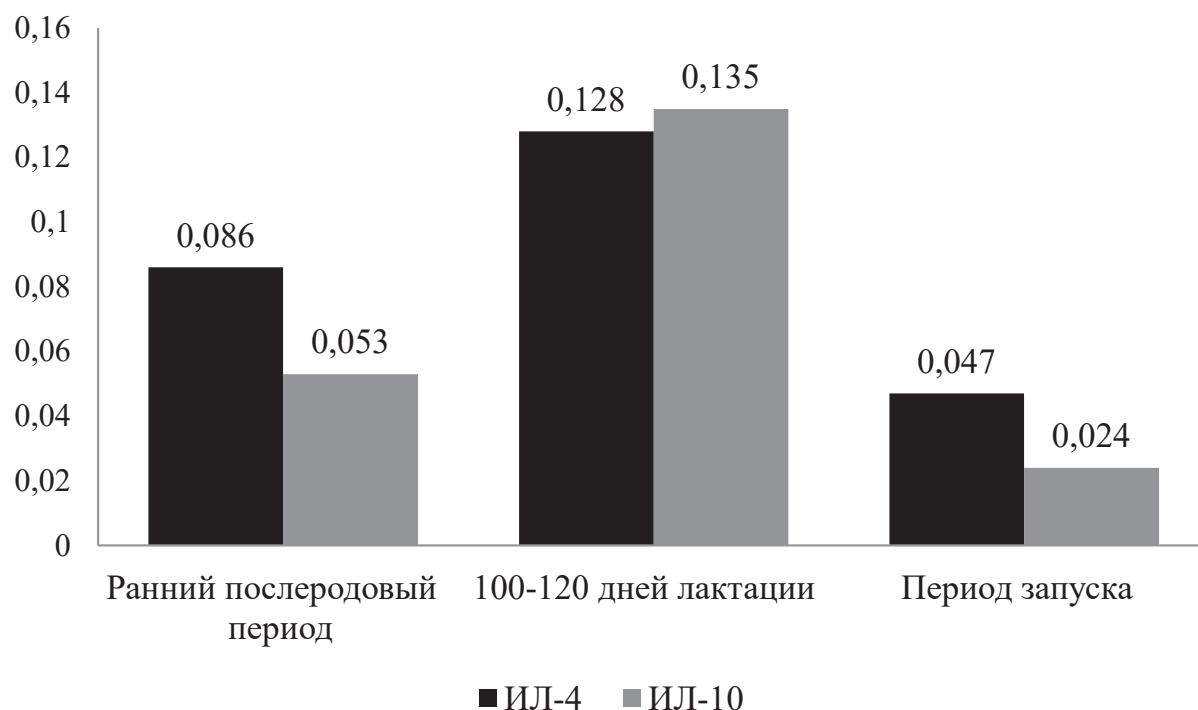
Лабораторные исследования по определению показателей неспецифического иммунитета в крови, отобранной от испытуемых животных, проводили по стандартизированным методикам, в соответствии с утвержденными «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных» [4].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Заболевание коров субклиническим маститом в ранний послеродовый период сопровождалось повышенной экспрессией генов интерферона- $\lambda$  (рис. 1) в 2,4 раза ( $P < 0,001$ ) и ИЛ-1 $\beta$  — в 1,8 раза ( $P < 0,001$ ) в сравнении с коровами середины лактации. В период запуска у больных субклиническим маститом коров установлена аналогичная картина, так экспрессия генов интерферона- $\lambda$  была выше в 2,5 раза ( $P < 0,001$ ), а ИЛ-1 $\beta$  — в 2,2 раза ( $P < 0,001$ ) в сравнении с больными коровами середины лактации. При изучении экспрессии генов противовоспалительных цитокинов у больных субклиническим маститом коров в разные физиологические периоды лактации установлено, что экспрессия ИЛ-4 и ИЛ-10 в ранний послеродовый период ниже в 1,5 и в 2,6 раза ( $P < 0,001$ ) в сравнении с уровнем экспрессии коров середины лактации соответственно. В период запуска экспрессия противовоспалительных цитокинов также была ниже в 2,7 раза ( $P < 0,001$ ) (ИЛ-4) и в 5,6 раза ( $P < 0,001$ ) (ИЛ-10) в сравнении с коровами середины лактации (рис. 2). Такое изменение относительной экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов у коров в ранний послеродовый период и в период запуска может свидетельствовать о клеточных реакциях иммунитета, в преимуществе оказывающих цитостатическое и цитотоксическое действие, что можно расценивать как доклинический этап воспалительной реакции в молочной железе и о более низком иммунном ответе при ослаблении защитных механизмов у коров в данные физиологические периоды лактации [9].



**Рис. 1.** Относительная экспрессия генов ИНФ- λ и ИЛ- 1β у больных субклиническим маститом коров в разные периоды лактации



**Рис. 2.** Относительная экспрессия генов ИЛ- 4 и ИЛ- 10 у больных субклиническим маститом коров в разные периоды лактации

Полученные данные по определению относительной экспрессии генов про- и противовоспалительных цитокинов согласуются с результатами, полученными при изучении иммунного гомеоста-

за больных субклиническим маститом коров в разные периоды лактации (табл.). Так, у коров находящихся в запуске в сравнении с животными середины лактации установлен более высокий уровень

антигенной нагрузки, что выражается в превышении в крови, моноцитов — на 30,7 % ( $P < 0,01$ ), циркулирующих иммунных комплексов — на 34,4 % ( $P < 0,01$ ), при снижении активности клеточного звена иммунной системы: фагоцитарной активности лейкоцитов — на 9,9 %, фагоцитарного индекса — на 12,5 % ( $P < 0,05$ ), а также гуморальных факторов неспецифической защиты: альбуминов — на 24,5 % ( $P < 0,01$ ),  $\alpha$ -глобулиновой фракции белка — на 26,8 % ( $P < 0,01$ ),  $\beta$ -глобулиновой фракции белка — на 22,8 % ( $P < 0,05$ ),  $\gamma$ -глобулиновой фракции белка — на 20,6 % ( $P < 0,05$ ), общих Ig — на 41,9 % ( $P < 0,001$ ).

Следовательно, развитие субклинического мастита у коров в период запуска в сравнении с коровами середины лактации сопровождается снижением неспецифической резистентности организма и более высокой антигенной нагрузкой. Данные изменения состояния иммунной системы являются последствием усиления окислительного стресса, который является результатом интенсификации процессов перекисидации липидов у больных субклиническим маститом коров в период запуска, что доказано проведенными нами ранее исследованиями, результаты которых опубликованы в статье [7, с. 113—124].

Таблица

*Морфо-иммунологический статус коров, больных субклиническим маститом, в разные периоды лактации ( $M \pm m$ )*

| Показатели,<br>ед. измерения | Ранний послеродовой<br>( $n = 12$ ) | 100—120 дней лактации<br>( $n = 12$ ) | Период запуска ( $n = 12$ ) |
|------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|
| 1                            | 2                                   | 3                                     | 4                           |
| Эритроциты, $10^{12}/л$      | $5,37 \pm 0,14$                     | $5,53 \pm 0,08$                       | $5,91 \pm 0,20$             |
| Гемоглобин, г/л              | $111,8 \pm 3,3$                     | $95,0 \pm 2,5$                        | $114,8 \pm 2,8$             |
| Лейкоциты, $10^9/л$          | $9,7 \pm 0,4$                       | $9,9 \pm 0,2$                         | $9,0 \pm 0,3$               |
| Эозинофилы, %                | $6,6 \pm 0,2$                       | $5,8 \pm 0,7$                         | $5,4 \pm 0,2$               |
| Нейтрофилы, %:               |                                     |                                       |                             |
| палочкоядерные               | $3,2 \pm 0,2$                       | $2,0 \pm 0,6$                         | $2,6 \pm 0,2$               |
| сегментоядерные              | $46,4 \pm 2,2$                      | $44,4 \pm 1,3$                        | $45,2 \pm 0,6$              |
| Моноциты, %                  | $3,0 \pm 0,4$                       | $2,6 \pm 0,3$                         | $3,4 \pm 0,4^{**}$          |
| Лимфоциты, %                 | $40,8 \pm 1,8$                      | $45,2 \pm 1,8$                        | $43,4 \pm 0,2$              |
| Общий белок, г/л             | $77,29 \pm 2,37$                    | $84,31 \pm 0,83$                      | $80,68 \pm 0,77$            |
| Альбумины, %                 | $28,4 \pm 0,2^{**}$                 | $38,8 \pm 0,7$                        | $29,3 \pm 0,32^{**}$        |
| $\alpha$ -глобулины, %       | $9,6 \pm 0,7^{**}$                  | $15,3 \pm 0,2$                        | $11,2 \pm 0,2^{**}$         |
| $\beta$ -глобулины, %        | $11,4 \pm 0,3^{**}$                 | $17,1 \pm 0,4$                        | $13,2 \pm 0,5^*$            |
| $\gamma$ -глобулины, %       | $15,6 \pm 0,6^*$                    | $21,8 \pm 0,5$                        | $17,3 \pm 0,5^*$            |
| Общие Ig, г/л                | $26,43 \pm 0,61^*$                  | $35,27 \pm 0,24$                      | $20,48 \pm 0,86^{***}$      |
| ЦИК, г/л                     | $0,444 \pm 0,036^{***}$             | $0,282 \pm 0,016$                     | $0,379 \pm 0,008^{**}$      |
| БАСК, %                      | $83,3 \pm 0,7$                      | $83,8 \pm 0,4$                        | $83,1 \pm 2,8$              |
| ЛАСК, мкг/мл                 | $1,515 \pm 0,025^*$                 | $1,812 \pm 0,008$                     | $1,674 \pm 0,016$           |
| ФАЛ, %                       | $73,8 \pm 3,5^*$                    | $82,8 \pm 5,1$                        | $74,6 \pm 3,7$              |

Окончание табл.

| 1                   | 2          | 3          | 4          |
|---------------------|------------|------------|------------|
| ФИ, м.к/акт.фагоцит | 6,2 ± 0,6* | 7,2 ± 0,3  | 6,3 ± 0,3* |
| ФЧ, м.к/фагоцит     | 5,43 ± 0,2 | 5,46 ± 0,2 | 5,8 ± 0,2  |

\*  $P < 0,05$ \*\*  $P < 0,01$ \*\*\*  $P < 0,001$  — степень достоверности в группах ранний послеродовой период и период запуска по отношению к периоду середины лактации

В послеродовой период у коров, больных субклиническим маститом, были установлены более выраженные изменения морфо-иммунологического статуса в сравнении с животными 100—120 дней лактации. Так в крови у этих животных отмечалось повышение содержания моноцитов на 15,3 %, циркулирующих иммунных комплексов — на 57,4 % ( $P < 0,001$ ), что также свидетельствует об наиболее высокой антигенной нагрузке на организм исследуемых животных при снижении активности гуморального и клеточного неспецифического иммунитета: более низкое содержание общих Ig — на 25,1 % ( $P < 0,05$ ), альбуминов — на 26,8 % ( $P < 0,01$ ),  $\alpha$ -глобулиновой фракции белка — на 37,2 % ( $P < 0,01$ ),  $\beta$ -глобулиновой фракции белка — на 33,3 % ( $P < 0,01$ ),  $\gamma$ -глобулиновой фракции белка — на 28,4 % ( $P < 0,05$ ), фагоцитарной активности лейкоцитов — на 10,8 %, фагоцитарного индекса — на 13,8 % ( $P < 0,05$ ), лизоцимной активности сыворотки крови — на 16,3 % ( $P < 0,05$ ).

Заболевание и дальнейшее развитие субклинического мастита у коров в послеродовой период в сравнении с коровами середины лактации сопровождается наиболее высокой антигенной нагрузкой, на фоне снижения активности клеточного и гуморального звеньев неспецифического иммунитета. Установленные нарушения иммунного статуса больных субклиническим маститом коров в послеродовой период связаны с возникающими осложнениями у коров после отела на фоне протекающих инволюционных процессов в половых органах и молочной железе.

Результаты наших исследований согласуются с исследованиями ученых иммунологов, которые установили, что у коров, не зависимо от клинического состояния, начиная с 210—220 дня стельности, наступает критический период, характеризующийся подавлением клеточного и гуморального иммунитета, а также дисбалансом между провоспалительными и противовоспалительными цито-

кинами у животных с сопутствующей патологией, что создает риски осложнения беременности и развития патологии вымени [3, с. 71].

Таким образом, проведенными исследованиями подтверждено, что течение субклинического мастита у коров в послеродовом периоде и периоде запуска сопряжено с более глубокими изменениями в организме коров, характеризующиеся снижением клеточного и гуморального звеньев неспецифического иммунитета и дисбалансом между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами, связанными в первом случае с инволюционными процессами в половых органах и молочной железе, во втором — развитием беременности.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Биохимические показатели крови и молока при маститах у коров голштинизированной породы / В. Д. Кочарян [и др.] // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сб. науч. тр. / Белорусская государственная сельскохозяйственная академия. — Горки: БГСХА, 2022. — № 25—1. — С. 256—261.
2. Желавский Н. Н. Иммунобиологические аспекты патогенеза мастита коров / Н. Н. Желавский // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». — 2018. — Т. 54, вып. 2. — С. 23—26.
3. Иммунный статус коров с разным сроком беременности и в ранний послеродовой период / П. А. Паршин, Г. А. Востроилова, Ю. Н. Бригадиров [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2023. — № 3(24). — С. 65—80.
4. Методические рекомендации по оценке и коррекции неспецифической резистентности животных // Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины / А. М. Смирнов [и др.]. — Москва: РАСХН, 2007. — Ч. III.: Методы исследований по проблемам ветеринарной патологии у продуктивных животных. — С. 174—215.
5. Морфобиохимический статус лактирующих коров в динамике развития субклинического мастита /

О. Б. Павленко, В. И. Зимников, Г. Г. Чусова [и др.] // Ученые записки учреждения образования Витебская орденена Знак почета государственная академия ветеринарной медицины. — 2023. — Т. 59, № 2. — С. 134—137.

6. *Родин И. А.* Генетико-иммунологические аспекты профилактики мастита и взаимообусловленных с ним эндометрита и диареи новорожденных телят: дис. ... докт. вет.наук: 16.00.07 / И. А. Родин. — Краснодар, 2002. — 353 с.

7. Свободнорадикальное окисление липидов и антиоксидантная защита при мастите у коров в запуске и в послеродовой период /В.И. Зимников, О. Б. Павлен-

ко, О. В. Фенич и др.// Ветеринарный фармакологический вестник. — 2025. — № 3 (32). — С. 113—124.

8. *Фёдоров Ю. Н.* Уровень иммуноглобулинов у лактирующих коров при мастите / Ю. Н. Фёдоров, В. М. Юрков, Л. Д. Демидова // Научные аспекты профилактики и терапии болезней с.-х. животных: Материалы науч.конф. — Воронеж, 1996. — Часть 1 — С. 123—124.

9. *Шахов А. Г.* Цитокиновый профиль у свиноматок с риском развития послеродовой патологии в разные периоды репродуктивного цикла /А.Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, Ю. Ю. Владимирова и др.// Ветеринарный фармакологический вестник. — 2023. — № 1 — С. 129—133.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**О. В. Фенич** — аспирант;

**О. Б. Павленко** — доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник;

**В. И. Зимников** — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;

**Е. В. Михайлов** — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник.

**Л. Ю. Сашнина** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник.

**Г. Н. Блиднецова** — доктор биологических наук, заведующая лабораторией.

Статья поступила в редакцию 05.08.2026.

Original article

UDC 619:618.19—002:636.2:612.664:591.366

## MORPHOIMMUNOLOGICAL STATUS OF COWS WITH SUBCLINICAL MASTITIS DEPENDING ON THE LACTATION PERIOD

Oksana Vladimirovna Fenich\*, Olga Borisovna Pavlenko\*\*✉, Vitaliy Ivanovich Zimnikov\*,  
Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov\*, Larisa Yuryevna Sashnina\*,  
Galina Nikolaevna Bliznetsova\*

\*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia

\*\*Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great,  
Voronezh, Russia, kobra\_64.64@mail.ru✉

**Abstract.** The article presents the data from a study of the morphoimmunological status of cows and the expression of pro- and anti-inflammatory cytokine genes in the cows with subclinical mastitis during various lactation periods. It had been found that the cows with subclinical mastitis during the studied lactation periods were accompanied by increased expression of interferon- $\lambda$  genes. The study of the expression of the anti-inflammatory cytokine genes IL-4 and IL-10 revealed that expression in the early postpartum and lactation periods was lower than in the mid-lactation cows. A study of immune homeostasis revealed that the cows in the postpartum and cow drying off periods had higher monocyte levels by 30.7 % ( $P < 0.01$ ) and circulating immune complexes — by 34.4 % ( $P < 0.01$ ), with decreased cellular immune system activity, leukocyte phagocytic activity — by 9.9 % and phagocytic index — by 12.5 % ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** cows, subclinical mastitis, lactation periods, morphoimmunological status, pro- and anti-inflammatory cytokines

### INTRODUCTION

In recent years, scientists studying mastitis have placed significant emphasis on studying the dynamics of immunological indicators in cows in response to inflammation in the mammary gland. Clinical and experimental studies conducted by N. N. Zhelavskiy established that “bovine subclinical and purulent-catarrhal mastitis are accompanied by significant changes in systemic immunity. In the pathophysiological model of subclinical and purulent-catarrhal mastitis, disturbances in the functional state of the T-link of specific immunity, suppression of serum bactericidal activity and phagocytosis were observed, which occurred against the background of changes in the cytochemical reactivity of phagocytic cells, and an increase in the level of circulating immune complexes and molecules of average (medium) molecular weight” [2, p. 25].

According to V. D. Kocharyan et al., “high-yielding cows exhibit elevated nitrogen metabolism. Such changes affect the body’s ability to resist external and internal negative factors. Blood immunoglobulin levels decreased, their concentration was by 10.0—14.9 % lower than in clinically healthy animals” [1, p. 260].

Yu. N. Fedorov et al. studied immunoglobulin levels in lactating cows under normal conditions and with mastitis. According to their research, “the highest levels of immunoglobulins G, M and A (average 33.7, 27.2 and 16.5 mg/ml) were observed in mammary gland secretions during the first 24 hours after calving, and the difference between healthy and mastitis-affected animals was insignificant.

The development of the inflammatory process is accompanied by an increase in the content of immunoglobulins G in the secretion of the mammary glands by 3.0...3.5 mg/ml, IgA — by 1.0—1.5 and IgM — by 2...3 mg/ml, relative to healthy animals. The total amount of immunoglobulins is within the range of 15.0...32.0 mg/ml.

The healthy condition of the udder of lactating cows and the absence of subclinical and clinical mastitis on days 7...10 after calving and until the moment of cow drying off is indicated by the content of immunoglobulins in milk no more than: IgG — 3.5...5.0 mg/ml, IgM and IgA — 1.0 mg/ml.

The dynamics of indicators of natural resistance and immunological activity in the blood of lactating

© Fenich O. V., Pavlenko O. B., Zimnikov V. I., Mikhaylov E. V., Sashnina L. Y., Bliznetsova G. N., 2026

cows with mastitis correlates with those in milk, but they are less clear and objective” [8, p.123—124].

I. A. Rodin [6] studied the role of nonspecific immunobiological reactivity in the etiopathogenesis of mastitis in cows. According to his data, leukocytosis is observed in the blood of sick animals, and the level of leukocyte phagocytic activity, phagocytic index, serum bactericidal and lysozyme activity, and T- and B-lymphocytes are reduced. Lysozyme activity of the secretion during udder inflammation was not evident or was detected as a zone of growth inhibition.

The inflammatory process development in the mammary gland is facilitated by the high functional activity of the mammary gland during lactation, predisposing factors and the close relationship with the reproductive organs and the neurohumoral system [5, p. 134]. In this regard, the research objective was to study the morphoimmunological status of cows with subclinical mastitis depending on the lactation period.

## MATERIAL AND METHODS

The experiment included 36 animals to study the morphoimmunological status of the cows with subclinical mastitis at various physiological stages of their life. The first group ( $n = 12$ ) included the cows in the postpartum period of lactation, the second group ( $n = 12$ ) included the cows in mid-lactation (100—120 days), and the third group ( $n = 12$ ) included the cows in the cow drying off period. Subclinical mastitis was diagnosed using a milk control plate (PMK-2) and the Dairy Chek rapid mastitis test manufactured by NEROHIM LLC. Blood samples were collected from all cows included in the experiment for morphoimmunological and molecular genetic testing. A study of the relative expression of pro- and anti-inflammatory cytokine genes was conducted using the following method: total RNA was isolated from blood using the RNA-Extran kit (Syntol, Russia) according to the isolation protocol. The isolated RNA was subjected to reverse transcription to obtain the first strand of DNA. This step was performed on a Tertsik device (DNA-Technology, Russia) using the MMLV RT Kit (Evrogen, Russia). A PCR mixture was then prepared using specific primers for the genes under study. Primer-Blast software was used to select these primers based on Genbank nucleotide sequences.

Laboratory studies to determine nonspecific immunity indicators in blood samples collected from test animals were conducted using standardized methods and in accordance with the approved Methodological Guidelines for the Assessment and Correction of Nonspecific Resistance in Animals [4].

## STUDY RESULTS

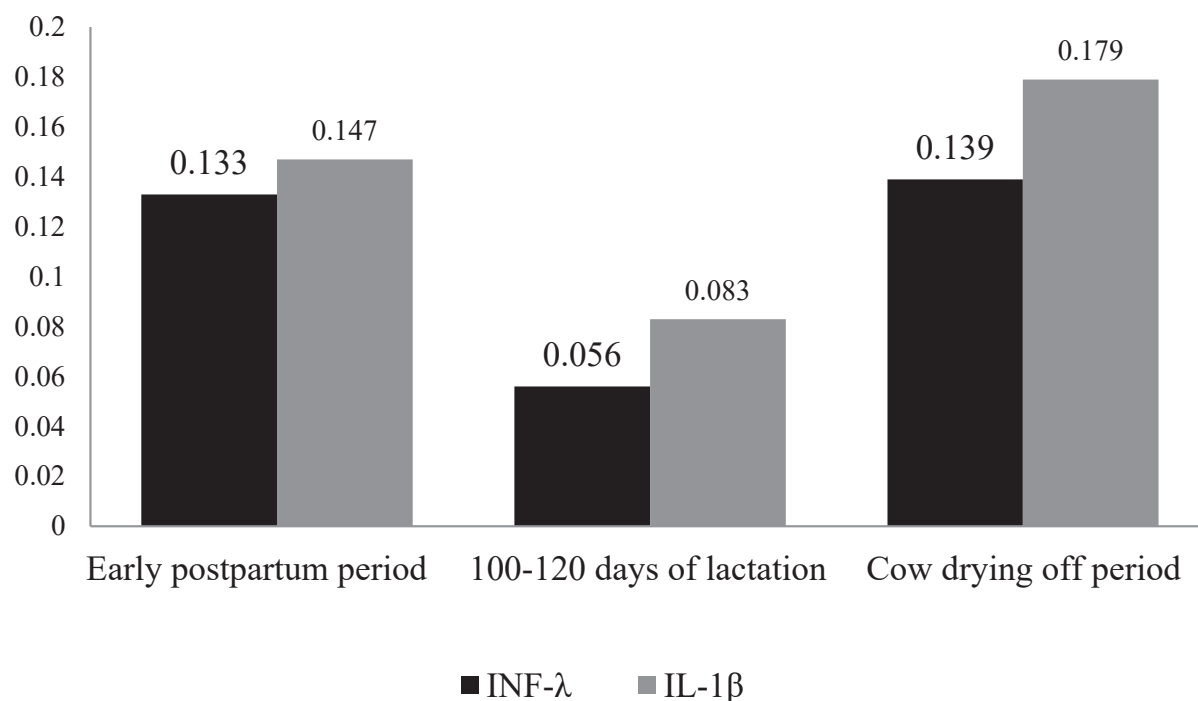
The cows with subclinical mastitis in the early postpartum period were associated with increased interferon- $\lambda$  gene expression (Fig. 1) by 2.4 times ( $P < 0.001$ ) and IL-1 $\beta$  — by 1.8 times ( $P < 0.001$ ), compared to the mid-lactation cows. During the cow drying off period, a similar pattern was observed in the cows with subclinical mastitis: interferon- $\lambda$  gene expression was by 2.5 times ( $P < 0.001$ ) and IL-1 $\beta$  — by 2.2 times ( $P < 0.001$ ) higher than in the mid-lactation cows.

When studying the expression of anti-inflammatory cytokine genes in the cows with subclinical mastitis during various physiological periods of lactation, it had been found that the expression of IL-4 and IL-10 in the early postpartum period was by 1.5 and 2.6 times lower ( $P < 0.001$ ), compared to the expression level in the mid-lactation cows, respectively. During the cow drying off period, the expression of anti-inflammatory cytokines was also lower by 2.7 times ( $P < 0.001$ ) (IL-4) and 5.6 times ( $P < 0.001$ ) (IL-10), compared to the mid-lactation cows (Fig. 2).

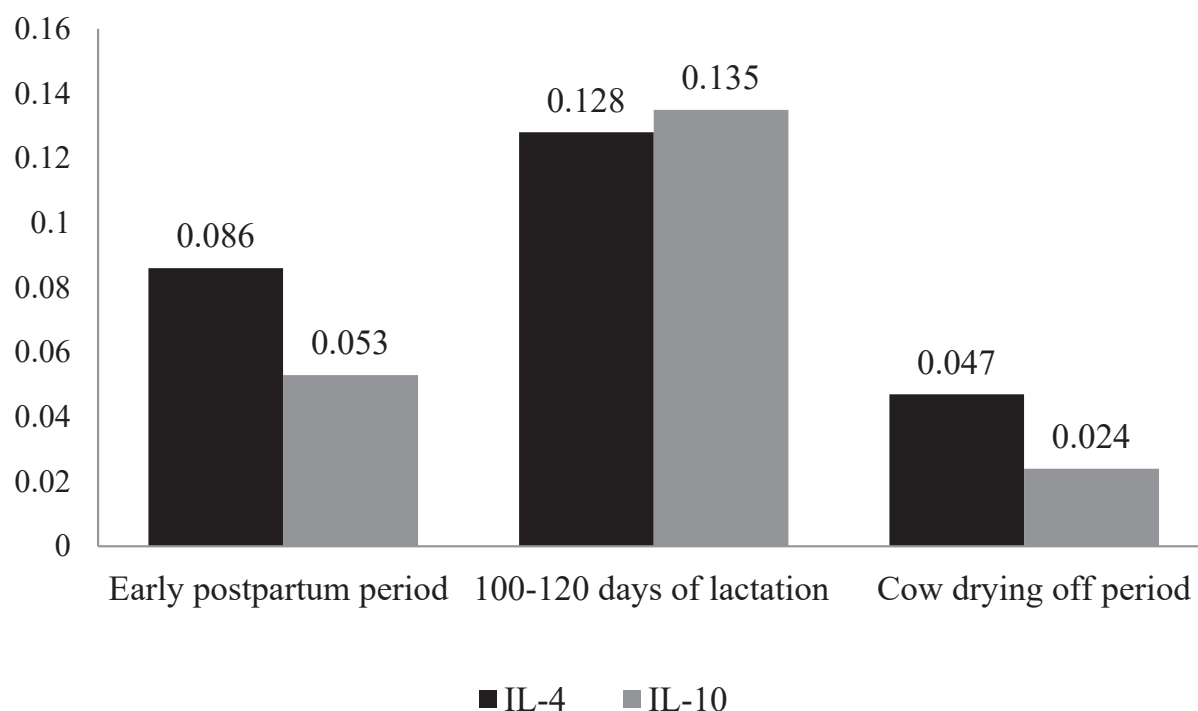
Such a change in the relative expression of genes of pro- and anti-inflammatory cytokines in the cows in the early postpartum period and during the cow drying off period may indicate cellular immune responses that predominantly have a cytostatic and cytotoxic effect, which can be regarded as a preclinical stage of the inflammatory reaction in the mammary gland and a lower immune response with a weakening of the protective mechanisms in cows during these physiological periods of lactation [9].

The obtained data on the determination of the relative expression of genes of pro- and anti-inflammatory cytokines are consistent with the results obtained in the study of immune homeostasis in the cows with subclinical mastitis during various lactation periods (Table).

Thus, the cows at the cow drying off stage, compared to the mid-lactation animals, have a higher level of antigen load, which is expressed in an excess of monocytes in the blood by 30.7 % ( $P < 0.01$ ), circulating immune complexes — by 34.4 % ( $P < 0.01$ ), with a decrease in the activity of the cellular link of the immune system: leukocyte phagocytic activity — by 9.9 %, phagocytic index — by 12.5 % ( $P < 0.05$ ); as well as humoral factors of non-specific protection: albumins — by 24.5 % ( $P < 0.01$ ),  $\alpha$ -globulin fraction of protein — by 26.8 % ( $P < 0.01$ ),  $\beta$ -globulin fraction of protein — by 22.8 % ( $P < 0.05$ ),  $\gamma$ -globulin fraction of protein — by 20.6 % ( $P < 0.05$ ), total Ig — by 41.9 % ( $P < 0.001$ ).



**Fig. 1.** Relative expression of INF-λ and IL-1β genes in the cows with subclinical mastitis during various lactation periods



**Fig. 2.** Relative expression of IL-4 and IL-10 genes in the cows with subclinical mastitis during various lactation periods

Consequently, the subclinical mastitis development in the cows during the cow drying off period, compared to the mid-lactation cows, is accompanied by a decrease in nonspecific resistance and a higher antigen load. These changes in the immune system are a conse-

quence of increased oxidative stress, which is the result of intensified lipid peroxidation processes in the cows with subclinical mastitis during the cow drying off period, as demonstrated by our previous studies, the results of which are published in the article [7, p. 113—124].

Table

*Morphoimmunological status of the cows with subclinical mastitis at various stages of lactation ( $M \pm m$ )*

| Indicators, units of measurement | Early postpartum period ( $n = 12$ ) | 100—120 days of lactation ( $n = 12$ ) | Cow drying off period ( $n = 12$ ) |
|----------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------|
| Erythrocytes, $10^{12}/L$        | $5.37 \pm 0.14$                      | $5.53 \pm 0.08$                        | $5.91 \pm 0.20$                    |
| Hemoglobin, g/L                  | $111.8 \pm 3.3$                      | $95.0 \pm 2.5$                         | $114.8 \pm 2.8$                    |
| Leukocytes, $10^9/L$             | $9.7 \pm 0.4$                        | $9.9 \pm 0.2$                          | $9.0 \pm 0.3$                      |
| Eosinophils, %                   | $6.6 \pm 0.2$                        | $5.8 \pm 0.7$                          | $5.4 \pm 0.2$                      |
| Neutrophils, %:                  |                                      |                                        |                                    |
| band                             | $3.2 \pm 0.2$                        | $2.0 \pm 0.6$                          | $2.6 \pm 0.2$                      |
| segmented                        | $46.4 \pm 2.2$                       | $44.4 \pm 1.3$                         | $45.2 \pm 0.6$                     |
| Monocytes, %                     | $3.0 \pm 0.4$                        | $2.6 \pm 0.3$                          | $3.4 \pm 0.4^{**}$                 |
| Lymphocytes, %                   | $40.8 \pm 1.8$                       | $45.2 \pm 1.8$                         | $43.4 \pm 0.2$                     |
| Total protein, g/L               | $77.29 \pm 2.37$                     | $84.31 \pm 0.83$                       | $80.68 \pm 0.77$                   |
| Albumin, %                       | $28.4 \pm 0.2^{**}$                  | $38.8 \pm 0.7$                         | $29.3 \pm 0.32^{**}$               |
| $\alpha$ -globulins, %           | $9.6 \pm 0.7^{**}$                   | $15.3 \pm 0.2$                         | $11.2 \pm 0.2^{**}$                |
| $\beta$ -globulins, %            | $11.4 \pm 0.3^{**}$                  | $17.1 \pm 0.4$                         | $13.2 \pm 0.5^*$                   |
| $\gamma$ -globulins, %           | $15.6 \pm 0.6^*$                     | $21.8 \pm 0.5$                         | $17.3 \pm 0.5^*$                   |
| Total Ig, g/L                    | $26.43 \pm 0.61^*$                   | $35.27 \pm 0.24$                       | $20.48 \pm 0.86^{***}$             |
| CIC, g/L                         | $0.444 \pm 0.036^{***}$              | $0.282 \pm 0.016$                      | $0.379 \pm 0.008^{**}$             |
| SBA, %                           | $83.3 \pm 0.7$                       | $83.8 \pm 0.4$                         | $83.1 \pm 2.8$                     |
| SLA, $\mu g/ml$                  | $1.515 \pm 0.025^*$                  | $1.812 \pm 0.008$                      | $1.674 \pm 0.016$                  |
| LPA, %                           | $73.8 \pm 3.5^*$                     | $82.8 \pm 5.1$                         | $74.6 \pm 3.7$                     |
| PhI, m. c./act. phagocyte        | $6.2 \pm 0.6^*$                      | $7.2 \pm 0.3$                          | $6.3 \pm 0.3^*$                    |
| PhN, m. c./act. phagocyte        | $5.43 \pm 0.2$                       | $5.46 \pm 0.2$                         | $5.8 \pm 0.2$                      |

\*  $P < 0.05$ \*\*  $P < 0.01$ \*\*\*  $P < 0.001$  — the degree of reliability in the groups of the early postpartum period and the cow drying off period in relation to the mid-lactation period

In the postpartum period, the cows with subclinical mastitis showed more pronounced changes in the morphoimmunological status, compared to the animals of 100—120 days of lactation. Thus, in the blood of these animals there was an increase in the content of monocytes by 15.3 %, circulating immune complexes — by 57.4 % ( $P < 0.001$ ), which also indicated the highest antigen load on the body of the studied animals

with a decrease in the activity of humoral and cellular non-specific immunity: a lower content of total Ig — by 25.1 % ( $P < 0.05$ ), albumins — by 26.8 % ( $P < 0.01$ ),  $\alpha$ -globulin fraction of protein — by 37.2 % ( $P < 0.01$ ),  $\beta$ -globulin fraction of protein — by 33.3 % ( $P < 0.01$ ),  $\gamma$ -globulin fraction of protein — by 28.4 % ( $P < 0.05$ ), leukocyte phagocytic activity — by 10.8 %, phagocytic index — by 13.8 % ( $P < 0.05$ ), serum lysozyme ac-

tivity — by 16.3 % ( $P < 0.05$ ). The onset and subsequent development of subclinical mastitis in the cows in the postpartum period, compared to the mid-lactation cows, is accompanied by a higher antigen load, against a background of decreased activity of cellular and humoral components of nonspecific immunity. The identified immune status impairments in the cows with subclinical mastitis in the postpartum period are associated with the complications that arise in cows after calving due to ongoing involutional processes in the reproductive organs and mammary gland.

Our research findings are consistent with those of immunologists, who have found that cows, regardless of their clinical condition, enter a critical period beginning around 210—220 days of gestation. This period is characterized by suppression of cellular and humoral immunity, as well as an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the animals with underlying pathologies. This creates a risk of gestation complications and the development of udder pathologies [3, p. 71].

Thus, our research confirms that the course of subclinical mastitis in the cows during the postpartum and early stages of gestation is associated with more profound changes in the cow's body, characterized by a decrease in cellular and humoral nonspecific immunity and an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. These changes are associated, in the former case, with involutional processes in the reproductive organs and mammary gland, and, in the latter case, with the gestation development.

#### REFERENCES

1. Biochemical blood and milk indicators in case of mastitis in Holstein cows / V. D. Kocharyan [et al.] // Actual problems of intensive development of animal husbandry: collection of scientific papers / Belorusskagaya gosudarstvennaya selskokhozyaystvennaya akademiya (Belarusian State Agricultural Academy). — Gorki: BSAA, 2022. — No. 25—1. — P. 256—261.
2. Zhelavskiy N. N. Immunobiological aspects of the bovine mastitis pathogenesis / N. N. Zhelavskiy // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya "Vitebskaya ordena 'Znak Pocheta' gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny" (Transactions of the educational establishment "Vitebsk Order of the 'Badge of Honor' State Academy of Veterinary Medicine"). — 2018. — Vol. 54, issue 2. — P. 23—26.
3. Immune status of cows with various duration of gestation and in the early postpartum period / P. A. Parshin, G. A. Vostroilova, Yu. N. Brigadirov [et al.] // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2023. — No. 3 (24). — P. 65—80.
4. Methodological guidelines for the assessment and correction of non-specific resistance in animals // New research methods on problems of veterinary medicine / A. M. Smirnov [et al.]. — Moscow: Russian Academy of Agricultural Sciences, 2007. — Part III: Research methods on problems of veterinary pathology in productive animals. — P. 174—215.
5. Morphobiochemical status of lactating cows in the dynamics of subclinical mastitis development / O. B. Pavlenko, V. I. Zimnikov, G. G. Chusova [et al.] // Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya "Vitebskaya ordena 'Znak Pocheta' gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny" (Transactions of the educational establishment "Vitebsk Order of the 'Badge of Honor' State Academy of Veterinary Medicine"). — 2023. — Vol. 59, No. 2. — P. 134—137.
6. Rodin I. A. Genetic and immunological aspects of the prevention of mastitis and associated endometritis and diarrhea in newborn calves: thesis ... Doctor of Veterinary Sciences: 16.00.07 / I. A. Rodin. — Krasnodar, 2002. — 353 p.
7. Free radical oxidation of lipids and antioxidant defense in case of bovine mastitis in cow drying off and postpartum periods / V. I. Zimnikov, O. B. Pavlenko, O. V. Fenich et al. // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2025. — No. 3 (32). — P. 113—124.
8. Fedorov Yu. N. Level of immunoglobulins in lactating cows with mastitis / Yu. N. Fedorov, V. M. Yurkov, L. D. Demidova // Scientific aspects of prevention and therapy of diseases of farm animals: Proceedings of the scientific conference. — Voronezh, 1996. — Part 1 — P. 123—124.
9. Shakhov A. G. Cytokine profile in sows with the risk of the postpartum pathology development during different periods of the reproductive cycle / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, Yu. Yu. Vladimirova et al. // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2023. — No. 1(22) — P. 129—133.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**O. V. Fenich** — Postgraduate Student;

**O. B. Pavlenko** — Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Chief Scientific Associate;

**V. I. Zimnikov** — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;

**E. V. Mikhaylov** — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;

**L. Yu. Sashnina** — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;

**G. N. Bliznetsova** — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory.

The article was submitted 05.08.2026.

Научная статья

УДК 619:615.4 / 639.212

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.85.93.006

## ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА РУТАЦИРИН НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И КЛИНИЧЕСКИЙ СТАТУС СТЕРЛЯДИ ПРИ ОСТРОМ ТЕПЛОВОМ СТРЕССЕ

Сергей Александрович Пархоменко<sup>✉</sup>, Елена Васильевна Кузьмина,  
Марина Петровна Семененко

Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,  
Краснодар, Россия, parhomenko@aspect-ag.com<sup>✉</sup>

**Аннотация.** В статье приведены результаты по оценке влияния препарата рутацирин на выживаемость и клинический статус стерляди при остром тепловом стрессе. Эксперимент проводили на 240 особях стерляди (*Acipenser ruthenus*), которых были разделены на две группы (опытную и контрольную) по 120 особей в каждой. Рыба опытной группы в течение двух месяцев до моделирования острого теплового стресса получала корм с добавлением рутацирина в дозе 1,2 г препарата на 1 кг ихтиомассы в сутки. Корм рыбы контрольной группы был аналогичным, но без включения препарата. После чего из каждой группы отбирали по 6 особей, у которых моделировали острый тепловой стресс путём повышения температуры воды с 22 до 30,5 °C со скоростью 5,3 °C в час. В течение полутора часов проводили непрерывное наблюдение за поведенческими реакциями и фиксировали гибель рыбы. Результаты проведённых исследований показали высокую эффективность препарата рутацирин при остром тепловом стрессе стерляди. Его превентивное применение позволило в условиях критических температур окружающей среды снизить деструктивные поведенческие симптомы и смертность рыбы.

**Ключевые слова:** осетровые рыбы, стерлядь, острый тепловой стресс, препарат рутацирин, клинические признаки, выживаемость

В настоящее время аквакультура представляет собой динамично развивающийся сектор агропромышленного комплекса, демонстрирующий значительный потенциал для устойчивого развития и удовлетворения растущего спроса населения на рыбную продукцию. Стерлядь, как одна из массово разводимых в аквакультуре видов рыбы, обладает рядом характеристик, делающих её привлекательной для выращивания (раннее половое созревание, короткий межнерестовый цикл, высокая скорость роста и др.). Кроме того, контролируемое выращивание стерляди позволяет удовлетворять растущий спрос на деликатесные продукты, такие как мясо и икра, которые являются высокомаржинальными и пользуются значительным спросом на мировом рынке. Дополнительным преимущественным аспектом является то, что стерлядь относится к важным объектам для селекционных исследований, направленных на создание межвидовых и межродовых гибридов. В частности, гибрид стерляди и белуги, известный как стербел, демонстри-

рует генетические преимущества, которые проявляются в значительном повышении жизнеспособности и ускоренном росте гибридных особей. Это позволяет не только интенсифицировать процессы воспроизводства, но и получать высококачественную товарную продукцию в сокращенные сроки, что делает данный гибрид перспективным для промышленного аквакультурного производства [1—5].

Глобальное потепление климата представляет собой важнейшую проблему, оказывающую комплексное и многофакторное воздействие на отрасль аквакультуры. Поскольку ключевым фактором глобального потепления является изменение температуры водной среды, это существенно влияет на физиологическое состояние пойкилотермных организмов, к которым относятся рыбы. Даже незначительные отклонения от оптимальных температурных параметров могут индуцировать каскад патологических реакций, приводящих к развитию теплового стресса у рыб, который проявляется повышением уровня кортизола, снижением иммунного ответа, нару-

шением метаболических процессов и другими негативными последствиями для организма. Тепловой стресс также может обуславливать системное повреждение кишечника, угнетение антиоксидантной системы, снижение активности пищеварительных ферментов и регенеративной способности тканей. Эти патологические процессы существенно влияют на выживаемость и продуктивность популяций рыб [6—10]. В условиях аквакультуры для создания оптимальных условий при выращивании стерляди необходимо поддерживать температуру в диапазоне от 20 до 22 °С. Следует учитывать, что для молодых особей критическая температура составляет 30 °С. Превышение этого порога может привести к летальному исходу, что требует оперативного вмешательства для предотвращения массовой гибели данного вида рыбы [11—13].

С учетом вышеизложенного, разработка фармакологических препаратов, механизм действия которых позволит повысить устойчивость рыбы к повышению температуры водной среды, представляет собой актуальное направление ветеринарной науки.

В рамках научных исследований в данной области отделом фармакологии Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института осуществлена комплексная фармацевтическую разработка препарата рутацирин.

Цель работы — изучить влияние препарата рутацирин на выживаемость и клинический статус стерляди при остром тепловом стрессе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования являлся препарат рутацирин, содержащий следующие компоненты: таурин — 38 %; рутозид — 30 %; L-теанин — 20 %; этилметилгидроксипиридина сукцинат — 12 %.

Научные экспериментальные исследования были проведены в два этапа.

Первый этап проведен в бассейновом комплексе Адыгейского осетрового завода, где методом парных аналогов было отобрано 240 стерлядей (*Acipenser ruthenus*) с массой тела от 1,4 до 1,8 кг, которых разделили на две группы по 120 особей в каждой: опытную и контрольную. Стерлядь опытной группы получала корм с добавлением рутацирина в количестве 4 % от общей массы, что обеспечивало дозу 1,2 грамма препарата на 1 кг ихтиомассы в сутки. Контрольная группа питалась аналогичным кормом без включения препарата. Такой режим кормления соблюдался на протяжении двух месяцев.

Второй этап, посвященный непосредственно моделированию острого теплового стресса у стерляди, реализован на базе аквакультурного комплекса Кубанского государственного аграрного университета. Для его реализации после двухмесячного периода первого этапа из каждой группы отбирали по 6 особей рыбы, которые после транспортировки помещались в установку замкнутого водоснабжения. После чего с целью снижения стрессового последствия от транспортировки и адаптации к новым условиям рыба в течение недели акклиматизировалась в воде с температурой 20—22 °С, уровнем pH 7,3—7,5 и концентрацией кислорода 7—7,5 мг/л. При моделировании острого теплового стресса использовали аквариумы объемом 100 литров с площадью водной поверхности 0,23 м<sup>2</sup>, оснащенные системами контроля температуры и аэрации. В каждый аквариум одномоментно помещалось по две особи стерляди — одна из опытной «О» и одна из контрольной группы «К» (рис. 1).

Температура воды в аквариуме постепенно повышалась с оптимальных 22 °С до критических 30 °С со скоростью увеличения 5,3 °С в час. Рыбы подвергались данным условиям в течение 1,5 часов, что позволяло оценить их выживаемость и поведенческие реакции на воздействие экстремальных температур.

Состояние стерляди регистрировали с интервалом в 10 минут с использованием специально разработанной шкалы оценки, включающей признаки типичного поведения донных видов (спокойно плавает на дне, лежит на дне), а также клинические проявления теплового стресса (учащение дыхания, всплытие, метание, нарушение контроля положения тела в пространстве, активное выделение слизи, клонические и тонические судороги). Прекращение активной работы жаберных крышек считали показателем летального исхода.

Для дальнейшего анализа каждый клинический симптом кодировался бинарно — «1» при его наличии и «0» при отсутствии, после чего осуществляли сравнение усреднённых интегральных показателей между опытной и контрольной группами. В таблице 1 приведены клинические признаки теплового стресса у стерляди и соответствующие им коды.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В начале эксперимента исходный уровень растворенного кислорода в аквариумах находился в диапазоне 60—63 % насыщения, что эквивалентно концентрации 5,1—5,4 мг/л при температуре 22 °С. Для осетровых видов рыб минималь-

но допустимый уровень растворенного кислорода составляет 6,0 мг/л, а значения насыщения ниже 60 % свидетельствуют о низком качестве водной среды и замедленной скорости окислительных процессов. Стерлядь, как вид, обладающий повышенной чувствительностью к дефициту кислорода, демонстрирует оптимальный рост при насыщении в пределах 70—85 %, а критическим порогом насыщения воды кислородом для этого вида считается уровень ниже 40 %. Следовательно, в наших исследованиях фоновый уровень кислорода при моделировании теплового стресса уже находился на границе допустимого диапазона, что оказывало дополнительное давление на адаптационные механизмы стерляди. Необходимо учитывать, что с повышением температуры воды растворимость

кислорода уменьшается: при повышении температуры от 22 до 30 °С равновесное содержание кислорода снижается на 15—20 %. Это создает дополнительные ограничения в доступности кислорода при тепловом стрессе, особенно при достижении температуры 30 °С. Комбинация исходных гипоксических условий с дальнейшим повышением температуры воды усиливает требования к кислородтранспортной системе рыб и способствует развитию функциональной гипоксии, что соответствует концепции кислородно-лимитированной термотолерантности водных эктотермов. В таблице 2 представлена сводная информация детальных протоколов наблюдений за выживаемостью и поведенческими реакциями стерляди в условиях экспериментального теплового стресса.



Рис. 1. Стерлядь, помещенная в аквариум для моделирования острого теплового стресса

Таблица 1

Оцениваемые клинические признаки теплового стресса у стерляди и их кодовые обозначения

| Клинические признаки                             | Кодовые обозначения |
|--------------------------------------------------|---------------------|
| Спокойно плавает на дне                          | СПД                 |
| Лежит на дне                                     | ЛНД                 |
| Учащение дыхания                                 | УД                  |
| Всплытие, метание                                | ВМ                  |
| Нарушение контроля положения тела в пространстве | Н КП                |
| Активное выделение слизи                         | АВС                 |
| Клонические судороги                             | КС                  |
| Тонические судороги                              | ТС                  |
| Прекращение оперкулярной активности (гибель)     | ПОА                 |

Ключевым показателем эффективности препарата рутацирин выступала выживаемость стерляди при остром тепловом стрессе.

Так, проведенные исследования показали, что гибель рыбы в контрольной группе началась с 70 минуты (8 точка контроля, при температуре ~29,1 °С), при этом к окончанию нагрева (через 90 минут) погибло 5 из 6 особей (83,3 %).

В опытной группе смертельный исход зарегистрирован у 1 из 6 особей (16,7 %), что произошло в 10 точке контроля (90 минута при температуре ~30,5 °С). Динамика клинических показате-

лей продемонстрировала положительное влияние препарата рутацирин на адаптационную реакцию стерляди в условиях критически высоких температур водной среды.

Изначально (точка 1, время 0:00, температура воды ~22 °С) состояние рыб в обеих группах было схожим, что подтверждается высокими и сопоставимыми суммами нормальных симптомов (9 и 8 соответственно). При этом уже на первоначальном этапе у одной особи из контрольной группы отмечались начальные признаки стресса в виде гиперсекреции слизи.

Таблица 2

*Данные клинических наблюдений за выживаемостью и поведенческими реакциями стерляди при моделировании острого теплового стресса*

| УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА           |      |      |       |       |       |       |       |       |       |       |    |    |    |    |    |    |    |    |   |    |
|--------------------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|----|----|----|----|----|----|----|---|----|
| № точки контроля               | 1    | 2    | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |    |
| Время, ч: мин                  | 0:00 | 0:10 | 0:20  | 0:30  | 0:40  | 0:50  | 1:00  | 1:10  | 1:20  | 1:30  |    |    |    |    |    |    |    |    |   |    |
| Кислород, %                    | 63,0 | 62,2 | 62,2  | 62,7  | 62,5  | 63,0  | 62,7  | 61,3  | 60,8  | 60,3  |    |    |    |    |    |    |    |    |   |    |
| Температура, °С                | 22   | 24   | ~25,5 | ~26,8 | ~27,5 | ~28,1 | ~28,5 | ~29,1 | ~29,9 | ~30,5 |    |    |    |    |    |    |    |    |   |    |
| КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ           |      |      |       |       |       |       |       |       |       |       |    |    |    |    |    |    |    |    |   |    |
| Группы                         | К    | О    | К     | О     | К     | О     | К     | О     | К     | О     | К  | О  | К  | О  | К  | О  | К  | О  | К | О  |
| СПД                            | 6    | 6    | 3     | 4     | 2     | 3     | 0     | 0     | 0     | 1     | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0  |
| ЛНД                            | 3    | 2    | 5     | 4     | 2     | 4     | 4     | 5     | 5     | 4     | 2  | 3  | 1  | 4  | 1  | 4  | 1  | 4  | 0 | 4  |
| УД                             | 0    | 0    | 5     | 2     | 6     | 4     | 6     | 3     | 6     | 3     | 6  | 1  | 6  | 2  | 6  | 3  | 6  | 4  | 3 | 5  |
| ВМ                             | 0    | 0    | 0     | 0     | 3     | 2     | 5     | 1     | 6     | 3     | 4  | 2  | 5  | 3  | 5  | 2  | 4  | 0  | 0 | 0  |
| НКП                            | 0    | 0    | 0     | 0     | 1     | 0     | 2     | 0     | 3     | 0     | 3  | 0  | 5  | 0  | 6  | 1  | 6  | 1  | 0 | 1  |
| АВС                            | 0    | 1    | 1     | 1     | 3     | 2     | 4     | 3     | 5     | 4     | 6  | 6  | 6  | 6  | 6  | 6  | 6  | 6  | 2 | 5  |
| КС                             | 0    | 0    | 0     | 0     | 1     | 0     | 2     | 0     | 6     | 1     | 5  | 3  | 5  | 2  | 2  | 1  | 0  | 0  | 0 | 0  |
| ТС                             | 0    | 0    | 0     | 0     | 0     | 1     | 0     | 1     | 1     | 1     | 2  | 1  | 4  | 1  | 3  | 0  | 1  | 1  | 0 | 0  |
| ПОА                            | 0    | 0    | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 0  | 2  | 0  | 2 | 1  |
| СУММАРНЫЕ КЛИНИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ |      |      |       |       |       |       |       |       |       |       |    |    |    |    |    |    |    |    |   |    |
| Норм.                          | 9    | 8    | 8     | 8     | 4     | 7     | 4     | 5     | 5     | 5     | 2  | 3  | 1  | 4  | 1  | 4  | 1  | 4  | 0 | 4  |
| Патолог.                       | 0    | 1    | 6     | 3     | 14    | 9     | 19    | 8     | 27    | 12    | 26 | 13 | 31 | 14 | 29 | 13 | 25 | 12 | 7 | 12 |

**Примечание:** «К» — стерлядь из контрольной группы; «О» — стерлядь из опытной группы

В дальнейшем по мере повышения температуры воды до  $\sim 25,5^{\circ}\text{C}$  (точка 3, временной интервал 0:20) патологические проявления теплового стресса усиливались у всей стерляди. Однако в контрольной группе данный процесс протекал более выражено: суммарное количество патологических признаков составило 14 против 9 в опытной группе.

Значительное различие в динамике стрессовых реакций стало особенно очевидным в интервале с 30 по 60 минуту эксперимента (точки 4—7, температура  $\sim 26,8$ — $28,5^{\circ}\text{C}$ ). В этот период у стерляди из контрольной группы наблюдалось резкое усиление патологических поведенческих признаков, включая учащённое метание (у 6 особей) и нарушение пространственной ориентации (у 5 особей), а также появление и усиление судорог. Суммарное число патологических симптомов достигало 27—31, при этом к 60 минуте лишь одна контрольная рыба сохраняла способность находиться в плавающем положении на дне аквариума.

В опытной группе рыбы, которая превентивно получала препарат рутацирин, реакция на тепловой стресс в этот критический период характеризовалась более легкой симптоматикой. Патологические проявления присутствовали, но их выраженность была снижена примерно вдвое по сравнению с контрольной группой (8—14 симптомов). Также в опытной группе наблюдалась значительно более низкая частота или полное отсутствие тяжёлых неврологических нарушений, таких как потеря ориентации тела, которые в контрольной группе приобрели массовый характер.

В целом, у стерляди, подвергнутой превентивной фармакологической адаптации, способность к базовому нормальному поведению, выраженному в лежачем или плавающем положении на дне, сохранялась у 4—5 особей, в то время как в контрольной группе этот показатель варьировался от 1 до 4 особей.

С 70 минуты эксперимента (8 точка контроля, температура  $\sim 29,1^{\circ}\text{C}$ ) различия между контрольной и опытной группами стали более выраженными в связи с летальным исходом у контрольных особей. К этому моменту были зафиксированы первые случаи гибели, а к 90 минуте выжила лишь одна контрольная рыба. Предгибельное состояние контрольной группы характеризовалось крайней степенью декомпенсации, что проявлялось в высоком уровне патологических симптомов и полном отсутствии нормального поведения. В опытной группе смертельный исход был зарегистрирован у одной особи (к 90 минуте при температуре  $\sim 30,5^{\circ}\text{C}$ ).

Анализ поведенческой активности в опытной группе показал, что эти рыбы демонстрировали относительно высокий уровень организации: 4 из 6 особей сохраняли способность занимать горизонтальное положение на дне аквариума, а суммарный индекс патологических реакций оставался в пределах умеренных значений (12). Это свидетельствует о продолжающейся адаптации и поддержании функциональной активности физиологических систем, что контрастирует с коллапсом, наблюдаемым в контрольной группе.

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают высокую фармакологическую эффективность препарата рутацирин для повышения устойчивости организма стерляди к тепловому стрессу. Препарат обеспечил поддержку жизнедеятельности и сохранение нервной регуляции, способствуя выживаемости 83,3 % особей опытной группы в критических температурных условиях, при которых у аналогичного процента контрольной рыбы зафиксирован летальный исход. Фармакологическое действие препарата проявлялось в подавлении наиболее разрушительных симптомов стресса — метания, дезориентации и судорог с одновременной поддержкой энергосберегающих форм поведения. Такая мультимодальная активность позволяет отнести рутацирин к эффективным адаптогенам, перспективным для использования в аквакультуре с целью повышения устойчивости рыб к повышенным температурам окружающей среды.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По данным научных исследований верхний летальный порог температуры для молоди стерляди (*Acipenser ruthenus*), выращенной в аквакультуре, составляет  $32,8^{\circ}\text{C}$ . Этот показатель установлен экспериментально методом критического термического максимума (КТМ) при нагреве воды со скоростью  $9^{\circ}\text{C}$  в час до полного прекращения движения жаберных крышек — предшествующего летальному исходу [14—16].

В проведенном нами исследовании летальный исход у контрольных рыб зафиксирован при температурах  $29$ — $31^{\circ}\text{C}$ , что можно объяснить комплексным действием факторов острого эксперимента. Так, достаточно высокая скорость нагрева ( $5,3^{\circ}\text{C}$  в час) воды ограничивала включение адаптационных механизмов, характерных для хронического теплового стресса. Ключевым сопутствующим фактором выступала гипоксия, поскольку повышение температуры до  $30,5^{\circ}\text{C}$  сопровождалось

снижением содержания растворенного кислорода до 60 %, что при резко возросших метаболических потребностях, вызвало развитие острой дыхательной недостаточности. Поэтому, наступивший более быстро летальный исход у стерляди в наших экспериментах может быть обусловлен комплексными факторами, включающими термическое повреждение и гипоксию.

В соответствии с поставленной целью результаты проведенных экспериментальных исследований продемонстрировали высокую эффективность превентивного применения препарата рутацирин при моделировании острого теплового стресса у стерляди. Препарат проявил выраженные адаптогенные свойства, что подтверждается значительным снижением деструктивных поведенческих симптомов, таких как нарушение пространственной ориентации и судорожные реакции. Более того, рутацирин способствовал оптимизации метаболических процессов, направленных на экономию энергетических ресурсов организма. Применение данного препарата позволило снизить смертность рыб на 66,6 %, что свидетельствует о его высокой антигипоксической и стресс-протективной активности.

Таким образом, рутацирин является эффективным адаптогенным средством, оптимизирующим ответ организма на экстремальные температурные воздействия. Полученные данные позволяют рекомендовать его к широкому применению в аквакультуре для снижения потерь, связанных с тепловым стрессом, что имеет важное значение для повышения продуктивности и устойчивости рыбоводческих хозяйств в условиях изменения климата.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Матишов Г. Г. Инновационная биотехнология получения экологически чистой продукции аквакультуры в модульной установке замкнутого водоснабжения / Г. Г. Матишов, Е. Н. Пономарева, А. В. Казарникова [и др.] // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. — 2016. — № 3(191). — С. 41—48.
2. Басонов О. А. Особенности роста и развития осетровых и их гибридных форм в промышленных условиях / О. А. Басонов, А. В. Судакова // Аграрный научный журнал. — 2023. — № 5. — С. 62—66. — DOI 10.28983/asj.y2023i5pp62—66.
3. Данилова Е. А. Репродуктивные показатели стерляди и сибирского осетра при выращивании в аквакультуре и в естественных водоемах / Е. А. Данилова, А. П. Воробьев, И. О. Звезда [и др.] // Рыбоводство и рыбное хозяйство. — 2023. — Т. 17, № 4(207). — С. 245—255. — DOI 10.33920/sel-09-2304-03.
4. Насырова Л. Ш. Икорная продуктивность стербела — гибрида стерляди и белуги / Л. Ш. Насырова, С. Б. Подушка // Рыбное хозяйство. — 2017. — № 2. — С. 80—84.
5. Астафьева С. С. Физиологическое состояние гибрида стерлядь × белуга (*Acipenser ruthenus* × *Husohuso*) при выращивании в экологических условиях дельты Волги / С. С. Астафьева, А. Р. Лозовский // Рыбоводство и рыбное хозяйство. — 2020. — № 12(179). — С. 41—52. — DOI 10.33920/sel-12—2010—04.
6. Жилина И. Ю. Влияние изменения климата на глобальную продовольственную безопасность / И. Ю. Жилина // Экономические и социальные проблемы России. — 2023. — № 1(53). — С. 166—189. — DOI 10.31249/espr/2023.01.09.
7. Пархоменко С. А. Влияние препарата рутацирин на биохимические показатели крови осетровых рыб в условиях повышения температуры водной среды / С. А. Пархоменко, Е. В. Кузьмина, А. А. Абрамов [и др.] // Ветеринария и кормление. — 2026. — № 1. — С. 104—107. — DOI 10.30917/A1814-9588-2026-1-23.
8. Писаренко А. В. Теплоустойчивость разных видов рыб товарной аквакультуры / А. В. Писаренко, Н. Б. Писаренко // Достижения науки и техники АПК. — 2024. — Т. 38, № 9. — С. 82—94. — DOI 10.53859/02352451\_2024\_38\_9\_82.
9. Егорова В. И. Влияние температуры воды на структуру расхода обменной энергии у рыб / В. И. Егорова, Е. В. Свешникова, В. В. Наумова [и др.] // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. — 2019. — № 4. — С. 110—116. — DOI 10.24143/2073-5529-2019-4-110-115.
10. Волкова А. А. Биомаркеры температурного стресса и показатели благополучия сиговых рыб в условиях аквакультуры / А. А. Волкова, А. Г. Королева, В. М. Яхненко [и др.] // Системная биология и биоинформатика (SBB-2023): Тезисы докладов 14-й международной школы молодых ученых, Новосибирск, 22—26 мая 2023 года. — Новосибирск: Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, 2023. — С. 6. — DOI 10.18699/SBB-2023—06.
11. Ebbesson L. O.E. Thermal stress in Atlantic salmon: Behavioural and physiological responses / L.O.E. Ebbesson, S.D. McCormick, S. O. Stefansson [et al.] // Journal of Fish Biology. — 2011. — Vol. 78, no. 5. — P. 1389—1405. — DOI: 10.1111/j.1095—8649.2011.02945.x.
12. Остроумова И. Н. Влияние повышенной температуры на физиологическое состояние сиговых рыб (*Coregonidae*) при выращивании их в условиях аквакультуры / И. Н. Остроумова, В. В. Костюничев, А. А. Лютиков [и др.] // Рыбное хозяйство. — 2022. — № 1. — С. 69—74. — DOI 10.37663/0131-6184-2022-1-69-74.
13. Пономарева Е. Н. Особенности роста различных гибридных форм осетровых видов рыб / Е. Н. Пономарева, А. В. Ковалева, М. В. Коваленко [и др.] // Наука

Юга России. — 2019. — Т. 15, № 3. — С. 81—88. — DOI 10.7868/S25000640190309.

14. *Stavrakidis Zachou O.* A bioenergetics approach to modelling tolerance limits under acute thermal stress in farmed finfish / O. Stavrakidis Zachou, N. Papandroulakis, K. Lika // *Frontiers in Marine Science*. — 2023. — Vol. 10. — Art. 1173358. — DOI: 10.3389/fmars.2023.1173358.

15. *Голованов В. К.* Температурный оптимум и верхняя температурная граница жизнедеятельности осетро-

вых видов рыб / В. К. Голованов, И. Л. Голованова // *Труды ВНИРО*. — 2016. — Т. 159. — С. 102—111.

16. *Голованов В. К.* Термоизбирание и термоустойчивость молоди стерляди *Acipenser ruthenus* L., выращенной в различных условиях / В. К. Голованов, Ю. В. Герасимов, Д. С. Капшай, О. Л. Васюра // *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*. — 2012. — № 1. — С. 45—52.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**С. А. Пархоменко** — аспирант;

**Е. В. Кузьмина** — доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник;

**М. П. Семененко** — доктор ветеринарных наук, профессор, заведующая отделом фармакологии.

Статья поступила в редакцию 03.08.2026.

## EFFECT OF RUTACIRIN ON SURVIVAL AND CLINICAL STATUS OF STERLET UNDER ACUTE HEAT STRESS

Sergey Aleksandrovich Parkhomenko<sup>✉</sup>, Elena Vasilyevna Kuzminova,  
Marina Petrovna Semenenko

Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,  
Krasnodar, Russia, parhomenko@aspect-ag.com<sup>✉</sup>

**Abstract.** This article presents the results of assessing the effect of rutacirin on the survival and clinical status of sterlet under acute heat stress. The experiment was conducted on 240 sterlets (*Acipenser ruthenus*), which were divided into two groups (experimental and control), with 120 fish in each one. The fish in the experimental group received feed containing rutacirin at a dose of 1.2 g per 1 kg of ichthyomass per day for two months prior to the acute heat stress simulation. The fish in the control group received the same feed but without the drug. Six fish were then selected from each group, and acute heat stress was simulated by increasing the water temperature from 22 °C to 30.5 °C at a rate of 5.3 °C per hour. Behavioral responses were continuously monitored for 90 minutes, and fish mortality was recorded. The results of the studies demonstrated the high efficacy of rutacirin in treating acute heat stress in sterlet. Its preventive use, under critical environmental temperatures, reduced destructive behavioral symptoms and fish mortality.

**Keywords:** sturgeon, starlet, acute heat stress, rutacirin, clinical signs, survival

Aquaculture is currently a dynamically developing sector of the agro-industrial complex, demonstrating significant potential for sustainable development and meeting the growing public demand for fish products. Sterlet, as one of the fish species widely farmed in aquaculture, possesses a number of characteristics that make it attractive for farming (early sexual maturation, short interspawning cycle, high growth rate, etc.). Furthermore, controlled sterlet farming allows for the growing demand for delicacy products such as meat and caviar, which are highly profitable and enjoy significant demand on the global market. An additional advantage is that sterlet is an important subject for breeding research aimed at creating interspecific and intergeneric hybrids.

In particular, the sterlet-beluga hybrid, known as sterbel, exhibits genetic advantages that manifest themselves in significantly increased viability and accelerated growth of hybrid individuals. This not only intensifies reproduction processes but also produces high-quality commercial products in a shorter timeframe, making this hybrid promising for industrial aquaculture production [1—5].

Global warming is a critical issue with complex and multifactorial effects on the aquaculture industry. Since the key driver of global warming is changes in

aquatic temperature, this significantly affects the physiological state of poikilothermic organisms, including fish. Even minor deviations from optimal temperature parameters can trigger a cascade of pathological reactions leading to the development of heat stress in fish, which manifests itself as increased cortisol levels, a decreased immune response, metabolic disturbances and other negative consequences for the body. Heat stress can also cause systemic intestinal damage, suppression of the antioxidant system, decreased digestive enzyme activity and reduced tissue regenerative capacity. These pathological processes significantly affect the survival and productivity of fish populations [6—10].

In aquaculture, maintaining a temperature between 20 and 22 °C is essential for optimal conditions during sterlet rearing. It should be noted that the critical temperature for juveniles is 30 °C. Exceeding this threshold can lead to death, requiring prompt intervention to prevent mass mortality of this fish species [11—13].

Given the above, the design of pharmacological agents, the mechanism of action of which will increase fish resistance to elevated aquatic temperatures is a relevant area of veterinary science.

As part of research in this area, the Department of Pharmacology of Krasnodar Veterinary Research

Institute has completed a comprehensive pharmaceutical design project for the drug rutacirin.

The research objective was to study the effect of rutacirin on the survival and clinical status of sterlet exposed to acute heat stress.

### **MATERIAL AND METHODS**

The study involved the drug rutacirin, which contains the following components: taurine — 38 %; rutoside — 30 %; L-theanine — 20 %; ethylmethylhydroxypyridine succinate — 12 %.

The experimental research was conducted in two stages.

The first stage was conducted at the watershed complex of Adygea Sturgeon Farm, where 240 sterlets (*Acipenser ruthenus*), weighing between 1.4 and 1.8 kg, were selected using the paired analog method and divided into two groups of 120 individuals each (experimental and control). The sterlets in the experimental group received feed supplemented with rutacirin at a concentration of 4 % of their total body weight,

providing a daily dose of 1.2 grams of the drug per kg of fish mass. The control group received the same feed without the drug. This feeding regimen was maintained for two months.

The second stage, specifically simulating acute heat stress in sterlets, was conducted at the aquaculture complex of Kuban State Agrarian University. For this purpose, after the two-month period of the first stage, six fish were selected from each group and, after transport, placed into a recirculating aquaculture system. Afterwards, in order to reduce the stress effects of transportation and adapt to new conditions, the fish were acclimatized for a week in water with a temperature of 20–22 °C, a pH level of 7.3–7.5, and an oxygen concentration of 7–7.5 mg/L.

Acute heat stress was simulated in 100-liter aquariums with a water surface area of 0.23 m<sup>2</sup>, equipped with temperature and aeration control systems. Two sterlets were placed into each aquarium at a time — one from the experimental group “E” and one from the control group “C” (Fig. 1).



**Fig. 1.** Sterlet placed into an aquarium to simulate acute heat stress

The water temperature in the aquarium was gradually increased from the optimal 22 °C to the critical 30 °C at a rate of 5.3 °C per hour. The fish were exposed to these conditions for 1.5 hours, allowing to assess their survival and behavioral responses to extreme temperatures.

The condition of the sterlet was recorded at 10-minute intervals using a specially developed assessment scale, which included signs of typical benthic behavior (swimming quietly on the bottom, lying on the bottom) as well as clinical signs of heat stress (increased respiratory rate, surfacing, thrashing/rushing around, impaired body position control, active mucus secretion,

clonic and tonic convulsions). Cessation of active gill cover activity was considered an indicator of mortality.

For further analysis, each clinical symptom was coded binary (“1”, if present, and “0”, if absent), followed by a comparison of the average integral indicators between the experimental and control groups. Table 1 lists the clinical signs of heat stress in sterlet and their corresponding codes.

### **STUDY RESULTS**

At the experiment onset, the initial dissolved oxygen level in the aquariums was in the range of 60–63 % saturation, equivalent to a concentration of 5.1–

5.4 mg/L at a temperature of 22 °C. For sturgeon species, the minimum acceptable dissolved oxygen level is 6.0 mg/L, and saturation values below 60 % indicate poor aquatic quality and a slow rate of oxidation processes. Sterlet, a species highly sensitive to oxygen deficiency, demonstrates optimal growth at saturation levels of 70—85 %, and the critical oxygen saturation threshold for this species is considered to be below 40 %. Consequently, in our studies, the baseline oxygen level during the heat stress simulation was already at the limit of the acceptable range, placing additional pressure on the adaptive mechanisms of the sterlet. It is important to note that oxygen solubility decreases

with increasing water temperature: with temperatures rising from 22 to 30 °C, the equilibrium oxygen content decreases by 15—20 %. This creates additional limitations on oxygen availability during heat stress, especially when temperatures reach 30 °C. The combination of initial hypoxic conditions with subsequent increase in water temperature increases the demands on the fish's oxygen transport system and promotes the development of functional hypoxia, consistent with the concept of oxygen-limited thermotolerance in aquatic ectotherms. Table 2 presents a summary of detailed observation protocols for the survival and behavioral responses of sterlet under experimental heat stress.

**Table 1**

*Assessed clinical signs of heat stress in sterlet and their code designations*

| Clinical signs                          | Code designations |
|-----------------------------------------|-------------------|
| Floats quietly on the bottom            | FQB               |
| Lies on the bottom                      | LOB               |
| Increased respiratory rate              | IRR               |
| Floating, thrashing                     | FT                |
| Loss of body position control           | LBPC              |
| Active mucus secretion                  | AMS               |
| Clonic seizures                         | CS                |
| Tonic seizures                          | TS                |
| Cessation of opercular activity (death) | SOA               |

The key indicator of rutacirin efficacy was sterlet survival under acute heat stress. Thus, the conducted studies showed that fish mortality in the control group began in 70 minutes (control point 8, at a temperature of ~29.1 °C), with 5 of 6 individuals (83.3 %) having died by the end of heating (in 90 minutes). In the experimental group, mortality was recorded in 1 of 6 individuals (16.7 %), which occurred at control point 10 (90 minutes, at a temperature of ~30.5 °C).

The dynamics of clinical indicators demonstrated the positive effect of rutacirin on the adaptation response of sterlet in conditions of critically high aquatic temperatures.

Initially (point 1, time 0:00, water temperature ~22 °C), the condition of the fish in both groups was similar, as evidenced by high and comparable totals of normal symptoms (9 and 8, respectively). However, already at the initial stage, one individual from the control group showed initial signs of stress in the form of

mucus hypersecretion. Subsequently, as the water temperature increased to ~25.5 °C (point 3, time interval 0:20), pathological manifestations of heat stress intensified in all sterlets. However, this process was more pronounced in the control group: the total number of pathological signs was 14 versus 9 in the experimental group.

The significant difference in the dynamics of stress responses became particularly evident between minutes 30 and 60 of the experiment (points 4—7, temperature ~26.8—28.5 °C).

During this period, the sterlets from the control group exhibited a sharp increase in pathological behavioral signs, including increased thrashing (in 6 individuals) and disorientation (in 5 individuals), as well as the onset and intensification of seizures. The total number of pathological symptoms reached 27—31, with only one control fish remaining floating on the aquarium bottom by the 60<sup>th</sup> minute.

Table 2

Clinical observation data on survival and behavioral responses of sterlet during an acute heat stress simulation

| EXPERIMENTAL CONDITIONS   |      |   |      |   |       |   |       |   |       |    |       |    |       |    |       |    |       |    |       |    |
|---------------------------|------|---|------|---|-------|---|-------|---|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
| Control point No.         | 1    |   | 2    |   | 3     |   | 4     |   | 5     |    | 6     |    | 7     |    | 8     |    | 9     |    | 10    |    |
| Time, h: min              | 0:00 |   | 0:10 |   | 0:20  |   | 0:30  |   | 0:40  |    | 0:50  |    | 1:00  |    | 1:10  |    | 1:20  |    | 1:30  |    |
| Oxygen, %                 | 63.0 |   | 62.2 |   | 62.2  |   | 62.7  |   | 62.5  |    | 63.0  |    | 62.7  |    | 61.3  |    | 60.8  |    | 60.3  |    |
| Temperature, °C           | 22   |   | 24   |   | ~25.5 |   | ~26.8 |   | ~27.5 |    | ~28.1 |    | ~28.5 |    | ~29.1 |    | ~29.9 |    | ~30.5 |    |
| CLINICAL SIGNS            |      |   |      |   |       |   |       |   |       |    |       |    |       |    |       |    |       |    |       |    |
| Groups                    | C    | E | C    | E | C     | E | C     | E | C     | E  | C     | E  | C     | E  | C     | E  | C     | E  | C     | E  |
| FQB                       | 6    | 6 | 3    | 4 | 2     | 3 | 0     | 0 | 0     | 1  | 0     | 0  | 0     | 0  | 0     | 0  | 0     | 0  | 0     | 0  |
| LOB                       | 3    | 2 | 5    | 4 | 2     | 4 | 4     | 5 | 5     | 4  | 2     | 3  | 1     | 4  | 1     | 4  | 1     | 4  | 0     | 4  |
| IRR                       | 0    | 0 | 5    | 2 | 6     | 4 | 6     | 3 | 6     | 3  | 6     | 1  | 6     | 2  | 6     | 3  | 6     | 4  | 3     | 5  |
| FT                        | 0    | 0 | 0    | 0 | 3     | 2 | 5     | 1 | 6     | 3  | 4     | 2  | 5     | 3  | 5     | 2  | 4     | 0  | 0     | 0  |
| LBPC                      | 0    | 0 | 0    | 0 | 1     | 0 | 2     | 0 | 3     | 0  | 3     | 0  | 5     | 0  | 6     | 1  | 6     | 1  | 0     | 1  |
| AMS                       | 0    | 1 | 1    | 1 | 3     | 2 | 4     | 3 | 5     | 4  | 6     | 6  | 6     | 6  | 6     | 6  | 6     | 6  | 2     | 5  |
| CS                        | 0    | 0 | 0    | 0 | 1     | 0 | 2     | 0 | 6     | 1  | 5     | 3  | 5     | 2  | 2     | 1  | 0     | 0  | 0     | 0  |
| TS                        | 0    | 0 | 0    | 0 | 0     | 1 | 0     | 1 | 1     | 1  | 2     | 1  | 4     | 1  | 3     | 0  | 1     | 1  | 0     | 0  |
| SOA                       | 0    | 0 | 0    | 0 | 0     | 0 | 0     | 0 | 0     | 0  | 0     | 0  | 0     | 0  | 1     | 0  | 2     | 0  | 2     | 1  |
| CUMULATIVE CLINICAL SIGNS |      |   |      |   |       |   |       |   |       |    |       |    |       |    |       |    |       |    |       |    |
| Normal                    | 9    | 8 | 8    | 8 | 4     | 7 | 4     | 5 | 5     | 5  | 2     | 3  | 1     | 4  | 1     | 4  | 1     | 4  | 0     | 4  |
| Patholog.                 | 0    | 1 | 6    | 3 | 14    | 9 | 19    | 8 | 27    | 12 | 26    | 13 | 31    | 14 | 29    | 13 | 25    | 12 | 7     | 12 |

**Note.** “C” — sterlet from the control group; “E” — sterlet from the experimental group

In the experimental group of fish that received the drug rutacirin as a preventative measure, the response to heat stress during this critical period was characterized by milder symptoms. Pathological manifestations were present, but their severity was approximately half that of the control group (8—14 symptoms). The experimental group also showed a significantly lower incidence or complete absence of severe neurological disorders, such as disorientation, which were common in the control group.

Overall, in the sterlet subjected to preventative pharmacological adaptation, the ability to perform basic normal behavior, expressed as lying or swimming on the bottom, was retained in 4—5 individuals, while in the control group, this rate ranged from 1 to 4 individuals.

From the 70<sup>th</sup> minute of the experiment (control point 8, temperature ~29.1 °C), differences between the control and experimental groups became more pronounced due to mortality in the control individuals. The first deaths were recorded at this point, and by the 90<sup>th</sup> minute, only one control fish survived. The pre-mortem state of the control group was characterized by an extreme degree of decompensation, manifested by a high level of pathological symptoms and a complete absence of normal behavior. In the experimental group, mortality was recorded in one individual (by the 90<sup>th</sup> minute at a temperature of ~30.5 °C).

The analysis of behavioral activity in the experimental group revealed that these fish demonstrated a relatively high level of organization: 4 of 6 individuals retained the ability to assume a horizontal position

on the aquarium bottom, and the total index of pathological reactions remained within moderate values (12). This indicates ongoing adaptation and maintenance of the functional activity of physiological systems, which contrasts with the collapse observed in the control group.

Thus, the results of the study demonstrate the high pharmacological efficacy of rutacirin in enhancing the resistance of sterlet to thermal stress. The drug supported vital functions and maintained neural regulation, contributing to the survival of 83.3 % of the experimental fish under critical temperature conditions, while a similar percentage of the control fish died. The drug's pharmacological effect was demonstrated by suppressing the most destructive symptoms of stress (thrashing, disorientation and convulsions), while simultaneously supporting energy-saving forms of behavior. This multimodal activity classifies rutacirin as an effective adaptogen, promising for use in aquaculture to enhance fish resistance to elevated ambient temperatures.

## CONCLUSION

According to scientific research, the upper lethal temperature threshold for juvenile sterlet (*Acipenser ruthenus*) reared in aquaculture is 32.8 °C. This indicator was established experimentally using the critical thermal maximum (CTM) method by heating water at a rate of 9 °C per hour until the complete cessation of movement of the gill covers, which precedes death [14–16].

In our study, lethality in the control fish was recorded at temperatures of 29–31 °C, which can be explained by the combined effects of acute experimental factors. For example, the relatively high water heating rate (5.3 °C per hour) limited the activation of adaptive mechanisms characteristic of chronic heat stress. Hypoxia was a key contributing factor, as an increase in temperature to 30.5 °C was accompanied by a decrease in dissolved oxygen content to 60 %. This, coupled with sharply increased metabolic demands, led to the development of acute respiratory failure. Therefore, the more rapid lethality in sterlet in our experiments may be due to a combination of factors, including thermal injury and hypoxia.

In accordance with the stated objective, the results of the experimental studies demonstrated the high efficacy of the preventive use of rutacirin in simulating acute heat stress in sterlet. The drug demonstrated pronounced adaptogenic properties, as evidenced by a significant reduction in destructive behavioral symptoms, such as spatial orientation disorders and convul-

sive reactions. Furthermore, rutacirin optimized metabolic processes aimed at conserving the body's energy resources. The use of this drug reduced fish mortality by 66.6 %, demonstrating its high antihypoxic and stress-protective activity.

Thus, rutacirin is an effective adaptogenic agent that optimizes the body's response to extreme temperatures. These data allow to recommend its widespread use in aquaculture to reduce losses associated with heat stress, which is essential for improving the productivity and sustainability of fish farms in the face of climate change.

## REFERENCES

1. Matishov G. G. Innovative biotechnology for obtaining environmentally friendly aquaculture products in a modular recirculating aquaculture system / G. G. Matishov, E. N. Ponomareva, A. V. Kazarnikova [et al.] // *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Severo-Kavkazskiy region. Seriya: Estestvennye nauki* (News of higher educational institutions. North Caucasus region. Series: Natural sciences). — 2016. — No. 3 (191). — P. 41–48.
2. Basonov O. A. Features of growth and development of sturgeons and their hybrid forms under industrial conditions / O. A. Basonov, A. V. Sudakova // *Agrarnyy nauchnyy zhurnal* (Agrarian scientific journal). — 2023. — No. 5. — P. 62–66. — DOI 10.28983/asj.y2023i5pp62-66.
3. Danilova E. A. Reproductive performance of sterlet and Siberian sturgeon reared in aquaculture and in natural waters / E. A. Danilova, A. P. Vorobyev, I. O. Zvezda [et al.] // *Rybovodstvo i rybnoe khozyaystvo* (Fish farming and fisheries). — 2023. — Vol. 17, No. 4 (207). — P. 245–255. — DOI 10.33920/sel-09—2304—03.
4. Nasyrova L. Sh. Caviar productivity of sterbel — a hybrid of sterlet and beluga / L. Sh. Nasyrova, S. B. Podushka // *Rybnoe khozyaystvo* (Fisheries). — 2017. — No. 2. — P. 80–84.
5. Astafyeva S. S. Physiological state of the sterlet × beluga hybrid (*Acipenser ruthenus* × *Husohuso*) reared in the ecological conditions of the Volga delta / S. S. Astafyeva, A. R. Lozovskiy // *Rybovodstvo i rybnoe khozyaystvo* (Fish farming and fisheries). — 2020. — No. 12 (179). — P. 41–52. — DOI 10.33920/sel-12—2010—04.
6. Zhilina I. Yu. Effect of climate change on global food security / I. Yu. Zhilina // *Ekonomicheskie i sotsialnye problemy Rossii* (Economic and social problems of Russia). — 2023. — No. 1 (53). — P. 166–189. — DOI 10.31249/espr/2023.01.09.
7. Parkhomenko S. A. Effect of the drug rutacirin on the blood biochemical indicators of sturgeon fish under conditions of increasing water temperature / S. A. Parkhomenko, E. V. Kuzminova, A. A. Abramov [et al.] // *Veterinariya i kormlenie* (Veterinary Science and Feeding). — 2026. — No. 1. — P. 104–107. — DOI 10.30917/A1814-9588-2026-1-23.

8. *Pisarenko A. V.* Heat resistance of different species of commercial aquaculture fish / A. V. Pisarenko, N. B. Pisarenko // *Dostizheniya nauki i tekhniki APK (Achievements of Science and Technology in the AIC)*. — 2024. — Vol. 38, No. 9. — P. 82—94. — DOI 10.53859/02352451\_2024\_38\_9\_82.
9. *Egorova V. I.* Effect of water temperature on the structure of metabolic energy expenditure in fish / V. I. Egorova, E. V. Sveshnikova, V. V. Naumova [et al.] // *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khozyaystvo (Bulletin of Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries)*. — 2019. — No. 4. — P. 110—116. — DOI 10.24143/2073—5529—2019—4—110—115.
10. *Volkova A. A.* Biomarkers of temperature stress and indicators of whitefish welfare in aquaculture / A. A. Volkova, A. G. Koroleva, V. M. Yakhnenko [et al.] // *Systems Biology and Bioinformatics (SBB-2023): Abstracts of the 14<sup>th</sup> International School of Young Scientists, Novosibirsk, May 22—26, 2023*. — Novosibirsk: Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2023. — P. 6. — DOI 10.18699/SBB-2023—06.
11. *Ebbesson L. O.E.* Thermal stress in Atlantic salmon: Behavioural and physiological responses / L.O.E. Ebbesson, S.D. McCormick, S. O. Stefansson [et al.] // *Journal of Fish Biology*. — 2011. — Vol. 78, no. 5. — P. 1389—1405. — DOI: 10.1111/j.1095—8649.2011.02945.x.
12. *Ostroumova I. N.* Effect of elevated temperature on the physiological state of whitefish (*Coregonidae*) during their rearing in aquaculture / I. N. Ostroumova, V. V. Kostyukov, A. A. Lyutikov [et al.] // *Rybnoe khozyaystvo (Fisheries)*. — 2022. — No. 1. — P. 69—74. — DOI 10.37663/0131-6184-2022-1-69-74.
13. *Ponomareva E. N.* Features of rearing of various hybrid forms of sturgeon fish species / E. N. Ponomareva, A. V. Kovaleva, M. V. Kovalenko [et al.] // *Nauka Yuga Rossii (Science of the South of Russia)*. — 2019. — Vol. 15, No. 3. — P. 81—88. — DOI 10.7868/S25000640190309.
14. *Stavrakidis Zachou O.* A bioenergetics approach to modelling tolerance limits under acute thermal stress in farmed finfish / O. Stavrakidis Zachou, N. Papandroulakis, K. Lika // *Frontiers in Marine Science*. — 2023. — Vol. 10. — Art. 1173358. — DOI: 10.3389/fmars.2023.1173358.
15. *Golovanov V. K.* Temperature optimum and upper temperature limit of vital activity of sturgeon fish species / V. K. Golovanov, I. L. Golovanova // *Trudy VNIRO (Proceedings of ARRIF&O)*. — 2016. — Vol. 159. — P. 102—111.
16. *Golovanov V. K.* Thermoselection and thermotolerance of juvenile sterlet *Acipenser ruthenus* L. reared under different conditions / V. K. Golovanov, Yu.V. Gerasimov, D. S. Kapshay, O. L. Vasyura // *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khozyaystvo (Bulletin of Astrakhan State Technical University. Series: Fisheries)*. — 2012. — No. 1. — P. 45—52.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**S. A. Parkhomenko** — Postgraduate Student of the Department of Pharmacology;

**E. V. Kuzminova** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Scientific Associate of the Department of Pharmacology;

**M. P. Semenenko** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology.

The article was submitted 03.08.2026.

# СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

Научная статья

УДК 636.034:636.087

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.44.31.007

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *ENTEROCOCCUS* *FAECIUM* И ХЕЛАТНОГО ЦИНКА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ МОРФОБИОХИМИЧЕСКОГО СТАТУСА КРОВИ ТЕЛЯТ

Андрей Викторович Филатов<sup>\*,\*\*✉</sup>, Елизавета Сергеевна Соболева<sup>\*</sup>,  
Семен Викторович Николаев<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Вятский государственный агротехнологический университет, Киров, Россия, fav6819@yandex.ru✉

<sup>\*\*</sup>Институт агробиотехнологий имени А. В. Журавского

Коми научного центра УрО РАН, Сыктывкар, Россия

**Аннотация.** Целью настоящей работы являлась оценка влияния новых пробиотических средств на основе штамма *Enterococcus faecium* с различными наполнителями, а также кормовой добавки, содержащей хелатный комплекс цинка, на морфологические и биохимические показатели крови телят в первый месяц жизни. Эксперимент проведен в условиях СПК ПЗ «Новый» Кировской области на 40 телятах-аналогах голштинской породы, разделенных на 4 группы ( $n = 10$ ). Животные контрольной группы получали основной рацион (молоко); телята из первой опытной группы — ежедневно 10 г добавки «Виздта цинк»; второй опытной группы — 3 г пробиотика (*E. faecium*, не менее  $10^7$  КОЕ) с наполнителем лактозой; третьей опытной группы — 3 г пробиотика (*E. faecium*, не менее  $10^7$  КОЕ) с наполнителем на основе хелатного цинка. В конце периода наблюдения у телят месячного возраста проводили забор крови из яремной вены. Гематологические показатели определяли на анализаторе Abacus junior V, биохимические — на анализаторе iMagic. Установлено, что содержание гемоглобина и эритроцитов во всех группах находилось в пределах физиологической нормы и не имело достоверных межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ). Применение добавок способствовало увеличению количества лейкоцитов: во второй группе — на 10,18 % ( $p \leq 0,05$ ), в третьей — на 18,70 % ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с контролем, при сохранении показателей в пределах референсных значений. В сыворотке крови опытных телят отмечено достоверное повышение уровня общего белка (на 5,62—8,44 %,  $p \leq 0,05$ ) преимущественно за счет альбуминовой фракции (на 8,11—11,46 %,  $p \leq 0,05$ ). Концентрация глюкозы в опытных группах была ниже контроля на 15,89—23,73 % ( $p \leq 0,05$ —0,01), опускаясь ниже физиологической нормы. Активность щелочной фосфатазы у всех животных превышала верхнюю границу нормы, причем в третьей опытной группе данный показатель был выше контроля на 52,87 % ( $p \leq 0,05$ ). Активность АлАТ снизилась во всех опытных группах (на 18,65—34,12 %,  $p \leq 0,05$ —0,001), активность АсАТ — только в третьей группе (на 21,80 %,  $p \leq 0,001$ ). Коэффициент де Ритиса в опытных группах был достоверно выше контроля на 17,21—26,74 % ( $p \leq 0,05$ ). Содержание кальция в третьей группе превышало контроль на 8,24 % ( $p \leq 0,05$ ), уровень фосфора имел тенденцию к повышению во всех опытных группах. Концентрация цинка в сыворотке крови опытных телят была выше на 8,16—39,72 %, однако различия не достигли статистической значимости ( $p > 0,05$ ). Таким образом, включение в рацион новорожденных телят пробиотика на основе *Enterococcus faecium* и хелатного цинка способствует оптимизации белкового обмена и активации энергетического метаболизма, направленного на обеспечение интенсивного роста. Полученные данные обосновывают перспективность использования данных добавок в системе выращивания здорового молодняка крупного рогатого скота.

**Ключевые слова:** телята, морфобиохимические показатели крови, пробиотический штамм *Enterococcus faecium*, добавка «Виздта цинк»

Промышленное ведение молочного скотоводства сопровождается изменением условий содержания всех технологических групп крупного рогатого скота и их изоляцией от естественной среды обитания. Изменяющиеся параметры воздушной среды, состав и качество кормовых средств и питьевой воды, технологический ритм производства, плотность размещения животных оказывают влияние на жизнеспособность, поведение и продуктивность скота.

В таких условиях наиболее уязвимым к неблагоприятным факторам оказывается молодняк первых дней жизни. В связи с этим определенную практическую значимость приобретают совершенствование существующих и разработка новых подходов к выращиванию новорожденных телят, основанных на биологических закономерностях организма [1, 2].

В практике животноводства при выращивании телят широкое распространение получило применение биологически активных веществ. Особый интерес в этом ряду представляют пробиотики и хелатные формы микроэлементов, которые позволяют корректировать нежелательные изменения микробиома, обменных процессов и иммунного статуса. Это способствует улучшению функционального состояния организма и обеспечивает продуктивное здоровье молодняка [3, 4].

Однако научное обоснование применения новых пробиотиков и хелатных форм микроэлементов должно опираться не только на динамику продуктивных показателей, но и на результаты оценки морфологических и биохимических параметров крови животных, что определяет актуальность комплексных исследований в данном направлении.

Цель работы — изучить влияние новых пробиотических средств на основе штамма *Enterococcus faecium* с различными наполнителями, а также кормовой добавки с хелатным цинком на морфобиохимические показатели крови телят.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены в СПК ПЗ «Новый» Кировской области на новорожденных телятах голштинской породы. Изучали эффективность применения нового пробиотика на основе штамма *Enterococcus faecium*, выделенного из кишечника белой куропатки (*Lagopus lagopus*), и кормовой добавки «Виздта цинк», содержащей хелатный комплекс этилендиаминтетрацетата цинка (содержание цинка 795—905 г/кг).

Для проведения эксперимента по принципу аналогов были сформированы четыре группы телят (по 10 голов в каждой): контрольная и три опытные. В течение первого месяца жизни животные получали исследуемые фармакологические средства ежедневно во время вечернего кормления: первая опытная группа — 10 г кормовой добавки «Виздта цинк»; вторая опытная группа — 3 г пробиотика на основе штамма *Enterococcus faecium* (не менее  $10^7$  КОЕ) с наполнителем лактозой; третья опытная группа — 3 г пробиотика на основе штамма *Enterococcus faecium* (не менее  $10^7$  КОЕ) с наполнителем — хелатным комплексом этилендиаминтетрацетата цинка (содержание цинка 795—905 г/кг); контрольная группа пробиотических и минеральных добавок не получала.

По окончании эксперимента у телят всех групп производили забор крови из яремной вены. В пробах цельной крови определяли концентрацию гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов с использованием гематологического анализатора Abacus junior V. В сыворотке крови на автоматическом биохимическом анализаторе серии iMagic с применением стандартных реагентов исследовали следующие показатели: содержание общего белка, альбуминов, глобулинов, глюкозы; активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы; концентрацию кальция, фосфора и цинка. На основании полученных данных рассчитывали коэффициент де Ритиса. Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ морфологических показателей периферической крови месячных телят контрольной и трех опытных групп показал, что значения всех исследованных параметров находятся в референсном диапазоне. Уровень гемоглобина у животных опытных групп варьировал в диапазоне от 96,44 до 100,10 г/л, не демонстрируя статистически значимых отклонений от контрольных значений ( $p > 0,05$ ). Аналогичная картина наблюдалась для количества эритроцитов, значения которого во всех группах ( $5,40—5,74 \cdot 10^{12}/л$ ) соответствовали физиологическому интервалу и не имели достоверных межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ). Данные результаты свидетельствуют о положительном влиянии пробиотических добавок на основе штамма *Enterococcus faecium* с разными наполнителями и кормовой добавки, содержащий хе-

латный комплекс этилендиаминтетраацетат цинка, на кислородтранспортную функцию крови и процессы эритропоэза.

В отличие от стабильных показателей красной крови, изменения были отмечены в лейкоцитарном звене. В опытных группах регистрировалось увеличение количества лейкоцитов в крови телят по

сравнению с интактными животными. Так, количество клеток белой крови в первой группе было выше на 4,45 %, во второй — на 10,18 % ( $p \leq 0,05$ ) и в третьей — на 18,70 % ( $p \leq 0,01$ ) по сравнению с контрольной группой. При этом все абсолютные значения оставались в пределах физиологической нормы ( $4-11 \cdot 10^9/\text{л}$ ).

Таблица 1

Общий анализ крови телят в первый месяц жизни ( $n = 10$ )

| Показатель                     | Группа           |                  |                   |                      | Референсные значения |
|--------------------------------|------------------|------------------|-------------------|----------------------|----------------------|
|                                | контрольная      | 1 опытная        | 2 опытная         | 3 опытная            |                      |
| Гемоглобин, г/л                | $99,10 \pm 7,96$ | $96,44 \pm 2,79$ | $98,33 \pm 2,63$  | $100,10 \pm 4,01$    | 90—130               |
| Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$ | $5,40 \pm 0,15$  | $5,74 \pm 0,32$  | $5,49 \pm 0,15$   | $5,69 \pm 0,29$      | 5,0—7,0              |
| Лейкоциты, $10^9/\text{л}$     | $7,86 \pm 0,20$  | $8,21 \pm 0,20$  | $8,66 \pm 0,24^*$ | $9,33 \pm 0,37^{**}$ | 4—11                 |

\*  $p \leq 0,05$

\*\*  $p \leq 0,01$  — по отношению к контрольной группе

Результаты биохимического исследования сыворотки крови телят в первый месяц жизни выявили ряд статистически значимых изменений под влиянием применяемых кормовых добавок. Большинство показателей оставались в пределах физиологической нормы, однако наблюдались выраженные сдвиги в белковом, углеводном обмене и активности ферментов.

Уровень общего белка в сыворотке крови телят опытных групп был достоверно выше, чем у их контрольных сверстников. Так, в первой опытной группе его содержание было выше на 6,11 % ( $p \leq 0,05$ ), во второй — на 8,44 % ( $p \leq 0,05$ ) и в третьей — на 5,62 % ( $p \leq 0,05$ ) по отношению к контрольной группе. Увеличение концентрации сывороточного белка происходило преимущественно за счет альбуминовой фракции, основной функцией которой является транспортная. Ее уровень статистически значимо повысился в первой, второй и третьей опытных группах — на 11,39 % ( $p \leq 0,05$ ), 11,46 % ( $p \leq 0,05$ ) и 8,11 % ( $p \leq 0,05$ ) соответственно. Концентрация глобулинов также имела тенденцию к увеличению, однако различия с контрольной группой составляли лишь 1,83—5,99 % и не достигли уровня статистической значимости ( $p > 0,05$ ).

Содержание глюкозы в сыворотке крови у телят контрольной группы составило  $4,72 \pm 0,26$  ммоль/л, что соответствовало физиологической норме для

данного возрастного периода. У телят первой, второй и третьей опытных групп данный показатель был достоверно ниже — на 20,13 % ( $p \leq 0,01$ ), 15,89 % ( $p \leq 0,05$ ) и 23,73 % ( $p \leq 0,01$ ) соответственно — по сравнению с интактной группой. При этом у животных опытных групп концентрация глюкозы в сыворотке крови находилась ниже нижней границы нормы, установленной для данного возраста [5, 6].

Выявленные различия в активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) у телят опытных групп по сравнению с контролем указывают на модуляцию процессов трансаминирования под влиянием применяемых добавок. Активность АлАТ достоверно снизилась во всех опытных группах. Наиболее выраженное снижение было зафиксировано в третьей опытной группе — на 34,12 % ( $p \leq 0,001$ ). В первой и второй опытных группах активность АлАТ также была статистически значимо ниже контрольных значений — на 24,79 и 18,65 % соответственно ( $p \leq 0,05$ ). Активность АсАТ у телят контрольной группы была выше, чем в опытных группах. Однако статистически значимое снижение активности данного фермента отмечено только в третьей опытной группе — на 21,80 % ( $p \leq 0,001$ ). В первой и второй опытных группах различия с контролем не были достоверными ( $p > 0,05$ ) и составили

5,63 и 5,66 % соответственно. Согласованное снижение активности АлАТ и АсАТ, при сохранении абсолютных значений в пределах физиологической нормы может свидетельствовать о положительном

влиянии использованных добавок на метаболический статус печени, указывая на отсутствие признаков патологического катаболизма, связанного с повреждением тканей.

Таблица 2

Биохимические показатели крови телят в первый месяц жизни ( $n = 10$ )

| Показатель               | Группа         |                 |                 |                 | Референсные значения |
|--------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------------|
|                          | контрольная    | 1 опытная       | 2 опытная       | 3 опытная       |                      |
| Общий белок, г/л         | 61,38 ± 1,34   | 65,13 ± 1,13*   | 66,56 ± 1,51*   | 64,83 ± 0,94*   | 50,7—67,7            |
| Альбумины, г/л           | 27,48 ± 0,87   | 30,61 ± 1,01*   | 30,63 ± 1,28*   | 29,71 ± 0,56*   | 22—32                |
| Глобулины, г/л           | 33,90 ± 1,15   | 34,52 ± 0,87    | 35,93 ± 1,02    | 35,12 ± 0,60    | 28—40                |
| Глюкоза, ммоль/л         | 4,72 ± 0,26    | 3,77 ± 0,15**   | 3,97 ± 0,15*    | 3,60 ± 0,23**   | 4,0—5,8              |
| АлАТ, Ед/л               | 13,19 ± 0,98   | 9,92 ± 0,82*    | 10,73 ± 0,73*   | 8,69 ± 0,51***  | 10—25                |
| АсАТ, Ед/л               | 54,92 ± 2,62   | 51,83 ± 2,24    | 51,81 ± 2,21    | 42,95 ± 1,46*** | 21,6—86,4            |
| АсАТ/ АлАТ, ус. ед       | 4,30 ± 0,27    | 5,45 ± 0,38*    | 5,14 ± 0,26*    | 5,04 ± 0,22*    | —                    |
| Щелочная фосфатаза, Ед/л | 385,61 ± 23,44 | 472,43 ± 26,50* | 463,75 ± 25,17* | 589,47 ± 44,32* | 150—300              |
| Кальций, ммоль/л         | 2,55 ± 0,03    | 2,55 ± 0,09     | 2,74 ± 0,12     | 2,76 ± 0,07*    | 1,81—3,41            |
| Фосфор, ммоль/л          | 2,39 ± 0,10    | 2,58 ± 0,11     | 2,58 ± 0,08     | 2,53 ± 0,08     | 1,78—2,24            |
| Цинк, мкмоль/л           | 16,91 ± 2,49   | 18,29 ± 2,28    | 20,27 ± 2,13    | 22,62 ± 2,43    | 12—24                |

\*  $p \leq 0,05$

\*\*  $p \leq 0,01$

\*\*\*  $p \leq 0,001$  — по отношению к контрольной группе

Референсные значения активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови у телят месячного возраста составляют 150—300 Ед/л [5]. В проведенном эксперименте активность данного фермента у всех животных превышала верхнюю границу нормы, варьируя от 385,61 ± 23,44 Ед/л в контрольной группе до 589,47 ± 44,32 Ед/л в третьей опытной группе. При этом наиболее высокие показатели были зафиксированы именно у телят опытных групп. Содержание щелочной фосфатазы в их сыворотке крови было достоверно выше, чем в контроле: в первой группе — на 22,51 % ( $p \leq 0,05$ ), во второй — на 20,26 % ( $p \leq 0,05$ ) и в третьей — на

52,87 % ( $p \leq 0,05$ ). Повышенная активность щелочной фосфатазы у растущих животных является физиологичным явлением и, как правило, коррелирует с интенсивными процессами остеогенеза и общего метаболизма. В научной литературе имеются данные, предлагающие использовать активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови в качестве одного из критериев для прогнозирования темпов прироста живой массы у молодняка крупного и мелкого рогатого скота. Согласно этим исследованиям, животные с высоким ростовым потенциалом демонстрируют и наиболее высокую активность данного фермента [7, 8].

Соотношение активности АЛАТ и АсАТ, известное как коэффициент де Ритиса (КДР) (соотношение АсАТ/АЛАТ), было введено в клиническую практику для дифференциальной диагностики острого вирусного гепатита [9]. Современные данные, однако, расширяют эту парадигму. Поскольку трансаминазы выполняют фундаментальные функции в клеточном метаболизме, колебания их активности, а также результирующего коэффициента, могут служить маркером не только патологических изменений в печени, но и системных метаболических нарушений в организме [10].

В наших исследованиях средние значения коэффициента де Ритиса у телят в эксперименте находились в диапазоне от  $4,30 \pm 0,27$  до  $5,45 \pm 0,38$  условных единиц. Содержание данного коэффициента в первой опытной группе было выше на 26,74 %, во второй — на 19,53 % и в третьей — на 17,21 % по отношению к интактной группе. В нашем случае низкая активность АЛАТ опосредованно приводит к повышению коэффициента де Ритиса. Это, вероятно, обусловлено возрастными особенностями метаболизма телят, и наблюдаемый высокий показатель может рассматриваться как вариант нормы, отражающий активные процессы роста в данном возрасте. Полученные данные следует рассматривать в комплексе, как проявление адаптивного метаболического ответа растущего организма на повышенные энергетические и пластические потребности.

Выявленная триада — снижение уровня глюкозы в сыворотке крови, повышение активности щелочной фосфатазы и увеличение коэффициента де Ритиса — логично взаимосвязана. В данном контексте повышение изучаемого коэффициента теряет патологическую окраску и приобретает четкое физиологическое объяснение.

Преобладание активности АсАТ над АЛАТ отражает усиление процессов глюконеогенеза, необходимого для поддержания энергетического гомеостаза в условиях высокой утилизации глюкозы. АсАТ является ключевым ферментом для метаболизма аминокислот — субстратов для синтеза глюкозы.

Следовательно, повышенный коэффициент де Ритиса у телят опытных групп можно трактовать не как признак гепатоцеллюлярного повреждения, а как биохимический индикатор метаболической адаптации, направленной на покрытие энергозатрат, связанных с интенсивным ростом, о чем говорит высокий уровень щелочной фосфатазы, при ограниченной доступности глюкозы в крови.

Концентрация кальция в сыворотке крови у телят была выше во второй опытной группе на 7,45 % и в третьей — на 8,24 % ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Содержание минерала в первой опытной и интактной группах было идентичным. Во всех группах значения оставались в референсных пределах.

Уровень неорганического фосфора в сыворотке крови у телят во всех исследованных группах превышал верхнюю границу физиологической нормы (1,78—2,24 ммоль/л) [11], находясь в диапазоне от 2,39 до 2,58 ммоль/л. Подобная физиологическая гиперфосфатемия характерна для здорового растущего молодняка, что согласуется с данными литературы [12].

При этом в наших опытах в группах, получавших добавки, концентрация фосфора демонстрировала тенденцию к дальнейшему повышению относительно уже высокого контрольного уровня (2,39 ммоль/л), хотя межгрупповые различия и не достигли статистической значимости ( $p > 0,05$ ). По сравнению с контролем данный показатель был выше на 7,99 % в первой и второй опытных группах и на 5,88 % в третьей опытной.

Содержание цинка в сыворотке крови телят контрольной группы составляло  $16,91 \pm 2,49$  мкмоль/л, что было на 8,16, 9,87 и 39,72 % ниже по сравнению с показателями первой, второй и третьей опытных групп соответственно. Однако эти различия не достигали порога статистической значимости ( $p > 0,05$ ). Особенно стоит отметить, что телятам второй и третьей опытных групп в рацион вводили добавки, содержащие хелатную форму цинка. Тем не менее, статистически значимого повышения его концентрации в сыворотке крови зафиксировано не было, и все показатели оставались в пределах физиологической нормы. Это, вероятно, является следствием действия гомеостатических механизмов, которые эффективно компенсировали повышенное поступление микроэлемента, поддерживая его стабильную концентрацию в сыворотке крови.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Включение в рацион телят с рождения до первого месяца жизни изучаемых пробиотических добавок на основе штамма *Enterococcus faecium* (с различными наполнителями) и кормовой добавки, содержащей хелатный комплекс цинка на основе ЭДТА, оказывает положительное влияние на морфологические и биохимические показатели крови. Их применение способствует поддержанию физиологического уровня кислородтранспортной функ-

ции крови и процессов эритропоэза. Кроме того, добавки приводят к повышению уровня общего белка и его альбуминовой фракции, что свидетельствует об усилении белково-синтетической функции печени и улучшении транспортного резерва организма. Также они поддерживают энергетический баланс в условиях высокой утилизации глюкозы на фоне интенсивного роста костной и других тканей, что обеспечивается физиологическим усилением процессов глюконеогенеза. Оптимизация метаболического статуса, достигнутая с помощью данных добавок, может способствовать более эффективному использованию питательных веществ корма и является основой для интенсивного роста и развития молодняка в ранний постнатальный период.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Научные основы выращивания ремонтного молодняка крупного рогатого скота / Д. М. Богданович, В. Н. Тимошенко, А. А. Музыка [и др.]; РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». — Жодино: Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству, 2022. — 303 с. — ISBN 978-985-6895-32-9. — EDN OWJKRX.
2. Филатов А. В. Эффективность применения кормовой добавки Профорт коровам в период раздоя / А. В. Филатов, Н. А. Шемуранова, А. Ф. Сапожников // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. — 2019. — Т. 20, № 5. — С. 478—487. — DOI 10.30766/2072-9081.2019.20.5.478-487. — EDN ZQXRAY.
3. Аникин С. В. Биохимические показатели крови и динамика живой массы телят при применении пробиотических штаммов *Bacillus subtilis* и *Bacillus megaterium* / С. В. Аникин // Главный зоотехник. — 2025. — № 4(261). — С. 18—27. — DOI 10.33920/sel-03-2504-02. — EDN AZSBVK.
4. Тараканов Б. В. Влияние цикличности использования пробиотика лактоамиловорин на рост и обмен веществ телят-молочников / Б. В. Тараканов, Г. Ф. Нурбаков, Н. В. Бурнышева // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. — 2005. — № 7. — С. 76—80. — EDN: KVXBSL.
5. Рецкий М. И. Метаболические адаптации телят в ранний постнатальный период / М. И. Рецкий, Г. Н. Близначева, С. В. Шабунин // Воронеж: Издательство ВГУ, 2010. 228с.
6. Черницкий А. Е. Методическое пособие по прогнозированию и ранней диагностике респираторных болезней у телят / А. Е. Черницкий, Л. И. Ефанова, А. И. Золотарев, А. Г. Шахов, В. С. Шабунин, М. И. Рецкий // — Воронеж; Истоки, 2013. — 48с.
7. Патент № 2763349 С1 Российская Федерация, МПК А01К 67/02. Способ прогнозирования потенциала роста баранчиков по активности сывороточной щелочной фосфатазы: № 2021103213: заявл. 10.02.2021; опубл. 28.12.2021 / Я. А. Жариков, Л. А. Канева; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». — EDN EUAGVA.
8. Патент № 2784587 С1 Российская Федерация, МПК А01К 67/02. Способ отбора телят с высоким потенциалом прироста живой массы: № 2022120878: заявл. 05.09.2022; опубл. 28.11.2022 / С. В. Николаев; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук». — EDN NAADCT.
9. De Ritis F, Coltorti M, Giusti G. An enzymic test for the diagnosis of viral hepatitis; the transaminase serum activities. Clin Chim Acta. 1957 Feb;2(1):70—4. doi: 10.1016/0009—8981(57)90027-x.
10. Ndrepepa G. De Ritis ratio and cardiovascular disease: evidence and underlying mechanisms. J Lab Precis Med 2023;8:6. DOI: 10.21037/JLPM-22—68.
11. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / [И. П. Кондрахин и др.]; под общ. ред. И. П. Кондрахина. — Москва: КолосС, 2004. — 519с.
12. Ефимова К. А. Динамика клеточных и биохимических показателей крови телят первого месяца жизни в норме и при развитии бронхопневмонии: автореферат дис. ... кандидата биологических наук: 06.02.01; 03.03.01 / Ефимова Ксения Андреевна. — Ставрополь, 2021. — 25 с.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

- А. В. Филатов** — доктор ветеринарных наук, профессор кафедры разведения, кормления и частной зоотехнии, ведущий научный сотрудник;  
**Е. С. Соболева** — магистрант;  
**С. В. Николаев** — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 26.06.2026.

# AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION, DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

Original article  
UDC 636.034:636.087

## ASSESSMENT OF THE EFFICACY OF A NEW PROBIOTIC STRAIN *ENTEROCOCCUS FAECIUM* AND CHELATED ZINC IN THE STUDY OF THE BLOOD MORPHOBIOCHEMICAL INDICATORS OF CALVES

Andrey Viktorovich Filatov<sup>\*,\*\*✉</sup>, Elizaveta Sergeevna Soboleva<sup>\*</sup>, Semen Viktorovich Nikolaev<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Vyatka State Agrotechnological University, Kirov, Russia,

<sup>\*\*</sup>Institute of Agrobiotechnologies named after A. V. Zhuravskiy, Komi Science Centre  
of the Ural Branch of the RAS, Syktyvkar, Russia, fav6819@yandex.ru✉

**Abstract.** The research objective was to assess the effect of new probiotic products based on the strain *Enterococcus faecium* with various fillers, as well as a feed additive containing a chelated zinc complex, on the blood morphological and biochemical indicators of calves during their first month of life. The experiment was conducted under the conditions of the APC (Agricultural Production Cooperative) Breeding Farm “Novyy” (Kirov region) on 40 Holstein calves, selected on the principle of analogues and divided into 4 groups ( $n = 10$ ). The calves of the control group received the basal diet (milk); the calves of the first experimental group received 10 g of the feed additive “Viedta Zinc” daily; the second experimental group received 3 g of probiotic (*E. faecium*, not less than  $10^7$  CFU) with lactose as a filler; the third experimental group received 3 g of the probiotic (*E. faecium*, not less than  $10^7$  CFU) with a chelated zinc-based filler. At the end of the observation period, blood samples were taken from the jugular veins of the one-month-old calves. Hematological indicators were determined using an Abacus junior V analyzer, and biochemical indicators were measured using an iMagic series analyzer. It was found that the hemoglobin and erythrocyte (RBC) levels in all groups were within the physiological norm and showed no significant intergroup differences ( $p > 0.05$ ). The use of the additives contributed to an increase in leukocyte (WBC) count: in the second group — by 10.18 % ( $p \leq 0.05$ ), and in the third — by 18.70 % ( $p \leq 0.01$ ), compared to the control, while the indicators remained within the reference range. In the blood serum of the experimental calves, a significant increase in the level of total protein was noted (by 5.62—8.44 %,  $p \leq 0.05$ ), primarily due to the albumin fraction (by 8.11—11.46 %,  $p \leq 0.05$ ). The glucose concentration in the experimental groups was lower than the control by 15.89—23.73 % ( $p \leq 0.05$ —0.01), falling below the physiological norm. Alkaline phosphatase activity in all animals exceeded the upper limit of the norm, and in the third experimental group, this indicator was by 52.87 % higher than the control ( $p \leq 0.05$ ). ALT activity decreased in all experimental groups (by 18.65—34.12 %,  $p \leq 0.05$ —0.001), while AST activity decreased only in the third group (by 21.80 %,  $p \leq 0.001$ ). The De Ritis ratio in the experimental groups was significantly higher than the control by 17.21—26.74 % ( $p \leq 0.05$ ). The calcium content in the third group exceeded the control by 8.24 % ( $p \leq 0.05$ ), and the phosphorus level tended to increase in all experimental groups. The concentration of zinc in the blood serum of the experimental calves was higher by 8.16—39.72 %; however, the differences did not reach statistical significance ( $p > 0.05$ ). Thus, the inclusion of the probiotic based on *Enterococcus faecium* and chelated zinc in the diet of newborn calves contributes to the optimization of protein metabolism and the activation of energy metabolism aimed at ensuring intensive growth. The obtained data substantiate the prospects of using these additives in the system for rearing healthy young cattle.

**Keywords:** calves, blood morphobiochemical indicators, probiotic strain *Enterococcus faecium*, feed additive “Viedta zinc”

Industrial dairy farming is accompanied by changes in the keeping conditions of all cattle groups and

their isolation from the natural habitat. Changing air parameters, the composition and quality of feed and

drinking water, the production rhythm and keeping density of animals affect the viability, behavior and productivity/yield of livestock. Under these conditions, young animals in the first days of life are most vulnerable to adverse factors.

Therefore, improving existing approaches and developing new ones to rearing newborn calves based on the biological principles of the body are of particular practical importance [1, 2].

The use of biologically active substances in calf rearing has become widespread in animal husbandry practices. Of particular interest in this regard are probiotics and chelated forms of micronutrients, which help correct undesirable changes in the microbiome, metabolic processes and immune status. This helps improve the body's functional state and ensures the productive health of young animals [3, 4].

However, the scientific justification for the use of new probiotics and chelated forms of microelements should be based not only on the dynamics of productive indicators, but also on the results of assessing the blood morphological and biochemical indicators of animals, which determines the relevance of comprehensive research in this area.

The research objective was to study the effects of new probiotics based on the strain *Enterococcus faecium* with various fillers, as well as a feed additive containing chelated zinc, on the blood morphobiochemical indicators of calves.

## MATERIAL AND METHODS

The study was conducted at the APC (Agricultural Production Cooperative) Breeding Farm "Novyy" (Kirov region) on newborn Holstein calves. The study examined the efficacy of a new probiotic based on the strain *Enterococcus faecium* isolated from the intestines of the willow ptarmigan (*Lagopus lagopus*) and the feed additive "Viedta Zinc" containing a chelated zinc complex of ethylenediaminetetraacetate (zinc content of 795—905 g/kg).

To conduct the analog-based experiment, four groups of calves (10 animals each) were formed: a control group and three experimental groups. During the first month of life, the animals received the studied pharmacological agents daily during the evening feeding: the first experimental group received 10 g of the feed additive "Viedta Zinc"; the second experimental group received 3 g of a probiotic based on the strain *Enterococcus faecium* (at least  $10^7$  CFU) with lactose as a filler; the third experimental group received 3 g of a probiotic based on the strain *Enterococcus faecium* (at least  $10^7$  CFU) with a filler of zinc ethylene-

diaminetetraacetate chelate complex (zinc content of 795—905 g/kg); the control group did not receive any probiotic or mineral additives.

At the end of the experiment, the blood was collected from the jugular veins of calves in all groups. Whole blood samples were analyzed for hemoglobin concentration, red blood cell (RBC) and white blood cell (WBC) counts using an Abacus junior V hematology analyzer. Serum was analyzed using an iMag-ic series automated biochemistry analyzer with standard reagents for the following indicators: total protein, albumin, globulin and glucose levels; alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase activity; calcium, phosphorus and zinc concentrations. The de Ritis ratio was calculated using the obtained data. The statistical processing of the experimental data was performed using the Student's t-test.

## STUDY RESULTS

The analysis of morphological indicators in the peripheral blood of the month-old calves from the control and three experimental groups revealed that all indicators were within the reference range. Hemoglobin levels in the animals from the experimental groups ranged from 96.44 to 100.10 g/L, with no statistically significant deviations from the control values ( $p > 0.05$ ). A similar pattern was observed for RBC counts, which in all groups ( $5.40\text{—}5.74 \cdot 10^{12}/\text{L}$ ) were within the physiological range and showed no significant intergroup differences ( $p > 0.05$ ).

These results demonstrate the positive effects of probiotic additives based on the strain *Enterococcus faecium* with various fillers and a feed additive containing zinc chelate complex on blood oxygen transport and erythropoiesis. In contrast to stable RBC counts, changes were noted in the WBC component. In the experimental groups, an increase in the WBC count was recorded in the calves' blood, compared to the intact animals. Thus, the white blood cell count in the first group was by 4.45 % higher, in the second group — by 10.18 % ( $p \leq 0.05$ ), and in the third — by 18.70 % ( $p \leq 0.01$ ), compared to the control group. All absolute values remained within the physiological norm ( $4\text{—}11 \cdot 10^9/\text{L}$ ).

The results of a biochemical study of calf blood serum during the first month of life revealed a number of statistically significant changes affected by the feed additives used. Most indicators remained within physiological norms, but significant shifts in protein and carbohydrate metabolism and enzymatic activity were observed.

**Table 1***Complete blood count of calves during the first month of life (n = 10)*

| Indicator                | Group        |                |                |                | Reference values |
|--------------------------|--------------|----------------|----------------|----------------|------------------|
|                          | control      | experimental 1 | experimental 2 | experimental 3 |                  |
| Hemoglobin, g/L          | 99.10 ± 7.96 | 96.44 ± 2.79   | 98.33 ± 2.63   | 100.10 ± 4.01  | 90—130           |
| RBC, 10 <sup>12</sup> /L | 5.40 ± 0.15  | 5.74 ± 0.32    | 5.49 ± 0.15    | 5.69 ± 0.29    | 5.0—7.0          |
| WBC, 10 <sup>9</sup> /L  | 7.86 ± 0.20  | 8.21 ± 0.20    | 8.66 ± 0.24*   | 9.33 ± 0.37**  | 4—11             |

\*  $p \leq 0.05$ \*\*  $p \leq 0.01$  — relative to the control group

The total serum protein level of the calves in the experimental groups was significantly higher than that of their control peers. In the first experimental group, the level was by 6.11 % higher ( $p \leq 0.05$ ), in the second — by 8.44 % higher ( $p \leq 0.05$ ), and in the third — by 5.62 % higher ( $p \leq 0.05$ ), compared to the control group. The increase in serum protein concentration was primarily due to the albumin fraction, the primary

function of which is transport. Its level increased statistically significantly in the first, second and third experimental groups — by 11.39 % ( $p \leq 0.05$ ), 11.46 % ( $p \leq 0.05$ ) and 8.11 % ( $p \leq 0.05$ ), respectively.

Globulin concentration also tended to increase, but the differences from the control group were only 1.83—5.99 % and did not reach statistical significance ( $p > 0.05$ ).

**Table 2***Blood biochemical indicators of the calves during the first month of life (n = 10)*

| Indicator                 | Group          |                 |                 |                 | Reference values |
|---------------------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
|                           | control        | experimental 1  | experimental 2  | experimental 3  |                  |
| Total protein, g/L        | 61.38 ± 1.34   | 65.13 ± 1.13*   | 66.56 ± 1.51*   | 64.83 ± 0.94*   | 50.7—67.7        |
| Albumin, g/L              | 27.48 ± 0.87   | 30.61 ± 1.01*   | 30.63 ± 1.28*   | 29.71 ± 0.56*   | 22—32            |
| Globulins, g/L            | 33.90 ± 1.15   | 34.52 ± 0.87    | 35.93 ± 1.02    | 35.12 ± 0.60    | 28—40            |
| Glucose, mmol/L           | 4.72 ± 0.26    | 3.77 ± 0.15**   | 3.97 ± 0.15*    | 3.60 ± 0.23**   | 4.0—5.8          |
| ALT, U/L                  | 13.19 ± 0.98   | 9.92 ± 0.82*    | 10.73 ± 0.73*   | 8.69 ± 0.51***  | 10—25            |
| AST, U/L                  | 54.92 ± 2.62   | 51.83 ± 2.24    | 51.81 ± 2.21    | 42.95 ± 1.46*** | 21.6—86.4        |
| AST/ALT, rel. U           | 4.30 ± 0.27    | 5.45 ± 0.38*    | 5.14 ± 0.26*    | 5.04 ± 0.22*    | —                |
| Alkaline phosphatase, U/L | 385.61 ± 23.44 | 472.43 ± 26.50* | 463.75 ± 25.17* | 589.47 ± 44.32* | 150—300          |
| Calcium, mmol/L           | 2.55 ± 0.03    | 2.55 ± 0.09     | 2.74 ± 0.12     | 2.76 ± 0.07*    | 1.81—3.41        |
| Phosphorus, mmol/L        | 2.39 ± 0.10    | 2.58 ± 0.11     | 2.58 ± 0.08     | 2.53 ± 0.08     | 1.78—2.24        |
| Zinc, µmol/L              | 16.91 ± 2.49   | 18.29 ± 2.28    | 20.27 ± 2.13    | 22.62 ± 2.43    | 12—24            |

\*  $p \leq 0.05$ \*\*  $p \leq 0.01$ \*\*\*  $p \leq 0.001$  — relative to the control group

Serum glucose levels in the control calves were  $4.72 \pm 0.26$  mmol/L, consistent with the physiological norm for this age group. In the calves from the first, second and third experimental groups, this indicator was significantly lower by 20.13 % ( $p \leq 0.01$ ), 15.89 % ( $p \leq 0.05$ ) and 23.73 % ( $p \leq 0.01$ ), respectively, compared to the intact group. Moreover, in the animals from the experimental groups, serum glucose concentrations were below the lower limit of the norm established for this age [5, 6].

The revealed differences in the activity of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in the calves of the experimental groups, compared to the control, indicate modulation of transamination processes under the effect of the used additives. ALT activity significantly decreased in all experimental groups. The most pronounced decrease was recorded in the third experimental group — by 34.12 % ( $p \leq 0.001$ ). In the first and second experimental groups, ALT activity was also statistically significantly lower than the control values — by 24.79 and 18.65 % respectively ( $p \leq 0.05$ ). AST activity in the calves of the control group was higher than in the experimental groups. However, a statistically significant decrease in the activity of this enzyme was noted only in the third experimental group — by 21.80 % ( $p \leq 0.001$ ). In the first and second experimental groups, the differences from the control were not significant ( $p > 0.05$ ) and amounted up to 5.63 and 5.66 % respectively. A consistent decrease in ALT and AST activity, while maintaining absolute values within the physiological norm, may indicate a positive effect of the used additives on the metabolic status of the liver, indicating the absence of signs of pathological catabolism associated with tissue damage.

Reference values for alkaline phosphatase activity in the blood serum of month-old calves are 150—300 U/L [5]. In the experiment, the activity of this enzyme in all animals exceeded the upper limit of normal, ranging from  $385.61 \pm 23.44$  U/L in the control group to  $589.47 \pm 44.32$  U/L in the third experimental group. Moreover, the highest values were recorded in the calves from the experimental groups. Alkaline phosphatase content in their blood serum was significantly higher than in the control: in the first group — by 22.51 % ( $p \leq 0.05$ ), in the second — by 20.26 % ( $p \leq 0.05$ ) and in the third — by 52.87 % ( $p \leq 0.05$ ). Increased alkaline phosphatase activity in growing animals is a physiological phenomenon and, as a rule, correlates with intensive processes of osteogenesis and general metabolism. There are data in the scientific literature suggesting the use of alkaline phosphatase ac-

tivity in the blood serum as one of the criteria for predicting the rate of live weight gain in young cattle and small ruminants. According to these studies, animals with high growth potential also demonstrate the highest activity of this enzyme [7, 8].

The ratio of ALT and AST activity, known as the de Ritis ratio (DRR) (AST/ALT ratio), was introduced into clinical practice for the differential diagnosis of acute viral hepatitis [9]. Modern data, however, expand this paradigm. Since transaminases perform fundamental functions in cellular metabolism, fluctuations in their activity, as well as the resulting ratio, can serve as a marker not only of pathological changes in the liver, but also of systemic metabolic disorders in the body [10]. In our studies, the average values of the de Ritis ratio in the calves in the experiment ranged from  $4.30 \pm 0.27$  to  $5.45 \pm 0.38$  rel. units.

The content of this ratio in the first experimental group was higher by 26.74 %, in the second — by 19.53 % and in the third — by 17.21 %, compared to the intact group. In our case, low ALT activity indirectly leads to an increase in the de Ritis ratio. This is likely due to age-related metabolic characteristics of calves, and the observed high value can be considered a normal variant, reflecting active growth processes at this age. The obtained data should be considered holistically, as a manifestation of the adaptive metabolic response of a growing organism to increased energy and plastic demands. The identified triad (decreased serum glucose levels, increased alkaline phosphatase activity and an increase in the de Ritis ratio) is logically interconnected. In this context, the increase in the ratio under study loses its pathological connotation and acquires a clear physiological explanation. The predominance of AST activity over ALT reflects the intensification of gluconeogenesis, necessary for maintaining energy homeostasis under conditions of high glucose utilization. AST is a key enzyme in the metabolism of amino acids, the substrates for glucose synthesis. Therefore, the elevated de Ritis ratio in the calves from the experimental groups can be interpreted not as a sign of hepatocellular damage, but as a biochemical indicator of metabolic adaptation aimed at covering energy costs associated with intensive growth, as evidenced by high alkaline phosphatase levels, despite limited blood glucose availability.

Serum calcium concentrations in calves were by 7.45 % higher in the second experimental group and by 8.24 % higher in the third one ( $p \leq 0.05$ ), compared to the control group. The mineral content in the first experimental and intact groups was identical. The values remained within the reference ranges in all groups.

The level of inorganic phosphorus in the blood serum of calves in all studied groups exceeded the upper limit of the physiological norm (1.78—2.24 mmol/L) [11], ranging from 2.39 to 2.58 mmol/L. Such physiological hyperphosphatemia is characteristic of healthy growing young animals, which is consistent with literature data [12]. Moreover, in our experiments, in the groups receiving additives, the phosphorus concentration showed a tendency to further increase relative to the already high control level (2.39 mmol/L), although the intergroup differences did not reach statistical significance ( $p > 0.05$ ). Compared to the control, this indicator was higher by 7.99 % in the first and second experimental groups and by 5.88 % in the third experimental group.

The serum zinc content in the calves from the control group was  $16.91 \pm 2.49$   $\mu\text{mol/L}$ , which was by 8.16 %, 9.87 %, and 39.72 % lower than that in the first, second, and third experimental groups, respectively. However, these differences did not reach the threshold of statistical significance ( $p > 0.05$ ). It is particularly noteworthy that calves in the second and third experimental groups received additives containing chelated zinc. However, no statistically significant increase in serum zinc concentration was recorded, and all indicators remained within the physiological norm. This is likely due to the action of homeostatic mechanisms that effectively compensated for the increased intake of the trace element, maintaining its stable concentration in the blood serum.

## CONCLUSION

Inclusion of the studied probiotic additives based on the strain *Enterococcus faecium* (with various fillers) and a feed additive containing an EDTA-based zinc chelate complex in the calf diet from birth to the first month of life has a positive effect on blood morphological and biochemical indicators. Their use helps maintain physiological levels of blood oxygen transport and erythropoiesis. Furthermore, the additives lead to increased levels of total protein and its albumin fraction, indicating enhanced protein-synthetic function of the liver and improved transport reserves. They also maintain energy balance under conditions of high glucose utilization against the background of intensive growth of bone and other tissues, which is ensured by the physiological enhancement of gluconeogenesis. Optimization of metabolic status achieved with these additives can promote more efficient utilization of feed nutrients and lay the foundation for intensive growth and development of young animals during the early postnatal period.

## REFERENCES

1. Scientific foundations of growing young cattle for replacement / D. M. Bogdanovich, V. N. Timoshenko, A. A. Muzyka [et al.]; RUE "Scientific and Practical Center for Animal Husbandry of the National Academy of Sciences of Belarus". — Zhodino: Scientific and Practical Center for Animal Husbandry of the National Academy of Sciences of Belarus, 2022. — 303 p. — ISBN 978-985-6895-32-9. — EDN OWJKRX.
2. Filatov A. V. Efficiency of using the feed additive Profort to cows during the milking period / A. V. Filatov, N. A. Shemuranova, A. F. Sapozhnikov // *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* (Agrarian Science of the Euro-North-East). — 2019. — Vol. 20, No. 5. — P. 478—487. — DOI 10.30766/2072-9081.2019.20.5.478-487. — EDN ZQX-RAY.
3. Anikin S. V. Blood biochemical indicators and dynamics of live weight of calves with the use of the probiotic strains *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium* / S. V. Anikin // *Glavnyy zootekhnik* (Chief zootechnician). — 2025. — No. 4 (261). — P. 18—27. — DOI 10.33920/sel-03-2504-02. — EDN AZSBVK.
4. Tarakanov B. V. Effect of cyclic use of the probiotic lactoamilovorin on the growth and metabolism of dairy calves / B. V. Tarakanov, G. F. Nurbakov, N. V. Burnysheva // *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* (Agrarian Science of the Euro-North-East). — 2005. — No. 7. — P. 76—80. — EDN: KVXBSL.
5. Retskiy M. I. Metabolic adaptations of calves in the early postnatal period / M. I. Retskiy, G. N. Bliznetsova, S. V. Shabunin // Voronezh: VSU Publishing House, 2010. 228 p.
6. Chernitskiy A. E. Methodological manual for prognosis and early diagnosis of respiratory diseases in calves / A. E. Chernitskiy, L. I. Efanova, A. I. Zolotarev, A. G. Shakhov, V. S. Shabunin, M. I. Retskiy // — Voronezh; Istoki, 2013. — 48 p.
7. Patent No. 2763349 C1 Russian Federation, IPC A01K 67/02. Method for predicting the growth potential of young rams based on serum alkaline phosphatase activity: No. 2021103213: application 10.02.2021: published 28.12.2021 / Ya. A. Zharikov, L. A. Kaneva; applicant Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center "Komi Science Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences". — EDN EUAGVA.
8. Patent No. 2784587 C1 Russian Federation, IPC A01K 67/02. Method for selecting calves with high live weight gain potential: No. 2022120878: application 05.09.2022: published 28.11.2022 / S. V. Nikolaev; applicant Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center "Komi Science Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences". — EDN NAADCT.
9. De Ritis F, Coltorti M, Giusti G. An enzymic test for the diagnosis of viral hepatitis; the transaminase serum activities. *Clin Chim Acta*. 1957 Feb; 2 (1): 70—4. doi: 10.1016/0009—8981 (57) 90027-x.

10. *Ndrepepa G.* De Ritis ratio and cardiovascular disease: evidence and underlying mechanisms. *J Lab Precis Med* 2023;8:6. DOI: 10.21037/JLPM-22—68.

11. *Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics: a handbook* / [I. P. Kondrakhin et al.]; under the general editorship of I. P. Kondrakhin. — Moscow: KolosS, 2004. — 519 p.

12. *Efimova K. A.* Dynamics of blood cellular and biochemical indicators of the calves in the first month of life under normal conditions and during the development of bronchopneumonia: abstract of a thesis ... Candidate of Biological Sciences: 06.02.01; 03.03.01 / Efimova Kseniya Andreevna. — Stavropol, 2021. — 25 p.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**A. V. Filatov** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Breeding, Feeding and Special Zootechnics, Principal Scientific Associate;

**E. S. Soboleva** — Master's Degree Student;

**S. V. Nikolaev** — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate.

The article was submitted 26.06.2026.

Обзорная статья

УДК 579.64:628.4.038:631.862

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.34.36.008

## МИКРОБНЫЕ КОНСОРЦИУМЫ В БИОДЕГРАДАЦИИ КЕРАТИНСОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ ЖИВОТНОВОДСТВА И НАВОЗА

Екатерина Юрьевна Нестерова\*, Инна Юрьевна Буракова\*,  
Полина Дмитриевна Морозова\*, Евгений Владимирович Михайлов\*\*,  
Михаил Юрьевич Сыромятников\*✉

*\*Воронежский государственный университет инженерных  
технологий, Воронеж, Россия, syromyatnikov@bio.vsu.ru*

*\*\*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия*

**Аннотация.** Кератинсодержащие отходы и навоз — ценное сырье для биотехнологий, однако их текущая утилизация, а именно, сжигание и захоронение, является опасной как для экологии, так и для животноводческих комплексов. Накопление этих отходов ведет к загрязнению среды, распространению антибиотикорезистентности среди патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и выбросам парниковых газов в атмосферу. В рамках циркулярной экономики разрабатываются инновационные методы переработки, где перспективным направлением является использование микробных консорциумов. Синергизм метаболических путей организмов, входящих в консорциумы, повышает эффективность деградации отходов. Метагеномика позволяет изучать эти сообщества без предварительного культивирования, раскрывая их состав и механизмы взаимодействия. Полученные знания позволяют создавать оптимизированные консорциумы для промышленной переработки отходов, ускоряя биоремедиацию и производство экологически чистых удобрений и кормов. Данный обзор обобщает современные данные о составе и метагеномных характеристиках подобных консорциумов, что позволяет акцентировать внимание на потенциале этих сообществ для использования агропромышленным комплексом.

**Ключевые слова:** биodeградация, кератинсодержащие отходы, навоз, микробные консорциумы.

**Благодарность:** исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект FZGW-2026-0001)

### ВВЕДЕНИЕ

Кератинсодержащие отходы и навоз имеют значительный потенциал для использования в качестве сырья в отрасли биотехнологической переработки, однако научные и практические проблемы мешают эффективной и экономически целесообразной реализации этих ресурсов [1].

Текущая практика утилизации кератинсодержащих побочных продуктов агропромышленного комплекса заключается в сжигании, захоронении на полигонах и химическому гидролизу, что неблагоприятно сказывается на состоянии окружающей среды [2]. Массовое накопление навоза также вызывает серьезные экологические проблемы, включая неприятные запахи, загрязнение почвы и воды, а также распространение устойчивости к антибио-

тикам, что представляет серьезную угрозу для здоровья человека [3, 4]. Помимо этого, они способны выделять газы, которые способствуют формированию парникового эффекта [5].

В настоящее время для минимизации неблагоприятных эффектов активно разрабатываются и применяются инновационные подходы к управлению отходами животноводства, направленные на оптимизацию процессов переработки навоза в рамках концепции циркулярной экономики [6].

Использование консорциумов с комплиментарными метаболическими путями может обеспечить более высокую стабильность и эффективность процесса деградации кератина за счет синергизма ферментативных активностей [7]. Понимание характера взаимодействия и распределения метабо-

лических функций в таких смешанных субстратах, является ключевым моментом для разработки эффективных биотехнологий переработки отходов.

Целью данного обзора явилось обобщение современных данных о составе, функциях и метагеномных характеристиках микробных консорциумов, участвующих в деградации кератинсодержащих отходов и навоза.

## **КЕРАТИНСОДЕРЖАЩИЕ ОТХОДЫ И НАВОЗ КАК СУБСТРАТЫ ДЛЯ МИКРОБНОЙ ДЕГРАДАЦИИ**

Одним из широко распространенных побочных продуктов агропромышленного производства является богатый кератином волокнистый материал, который становится отходом без какой-либо переработки [8]. Кератиновые отходы богаты аминокислотами, которые способны негативно влиять на атмосферу, водные ресурсы и почву, если их не обрабатывать должным образом [9]. В свою очередь кератиновые материалы являются наиболее прочными биологическими структурами, что повышает к ним интерес для их использования в производстве [10].

Мировое птицеводство ежегодно производит более 2 миллионов тонн перьев. Эффективная утилизация данного побочного продукта необходима для предотвращения загрязнения окружающей среды токсичными веществами [11]. Куриные перья являются не просто отходами, а ценным ресурсом. Они богаты аминокислотами и другими важными питательными веществами, что делает их перспективным сырьем для производства кормов для животных. Кроме того, их можно использовать как эффективное органическое удобрение [12—14].

Известно, что кератинсодержащие отходы, в частности куриные перья, служат благоприятной средой для размножения патогенных бактерий [15]. Перья являются не только ключевым источником азотного загрязнения, но и источником вдыхаемых аллергенов, представляющих угрозу для здоровья [16].

При обработке животного сырья на шерстяных, кожевенных и меховых фабриках, на различных этапах производства образуется существенное количество отходов и побочных продуктов [17]. Лишь малая доля этих отходов находит применение в производстве удобрений и кормов [18]. Основная же масса отправляется на свалки или сжигается несмотря на то, что эти методы утилизации оказывают существенное негативное влияние на окружающую среду [19].

Деятельность скотобоен приводит к образованию большого количества органических отходов, таких как копыта, рога, шкуры и кости КРС, которые прямо или косвенно влияют на здоровье жителей, проживающих поблизости [20]. Большая часть этих отходов утилизируется неэффективно: на свалках, путем сжигания или просто теряется [21].

Кератины являются нерастворимыми, нитевидными белками, производимые эпителиальными клетками позвоночных [22]. В зависимости от содержания серы, эти биополимеры, обладающие существенными различиями в структуре и свойствах, подразделяются на твердые и мягкие кератины. К твердым кератинам относятся такие структуры, как рога, ногти, волосы, перья, когти и шерсть. Мягкий кератин, в свою очередь, формирует кожу и сердцевину волоса [23].

Кератин обладает рядом важных свойств — прочностью, вязкостью и химической инертностью. Структурная жесткость кератина обусловлена его супрамолекулярной организацией, в которой полипептидные цепи образуют структуру посредством водородных связей, гидрофобных взаимодействий и дисульфидных связей [24—26]. Водородные и дисульфидные связи используются для упаковки кератина [27]. Благодаря чему кератин обладает устойчивостью к деградации под действием распространенных протеаз, таких как трипсин и пепсин [9]. Данная особенность является главным препятствием для применения кератиновых материалов на производстве [28, 29].

## **МИКРОБНЫЕ КОНСОРЦИУМЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ДЕГРАДАЦИИ КЕРАТИНСОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ И НАВОЗА**

В настоящее время отрасль биотехнологии, занимающаяся усовершенствованием биопроцессов и ранее опиравшаяся на чистые культуры, открыла путь к применению микробных консорциумов для повышения общей эффективности. Такие многокомпонентные микробные системы стали востребованы в пищевой промышленности и для решения задач биоремедиации, связанных с обезвреживанием токсичных веществ и отходов [30].

В случае, когда среда не справляется с очищением от органических и неорганических загрязнителей, используется один из методов биоремедиации, основанный на введении специально отобранных микроорганизмов, обладающих способностью непосредственно разлагать загрязняющее вещество, либо продуцировать биосурфактанты, спо-

собствующие его деградации. На протяжении длительного времени метод основывался на использовании монокультур микроорганизмов [31]. Однако замена отдельных микроорганизмов на микробные консорциумы в качестве инокулянтов перевела биоремедиацию на новый и более эффективный уровень [32, 33].

Микробные консорциумы, в отличие от однородных чистых культур, объединяют множество микроорганизмов с различной реакцией на среду. Сложная, многоуровневая организация консорциума позволяет ему выстраивать эффективные взаимодействия, порождая синергию и обеспечивая высокий уровень эффективности [34]. Метаболическая универсальность и генетическое разнообразие микробных сообществ позволяют им разлагать большинство органических соединений, что дает им возможность решать сложные задачи, недоступные для отдельных штаммов [35].

Применение микробных консорциумов, даже при условии биологической совместимости их компонентов, и поэтапное выполнение задач может привести к существенному увеличению общей продуктивности системы [36].

Разделение функций обеспечивает снижение метаболической нагрузки на отдельные организмы, поскольку происходит распределение и сокращение количества экспрессируемых ферментов и гетерологичных компонентов [37]. Такой механизм обеспечивает высокую степень надежности и предсказуемости в выполнении клетками своих специфических задач. Кроме того, он способствует эффективному использованию специализации отдельных компонентов системы, что ведет к расширению ее функционального потенциала [38]. Общая организация микробного консорциума и основные этапы деградации кератина представлены на рисунке 1.

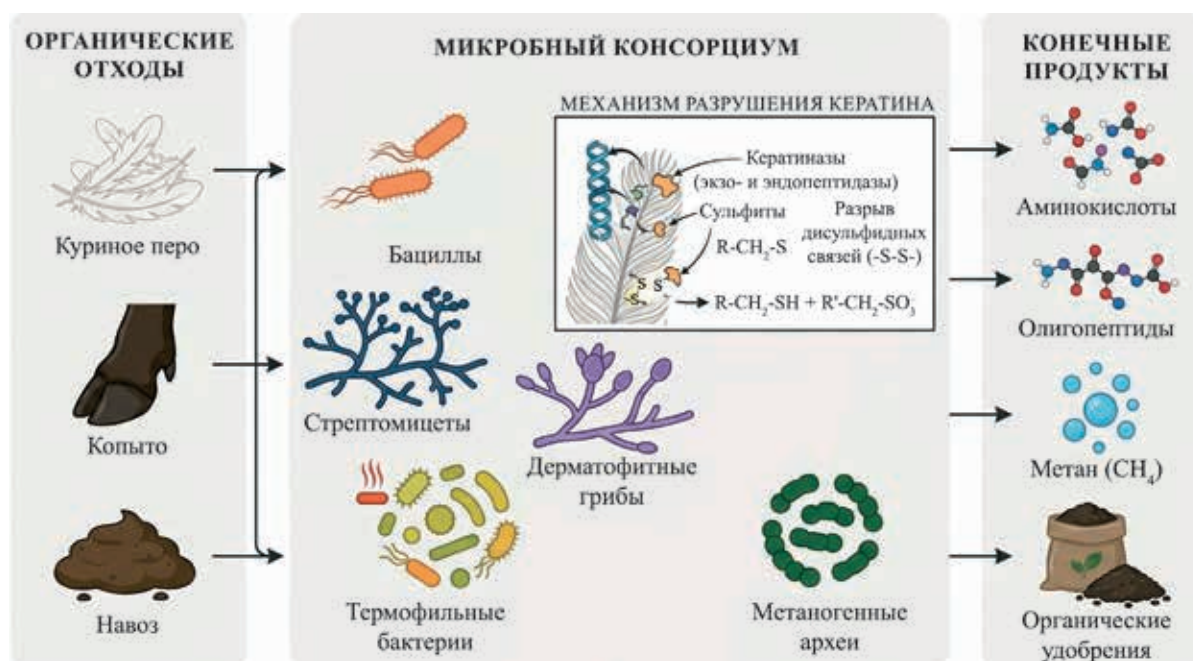


Рис. 1. Микробный консорциум и механизм деградации кератина в анаэробных условиях

### ОСНОВНЫЕ ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ГРУППЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

При выборе микробных консорциумов для решения различных задач, в частности синтеза полезных соединений и удаления загрязняющих веществ, важным фактором является их видовой состав. Компонентами консорциумов, предназначенных для деструкции органических веществ, выступают как бактериальные виды, так и грибы, а также

археи [37]. Ключевыми видами в микробиологическом процессе трансформации трудноразлагаемых кератинсодержащих веществ являются представители таких родов бактерий, как *Eubacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* и *Bacillus*. Эти облигатные и факультативные анаэробы способны запускать процесс ферментации совместно с микромицетами, обладающими кератинолитической активностью [39]. Среди микроскопических грибов, способных к расщеплению кератина, выделяются па-

тогенные дерматофиты, а также некоторые грибы, встречающиеся в почве. Дерматофитные грибы, относящиеся к родам *Keratinomyces*, *Microsporium*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*, интенсивно разлагают кератиновые материалы [40]. При ферментативном расщеплении природного кератина кератинолитическими грибами происходит высвобождение минеральных соединений азота и серы, доступных для поглощения растениями [41].

Среди бактерий, способных гидролизовать кератины, выделяют актиномицетов, например, *Actinomyces keratolyticus*, а также мезофильные бактерии родов *Streptomyces* (*S. rimosus*, *S. griseus*, *S. parvus*), *Nocardia* (*N. rubra*) *Bacillus* (*B. subtilis* и *B. coagulans*) и *Pseudomonas* (*P. caviae*) [42]. Бациллы обладают высоким потенциалом для переработки перьевых отходов посредством биоконверсии. Так, бактериальный штамм *Bacillus altitudinis* GVC11, выделенный из сточных вод убойного цеха, эффективно осуществлял биodeградацию отходов птицы [43].

Среди термофильных бактерий, разлагающих кератинсодержащие соединения, выделяют представители филума Thermotogae — *Fervidobacterium pennivorans* [44] и *F. islandicum* [45]. *Thermoactinomyces candidus* и *Actinomadura keratinolytica* продуцируют термостабильную высокоактивную кератиназу, что позволяет рассматривать их в качестве основных компонентов при разработке экологически чистых методов утилизации отходов птицефабрик [40]. Среди представителей типа Firmicutes выделяют *Thermoanaerobacter keratinophilus*, *Brevibacillus thermoruber*, *Keratinibaculum paraultunense*, *Geobacillus stearothermophilus* и *Caldicoprobacter algeriensis* [46—50].

Ключевыми агентами поддержания баланса в анаэробных экосистемах являются синтрофные консорциумы. Они состоят из бактерий, разлагающих жирные кислоты, и метаногенных архей, потребляющих водород и формат, обеспечивая устойчивость этих сред [51].

Использование одиночных архей в качестве биологических добавок несет в себе потенциальные риски и неопределенность, в частности, в контексте их способности эффективно ингибировать метаногенные бактерии [52, 53]. Микробные сообщества, отличающиеся высокой численностью гидрогенотрофных метаногенных археев, например, родов *Methanoculleus* и *Methanosarcina*, демонстрируют потенциал для более эффективного снижения рисков и неопределенностей при использовании в качестве биологических добавок [54].

## ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВНУТРИ КОНСОРЦИУМОВ

Эффективное разложение сложных органических соединений в микробных сообществах обеспечивается синергией микроорганизмов, которые совместно осуществляют гидролиз биополимеров [9, 55, 56]. Внутри консорциумов возникает метаболическая кооперация, при которой одни микроорганизмы производят вещества, необходимые для жизнедеятельности других, что способствует упорядоченному расщеплению соединений [57].

Микроорганизмы способны осуществлять гидролиз кератина, как непосредственно в процессе своего роста, так и посредством выделения внеклеточных кератиназ. С их помощью кератин подвергается деградации до элементарных белковых структур [58]. Эти структуры затем могут быть расщеплены стандартными протеолитическими ферментами на более растворимые пептидные фрагменты и отдельные аминокислоты. Такой процесс обеспечивает эффективное извлечение питательных веществ кератина для его дальнейшего применения в различных сферах [59]. Процесс кератинолиза также усиливается действием восстановительных агентов. К ним относятся сульфиты и другие серосодержащие соединения, продуцируемые микроорганизмами, а также ферменты дисульфидредуктазы. Все эти компоненты критически важны для начального разрыва дисульфидных связей в субстрате [60]. Так, например, дерматофиты выделяют сульфит для облегчения процесса разложения кератина за счёт действия протеаз [61]. Сульфиты, высвобождаясь, помогают кератиназам, вырабатываемым дерматофитами, продолжать свою работу по расщеплению кератина. Благодаря этому дерматофиты легче получают доступ к питательным веществам, таким как олигопептиды и аминокислоты, которые необходимы им для роста [62].

Кросс-трофические связи, также известные как синтрофия, представляют собой ключевое межвидовое взаимодействие, при котором все члены сообщества получают пищевые преимущества преимуществ [63]. Синтрофное взаимодействие принимает разнообразные формы: это и обмен между микроорганизмами факторами роста, например, витаминами, и трансфер метаболических субстратов, в частности, источников углерода и азота, где один член консорциума получает энергию, а другой — необходимые для роста вещества. Помимо этого, синтрофия проявляется в совместном удалении токсичных метаболитов, способствуя анаболи-

ческим процессам [64]. Несмотря на свою кооперативную природу и симбиотические цели, микробные консорциумы характеризуются внутренней конкуренцией. Микроорганизмы в таких сообществах борются за ресурсы, что является проявлением действующих внутри них механизмов отбора [65]. Анализ метаболитов, которые всасываются или же выделяются в среду для культивирования, способен дать возможность глубже понять метаболические процессы, протекающие в микробных ассоциациях. Идентификация субстратов, предпочитаемых конкретными микробными видами, может пролить свет на их потенциал к конкуренции с другими представителями микробного сообщества [66].

### МЕТАГЕНОМНЫЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ МИКРОБНЫХ КОНСОРЦИУМОВ

Понимание структурно-функциональной организации микробных консорциумов требует методы, способные одновременно анализировать генетический материал всех присутствующих видов. Метагеномика решает самую главную проблема анализа таких сложных микробиологических систем — способность одновременно анализировать генетический материал всех присутствующих видов микроорганизмов [67].

Переход от культуральных методов к анализу метабенома стал революционным шагом, позволившим исследовать все разнообразие некультивируемых микроорганизмов, которые составляют большинство в природных экосистемах [68]. Метагеномика позволяет исследовать таксономическое разнообразие микроорганизмов в различных средах, выявлять новые виды, а также филумы бактерий и архей, которые трудно культивировать в лаборатории [69], что исключительно важно для изучения сложных экосистем. Метагеномика способна раскрывать роль микроорганизмов в глобальных экосистемных процессах, что позволяет выявлять не просто причинно-следственные связи, необходимые для понимания функционирования сложных систем, но и конкретные генетические детерминанты, отвечающие за адаптацию и функциональную активность [70].

Современные подходы метагеномики позволяют решать различные задачи — от быстрого таксономического профилирования до реконструкции целых геномов из смешанных образцов [71].

Наиболее распространенным и экономически доступным методом остается секвенирование

маркерных генов, в первую очередь *16S rPHK* для бактерий и архей или *ITS* для грибов [72]. Однако данный подход дает информацию только о таксономическом составе, но не о функциональном потенциале микроорганизмов [73]. Более глубоким и информативным подходом является дробовик-метагеномика, при которой секвенируется вся совокупная ДНК образца без предварительной амплификации специфических маркеров [74].

Секвенирование методом дробовика выявляет гены, участвующие в различных метаболических путях, включая метаболизм углеводов, липидов и аминокислот, а также гены вирулентности и антибиотикорезистентности [75]. Этот метод позволяет реконструировать геномы отдельных, ранее не охарактеризованных видов непосредственно из образцов окружающей среды, минуя этап культивирования [76]. Критически важным этапом метагеномного анализа является процесс определения биологической функции предсказанных генов или функциональная аннотация. Функциональная аннотация позволяет не только идентифицировать отдельные гены, но и реконструировать целые метаболические пути — от гликолиза и цикла трикарбоновых кислот до специализированных путей деградации ксенобиотиков и биосинтеза вторичных метаболитов [77].

Метагеномный анализ позволил обнаруживать некультивируемые на питательных средах микроорганизмы. Метод сделал возможным определение таксономической структуры микробного сообщества [78]. Потенциальные кератиназы были предсказаны на основе метабенома KMSG6, а ключевые метаболические пути KMSG6 были исследованы на основе реконструкции генома. Результаты позволили предположить наличие потенциальной синергии между членами микробного консорциума, включая перекрестное питание и разделение труда между его членами [79].

Метагеномный анализ был использован при оценке воздействия наночастиц диоксида титана на биологические и химические процессы различных организмов и микробных сообществ. Исследование показало снижение количества функциональных генов и генов, кодирующих ферменты преобразования азота и выработки АТФ и НАДН [80].

Применение метагеномного анализа позволило глубже понять структуру и функции микробного сообщества, участвующего в окислении серы и процессе денитрификации, а также выявить потенциальные новые виды бактерий, участвующих в этих процессах [81].

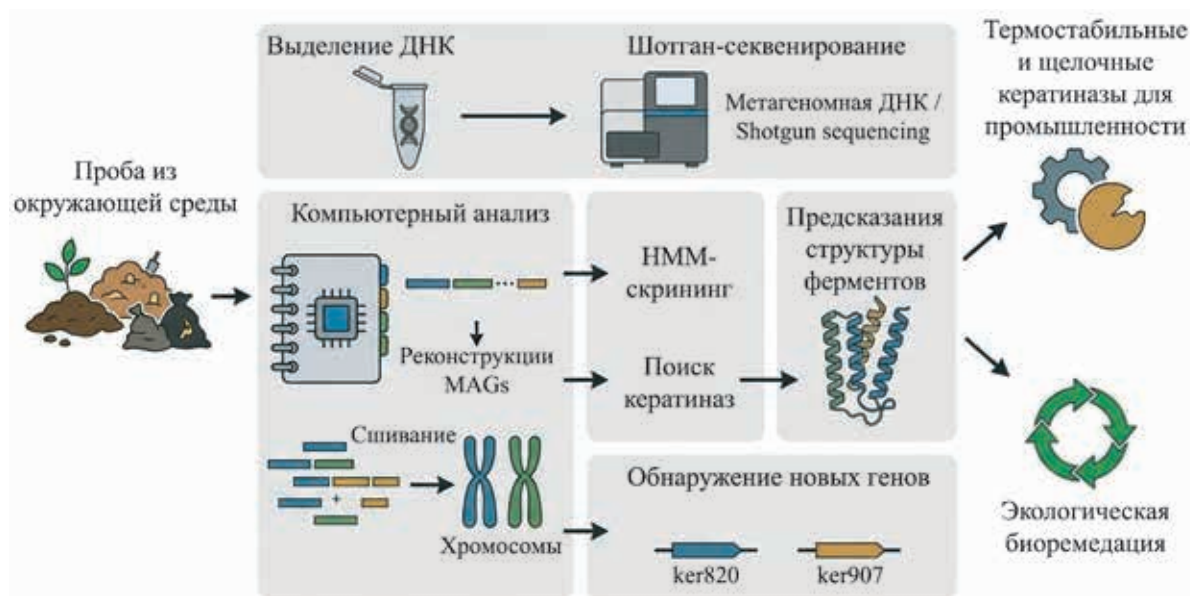


Рис. 2. Основные этапы метагеномного анализа для поиска и характеристики новых ферментов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микробные консорциумы играют ключевую роль в эффективной деградации кератинсодержащих отходов и навоза, объединяя бактерии, грибы и археи для совместного гидролиза сложных биополимеров — кератина перьев, волос, рогов и копыт, а также органических компонентов животноводческих отходов. Метагеномика существенно расширила возможности изучения микробных консорциумов, позволяя анализировать таксономический состав, функциональный потенциал и метаболические пути без необходимости культивирования отдельных штаммов. Выявление некультивируемых микроорганизмов и реконструирование собранных с помощью метагеномных технологий геномов микроорганизмов позволили приблизиться к пониманию кооперации и конкуренции внутри консорциумов.

Полученные знания открывают перспективы для биотехнологии, где искусственно созданные или оптимизированные консорциумы могут применяться в промышленной переработке органических отходов, ускоряя биоремедиацию, снижая объемы отходов и способствуя развитию устойчивого животноводства за счёт производства экологически чистых биоудобрений и кормовых добавок.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Nnolim N. E. Harnessing Microbial Consortia for Efficient Keratinous Biomass Biotransformation / N. E. Nnolim, U. U. Nwodo // International Journal of Molecular Sciences. — 2025. — Vol. 26. — № 20. — P. 9898.

2. Shestakova A. Biodegradation of Keratin-Rich Husbandry Waste as a Path to Sustainable Agriculture / A. Shestakova, S. Timorshina, A. Osmolovskiy // Sustainability. — 2021. — Vol. 13. — № 16. — P. 8691.

3. Enhanced Growth and Activities of the Dominant Functional Microbiota of Chicken Manure Composts in the Presence of Maize Straw / L. Zhang, L. Li, X. Pan [и др.] // Frontiers in Microbiology. — 2018. — T. 9.

4. Comprehensive assessment of the utilization of manure in China's croplands based on national farmer survey data / Q. Zhang, Y. Chu, Y. Yin [и др.] // Scientific Data. — 2023. — T. 10. — № 1. — C. 223.

5. Analysis of microbial communities in solid and liquid pig manure during the fertilization process / S. — R. Kim, J. Lee, M. G. Lee [и др.] // Scientific Reports. — 2024. — T. 14. — № 1. — C. 72.

6. A review of emerging trends in circular manure management and the role of digital solutions / A. O. Oyedun, H. A. Salami, M. M. Odewole [et al.] // Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. — 2025. — Vol. 24. — № 4. — P. 21.

7. Keratinases: microbial sources, mechanisms, and industrial applications in waste valorization / Y. Chu, S. Chu, F. Hu [и др.] // Frontiers in Microbiology. — T. 17. — Keratinases. — C. 1793191.

8. Closing the Loop with Keratin-Rich Fibrous Materials / S. Perța-Crișan, C. Ștefan Ursachi, S. Gavrilăș [и др.] // Polymers. — 2021. — T. 13. — № 11. — C. 1896.

9. Li Q. Structure, Application, and Biochemistry of Microbial Keratinases / Q. Li // Frontiers in Microbiology. — 2021. — T. 12. — C. 674345.

10. Zhang W. Structure of Keratin / W. Zhang, Y. Fan // Methods in Molecular Biology. — 2021. — T. 2347. — C. 41—53.

11. Li Q. Perspectives on Converting Keratin-Containing Wastes Into Biofertilizers for Sustainable Agriculture / Q. Li // *Frontiers in Microbiology*. — 2022. — Т. 13. — С. 918262.
12. Current Understanding of Feather Keratin and Keratinase and Their Applications in Biotechnology / T. Moktip, L. Salaipeth, A. E. Cope [и др.] // *Biochemistry Research International*. — 2025. — Т. 2025. — С. 6619273.
13. Li Q. Progress in Microbial Degradation of Feather Waste / Q. Li // *Frontiers in Microbiology*. — 2019. — Т. 10. — С. 2717.
14. Yadav S. Biodegradation of poultry feather waste by keratinase producing *Bacillus cereus* strain isolated from poultry farms waste disposal site / S. Yadav, B. Khosla // *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*. — 2021. — Т. 4. — С. 100114.
15. Mpaka L. Microbial Keratinolysis: Eco-Friendly Valorisation of Keratinous Waste into Functional Peptides / L. Mpaka, N. E. Nnolim, U. U. Nwodo // *Microorganisms*. — 2025. — Т. 13. — Microbial Keratinolysis. — № 10. — С. 2270.
16. Insights of keratin geometry from agro-industrial wastes: A comparative computational and experimental assessment / J. A. Tuly, H. Ma, H. — J. Lee [и др.] // *Food Chemistry*. — 2023. — Т. 418. — Insights of keratin geometry from agro-industrial wastes. — С. 135854.
17. Сапожникова (Драпкина), А. И. Биоактивный Кератин Как Функциональная Серосодержащая Кормовая Добавка / А. И. Сапожникова (Драпкина), К. В. Есепенок // *Международный Научно-Исследовательский Журнал*. — 2020. — № 11—1 (101). — С. 144—149.
18. Valorisation of keratin waste: Controlled pretreatment enhances enzymatic production of antioxidant peptides / G. Cai, K. Moffitt, L. Navone [и др.] // *Journal of Environmental Management*. — 2022. — Т. 301. — Valorisation of keratin waste. — С. 113945.
19. The dark side of the wool? From wool wastes to keratin microfilaments through the solution blow spinning process / G. Maurizii, L. Valentini, G. Sotgiu [и др.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2024. — Т. 275. — The dark side of the wool? — № Pt2. — С. 133722.
20. Optimizing the Extraction of Keratin from Cattle Hoof Using Central Composite Design / K. T. Yilma, T. Tesfaye, H. Enawgaw [et al.] // *Advances in Materials Science and Engineering*. — 2022. — Vol. 2022. — № 1. — P. 4866467.
21. Babaniyi B. Extraction and Functional Profiling of Keratin From Cow Hooves / B. Babaniyi, G. Idowu, O. Olugbenga // *Food Chemistry International*. — 2025. — Т. 1.
22. Herrmann H. Intermediate filaments: molecular structure, assembly mechanism, and integration into functionally distinct intracellular Scaffolds / H. Herrmann, U. Aebi // *Annual Review of Biochemistry*. — 2004. — Т. 73. — Intermediate filaments. — С. 749—789.
23. Anbesaw M. S. Bioconversion of Keratin Wastes Using Keratinolytic Microorganisms to Generate Value-Added Products / M. S. Anbesaw // *International Journal of Biomaterials*. — 2022. — Т. 2022. — С. 2048031.
24. Study on the Structure and Properties of Biofunctional Keratin from Rabbit Hair / X. Wang, Z. Shi, Q. Zhao, Y. Yun // *Materials*. — 2021. — Т. 14. — № 2. — С. 379.
25. Current Understanding of Feather Keratin and Keratinase and Their Applications in Biotechnology / T. Moktip, L. Salaipeth, A. E. Cope [и др.] // *Biochemistry Research International*. — 2025. — Т. 2025. — С. 6619273.
26. Closing the Loop with Keratin-Rich Fibrous Materials / S. Perța-Crișan, C. Ștefan Ursachi, S. Gavrilăș [и др.] // *Polymers*. — 2021. — Т. 13. — № 11. — С. 1896.
27. Molecular strategies to enhance the keratinase gene expression and its potential implications in poultry feed industry / M. Saeed, M. Yan, Z. Ni [и др.] // *Poultry Science*. — 2024. — Т. 103. — № 5. — С. 103606.
28. Vidmar B. Microbial Keratinases: Enzymes with Promising Biotechnological Applications / B. Vidmar, M. Vodovnik // *Food Technology and Biotechnology*. — 2018. — Т. 56. — Microbial Keratinases. — № 3. — С. 312—328.
29. Comprehensive insights into the mechanism of keratin degradation and exploitation of keratinase to enhance the bioaccessibility of soybean protein / B. Zhou, Y. Guo, Y. Xue [и др.] // *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. — 2023. — Т. 16. — № 1. — С. 177.
30. Singh R. Microbial consortia including methanotrophs: some benefits of living together / R. Singh, J. Ryu, S. W. Kim // *Journal of Microbiology*. — 2019. — Т. 57. — Microbial consortia including methanotrophs. — № 11. — С. 939—952.
31. Vogel T. M. Bioaugmentation as a soil bioremediation approach / T. M. Vogel // *Current Opinion in Biotechnology*. — 1996. — Т. 7. — № 3. — С. 311—316.
32. Biotechnological potential and applications of microbial consortia / X. Qian, L. Chen, Y. Sui [и др.] // *Biotechnology Advances*. — 2020. — Т. 40. — С. 107500.
33. Sgobba E. Synthetic microbial consortia for small molecule production / E. Sgobba, V. F. Wendisch // *Current Opinion in Biotechnology*. — 2020. — Т. 62. — С. 72—79.
34. Ускоренная переработка отходов животноводства с использованием микробного консорциума в суспензионной и иммобилизованной формах / Ржевская В. С., Омельченко А. В., Бугара И. А., Омельченко С. О. // *Эко-системы*. — 2023. — № 36. — С. 248—257.
35. Syntrophic exchange in synthetic microbial communities / M. T. Mee, J. J. Collins, G. M. Church, H. H. Wang // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2014. — Т. 111. — № 20. — С. E2149—2156.
36. Engineering microbial consortia for controllable outputs / S. R. Lindemann, H. C. Bernstein, H. — S. Song [и др.] // *The ISME journal*. — 2016. — Т. 10. — № 9. — С. 2077—2084.
37. Tsoi R. Emerging strategies for engineering microbial communities / R. Tsoi, Z. Dai, L. You // *Biotechnology Advances*. — 2019. — Т. 37. — № 6. — С. 107372.

38. Deter H. S. Engineering microbial consortia with rationally designed cellular interactions / H. S. Deter, T. Lu // *Current Opinion in Biotechnology*. — 2022. — Т. 76. — С. 102730.
39. Клеева Н. А. Роль почвенного микробиоценоза в разложении органических остатков / Клеева Н. А., Проценко Е. П., Балабина И. П.. — 2013. — Т. 5. — № 15. — С. 10—12.
40. Подосокорская О. А.. Переработка отходов птицефабрик: современные подходы и перспективы / Подосокорская О. А.. // *Auditorium*. — 2017. — Переработка отходов птицефабрик. — № 3 (15). — С. 29—35.
41. Bohacz J. Fungal diversity and keratinolytic activity of fungi from lignocellulosic composts with chicken feathers / J. Bohacz, T. Kornilowicz-Kowalska // *Process Biochemistry*. — 2019. — Т. 80. — С. 119—128.
42. Шамханов Ч. Ю. Кератинасщепляющая активность некоторых групп актиномицетов / Шамханов Ч. Ю. // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. — 2002. — № 4. — С. 24—26.
43. A novel serine alkaline protease from *Bacillus altitudinis* GVC11 and its application as a dehairing agent / E. Vijay Kumar, M. Srijana, K. Kiran Kumar [и др.] // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. — 2011. — Т. 34. — № 4. — С. 403—409.
44. Friedrich A. B. Keratin Degradation by *Fervidobacterium pennavorans*, a Novel Thermophilic Anaerobic Species of the Order Thermotogales / A. B. Friedrich, G. Antranikian // *Applied and Environmental Microbiology*. — 1996. — Т. 62. — № 8. — С. 2875—2882.
45. Native-feather degradation by *Fervidobacterium islandicum* AW-1, a newly isolated keratinase-producing thermophilic anaerobe / G. — W. Nam, D. — W. Lee, H. — S. Lee [и др.] // *Archives of Microbiology*. — 2002. — Т. 178. — № 6. — С. 538—547.
46. Novel serine keratinase from *Caldicoprobacter algeriensis* exhibiting outstanding hide dehairing abilities / K. Bouacem, A. Bouanane-Darenfed, N. Zerafi Jaouadi [и др.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2016. — Т. 86. — С. 321—328.
47. Riessen S. Isolation of *Thermoanaerobacter keratinophilus* sp. nov., a novel thermophilic, anaerobic bacterium with keratinolytic activity / S. Riessen, G. Antranikian // *Extremophiles: Life Under Extreme Conditions*. — 2001. — Т. 5. — № 6. — С. 399—408.
48. Degradation of native feathers by a novel keratinase-producing, thermophilic isolate, *Brevibacillus thermoruber* T1E / Z. Bihari, D. Vidéki, E. Mihalik [и др.] // *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*. — 2010. — Т. 65. — № 1—2. — С. 134—140.
49. Isolation and characterization of *Keratinibaculum parautunense* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic, anaerobic bacterium with keratinolytic activity / Y. Huang, Y. Sun, S. Ma [и др.] // *FEMS microbiology letters*. — 2013. — Т. 345. — № 1. — С. 56—63.
50. Keratinous waste decomposition and peptide production by keratinase from *Geobacillus stearothermophilus* AD-11 / A. Gegeckas, R. Gudiukaitė, J. Debski, D. Citavičius // *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2015. — Т. 75. — С. 158—165.
51. Physiology, ecology, phylogeny, and genomics of microorganisms capable of syntrophic metabolism / M. J. McInerney, C. G. Struchtemeyer, J. Sieber [и др.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. — 2008. — Т. 1125. — С. 58—72.
52. The role of additives on anaerobic digestion: A review / M. S. Romero-Güiza, J. Vila, J. Mata-Alvarez [и др.] // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. — 2016. — Т. 58. — The role of additives on anaerobic digestion. — С. 1486—1499.
53. Long-term evaluation of bioaugmentation to alleviate ammonia inhibition during anaerobic digestion: Process monitoring, microbial community response, and methanogenic pathway modeling / Z. Yang, H. Sun, Q. Zhao [и др.] // *Chemical Engineering Journal*. — 2020. — Т. 399. — Long-term evaluation of bioaugmentation to alleviate ammonia inhibition during anaerobic digestion. — С. 125765.
54. Two microbial consortia obtained through purposive acclimatization as biological additives to relieve ammonia inhibition in anaerobic digestion / S. Wang, Z. Wang, M. Usman [и др.] // *Water Research*. — 2023. — Т. 230. — С. 119583.
55. Functional metagenomics reveals differential chitin degradation and utilization features across free-living and host-associated marine microbiomes / I. Raimundo, R. Silva, L. Meunier [и др.] // *Microbiome*. — 2021. — Т. 9. — № 1. — С. 43.
56. Opportunities and challenges in biological lignin valorization / G. T. Beckham, C. W. Johnson, E. M. Karp [и др.] // *Current Opinion in Biotechnology*. — 2016. — Т. 42. — С. 40—53.
57. Bacteria face trade-offs in the decomposition of complex biopolymers / K. Guseva, M. Mohrlok, L. Alteio [и др.] // *PLoS computational biology*. — 2024. — Т. 20. — № 8. — С. e1012320.
58. Screening of Keratinolytic Fungi for Biodegradation Agent of Keratin from Chicken Feather Waste / S. Sutoyo, Subandi, T. Ardyati, Suharjo // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. — 2019. — Т. 391. — С. 012027.
59. Construction of artificial microbial consortia for efficient degradation of chicken feathers and optimization of degradation conditions / W. Xia, M. Jin, X. Li [и др.] // *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. — 2024. — Т. 40. — № 10. — С. 312.
60. Keratinases and sulfide from *Bacillus subtilis* SLC to recycle feather waste / S. M. L. Cedrola, A. C. N. de Melo, A. M. Mazotto [и др.] // *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. — 2012. — Т. 28. — № 3. — С. 1259—1269.
61. Keratin degradation by dermatophytes relies on cysteine dioxygenase and a sulfite efflux pump / M. Grumbt, M. Monod, T. Yamada [и др.] // *The Journal of Investigative Dermatology*. — 2013. — Т. 133. — № 6. — С. 1550—1555.

62. Navone L. Understanding the dynamics of keratin weakening and hydrolysis by proteases / L. Navone, R. Speight // *PloS One*. — 2018. — Т. 13. — № 8. — С. e0202608.
63. Kouzuma A. Microbial interspecies interactions: recent findings in syntrophic consortia / A. Kouzuma, S. Kato, K. Watanabe // *Frontiers in Microbiology*. — 2015. — Т. 6. — Microbial interspecies interactions. — С. 477.
64. Заварзин Г. А. Синтрофные взаимодействия в сообществах микроорганизмов / Г. А. Заварзин, Е. А. Бонч-Осмоловская // *Известия АН СССР, Серия биологическая*. — 1981. — № 2. — С. 165—172.
65. Ecology and evolution of metabolic cross-feeding interactions in bacteria / G. D'Souza, S. Shitut, D. Preusser [и др.] // *Natural Product Reports*. — 2018. — Т. 35. — № 5. — С. 455—488.
66. Metabolic footprinting and systems biology: the medium is the message / D. B. Kell, M. Brown, H. M. Davey [и др.] // *Nature Reviews. Microbiology*. — 2005. — Т. 3. — Metabolic footprinting and systems biology. — № 7. — С. 557—565.
67. New F. N. What Is Metagenomics Teaching Us, and What Is Missed? / F. N. New, I. L. Brito // *Annual Review of Microbiology*. — 2020. — Т. 74. — С. 117—135.
68. Emerging priorities for microbial metagenome research / R. Kirubakaran, K. N. ArulJothi, S. Revathi [и др.] // *Bioresource Technology Reports*. — 2020. — Т. 11. — С. 100485.
69. Simon C. Metagenomic analyses: past and future trends / C. Simon, R. Daniel // *Applied and Environmental Microbiology*. — 2011. — Т. 77. — Metagenomic analyses. — № 4. — С. 1153—1161.
70. A framework for integrating genomics, microbial traits, and ecosystem biogeochemistry / Z. Li, W. J. Riley, G. L. Marschmann [и др.] // *Nature Communications*. — 2025. — Т. 16. — № 1. — С. 2186.
71. Progress in bioinformatics tools for analysis of metagenomically isolated microbiome: Current status and future prospects / D. Kukkar, C. Chopra, K. — H. Kim, P. Rajesh // *Gene Reports*. — 2026. — Т. 43. — Progress in bioinformatics tools for analysis of metagenomically isolated microbiome. — С. 102437.
72. Akram H. M. Advanced Sequencing Approaches for the Subgingival Microbiome: Technology Selection, Quality Control, and Best Practices in Periodontal Research / H. M. Akram, S. S. Saliem // *Bacteria*. — 2026. — Vol. 5. — Advanced Sequencing Approaches for the Subgingival Microbiome. — № 1. — P. 11.
73. 16S rRNA gene-based meta-analysis of the reptile gut microbiota reveals environmental effects, host influences and a limited core microbiota / C. Hoffbeck, D. M. R. L. Middleton, N. J. Nelson, M. W. Taylor // *Molecular Ecology*. — 2023. — Т. 32. — № 22. — С. 6044—6058.
74. Metagenomic Shotgun Sequencing and Unbiased Metabolomic Profiling Identify Specific Human Gut Microbiota and Metabolites Associated with Immune Checkpoint Therapy Efficacy in Melanoma Patients / A. E. Frankel, L. A. Coughlin, J. Kim [и др.] // *Neoplasia*. — 2017. — Т. 19. — № 10. — С. 848—855.
75. Metagenomic Identification of Microbial Signatures Predicting Pancreatic Cancer From a Multinational Study / N. Nagata, S. Nishijima, Y. Kojima [и др.] // *Gastroenterology*. — 2022. — Т. 163. — № 1. — С. 222—238.
76. Metagenome-Assembled Genomes (MAGs): Advances, Challenges, and Ecological Insights / S. Mirete, M. Sánchez-Costa, J. Díaz-Rullo [и др.] // *Microorganisms*. — 2025. — Т. 13. — Metagenome-Assembled Genomes (MAGs). — № 5. — С. 985.
77. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome / Human Microbiome Project Consortium // *Nature*. — 2012. — Т. 486. — № 7402. — С. 207—214.
78. Метагеномный анализ про- и эукариотических компонентов микробиоты биологически активного препарата БАГС / Лусина Т. О., Зверев А. О., Гладков Г. В. [и др.] // *Сельскохозяйственная биология*. — 2025. — Т. 60. — № 1. — С. 96—109.
79. Metagenomic analysis of a keratin-degrading bacterial consortium provides insight into the keratinolytic mechanisms / D. Kang, Y. Huang, J. Nesme [и др.] // *The Science of the Total Environment*. — 2021. — Т. 761. — С. 143281.
80. Metagenomic analysis of the biotoxicity of titanium dioxide nanoparticles to microbial nitrogen transformation in constructed wetlands / X. Yang, Y. Chen, F. Guo [и др.] // *Journal of Hazardous Materials*. — 2020. — Т. 384. — С. 121376.
81. Metagenomic analysis revealed the sulfur- and iron-oxidation capabilities of heterotrophic denitrifying sludge / K. Huang, Q. Li, H. Sun [и др.] // *Ecotoxicology*. — 2021. — Т. 30. — № 7. — С. 1399—1407.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Е. Ю. Нестерова** — младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий;

**И. Ю. Буракова** — младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий;

**П. Д. Морозова** — младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий;

**Е. В. Михайлов** — кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией инновационных препаратов рекомбинантной протеомики;

**М. Ю. Сыромятников** — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий.

Статья поступила в редакцию 19.08.2026.

## MICROBIAL CONSORTIA IN BIODEGRADATION OF KERATIN-CONTAINING LIVESTOCK WASTE AND MANURE

Ekaterina Yuryevna Nesterova\*, Inna Yuryevna Burakova\*, Polina Dmitrievna Morozova\*,  
Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov \*\*, Mikhail Yuryevich Syromyatnikov\*✉

\*Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia, syromyatnikov@bio.vsu.ru✉

\*\*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,  
Voronezh, Russia

**Abstract.** Keratin-containing waste and manure are valuable raw material for biotechnology, but their current disposal, namely incineration and burial, poses a threat to both the environment and livestock farms. The accumulation of this waste leads to environmental pollution, the spread of antibiotic resistance among pathogenic and opportunistic microorganisms, and greenhouse gas emissions. Innovative recycling methods are being developed within the framework of the circular economy, with the use of microbial consortia as a promising approach. Synergistic metabolic pathways among the organisms in the consortia enhance waste degradation efficacy. Metagenomics allows to study these communities without prior cultivation, revealing their composition and mechanisms of interaction. The knowledge gained enables the design of optimized consortia for industrial waste recycling, accelerating bioremediation and the production of environmentally friendly fertilizers and feed. This review summarizes current data on the composition and metagenomic characteristics of such consortia, highlighting the potential of these communities for use in the agro-industrial complex.

**Keywords:** biodegradation, keratin-containing waste, manure, microbial consortia.

**Acknowledgements:** this research was conducted within the framework of a state assignment from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project FZGW-2026-0001)

### INTRODUCTION

Keratin-containing waste and manure have significant potential for use as feedstocks in the bioprocessing industry. However, scientific and practical challenges hinder the efficient and economically viable utilization of these resources [1].

Current practices for the disposal of keratin-containing byproducts of the agro-industrial complex include incineration, landfill disposal and chemical hydrolysis, which adversely affect the environment [2]. The large-scale accumulation of manure also causes serious environmental problems, including unpleasant odors, soil and water pollution, and the spread of antibiotic resistance, which poses a serious threat to human health [3, 4]. Furthermore, they can emit gases that contribute to the greenhouse effect [5].

To minimize adverse effects, innovative approaches to livestock waste management are currently being actively developed and applied, aimed at optimizing manure processing within the framework of the circular economy concept [6].

The use of consortia with complementary metabolic pathways can ensure greater stability and efficacy of the keratin degradation process due to the synergism of enzymatic activities [7]. Understanding the nature of interactions and distribution of metabolic functions in such mixed substrates is key to developing efficient waste recycling biotechnologies.

The research objective is to summarize current data on the composition, functions and metagenomic characteristics of microbial consortia involved in the degradation of keratin-containing waste and manure.

### KERATIN-CONTAINING WASTE AND MANURE AS SUBSTRATES FOR MICROBIAL DEGRADATION

One of the most common byproducts of agricultural production is keratin-rich fibrous material, which becomes waste without any processing [8]. Keratin waste is rich in amino acids, which can negatively affect the atmosphere, water resources and soil if not properly processed [9]. Keratin material, in turn, is the most du-

rable biological structures, increasing interest in their use in industrial processes [10].

The global poultry industry produces over 2 million tons of feathers annually. Effective disposal of this byproduct is essential to prevent environmental pollution with toxic substances [11]. Chicken feathers are not just waste, but a valuable resource. They are rich in amino acids and other essential nutrients, making them a promising raw material for animal feed production. Furthermore, they can be used as an effective organic fertilizer [12–14].

It is known that keratin-containing waste, particularly chicken feathers, provide a favorable environment for the proliferation of pathogenic bacteria [15]. Feathers are not only a key source of nitrogen pollution but also a source of inhaled allergens that pose a health risk [16].

During the processing of animal raw material at wool, tannery and fur factories, significant amounts of waste and byproducts are generated at various stages of production [17].

Only a small portion of this waste is used in the production of fertilizers and feed [18]. The majority is sent to landfills or incinerated, despite the significant negative effect these disposal methods have on the environment [19].

Slaughterhouse operations generate large quantities of organic waste, such as hooves, horns, hides/skins and bones of cattle, which directly or indirectly affect the health of nearby residents [20]. Much of this waste is disposed ineffectively: in landfills, by incineration, or simply lost [21].

Keratins are insoluble, thread-like proteins produced by vertebrate epithelial cells [22]. Depending on their sulfur content, these biopolymers, which have significant differences in structure and properties, are divided into hard and soft keratins. Hard keratins include structures such as horns, nails, hair, feathers, claws and wool. Soft keratin, in turn, forms the skin and hair medulla [23].

Keratin has a number of important properties, including strength, viscosity and chemical inertness. The structural rigidity of keratin is due to its supramolecular organization, in which polypeptide chains form a structure through hydrogen bonds, hydrophobic interactions and disulfide bonds [24–26].

Hydrogen and disulfide bonds are used for keratin packaging [27].

Due to this, keratin is resistant to degradation by common proteases such as trypsin and pepsin [9]. This feature is the main obstacle to the use of keratin material in production [28, 29].

## **MICROBIAL CONSORTIA INVOLVED IN THE DEGRADATION OF KERATIN-CONTAINING WASTE AND MANURE**

Currently, the field of biotechnology, which focuses on improving bioprocesses and previously relied on pure cultures, has opened the way to the use of microbial consortia to enhance overall efficacy. Such multi-component microbial systems have become popular in the food industry and for solving bioremediation problems related to the detoxification of toxic substances and waste [30].

When the environment is unable to remove organic and inorganic contaminants, a bioremediation method is used based on the introduction of specially selected microorganisms capable of directly degrading the contaminant or producing biosurfactants that facilitate its degradation. For a long time, this method relied on the use of microbial monocultures [31]. However, the replacement of individual microorganisms with microbial consortia as inoculants has taken bioremediation to a new and more effective level [32, 33]. Microbial consortia, unlike homogeneous pure cultures, unite a multitude of microorganisms with varying environmental responses. The complex, multi-level organization of a consortium enables it to build effective interactions, generating synergy and ensuring high levels of efficacy [34]. The metabolic versatility and genetic diversity of microbial communities enable them to degrade most organic compounds, enabling them to solve complex problems inaccessible to individual strains [35].

The use of microbial consortia, even with the biological compatibility of their components, and the stepwise execution of tasks can lead to a significant increase in the overall productivity of the system [36]. Separation of functions reduces the metabolic burden on individual organisms by distributing and reducing the number of expressed enzymes and heterologous components [37]. This mechanism ensures a high degree of reliability and predictability in the performance of specific tasks by cells. Furthermore, it facilitates the efficient use of the specialization of individual system components, leading to an expansion of its functional potential [38]. The general organization of the microbial consortium and the main stages of keratin degradation are shown in Fig. 1.

## **MAIN TAXONOMIC GROUPS OF MICROORGANISMS**

When selecting microbial consortia for various tasks, particularly the synthesis of useful compounds and the removal of pollutants, their species composi-

tion is an important factor. Components of consortia designed for the degradation of organic matter include bacterial species, fungi and archaea [37].

Key species in the microbiological process of transforming difficult-to-decompose keratin-containing sub-

stances are representatives of bacterial genera such as *Eubacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* and *Bacillus*. These obligate and facultative anaerobes are capable of initiating the fermentation process in conjunction with micromycetes possessing keratinolytic activity [39].

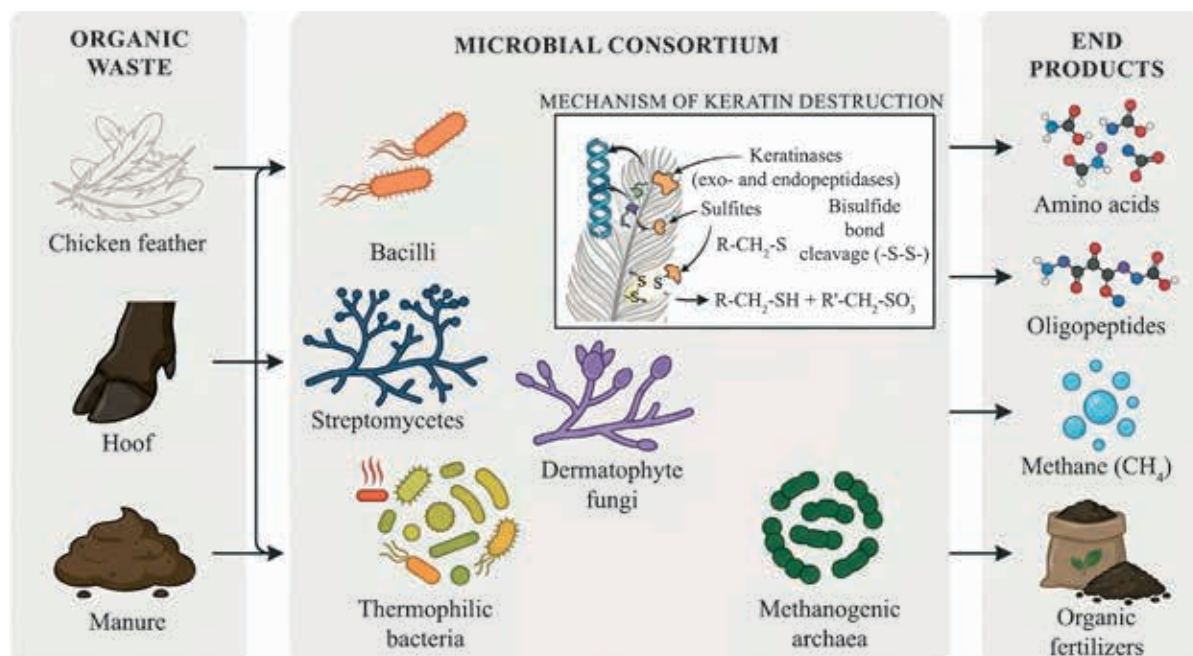


Fig. 1. Microbial consortium and mechanism of keratin degradation under anaerobic conditions

Among the microscopic fungi capable of breaking down keratin are pathogenic dermatophytes, as well as some fungi found in the soil. Dermatophyte fungi belonging to the genera *Keratinomyces*, *Microsporum*, *Trichophyton* and *Epidermophyton* intensively decompose keratinous material [40]. The enzymatic breakdown of natural keratin by keratinolytic fungi releases mineral compounds of nitrogen and sulfur, which are available for absorption by plants [41].

Among the bacteria capable of hydrolyzing keratins are actinomycetes, such as *Actinomyces keratolyticus*, as well as mesophilic bacteria of the genera *Streptomyces* (*S. rimosus*, *S. griseus*, *S. parvus*), *Nocardia* (*N. rubra*), *Bacillus* (*B. subtilis* and *B. coagulans*) and *Pseudomonas* (*P. caviae*) [42]. Bacilli have high potential for processing feather waste through bio-conversion. For example, the bacterial strain *Bacillus altitudinis* GVC11, isolated from slaughterhouse wastewater, effectively biodegraded poultry waste [43].

Among thermophilic bacteria that degrade keratin-containing compounds, representatives of the phylum *Thermotogae* (*Fervidobacterium pennivorans* [44] and *F. islandicum* [45]) are stand out. *Thermoactinomyces candidus* and *Actinomadura ke-*

*ratinilytica* produce a heat-stable, highly active keratinase, which allows them to be considered key components in the development of environmentally friendly methods for the disposal of poultry farm waste [40]. The representatives of the phylum *Firmicutes* include *Thermoanaerobacter keratinophilus*, *Brevibacillus thermoruber*, *Keratinibaculum paraultunense*, *Geobacillus stearothermophilus* and *Caldicoprobacter algeriensis* [46—50].

Syntrophic consortia are key agents in maintaining balance in anaerobic ecosystems. They consist of fatty acid-degrading bacteria and methanogenic archaea that consume hydrogen and formate, ensuring the stability of these environments [51].

The use of single archaea as bioadditives carries potential risks and uncertainties, particularly in the context of their ability to effectively inhibit methanogenic bacteria [52, 53].

Microbial communities characterized by high abundance of hydrogenotrophic methanogenic archaea, such as the genera *Methanoculleus* and *Methanosarcina*, demonstrate the potential to more effectively reduce the risks and uncertainties when used as bioadditives [54].

## **ECOLOGICAL INTERACTIONS WITHIN CONSORTIA**

Efficient degradation of complex organic compounds in microbial communities is ensured by the synergy of microorganisms that jointly hydrolyze biopolymers [9, 55, 56]. Metabolic cooperation arises within consortia, in which some microorganisms produce substances necessary for the vital activity of others, which facilitates the orderly breakdown of compounds [57].

Microorganisms are capable of hydrolyzing keratin both directly during their growth and by secreting extracellular keratinases. With their help, keratin is degraded into elementary protein structures [58]. These structures can then be cleaved by standard proteolytic enzymes into more soluble peptide fragments and individual amino acids. This process ensures the efficient extraction of keratin nutrients for its subsequent use in various fields [59]. The process of keratinolysis is also enhanced by the action of reducing agents. They include sulfites and other sulfur-containing compounds produced by microorganisms, as well as disulfide reductase enzymes. All of these components are critically important for the initial cleavage of disulfide bonds in the substrate [60]. For example, dermatophytes secrete sulfite to facilitate the process of keratin degradation through the action of proteases [61]. When released, sulfites help keratinases produced by dermatophytes continue their work of breaking down keratin. This allows dermatophytes to more easily access nutrients, such as oligopeptides and amino acids, which they require for growth [62].

Cross-trophic relationships, also known as syntrophy, are a key interspecies interaction in which all members of the community receive nutritional advantages [63]. Syntrophic interactions take a variety of forms, including the exchange of growth factors, such as vitamins, between microorganisms and the transfer of metabolic substrates, particularly carbon and nitrogen sources, where one member of the consortium receives energy while the other receives substances necessary for growth. Syntrophy also manifests itself in the joint removal of toxic metabolites, facilitating anabolic processes [64].

Despite their cooperative nature and symbiotic goals, microbial consortia are characterized by internal competition. Microorganisms in such communities compete for resources, which is a manifestation of the selection mechanisms operating within them [65]. The analysis of metabolites absorbed or secreted into the culture medium can provide a deeper understanding of the metabolic processes occurring in microbial associations. Identifying substrates preferred by spe-

cific microbial species can shed light on their potential for competition with other members of the microbial community [66].

## **METAGENOMIC APPROACHES TO MICROBIAL CONSORTIA STUDY**

Understanding the structural and functional organization of microbial consortia requires methods capable of simultaneously analyzing the genetic material of all species present. Metagenomics addresses the most fundamental problem in analyzing such complex microbiological systems, the ability to simultaneously analyze the genetic material of all microbial species present [67].

The transition from culture-based methods to metagenome analysis was a revolutionary step, enabling the study of the full diversity of uncultured microorganisms that make up the majority of natural ecosystems [68]. Metagenomics enables the investigation of the taxonomic diversity of microorganisms in various environments, identifying new species, as well as bacterial and archaeal phyla that are difficult to cultivate in the laboratory [69], which is crucial for studying complex ecosystems. Metagenomics can reveal the role of microorganisms in global ecosystem processes, enabling the identification not only of cause-and-effect relationships necessary for understanding the functioning of complex systems, but also of specific genetic determinants responsible for adaptation and functional activity [70].

Modern metagenomic approaches enable the solution of a variety of problems, from rapid taxonomic profiling to the reconstruction of entire genomes from mixed samples [71].

The most common and cost-effective method remains sequencing of marker genes, primarily *16S rRNA* for bacteria and archaea or *ITS* for fungi [72]. However, this approach provides information only on the taxonomic composition, but not on the functional potential of microorganisms [73]. A more in-depth and informative approach is shotgun metagenomics, which sequences the entire DNA of a sample without preliminary amplification of specific markers [74]. Shotgun sequencing identifies genes involved in various metabolic pathways, including carbohydrate, lipid and amino acid metabolism, as well as virulence and antibiotic resistance genes [75]. This method allows for the reconstruction of the genomes of individual, previously uncharacterized species directly from environmental samples, bypassing the cultivation step [76].

A critical step in metagenomic analysis is the process of determining the biological function of the pre-

dicted genes, or functional annotation. Functional annotation allows not only the identification of individual genes, but also the reconstruction of entire metabolic pathways — from glycolysis and the tricarboxylic acid cycle to specialized pathways for xenobiotic degradation and secondary metabolite biosynthesis [77].

Metagenomic analysis enabled the detection of microorganisms uncultured on nutrient media. The method made it possible to determine the taxonomic structure of the microbial community [78].

Potential keratinases were predicted based on the KMCG6 metagenome, and key metabolic pathways of KMCG6 were investigated based on genome reconstruction. The results suggested the presence of potential synergies between members of the microbial con-

sortium, including cross-feeding and division of labor between its members [79].

Metagenomic analysis was used to assess the effect of titanium dioxide nanoparticles on the biological and chemical processes of various organisms and microbial communities. The study revealed a decrease in the number of functional genes and genes encoding enzymes involved in nitrogen conversion and ATP and NADH production [80].

The use of metagenomic analysis allowed for a deeper understanding of the structure and functions of the microbial community involved in sulfur oxidation and denitrification, as well as the identification of potential new bacterial species involved in these processes [81].

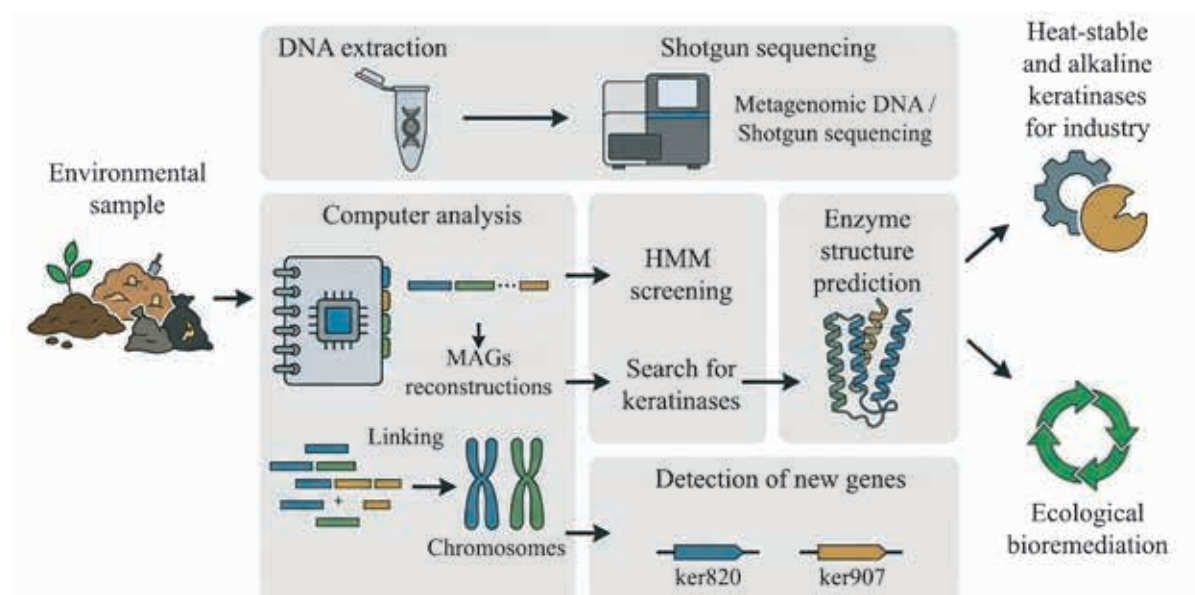


Fig. 2. The main stages of metagenomic analysis for the search and characterization of new enzymes.

## CONCLUSION

Microbial consortia play a key role in the efficient degradation of keratin-containing waste and manure, combining bacteria, fungi and archaea to co-hydrolyze complex biopolymers (keratin from feathers, hair, horns and hooves), as well as organic components of animal waste.

Metagenomics has significantly expanded the possibilities for studying microbial consortia, enabling the analysis of taxonomic composition, functional potential and metabolic pathways without the need to cultivate individual strains. Identifying uncultured microorganisms and reconstructing microbial genomes assembled using metagenomic technologies has provided a better understanding of cooperation and competition within consortia.

The knowledge obtained opens up prospects for biotechnology, where artificially designed or optimized consortia can be used in the industrial processing of organic waste, accelerating bioremediation, reducing waste volumes and promoting the development of sustainable livestock farming through the production of environmentally friendly biofertilizers and feed additives.

## REFERENCES

1. Nnolim N. E. Harnessing Microbial Consortia for Efficient Keratinous Biomass Biotransformation / N. E. Nnolim, U. U. Nwodo // International Journal of Molecular Sciences. — 2025. — Vol. 26. — No. 20. — P. 9898.
2. Shestakova A. Biodegradation of Keratin-Rich Husbandry Waste as a Path to Sustainable Agriculture /

- A. Shestakova, S. Timorshina, A. Osmolovskiy // Sustainability. — 2021. — Vol. 13. — No. 16. — P. 8691.
3. Enhanced Growth and Activities of the Dominant Functional Microbiota of Chicken Manure Composts in the Presence of Maize Straw / L. Zhang, L. Li, X. Pan [et al.] // Frontiers in Microbiology. — 2018. — V. 9.
4. Comprehensive assessment of the utilization of manure in China's croplands based on national farmer survey data / Q. Zhang, Y. Chu, Y. Yin [et al.] // Scientific Data. — 2023. — V. 10. — No. 1. — P. 223.
5. Analysis of microbial communities in solid and liquid pig manure during the fertilization process / S. — R. Kim, J. Lee, M. G. Lee [et al.] // Scientific Reports. — 2024. — V. 14. — No. 1. — P. 72.
6. A review of emerging trends in circular manure management and the role of digital solutions / A. O. Oyedun, H. A. Salami, M. M. Odewole [et al.] // Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. — 2025. — Vol. 24. — No. 4. — P. 21.
7. Keratinases: microbial sources, mechanisms, and industrial applications in waste valorization / Y. Chu, S. Chu, F. Hu [et al.] // Frontiers in Microbiology. — V. 17. — Keratinases. — P. 1793191.
8. Closing the Loop with Keratin-Rich Fibrous Materials / S. Perța-Crișan, C. Ștefan Ursachi, S. Gavrilăș [et al.] // Polymers. — 2021. — V. 13. — No. 11. — P. 1896.
9. Li Q. Structure, Application, and Biochemistry of Microbial Keratinases / Q. Li // Frontiers in Microbiology. — 2021. — V. 12. — P. 674345.
10. Zhang W. Structure of Keratin / W. Zhang, Y. Fan // Methods in Molecular Biology. — 2021. — V. 2347. — P. 41—53.
11. Li Q. Perspectives on Converting Keratin-Containing Wastes Into Biofertilizers for Sustainable Agriculture / Q. Li // Frontiers in Microbiology. — 2022. — V. 13. — P. 918262.
12. Current Understanding of Feather Keratin and Keratinase and Their Applications in Biotechnology / T. Moktip, L. Salaipeth, A. E. Cope [et al.] // Biochemistry Research International. — 2025. — V. 2025. — P. 6619273.
13. Li Q. Progress in Microbial Degradation of Feather Waste / Q. Li // Frontiers in Microbiology. — 2019. — V. 10. — P. 2717.
14. Yadav S. Biodegradation of poultry feather waste by keratinase producing *Bacillus cereus* strain isolated from poultry farms waste disposal site / S. Yadav, B. Khosla // Case Studies in Chemical and Environmental Engineering. — 2021. — V. 4. — P. 100114.
15. Mpaka L. Microbial Keratinolysis: Eco-Friendly Valorisation of Keratinous Waste into Functional Peptides / L. Mpaka, N. E. Nnolim, U. U. Nwodo // Microorganisms. — 2025. — V. 13. — Microbial Keratinolysis. — No. 10. — P. 2270.
16. Insights of keratin geometry from agro-industrial wastes: A comparative computational and experimental assessment / J. A. Tuly, H. Ma, H. — J. Lee [et al.] // Food Chemistry. — 2023. — V. 418. — Insights of keratin geometry from agro-industrial wastes. — P. 135854.
17. Sapozhnikova (Drapkina), A. I. Bioactive keratin as a functional sulfur-containing feed additive / A. I. Sapozhnikova (Drapkina), K. V. Esepenok // Mezhdunarodnyy Nauchno-Issledovatel'skiy Zhurnal (International Research Journal). — 2020. — No. 11—1 (101). — P. 144—149.
18. Valorisation of keratin waste: Controlled pretreatment enhances enzymatic production of antioxidant peptides / G. Cai, K. Moffitt, L. Navone [et al.] // Journal of Environmental Management. — 2022. — V. 301. — Valorisation of keratin waste. — P. 113945.
19. The dark side of the wool? From wool wastes to keratin microfilaments through the solution blow spinning process / G. Maurizii, L. Valentini, G. Sotgiu [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. — 2024. — V. 275. — The dark side of the wool? — No. Pt 2. — P. 133722.
20. Optimizing the Extraction of Keratin from Cattle Hoof Using Central Composite Design / K. T. Yilma, T. Tesfaye, H. Enawgaw [et al.] // Advances in Materials Science and Engineering. — 2022. — Vol. 2022. — No. 1. — P. 4866467.
21. Babaniyi B. Extraction and Functional Profiling of Keratin From Cow Hooves / B. Babaniyi, G. Idowu, O. Olugbenga // Food Chemistry International. — 2025. — V. 1.
22. Herrmann H. Intermediate filaments: molecular structure, assembly mechanism, and integration into functionally distinct intracellular Scaffolds / H. Herrmann, U. Aebi // Annual Review of Biochemistry. — 2004. — V. 73. — Intermediate filaments. — P. 749—789.
23. Anbesaw M. S. Bioconversion of Keratin Wastes Using Keratinolytic Microorganisms to Generate Value-Added Products / M. S. Anbesaw // International Journal of Biomaterials. — 2022. — V. 2022. — P. 2048031.
24. Study on the Structure and Properties of Biofunctional Keratin from Rabbit Hair / X. Wang, Z. Shi, Q. Zhao, Y. Yun // Materials. — 2021. — V. 14. — No. 2. — P. 379.
25. Current Understanding of Feather Keratin and Keratinase and Their Applications in Biotechnology / T. Moktip, L. Salaipeth, A. E. Cope [et al.] // Biochemistry Research International. — 2025. — V. 2025. — P. 6619273.
26. Closing the Loop with Keratin-Rich Fibrous Materials / S. Perța-Crișan, C. Ștefan Ursachi, S. Gavrilăș [et al.] // Polymers. — 2021. — V. 13. — No. 11. — P. 1896.
27. Molecular strategies to enhance the keratinase gene expression and its potential implications in poultry feed industry / M. Saeed, M. Yan, Z. Ni [et al.] // Poultry Science. — 2024. — V. 103. — No. 5. — P. 103606.
28. Vidmar B. Microbial Keratinases: Enzymes with Promising Biotechnological Applications / B. Vidmar, M. Vodovnik // Food Technology and Biotechnology. — 2018. — V. 56. — Microbial Keratinases. — No. 3. — P. 312—328.

29. Comprehensive insights into the mechanism of keratin degradation and exploitation of keratinase to enhance the bioaccessibility of soybean protein / B. Zhou, Y. Guo, Y. Xue [et al.] // *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*. — 2023. — V. 16. — No. 1. — P. 177.
30. *Singh R.* Microbial consortia including methanotrophs: some benefits of living together / R. Singh, J. Ryu, S. W. Kim // *Journal of Microbiology*. — 2019. — V. 57. — Microbial consortia including methanotrophs. — No. 11. — P. 939—952.
31. *Vogel T. M.* Bioaugmentation as a soil bioremediation approach / T. M. Vogel // *Current Opinion in Biotechnology*. — 1996. — V. 7. — No. 3. — P. 311—316.
32. Biotechnological potential and applications of microbial consortia / X. Qian, L. Chen, Y. Sui [et al.] // *Biotechnology Advances*. — 2020. — V. 40. — P. 107500.
33. *Sgobba E.* Synthetic microbial consortia for small molecule production / E. Sgobba, V. F. Wendisch // *Current Opinion in Biotechnology*. — 2020. — V. 62. — P. 72—79.
34. Accelerated processing of livestock waste using a microbial consortium in suspension and immobilized forms / *Rzhevskaya V. S., Omelchenko A. V., Bugara I. A., Omelchenko S. O.* // *Ekosistemy (Ecosystems)*. — 2023. — No. 36. — P. 248—257.
35. Syntrophic exchange in synthetic microbial communities / M. T. Mee, J. J. Collins, G. M. Church, H. H. Wang // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2014. — V. 111. — No. 20. — P. E2149—2156.
36. Engineering microbial consortia for controllable outputs / S. R. Lindemann, H. C. Bernstein, H. — S. Song [et al.] // *The ISME Journal*. — 2016. — V. 10. — No. 9. — P. 2077—2084.
37. *Tsoi R.* Emerging strategies for engineering microbial communities / R. Tsoi, Z. Dai, L. You // *Biotechnology Advances*. — 2019. — V. 37. — No. 6. — P. 107372.
38. *Deter H. S.* Engineering microbial consortia with rationally designed cellular interactions / H. S. Deter, T. Lu // *Current Opinion in Biotechnology*. — 2022. — V. 76. — P. 102730.
39. *Kleeva N. A.* The role of soil microbiocenosis in the decomposition of organic residues / *Kleeva N. A., Protsenko E. P., Balabina I. P.* — 2013. — V. 5. — No. 15. — P. 10—12.
40. *Podosokorskaya O. A.* Recycling of poultry farm waste: modern approaches and prospects / *Podosokorskaya O. A.* // *Auditorium*. — 2017. — *Pererabotka otkhodov ptitsefabrik (Recycling of poultry farm waste)*. — No. 3 (15). — P. 29—35.
41. *Bohacz J.* Fungal diversity and keratinolytic activity of fungi from lignocellulosic composts with chicken feathers / J. Bohacz, T. Kornilowicz-Kowalska // *Process Biochemistry*. — 2019. — V. 80. — P. 119—128.
42. *Shamkhanov Ch. Yu.* Keratin-splitting activity of some groups of actinomycetes / Shamkhanov Ch. Yu // *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Pishchevaya tekhnologiya (Transactions of higher educational institutions. Food technology)*. — 2002. — No. 4. — P. 24—26.
43. A novel serine alkaline protease from *Bacillus altitudinis* GVC11 and its application as a dehairing agent / E. Vijay Kumar, M. Srijana, K. Kiran Kumar [et al.] // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. — 2011. — V. 34. — No. 4. — P. 403—409.
44. *Friedrich A. B.* Keratin Degradation by *Fervidobacterium pennavorans*, a Novel Thermophilic Anaerobic Species of the Order Thermotogales / A. B. Friedrich, G. Antranikian // *Applied and Environmental Microbiology*. — 1996. — V. 62. — No. 8. — P. 2875—2882.
45. Native-feather degradation by *Fervidobacterium islandicum* AW-1, a newly isolated keratinase-producing thermophilic anaerobe / G. — W. Nam, D. — W. Lee, H. — S. Lee [et al.] // *Archives of Microbiology*. — 2002. — V. 178. — No. 6. — P. 538—547.
46. Novel serine keratinase from *Caldicoprobacter algeriensis* exhibiting outstanding hide dehairing abilities / K. Bouacem, A. Bouanane-Darenfed, N. Zeraï Jaouadi [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2016. — V. 86. — P. 321—328.
47. *Riessen S.* Isolation of *Thermoanaerobacter keratinophilus* sp. nov., a novel thermophilic, anaerobic bacterium with keratinolytic activity / S. Riessen, G. Antranikian // *Extremophiles: Life Under Extreme Conditions*. — 2001. — V. 5. — No. 6. — P. 399—408.
48. Degradation of native feathers by a novel keratinase-producing, thermophilic isolate, *Brevibacillus thermoruber* T1E / Z. Bihari, D. Vidéki, E. Mihalik [et al.] // *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*. — 2010. — V. 65. — No. 1—2. — P. 134—140.
49. Isolation and characterization of *Keratinibaculum paraultunense* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic, anaerobic bacterium with keratinolytic activity / Y. Huang, Y. Sun, S. Ma [et al.] // *FEMS microbiology letters*. — 2013. — V. 345. — No. 1. — P. 56—63.
50. Keratinous waste decomposition and peptide production by keratinase from *Geobacillus stearothermophilus* AD-11 / A. Gegeckas, R. Gudiukaitė, J. Debski, D. Citavicius // *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2015. — V. 75. — P. 158—165.
51. Physiology, ecology, phylogeny, and genomics of microorganisms capable of syntrophic metabolism / M. J. McInerney, C. G. Struchtemeyer, J. Sieber [et al.] // *Annals of the New York Academy of Sciences*. — 2008. — V. 1125. — P. 58—72.
52. The role of additives on anaerobic digestion: A review / M. S. Romero-Güiza, J. Vila, J. Mata-Alvarez [et al.] // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. — 2016. — V. 58. — The role of additives on anaerobic digestion. — P. 1486—1499.
53. Long-term evaluation of bioaugmentation to alleviate ammonia inhibition during anaerobic digestion: Process monitoring, microbial community response, and methanogenic pathway modeling / Z. Yang, H. Sun, Q. Zhao [et al.]

- al.] // *Chemical Engineering Journal*. — 2020. — V. 399. — Long-term evaluation of bioaugmentation to alleviate ammonia inhibition during anaerobic digestion. — P. 125765.
54. Two microbial consortia obtained through purposive acclimatization as biological additives to relieve ammonia inhibition in anaerobic digestion / S. Wang, Z. Wang, M. Usman [et al.] // *Water Research*. — 2023. — V. 230. — P. 119583.
55. Functional metagenomics reveals differential chitin degradation and utilization features across free-living and host-associated marine microbiomes / I. Raimundo, R. Silva, L. Meunier [et al.] // *Microbiome*. — 2021. — V. 9. — No. 1. — P. 43.
56. Opportunities and challenges in biological lignin valorization / G. T. Beckham, C. W. Johnson, E. M. Karp [et al.] // *Current Opinion in Biotechnology*. — 2016. — V. 42. — P. 40—53.
57. Bacteria face trade-offs in the decomposition of complex biopolymers / K. Guseva, M. Mohrlok, L. Alteio [et al.] // *PLoS computational biology*. — 2024. — V. 20. — No. 8. — P. e1012320.
58. Screening of Keratinolytic Fungi for Biodegradation Agent of Keratin from Chicken Feather Waste / S. Sutoyo, Subandi, T. Ardyati, Suharjono // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. — 2019. — V. 391. — P. 012027.
59. Construction of artificial microbial consortia for efficient degradation of chicken feathers and optimization of degradation conditions / W. Xia, M. Jin, X. Li [et al.] // *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. — 2024. — V. 40. — No. 10. — P. 312.
60. Keratinases and sulfide from *Bacillus subtilis* SLC to recycle feather waste / S. M. L. Cedrola, A. C. N. de Melo, A. M. Mazotto [et al.] // *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. — 2012. — V. 28. — No. 3. — P. 1259—1269.
61. Keratin degradation by dermatophytes relies on cysteine dioxygenase and a sulfite efflux pump / M. Grumbt, M. Monod, T. Yamada [et al.] // *The Journal of Investigative Dermatology*. — 2013. — V. 133. — No. 6. — P. 1550—1555.
62. *Navone L.* Understanding the dynamics of keratin weakening and hydrolysis by proteases / L. Navone, R. Speight // *PloS One*. — 2018. — V. 13. — No. 8. — P. e0202608.
63. *Kouzuma A.* Microbial interspecies interactions: recent findings in syntrophic consortia / A. Kouzuma, S. Kato, K. Watanabe // *Frontiers in Microbiology*. — 2015. — V. 6. — Microbial interspecies interactions. — P. 477.
64. *Zavarzin G. A.* Syntrophic interactions in microbial communities / G. A. Zavarzin, E. A. Bonch-Osmolovskaya // *Izvestiya AN SSSR, Seriya biologicheskaya (Bulletin of the USSR Academy of Sciences, Biological Series)*. — 1981. — No. 2. — P. 165—172.
65. Ecology and evolution of metabolic cross-feeding interactions in bacteria / G. D'Souza, S. Shitut, D. Preussger [et al.] // *Natural Product Reports*. — 2018. — V. 35. — No. 5. — P. 455—488.
66. Metabolic footprinting and systems biology: the medium is the message / D. B. Kell, M. Brown, H. M. Davey [et al.] // *Nature Reviews. Microbiology*. — 2005. — V. 3. — Metabolic footprinting and systems biology. — No. 7. — P. 557—565.
67. *New F. N.* What Is Metagenomics Teaching Us, and What Is Missed? / F. N. New, I. L. Brito // *Annual Review of Microbiology*. — 2020. — V. 74. — P. 117—135.
68. Emerging priorities for microbial metagenome research / R. Kirubakaran, K. N. ArulJothi, S. Revathi [et al.] // *Bioresource Technology Reports*. — 2020. — V. 11. — P. 100485.
69. *Simon C.* Metagenomic analyses: past and future trends / C. Simon, R. Daniel // *Applied and Environmental Microbiology*. — 2011. — V. 77. — Metagenomic analyses. — No. 4. — P. 1153—1161.
70. A framework for integrating genomics, microbial traits, and ecosystem biogeochemistry / Z. Li, W. J. Riley, G. L. Marschmann [et al.] // *Nature Communications*. — 2025. — V. 16. — No. 1. — P. 2186.
71. Progress in bioinformatics tools for analysis of metagenomically isolated microbiome: Current status and future prospects / D. Kukkar, C. Chopra, K. — H. Kim, P. Rajesh // *Gene Reports*. — 2026. — V. 43. — Progress in bioinformatics tools for analysis of metagenomically isolated microbiome. — P. 102437.
72. *Akram H. M.* Advanced Sequencing Approaches for the Subgingival Microbiome: Technology Selection, Quality Control, and Best Practices in Periodontal Research / H. M. Akram, S. S. Saliem // *Bacteria*. — 2026. — Vol. 5. — Advanced Sequencing Approaches for the Subgingival Microbiome. — No. 1. — P. 11.
73. 16S rRNA gene-based meta-analysis of the reptile gut microbiota reveals environmental effects, host influences and a limited core microbiota / C. Hoffbeck, D. M. R. L. Middleton, N. J. Nelson, M. W. Taylor // *Molecular Ecology*. — 2023. — V. 32. — No. 22. — P. 6044—6058.
74. Metagenomic Shotgun Sequencing and Unbiased Metabolomic Profiling Identify Specific Human Gut Microbiota and Metabolites Associated with Immune Checkpoint Therapy Efficacy in Melanoma Patients / A. E. Frankel, L. A. Coughlin, J. Kim [et al.] // *Neoplasia*. — 2017. — V. 19. — No. 10. — P. 848—855.
75. Metagenomic Identification of Microbial Signatures Predicting Pancreatic Cancer From a Multinational Study / N. Nagata, S. Nishijima, Y. Kojima [et al.] // *Gastroenterology*. — 2022. — V. 163. — No. 1. — P. 222—238.
76. Metagenome-Assembled Genomes (MAGs): Advances, Challenges, and Ecological Insights / S. Mirete, M. Sánchez-Costa, J. Díaz-Rullo [et al.] // *Microorganisms*. — 2025. — V. 13. — Metagenome-Assembled Genomes (MAGs). — No. 5. — P. 985.
77. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome / Human Microbiome Project Consortium // *Nature*. — 2012. — V. 486. — No. 7402. — P. 207—214.

78. Metagenomic analysis of pro- and eukaryotic components of the microbiota of the biologically active preparation BAGS / *Lisina T. O., Zverev A. O., Gladkov G. V.* [et al.] // *Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural Biology)*. — 2025. — Vol. 60. — No. 1. — P. 96—109.

79. Metagenomic analysis of a keratin-degrading bacterial consortium provides insight into the keratinolytic mechanisms / *D. Kang, Y. Huang, J. Nesme* [et al.] // *The Science of the Total Environment*. — 2021. — V. 761. — P. 143281.

80. Metagenomic analysis of the biotoxicity of titanium dioxide nanoparticles to microbial nitrogen transformation in constructed wetlands / *X. Yang, Y. Chen, F. Guo* [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. — 2020. — V. 384. — P. 121376.

81. Metagenomic analysis revealed the sulfur- and iron-oxidation capabilities of heterotrophic denitrifying sludge / *K. Huang, Q. Li, H. Sun* [et al.] // *Ecotoxicology*. — 2021. — V. 30. — No. 7. — P. 1399—1407.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**E. Yu. Nesterova** — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology;

**I. Yu. Burakova** — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology;

**P. D. Morozova** — Junior Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology;

**E. V. Mikhaylov** — Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory of Innovative Preparations of Recombinant Proteomics;

**M. Yu. Syromyatnikov** — Candidate of Biological Sciences, Principal Scientific Associate of the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology.

The article was submitted 19.08.2026.

Научная статья

УДК 636.4.09:615.33/615.37

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.20.45.009

## КОРРЕКЦИЯ ДИСБИОЗА КИШЕЧНОГО МИКРОБИОЦЕНОЗА СВИНЕЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ В СИСТЕМЕ ИМИТАЦИИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Юлия Андреевна Ярушникова<sup>\*✉</sup>, Сергей Николаевич Головин<sup>\*</sup>,  
Дарья Андреевна Седова<sup>\*</sup>, Максим Михайлович Ханукаев<sup>\*</sup>,  
Сергей Константинович Шебеко<sup>\*</sup>, Сергей Николаевич Тресницкий<sup>\*</sup>,  
Ольга Алексеевна Манжурина<sup>\*\*</sup>, Евгений Владимирович Михайлов<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Донской государственный технический университет,  
Ростов-на-Дону, Россия, [tihmeneva.yulia@yandex.ru](mailto:tihmeneva.yulia@yandex.ru)<sup>✉</sup>

<sup>\*\*</sup>Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия

**Аннотация.** Заболевания желудочно-кишечного тракта молодняка свиней сопровождаются нарушением кишечного микробиоценоза, однако данные о динамике его восстановления после курса антибиотикотерапии фрагментарны. Цель исследования — оценить влияние амоксициллина на состав культивируемого кишечного сообщества свиной в системе имитации желудочно-кишечного тракта (иЖКТ) и изучить динамику его восстановления при последующем введении пробиотика на основе *Bacillus subtilis*. В работе использовали автоматизированную установку иЖКТ с модулем толстой кишки (реакционный объём 450 мл, pH 6,5, искусственная кишечная среда) в течение 9 суток непрерывного культивирования. Инокулятом служило содержимое толстого отдела кишечника свиной-донора возрастом 29 недель. Состав микробиоты оценивали культуральным методом и ПЦР в реальном времени с набором «Колонофлор-16 (биоценоз)». На 5—7-е сутки в среду вносили Амоксигард до конечной концентрации амоксициллина 16 мг/л, с 8-х суток — Ветоспорин Ж (штаммы *B. subtilis* 11В и 12В, 10 мл/л). Динамическое равновесие в биореакторе устанавливалось к 3-м суткам. Действие антибиотика проявлялось с 6-х суток; максимальное угнетение микробиоценоза регистрировали на 8-е сутки: лактобациллы и бифидобактерии снижались до 10<sup>5</sup> КОЕ/г, общее микробное число и облигатные анаэробы — до 10<sup>6</sup> КОЕ/г, энтерококки — до 10<sup>3</sup> КОЕ/г. После введения пробиотика лактобациллы и бифидобактерии возвращались к фоновым значениям к 9-м суткам, тогда как общее микробное число, БГКП и энтерококки восстанавливались лишь частично. Данные ПЦР отражали ту же направленность изменений при количественных расхождениях с культуральным методом. Полученные результаты позволяют заключить, что применение спорообразующего пробиотика после антибиотикотерапии способствует опережающему восстановлению облигатной лакто- и бифидофлоры.

**Ключевые слова:** свиной, кишечная микробиота, *in vitro*-модель кишечника, Амоксигард, амоксициллин, *Bacillus subtilis*, Ветоспорин.

**Благодарность:** работа выполнена при поддержке государственного задания «Молекулярные механизмы взаимодействия сообществ кишечных микроорганизмов *in vivo* и *in vitro* на базе автоматизированной системы имитации ЖКТ свиной» (номер ЕГИСУ НИОКР 124111200008-4)

### ВВЕДЕНИЕ

Заболевания желудочно-кишечного тракта молодняка сельскохозяйственных животных остаются одной из ведущих причин падежа, снижения приростов и экономических потерь в животноводстве. В их патогенезе ключевую роль играет нарушение микробиоты кишечника и формирование

устойчивых микробных сообществ с негативными свойствами, способных длительно персистировать в пищеварительном тракте [1—3].

Общие представления о роли кишечной микробиоты в формировании системного иммунного ответа, метаболического статуса и устойчивости хозяина к инфекциям сформированы преиму-

© Ярушникова Ю. А., Головин С. Н., Седова Д. А., Ханукаев М. М., Шебеко С. К., Тресницкий С. Н., Манжурина О. А., Михайлов Е. В., 2026

щественно в работах на человеке и лабораторных моделях. В рамках этих представлений дисбиоз рассматривается не только как следствие патологического процесса, но и как самостоятельный фактор, способный поддерживать хроническое воспаление, изменять проницаемость эпителиального барьера и модифицировать риск иммунопатологий [4], а действие пробиотиков связывают с иммуномодуляцией и конкурентными взаимодействиями в просвете кишечника [5]. Прямой перенос этих закономерностей на свиней требует осторожности: видовые различия в анатомии и физиологии пищеварения, составе рациона и структуре микробного сообщества существенны, поэтому приведённые данные используются здесь как общий концептуальный фон.

Применительно к свиноводству накоплен собственный массив данных. Показано, что нарушения микробиоценоза кишечника у поросят сопровождаются снижением приростов и повышенной чувствительностью к бактериальным инфекциям, а среди возбудителей, ассоциированных с кишечной патологией промышленного поголовья, отмечают энтеробактерии и стрептококки [6—8]. Изучена антибиотикочувствительность штаммов, выделенных от свиней, и продемонстрировано влияние пробиотических препаратов на основе *Bacillus subtilis* на интенсивность роста, конверсию корма и гематологические показатели поросят-отъёмышей [9]. Вместе с тем период раннего онтогенеза, когда формируется симбиоз хозяина и микробного сообщества, остаётся наименее изученным именно для свиней, а данные о динамике восстановления микробиоценоза после курса антибиотикотерапии фрагментарны, что и определило задачи настоящей работы.

Понимание того, что кишечная микробиота играет ключевую роль в устойчивости молодняка к инфекциям и в поддержании целостности эпителиального барьера, делает любые вмешательства в её состав особо значимыми с точки зрения последствий для здоровья и продуктивности животных. Одним из наиболее распространённых и одновременно наиболее мощных факторов, влияющих на структуру и функции микробных сообществ кишечника, остаётся антимикробная терапия, в первую очередь применение  $\beta$ -лактамов антибиотиков широкого спектра действия в условиях интенсивного животноводства. Широкое применение антибиотиков пенициллинового ряда, в том числе амоксициллина и его комбинированных форм, позволяет эффективно контролировать острые бак-

териальные инфекции, однако сопровождается ростом антибиотикорезистентности и изменением структуры микробных сообществ. Показано, что амоксициллин активен в отношении широкого спектра возбудителей бактериальных инфекций животных, включая *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* и ряд других патогенов, однако его эффективность снижается при формировании биоплёнок и развитии антибиотикорезистентности. В этой связи особый интерес представляют лекарственные формы амоксициллина, сочетающие антибактериальное действие с возможностью воздействия на биоплёночные сообщества и метаболизм резистентных штаммов микроорганизмов [6, 10]. Амоксигард, содержащий амоксициллин в комбинации с клавулановой кислотой, рассматривается как перспективное средство для повышения эффективности антибиотикотерапии и частичного преодоления биоплёночной резистентности [10].

Целенаправленное применение антибиотиков, в том числе Амоксигарда, необходимо для подавления бактериальных инфекций, но неизбежно затрагивает не только патогенные, но и комменсальные компоненты кишечной микробиоты, смещая её динамическое равновесие и создавая предпосылки для дисбиоза и повторных нарушений пищеварения [7].

Поэтому на этапе восстановления микробного сообщества особое значение приобретают препараты, способные корректировать состав и активность кишечных бактерий, вытеснять нежелательные микроорганизмы и поддерживать ферментативную и барьерную функцию кишечника. К таким средствам относятся пробиотические препараты на основе спорообразующих штаммов *Bacillus subtilis*, которые способны стабилизировать микробиоценоз кишечника, улучшать переваримость питательных веществ и повышать продуктивность животных. Ветоспорин (различные формы препарата, содержащие штаммы *Bacillus subtilis*) продемонстрировал положительное влияние на интенсивность роста, конверсию корма и сохранность молодняка свиней и крупного рогатого скота, при этом показатели гематологического и биохимического статуса животных оставались в пределах физиологической нормы [10, 11]. Отмечено, что включение Ветоспорина в рацион бычков и поросят приводит к увеличению среднесуточных приростов, снижению затрат корма на единицу прироста и повышению экономической эффективности выращивания [12].

Несмотря на накопленные данные об эффективности амоксициллина (и его комбинированных форм) и пробиотика Ветоспорина, вопросы их последовательного применения при моделировании нарушений микробиоценоза кишечника остаются недостаточно изученными. Особенно актуально экспериментальное обоснование схем, в которых антибиотик сначала целенаправленно изменяет динамическое равновесие микробного сообщества кишечника, а последующее применение пробиотика позволяет восстановить или улучшить функциональное состояние микробиоты и показатели обмена веществ.

Цель исследования — оценить влияние амоксициллина/клавуланата на состав культивируемого кишечного сообщества свиньи в иЖКТ и изучить динамику его восстановления при последующем введении *Bacillus subtilis*-содержащего пробиотика.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Дизайн исследования включал следующие этапы:

1. Моделирование в иЖКТ нормального микробиоценоза толстого кишечника свиньи.
2. Моделирование антибиотик-индуцированного дисбиоза микробиоценоза толстой кишки свиньи.
3. Введение пробиотического препарата на основе *Bacillus subtilis* для восстановления динамического бактериального равновесия.

Работа была выполнена в 2026 году на базе Института живых систем Донского государственного технического университета.

Исследовали образцы, полученные от свиного донора возрастом 29 недель (мясоперерабатывающее предприятие «Вепоз», г. Ростов-на-Дону, Россия), а также образцы из иЖКТ (искусственный желудочно-кишечный тракт), которые отбирались на протяжении 9 дней непрерывной работы установки. Донор выращивался в условиях фермы на концентратном рационе, не получал антибиотикотерапии, кормление не изменялось в предубойный период.

Отбор проб проводили при убое из толстого отдела кишечника в стерильные контейнеры с последующим их размещением в термоконтейнерах с хладагентами и транспортировкой в лабораторию. Все процедуры соответствовали этическим стандартам работы с животными (заключение Локального независимого этического комитета Донского государственного технического универ-

ситета № 6 от 04.11.2024 г.). Исследование выполняли с использованием автоматизированной установки иЖКТ свиньи [13, 14], параметры описаны далее. В состав системы входил биореактор, моделирующий условия толстого отдела кишечника.

В качестве среды в биореакторе использовали разработанную и протестированную ранее искусственную кишечную среду, предназначенную для *in vitro*-моделирования микробиоты различных отделов ЖКТ свиней [15].

Для приготовления базовой среды в 1 л дистиллированной воды последовательно вносили следующие компоненты (в граммах): пектин — 9,0; ксилан — 9,0; арабиногалактан — 9,0; амилопектин — 9,0; казеин — 43,7; крахмал — 50,0; бактопептон — 43,7; стерильная бычья желчь — 0,7;  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  — 4,7; NaCl — 8,4;  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  — 0,009;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  — 0,7;  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  — 0,8; гемин — 0,02; п-аминобензойная кислота — 0,2. Смесь автоклавировали при 121 °C и в течение 20 минут. После охлаждения в асептических условиях добавляли следующие чувствительные к нагреванию компоненты: твин 80 — 31,5; никотинамид — 2,5; тиамин — 0,004; цистеин·HCl — 0,003; менадион — 0,001; D-биотин — 0,002; витамин B<sub>12</sub> — 0,0005; пантотеновая кислота — 0,01; ниациномид — 0,005.

Для создания толстокишечного модуля в базовую среду вводили 9 г/л микрокристаллической целлюлозы. На всем протяжении эксперимента pH поддерживался на уровне 6,5 и регулировался автоматически по принципу обратной связи подачей 1М растворов HCl и NaOH.

Все модули установки асептически собирали в боксе микробиологической безопасности 2А-класса в единую систему. Реакционный объем толстокишечного модуля составлял 450 мл. Каждые 24 часа после отбора 5 мл проб из биореактора удаляли 100 мл содержимого и вносили аналогичный объем свежей кишечной среды, имитируя кормление. В первый день эксперимента после стабилизации режимных параметров в биореакторы вносили пробы от свиньи — асептически отобранные при забое средние порции содержимого толстого отдела кишечника (50 мл), доставленные в лабораторию не позднее 2 часов после отбора при 4 °C.

Из 1 мл каждой пробы готовили серию 10-кратных разведений в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия ( $10^{-1}$ — $10^{-9}$ ), после чего выполняли высевы на селективные и общие питательные среды для количественного учёта основных групп бактерий. 4 мл пробы использовали для вы-

деления ДНК и проведения ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов «Колонофлор-16».

Из разведений производили высевы по 0,1 мл на плотные питательные среды: Эндо-агар, Энтерококкагар, Лактобакагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Для культивирования бифидобактерий и клостридий по 1,0 мл из разведений вносили в пробирки с 9 мл среды Бифидуми Вильсон — Блэра соответственно (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Для подсчета ОМЧ использовали ГРМ-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Посевы инкубировали при + 37 °С, учет посевов осуществляли в течение 24—72 ч.

Идентификацию энтеробактерий и энтерококков проводили согласно стандартным микробиологическим протоколам [16, 17]. Качественные и количественный анализ кишечной микробиоты от свиней-доноров и образцов из иЖКТ проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов «Колонофлор-16 (биоценоз)» («Альфалаб», Россия). Экстракцию ДНК осуществляли с помощью набора ДНК-сорб-В (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, Россия). С целью выявления состава микробиоты с помощью ПЦР-РВ, из полученных образцов готовили суспензию из расчета 0,1 г образца нативного кишечного содержимого на 0,8 мл изотонического раствора NaCl. ДНК экстрагировали из 0,1 мл суспензии и кишечной среды из иЖКТ.

На первом этапе проводили исходную оценку микробного сообщества: из кишечных проб свиньи готовили посевный материал и выполняли количественный микробиологический анализ, после чего пробы инокулировали в биореакторы системы иЖКТ. Стабилизацию микробиоценоза контролировали на 3-и сутки после инокуляции по данным микробиологических посевов (инкубация 24—48 ч, оценка численности и состава основных таксонов). При достижении устойчивого профиля и отсутствии контаминации переходили к этапу антибиотикотерапии.

В течение 3 дней в реакционную среду вносили Амоксигард. Для достижения целевой концентрации амоксициллина 16 мг/л в 450 мл кишечной среды предварительно готовили промежуточный раствор антибиотика. Исходный препарат с концентрацией 140 мг/мл разводили в 10 раз: 1 мл исходного раствора вносили в стерильную пробирку, содержащую 9 мл растворителя (вода для инъекций), доводя общий объем до 10 мл. Раствор аккуратно перемешивали переворачиванием либо крат-

ковременным встряхиванием на вортексе, избегая вспенивания.

Итоговая концентрация промежуточного раствора составляла 14 мг/мл. Из полученного раствора отбирали 514 мкл и вносили в 450 мл кишечной среды с последующим перемешиванием до однородности, что обеспечивало конечную концентрацию амоксициллина 16 мг/л (удвоенная минимальная подавляющая концентрация для чувствительных изолятов [16]).

По завершении курса применения антибиотика инициировали фазу пробиотической коррекции препаратом Ветоспорин Ж: в течение 2 дней в систему добавляли пробиотический препарат на основе *Bacillus subtilis* в дозировке 10 мл на 1 л среды, соответствующей терапевтическому режиму при дисбиозе. Перед внесением препарат исследовали на чистоту и соответствие заявленной концентрации. Для этого готовили серию 10-кратных разведений и высевали каждое из них на агар ГРМ-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) с последующей инкубацией. Через 24 ч инкубации подтвержден рост бактерий заявленного вида без признаков посторонней микрофлоры. Концентрация жизнеспособных клеток соответствовала заявленной (не менее  $10^8$  КОЕ/мл) и составила  $10^9$  КОЕ/мл.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ

Микробиологические показатели состава микробиоты образцов, полученных от свиней, приведены в таблице 1. Полученные значения были сопоставимы с литературными данными для микробиоты толстого отдела кишечника свиней и использовались как исходный уровень для последующего моделирования.

При разработке модели микробиоценоза использовались критерии диагностики дисбактериоза, которые включают снижение облигатной микрофлоры (бифидобактерий, лактобацилл) и увеличение численности условно-патогенных микроорганизмов. В результате внесения Амоксигарда в реакторы системы иЖКТ и стабилизации в течение трех дней был сформирован микробиоценоз, соответствующий дисбиотическому состоянию кишечника.

На рисунке 1 показана посуточная динамика микробиологических показателей содержимого модуля, имитирующего толстый кишечник на протяжении 9 дней эксперимента. Исходя из графика видно, что динамическое равновесие в биореакторе, наступает на 3-и сутки культивирования.

Таблица 1

Количественное содержание исследуемых показателей кишечной микробиоты свиней в толстом отделе кишечника, выявленное культуральным методом

| Показатель            | Содержание, КОЕ/г |
|-----------------------|-------------------|
| Общее микробное число | $10^{12}$         |
| Lactobacillus spp     | $10^8$            |
| Bifidobacterium spp   | $10^7$            |
| Escherichiacoli       | $10^8$            |
| Enterococcus spp      | $10^4$            |
| Clostridium spp.      | $10^9$            |

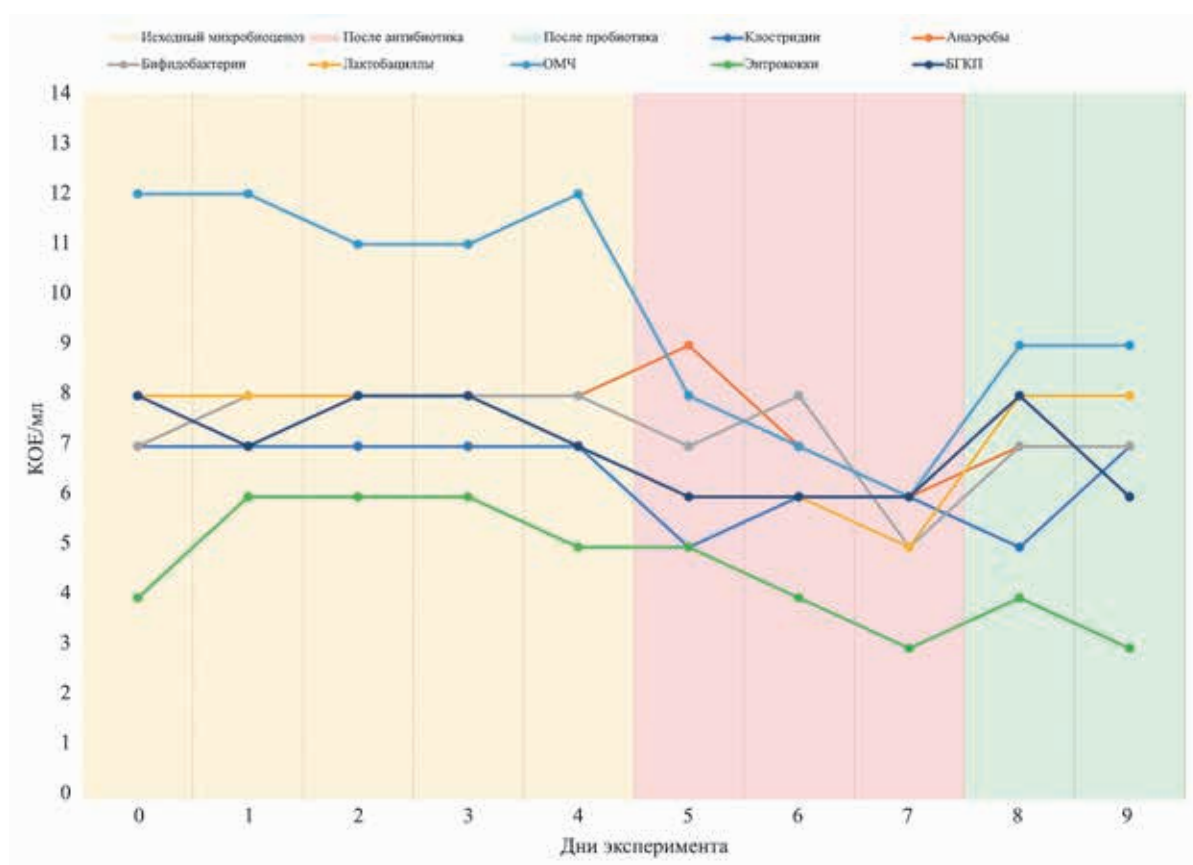


Рис. 1. Динамика микробиологических показателей модуля «толстая кишка». По горизонтали — дни эксперимента; по вертикали — содержание КОЕ/мл

Исходный микробиоценоз (0—4-е сутки) был стабилен: общее микробное число составляло  $10^{11}$ — $10^{12}$  КОЕ/г, содержание лактобацилл, бифидобактерий, облигатных анаэробов и БГКП находилось в пределах  $10^7$ — $10^8$  КОЕ/г, клостридий —  $10^7$  КОЕ/г, энтерококков —  $10^4$ — $10^6$  КОЕ/г. Колебания внутри периода не превышали одного порядка, что позволяет принять эти значения за индивидуаль-

ную норму для животных группы. Применение антибиотика (5—7-е сутки) не давало немедленного эффекта: на 5-е сутки все показатели сохранялись на уровне фона, снижение регистрировалось с 6-х суток. Действующее вещество препарата — амоксициллин, полусинтетический аминопенициллин с бактерицидным механизмом действия, реализуемым через связывание пенициллин-связывающих

белков и блокаду транспептидации пептидогликана. Спектр охватывает грамположительную флору и часть грамотрицательных энтеробактерий, однако препарат разрушается  $\beta$ -лактамазами, широко представленными у комменсалов кишечника [8]. Этим объясняется полученная нами картина: наиболее чувствительными оказались грамположительные лактобациллы (снижение с  $10^7$ — $10^8$  до  $10^6$  КОЕ/г) и общая микробная масса (падение ОМЧ на пять порядков к 7-м суткам), тогда как БГКП снижались лишь на 1—2 порядка и сохранялись на уровне  $10^6$  КОЕ/г, что согласуется с представлением о резервуаре  $\beta$ -лактамазной активности у энтеробактерий. Максимальное угнетение микробиоценоза приходилось на 8-е сутки — первые сутки после отмены антибиотика и начала введения пробиотика. Одновременно минимальных значений достигали бифидобактерии и лактобациллы (по  $10^5$  КОЕ/г), общее микробное число и анаэробы (по  $10^6$  КОЕ/г), энтерококки ( $10^3$  КОЕ/г).

Использованный пробиотик содержит два штамма *B. subtilis* — 11В и 12В — в титре не менее  $1 \cdot 10^8$  КОЕ/мл; заявленный механизм включает продукцию антибиотических веществ полипептидной природы, гидролитических ферментов (протеазы, амилазы, гемицеллюлазы), витаминов и аминокислот, а также подавление условно-патогенной микрофлоры. Для вида *B. subtilis* в целом описан широкий арсенал антимикробных метаболитов — циклические липопептиды (сурфактин, итурин, фенгицин), бактериоцины и дипептид бацилизин [12].

На фоне применения пробиотика (8—9-е сутки) динамика была разнонаправленной. Лактобациллы и бифидобактерии восстанавливались быстрее прочих групп: уже к 9-м суткам их содержание возвращалось к фоновому ( $10^8$  и  $10^7$  КОЕ/г соответственно). Общее микробное число к 9-м суткам достигало  $10^9$  КОЕ/г, оставаясь на 2—3 порядка ниже исходного. Содержание энтерококков ( $10^3$  КОЕ/г) и БГКП ( $10^6$  КОЕ/г) к завершению опыта также не восстанавливалось, тогда как уровень клостридий возвращался к исходным  $10^7$  КОЕ/г.

При этом концентрация *Bacillus subtilis* оставалась  $10^7$  КОЕ/г на протяжении 3 дней.

К завершению курса пробиотика соотношение групп микроорганизмов смещалось в пользу облигатной лакто- и бифидофлоры при сохраняющемся дефиците условно-патогенных представителей (БГКП, энтерококки) и общей микробной массы.

Споровая форма обеспечивает устойчивость к кислой среде желудка, желчным кислотам и оста-

точным концентрациям  $\beta$ -лактама, что позволяет назначать препарат непосредственно после отмены антибиотика; исходя из этого введение начинали на 8-е сутки — в точке максимального угнетения микробиоценоза. Полученная динамика показала опережающее восстановление лакто- и бифидофлоры: к 9-м суткам лактобациллы возвращались к  $10^8$  КОЕ/г, бифидобактерии — к  $10^7$  КОЕ/г, тогда как остальные группы оставались сниженными; БГКП сохранялись на уровне  $10^6$  КОЕ/г, энтерококки —  $10^3$  КОЕ/г.

Механизмы, лежащие в основе такой избирательности, в настоящей работе непосредственно не изучались, однако наблюдаемая картина согласуется с описанными для *B. subtilis* свойствами. Как факультативный анаэроб, этот вид потребляет остаточный кислород и снижает редокс-потенциал среды, что может благоприятствовать облигатным анаэробам; описана также защита клеток молочнокислых бактерий внеклеточным матриксом бацилл [11, 12].

Сдерживание энтеробактерий и энтерококков может быть связано с антагонистической активностью бацилл и конкуренцией за субстрат. Проверка этих предположений требует прямых измерений — мониторинга окислительно-восстановительного потенциала среды, оценки антагонистической активности *in vitro* и постановки варианта без введения пробиотика. К завершению наблюдения отмечалось неполное восстановление отдельных групп микроорганизмов, что может отражать как сохраняющееся постантибиотическое смещение микробиоценоза, так и селективный эффект пробиотической коррекции. Для уточнения необходимы более длительные наблюдения.

В таблице 2 представлены данные о количественном составе кишечной микробиоты, выявленном методом ПЦР с помощью коммерческого набора «Колонофлор-16 (биоценоз)».

Общая бактериальная масса демонстрировала увеличение к 3-м суткам культивирования с  $2 \cdot 10^{11}$  до  $2 \cdot 10^{13}$  копий/мл, что, вероятно, отражает адаптацию микробиоты к условиям искусственной среды и отсутствие иммунных факторов «хозяина». После антибиотикотерапии отмечалось снижение до  $3 \cdot 10^{11}$  копий/мл с последующим неполным восстановлением до  $2 \cdot 10^{12}$  копий/мл на фоне пробиотика.

Облигатная микрофлора показала выраженную чувствительность к  $\beta$ -лактамному антибиотику, так, *Bifidobacterium* spp. снизились с  $5 \cdot 10^{11}$  на 3-е сутки до  $6 \cdot 10^9$  копий/мл после применения антибиотика, тогда как *Lactobacillus* spp. — с  $3 \cdot 10^{10}$  до

6·10<sup>9</sup> копий/мл. Введение *B. subtilis*-содержащего пробиотика сопровождалось частичным восстановлением бифидобактерий до 9·10<sup>9</sup> копий/мл, однако лактобациллы оставались на уровне 5·10<sup>9</sup> копий/мл не достигнув значений 3-го дня.

*Escherichia coli* оказалась относительно резистентной к амоксициллину, так наблюдалось незначительное снижение с 4·10<sup>9</sup> до 8·10<sup>8</sup> копий/мл соответственно, что согласуется с представлением о резервуаре β-лактамазной активности у энтеробактерий. На фоне пробиотика численность *E. coli* незначительно возросла до 10<sup>9</sup> копий/мл.

Грамотрицательные облигатные анаэробы рода *Bacteroides* доминировали в микробиоценозе, при этом их концентрация после антибиотика и пробиотика оставалась на уровне 2—3·10<sup>11</sup> копий/мл.

Отметим, что данный род не был выявлен культуральным методом (табл. 1), что указывает на преобладание некультивируемых представителей этого таксона в толстом отделе кишечника свиней.

Бутиратообразующий вид *Faecalibacterium prausnitzii* характеризовался низкой численностью 10<sup>6</sup>—10<sup>7</sup> копий/мл и тенденцией к дальнейшему снижению после введения пробиотика до 6·10<sup>5</sup> копий/мл соответственно, что может отражать конкурентное угнетение со стороны *B. subtilis* или недостаточность субстратов в искусственной среде.

Данные кПЦР в целом отражали ту же направленность изменений, однако количественные оценки между методами различались, что, вероятно, связано с различной аналитической чувствительностью и природой регистрируемых мишеней.

Таблица 2

Количественное содержание исследуемых показателей кишечной микробиоты свиней, выявленное методом кПЦР в нативном материале и отобранном из системы иЖКТ

| Показатель                         | Содержание, копий/мл |                        |                                          |                    |
|------------------------------------|----------------------|------------------------|------------------------------------------|--------------------|
|                                    | Цельная проба        | 3 день культивирования | После антибиотика 6 день культивирования | После пробиотика   |
| Общая бактериальная масса          | 2·10 <sup>11</sup>   | 2·10 <sup>13</sup>     | 3·10 <sup>11</sup>                       | 2·10 <sup>12</sup> |
| <i>Lactobacillus</i> spp           | 9·10 <sup>7</sup>    | 3·10 <sup>10</sup>     | 6·10 <sup>9</sup>                        | 5·10 <sup>9</sup>  |
| <i>Bifidobacterium</i> spp         | 3·10 <sup>8</sup>    | 5·10 <sup>11</sup>     | 6·10 <sup>9</sup>                        | 9·10 <sup>9</sup>  |
| <i>Escherichiacoli</i>             | 4·10 <sup>8</sup>    | 4·10 <sup>9</sup>      | 8·10 <sup>8</sup>                        | 10 <sup>9</sup>    |
| <i>Bacteroides</i> spp             | 10 <sup>11</sup>     | 2·10 <sup>13</sup>     | 3·10 <sup>11</sup>                       | 2·10 <sup>11</sup> |
| <i>Faecalibacteriumprausnitzii</i> | 2·10 <sup>7</sup>    | 7·10 <sup>6</sup>      | 8·10 <sup>6</sup>                        | 6·10 <sup>5</sup>  |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях *in vitro* модели ЖКТ свиньи наблюдалась последовательная смена состояния микробиоценоза — от исходного стабильного профиля через антибиотик-ассоциированный дисбиоз к последующей пробиотической коррекции. Внесение Амоксигарда сопровождалось снижением численности как облигатной микробиоты (лактобациллы, бифидобактерии, общее микробное число), так и, в меньшей степени, части условно-патогенных энтеробактерий. Наиболее выраженное угнетение отмечалось на 8-е сутки эксперимента, в первые сутки после отмены антибиотика.

После введения пробиотического препарата Ветоспорин Ж на основе *Bacillus subtilis* содер-

жание лактобацилл и бифидобактерий возвращалось к фоновым значениям к 9-м суткам наблюдения, тогда как показатели условно-патогенной группы (БГКП, энтерококки) и общая микробная масса к завершению опыта восстанавливались лишь частично.

Такая динамика может отражать различную устойчивость отдельных таксонов к последствиям антибиотикотерапии и различную скорость их реакции на пробиотическую коррекцию, однако для однозначных заключений о механизмах наблюдаемых изменений в рамках данной работы оснований недостаточно.

Полученные данные позволяют предположить, что применение спорообразующего пробиотика

после антибиотикотерапии может способствовать более быстрому восстановлению отдельных групп облигатной микрофлоры, однако этот вывод требует дальнейшего подтверждения на более крупных сериях наблюдений.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Analysis of the gut bacterial communities in beef cattle and their association with feed intake, growth, and efficiency / P. R. Myer, H. C. Freetly, J. E. Wells, T. P. L. Smith, L. A. Kuehn // *Journal of animal science*. — 2017. — Vol. 95. — № 7. — P. 3215—3224.
2. Belkaid Y. Role of the microbiota in immunity and inflammation / Y. Belkaid, T. W. Hand // *Cell*. — 2014. — Vol. 157. — № 1. — P. 121—141. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
3. Rinninella E., Raoul P., Cintoni M. et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. / E. Rinninella, P. Raoul, M. Cintoni, F. Franceschi, Giacinto Abele Donato Miggiano, A. Gasbarrini, Maria Cristina Mele // *Microorganisms*. — 2019 — № 7. — P. 14. doi: 10.3390/microorganisms7010014.
4. Dysbiosis and the immune system / M. Levy, A. A. Kolodziejczyk, C. A. Thaiss, E. Elinav // *Nature Reviews Immunology*. — 2017. — Vol. 17. — № 4. — P. 219—232. doi: 10.1038/nri.2017.7. 10.
5. Hemarajata P. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation / P. Hemarajata, J. Versalovic // *Therapeutic advances in gastroenterology*. — 2013. — Vol. 6. — № 1. — P. 39—51. doi: 10.1177/1756283X12459294.
6. Моделирование кишечной микробиоты свиньи *in vitro* в автоматизированной системе имитации желудочно-кишечного тракта. / Ю. А. Тихменева, С. Н. Головин, Д. А. Седова, М. М. Ханукаев, Г. Ю. Дробот, А. В. Алешукина, С. К. Шебеко // *Аграрная наука*. — 2026 — Т. 408 — № 7 — С. 31—40. <https://doi.org/10.32634/0869—8155—2026—408—07—31—40>
7. Матренов И. С. Определение антибиотикочувствительности грамположительных штаммов микроорганизмов, выделенных из патологического материала свиней / И. С. Матренов, О. С. Ларионова, Я. Б. Древяко // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. — 2023. — № 3 (63). — С. 127—132.
8. Стрептококкоз в промышленном свиноводстве. Новые подходы к решению проблемы / М. Парини, В. Гречишников, А. Панин, М. Мороз // *Эффективное животноводство*. — 2022. — № 6 (181). — С. 44—46.
9. Токарев И. Н. Интенсивность роста, конверсия корма и гематологические изменения у поросят-отъемшей при скормливания им пробиотика Ветоспорин / И. Н. Токарев // *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование*. — 2016. — № 3 (43). — С. 148—153.
10. Амоксициллин и янтарная кислота: эффективные лекарственные средства для защиты здоровья животных (обзор) / А. А. Комаров, С. В. Енгашев, Е. С. Енгашева, Д. И. Удавлиев, М. А. Егоров, Б. В. Уша, Р. Н. Селимов, И. Г. Гламаздин // *Хранение и переработка сельхозсырья*. — 2022. — № 4. — С. 98—117.
11. Вагапов Ф. Ф. Продуктивные качества бычков симментальской породы при потреблении препарата Ветоспорин / Ф. Ф. Вагапов, А. И. Семерикова, Х. Х. Тагиров // *Животноводство и кормопроизводство*. — 2017. — № 4 (100). — С. 110—117.
12. Вагапов Ф. Ф. Влияние препарата Ветоспорин Ж на потребление и переваримость питательных веществ рационов бычков / Ф. Ф. Вагапов // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. — 2017. — № 6 (68). — С. 154—157.
13. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2025693481 Российская Федерация. Программный комплекс управления кислотностью, температурой и механическим переносом содержимого в секциях искусственного желудочно-кишечного тракта животных (на примере свиней): заявл. 17.11.2025: опублик. 28.11.2025 / М. М. Ханукаев, Е. А. Портнова, В. В. Долгов; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Донской государственный технический университет». — EDN OKWXAI.
14. Портнова Е. А. Разработка протокола применения системы имитации ЖКТ свиньи в экспериментальных исследованиях / Е. А. Портнова, М. М. Ханукаев, С. К. Шебеко // *Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса (Конференция «ИнтерАгро 2026»): Сборник научных трудов XIX Международной научно-практической конференции в рамках XXIX Агропромышленного форума юга России и выставки «Интерагромаш» и «Агротехнологии» с применением дистанционных технологий, Ростов-на-Дону, 25—27 февраля 2026 года*. — Ростов-на-Дону: ООО «ДГТУ-ПРИНТ», 2026. — С. 175—177. — DOI 10.23947/interagro.2026.175-177. — EDNZAPDEJ.
15. Разработка искусственной кишечной среды для *in vitro* моделирования микробиоты свиней / Ю. А. Тихменева, С. К. Шебеко, Н. В. Пименов, С. Н. Тресницкий // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. — 2026. — Т. 1, № 1. — С. 125—134. — DOI 10.36871/vet.zoo.bio.202601115. — EDN HFVCGV.
16. МУК 4.2.2886—11 «Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антимикробным препаратам»: методические указания: издание официальное: утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Г. Г. Онищенко 30.06.2011 / Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. — 39 с.

17. ГОСТ 28566—90 «Продукты пищевые. Метод выявления и определения количества энтерококков (*Enterococcus*)»: межгосударственный стандарт Российской Федерации: издание официальное: утвержден и введен в действие Постановлением Государственного комите-

та СССР по управлению качеством продукции и стандартам от 29.05.90 № 1332/ разработан и внесен Всесоюзным научно-исследовательским институтом консервной и овощесушильной промышленности. — Москва: Межгосударственный стандарт, 1991. — 6 с.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Ю. А. Ярушникова** — аспирант;

**С. Н. Головин** — кандидат биологических наук, научный сотрудник;

**Д. А. Седова** — старший преподаватель;

**М. М. Ханукаев** — кандидат технических наук, доцент кафедры;

**С. К. Шебеко** — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой;

**С. Н. Тресницкий** — доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой;

**О. А. Манжурина** — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом клинико-лабораторных исследований;

**Е. В. Михайлов** — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем.

Статья поступила в редакцию 09.07.2026.

## CORRECTION OF INTESTINAL MICROBIOCENOSIS DYSBIOSIS IN PIGS IN A GASTROINTESTINAL TRACT SIMULATION SYSTEM

Yuliya Andreevna Yarushnikova\*✉, Sergey Nikolaevich Golovin\*, Darya Andreevna Sedova\*,  
Maksim Mikhaylovich Khanukaev\*, Sergey Konstantinovich Shebeko\*,  
Sergey Nikolaevich Tresnitskiy\*, Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov\*\*,  
Olga Alekseevna Manzhurina\*\*

\*Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia, tihmeneva.yulia@yandex.ru✉

\*\*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia

**Abstract.** Gastrointestinal disorders in young pigs are accompanied by disturbance of the intestinal microbiocenosis. However, the data on the dynamics of its recovery after a course of antibiotics remain fragmentary. The research objective was to assess the effect of amoxicillin on the composition of the cultured porcine intestinal community in a gastrointestinal tract simulation system (GITS) and to investigate the dynamics of its recovery following subsequent administration of a *Bacillus subtilis*-based probiotic. An automated GITS system with a large intestine/colon module (reaction volume 450 ml, pH 6.5, artificial intestinal medium) was used for 9 days of continuous cultivation. The inoculum consisted of the large intestinal content from a 29-week-old donor pig. The microbiota composition was assessed using the culture and real-time PCR with the Colonoflor-16 (biocenosis) kit. On days 5–7, Amoxigard was added to the medium to achieve a final amoxicillin concentration of 16 mg/L; from day 8, Vetosporin Zh (*B. subtilis* strains 11B and 12B, 10 ml/L) was introduced. Dynamic equilibrium in the bioreactor was reached by day 3. The antibiotic effect became apparent from day 6, with maximum suppression of the microbiocenosis recorded on day 8: lactobacilli and bifidobacteria decreased to 10<sup>5</sup> CFU/g, total microbial count and obligate anaerobes — to 10<sup>6</sup> CFU/g, and enterococci — to 10<sup>3</sup> CFU/g. After probiotic administration, lactobacilli and bifidobacteria returned to baseline values by day 9, whereas total microbial count, coliform bacteria and enterococci recovered only partially. The PCR data reflected the same direction of change, with quantitative discrepancies relative to the culture-based method. The results suggest that administration of a spore-forming probiotic after antibiotic therapy promotes accelerated recovery of the obligate lacto- and bifidoflora.

**Keywords:** pigs; intestinal/gut microbiota; *in vitro* intestinal model, Amoxigard, amoxicillin; *Bacillus subtilis*; Vetosporin.

**Acknowledgment:** this work was supported by the state contract Molecular Mechanisms of Interaction between Intestinal Microorganism Communities in vivo and in vitro Based on an Automated System for Simulating the Porcine Gastrointestinal Tract (EGISU NIOKR No. 124111200008-4)

### INTRODUCTION

Gastrointestinal diseases in young farm animals remain a leading cause of mortality, reduced growth and economic losses in livestock production. A key role in their pathogenesis is played by disruption of the intestinal microbiota and the formation of stable microbial communities with negative properties that can persist in the digestive tract for long periods [1–3].

General concepts regarding the role of the intestinal microbiota in shaping the systemic immune re-

sponse, metabolic status and host resistance to infections have been formed primarily through the studies in humans and laboratory models. Within this framework, dysbiosis is considered not only a consequence of the pathological process but also an independent factor capable of maintaining chronic inflammation, altering the permeability of the epithelial barrier and modifying the risk of immunopathologies [4].

The action of probiotics is associated with immunomodulation and competitive interactions in the in-

© Yarushnikova Y. A., Golovin S. N., Sedova D. A., Khanukaev M. M., Shebeko S. K., Tresnitskiy S. N., Mikhaylov E. V., Manzhurina O. A., 2026

testinal lumen [5]. Direct transfer of these patterns to pigs requires caution: species differences in digestive anatomy and physiology, diet composition and microbial community structure are significant, so the data presented here are used as a general conceptual background.

A body of data has been accumulated in relation to pig breeding. It has been shown that disturbances in the intestinal microbiome of piglets are accompanied by reduced growth and increased susceptibility to bacterial infections, and enterobacteria and streptococci are among the pathogens associated with intestinal pathology in industrial livestock [6–8].

The antibiotic sensitivity of strains isolated from pigs has been studied, and the effect of probiotic preparations based on *Bacillus subtilis* on growth rate, feed conversion and hematological indicators of weaned piglets has been demonstrated [9]. However, the period of early ontogenesis, when symbiosis between the host and the microbial community is formed, remains the least studied specifically for pigs, and the data on the dynamics of microbiome restoration after a course of antibiotic therapy are fragmentary, which determined the objectives of this study.

Understanding that the intestinal microbiota plays a key role in the resistance of young animals to infections and in maintaining the integrity of the epithelial barrier makes any interventions in its composition particularly significant in terms of the consequences for animal health and productivity. Antimicrobial therapy, primarily the use of broad-spectrum  $\beta$ -lactam antibiotics in intensive livestock farming, remains one of the most common and, at the same time, most powerful factors affecting the structure and function of intestinal microbial communities. The widespread use of penicillin antibiotics, including amoxicillin and its combination forms, allows for the effective control of acute bacterial infections.

However, it is accompanied by increased antibiotic resistance and changes in the structure of microbial communities. Amoxicillin has been shown to be active against a wide range of bacterial pathogens in animals, including *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* and a number of other pathogens, but its efficacy decreases with the formation of biofilms and the development of antibiotic resistance. In this regard, dosage forms of amoxicillin that combine antibacterial action with the ability to affect biofilm communities and the metabolism of resistant strains of microorganisms are of particular interest [6, 10]. Amoxicard, which contains amoxicillin in combination with clavulanic acid, is considered a promising

agent for increasing the efficacy of antibiotic therapy and partially overcoming biofilm resistance [10].

The targeted use of antibiotics, including Amoxicard, is necessary to suppress bacterial infections, but it inevitably affects not only pathogenic but also commensal components of the intestinal microbiota, disrupting its dynamic equilibrium and creating the conditions for dysbiosis and recurrent digestive disorders [7]. Therefore, during the microbial community restoration phase, preparations that can adjust the composition and activity of intestinal bacteria, displace unwanted microorganisms and support the enzymatic and barrier functions of the intestine are of particular importance. These agents include probiotics based on spore-forming strains of *Bacillus subtilis*, which can stabilize the intestinal microbiota, improve nutrient digestibility and enhance animal productivity. Vetosporin (various formulations containing *Bacillus subtilis* strains) has demonstrated a positive effect on growth rate, feed conversion and survival in young pigs and cattle, while maintaining hematological and biochemical indicators within physiological norms [10, 11]. Including Vetosporin into the diet of bulls and piglets increased average daily weight gain, reduced feed costs per unit of gain and improved the economic efficacy of rearing [12].

Despite accumulated data on the efficacy of amoxicillin (and its combination forms) and the probiotic Vetosporin, their sequential use in simulation of intestinal microbiome disturbances remains poorly understood. Particularly relevant is the experimental validation of regimens, in which the antibiotic first specifically alters the dynamic equilibrium of the intestinal microbial community, followed by the use of a probiotic to restore or improve the functional state of the microbiota and metabolic indicators.

The research objective was to assess the effect of amoxicillin/clavulanate on the composition of the cultured intestinal community of pigs in the GITs and to study the dynamics of its restoration following the administration of a *Bacillus subtilis*-containing probiotic.

## MATERIAL AND METHODS

The study design included the following stages.

1. Simulation of the normal microbiome of the porcine large intestine in the GITs.
2. Simulation of the antibiotic-induced dysbiosis of the porcine large intestine microbiome.
3. Administration of a *Bacillus subtilis*-based probiotic to restore the dynamic bacterial balance.

The study was completed in 2026 at the Institute of Living Systems of the Don State Technical University.

The samples obtained from a 29-week-old donor pig (Vepoz meat processing plant, Rostov-on-Don, Russia), as well as the samples from the gastrointestinal tract simulation (GITS) system, were analyzed. They were collected over 9 days of a continuous operation of the setup. The donor was reared on a farm on a concentrate diet, did not receive antibiotic therapy and the feeding was not changed in the pre-slaughter period. The samples were collected at slaughter from the large intestine into sterile containers, followed by placement in thermal containers with refrigerants and transportation to the laboratory. All procedures complied with ethical standards for working with animals (conclusion of the Local Independent Ethics Committee of the Don State Technical University No. 6 dtd. November 4, 2024). The study was performed using an automated porcine GITS setup [13, 14], the parameters are described below. The system included a bioreactor simulating conditions in the large intestine.

The bioreactor utilized a previously developed and tested artificial intestinal medium designed for *in vitro* simulation of the microbiota of various segments of the porcine gastrointestinal tract [15].

To prepare the basic medium, the following components (in grams) were sequentially added to 1 liter of distilled water: pectin — 9.0, xylan — 9.0, arabinogalactan — 9.0, amylopectin — 9.0, casein — 43.7, starch — 50.0, bactopectone — 43.7, sterile ox bile — 0.7,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  — 4.7, NaCl — 8.4,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0.009,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0.7,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  — 0.8, hemin — 0.02, p-aminobenzoic acid — 0.2. The mixture was autoclaved at 121 °C for 20 minutes. After cooling, the following heat-sensitive components were added under aseptic conditions: Tween 80—31.5, nicotinamide — 2.5, thiamine — 0.004, cysteine·HCl — 0.003, menadione — 0.001, D-biotin — 0.002, vitamin  $\text{B}_{12}$ —0.0005, pantothenic acid — 0.01, niacinamide — 0.005.

To design the colonic module, 9 g/L of microcrystalline cellulose was added to the basal medium. Throughout the experiment, the pH was maintained at 6.5 and was automatically regulated using feedback by adding 1 M HCl and NaOH solutions.

All modules of the setup were aseptically assembled into a single system in a Class 2A microbiological safety cabinet. The reaction volume of the large intestine module was 450 ml. Every 24 hours, after collecting 5 ml of samples, 100 ml of contents were removed from the bioreactor, and an equal volume of fresh intestinal medium was added, simulating feeding. On day 1 of the experiment, after the operating parameters had stabilized, porcine samples were add-

ed to the bioreactors — mid-portions of large intestinal contents (50 ml) aseptically collected at slaughter and delivered to the laboratory no later than 2 hours after collection at 4 °C.

A series of 10-fold dilutions was prepared from 1 ml of each sample in sterile isotonic sodium chloride solution ( $10^{-1}$ — $10^{-9}$ ), after which they were inoculated onto selective and general nutrient media for quantitative enumeration of the main bacterial groups. 4 ml of the sample was used for DNA extraction and the real-time PCR using the ColonoFlor-16 reagent kit.

Dilutions were inoculated into 0.1 ml portions on solid nutrient media: Endo-agar, Enterococcus agar and Lactobacagar (State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Russia). For culturing bifidobacteria and clostridia, 1.0 ml of the dilutions were added to test tubes containing 9 ml of Wilson Blair agar (bifidum medium) (State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Russia). GRM-agar (State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Russia) was used to calculate the total microbial count (TMC). The cultures were incubated at 37 °C, and counts were made over 24—72 hours.

Enterobacteria and enterococci were identified according to standard microbiological protocols [16, 17]. Qualitative and quantitative analysis of the intestinal microbiota from donor pigs and GITS samples was performed using the real-time PCR with the ColonoFlor-16 (biocenosis) reagent kit (Alfalab, Russia). DNA was extracted using the DNA-Sorb-V kit (Central Research Institute of Epidemiology, Russia). To identify the microbiota composition using the real-time PCR, a suspension of 0.1 g of native intestinal content per 0.8 ml of isotonic NaCl solution was prepared from the obtained samples. DNA was extracted from 0.1 ml of the suspension and intestinal fluid from the GITS.

The first stage involved an initial assessment of the microbial community: inoculation material was prepared from the porcine intestinal samples, and a quantitative microbiological analysis was performed, after which the samples were inoculated into the bioreactors of the gastrointestinal tract system. Microbiocenosis stabilization was monitored on day 3 after inoculation based on microbiological culture data (incubation for 24—48 hours, assessment of the abundance and composition of the main taxa). Once a stable profile was achieved and there was no contamination, antibiotic therapy was initiated. Amoxiclav was added to the reaction medium for 3 days. To achieve the target amoxicillin concentration of 16 mg/L, an intermediate antibiotic solution was prepared in 450 ml of intestinal me-

dium. The initial preparation with a concentration of 140 mg/ml was diluted 10-fold: 1 ml of the initial solution was added to a sterile test tube containing 9 ml of solvent (water for injection), bringing the total volume to 10 ml. The solution was gently mixed by inversion or brief vortexing, avoiding foaming. The final concentration of the intermediate solution was 14 mg/ml. 514 µl of the resulting solution was added to 450 ml of intestinal medium, followed by mixing until homogeneity, resulting in a final amoxicillin concentration of 16 mg/L (double minimum inhibitory concentration for susceptible isolates [16]).

After completing the antibiotic course, a probiotic correction phase was initiated with Vetosporin Zh: a probiotic preparation based on *Bacillus subtilis* was added into the system for 2 days at a dosage of 10 ml per 1 L of medium, corresponding to the therapeutic regimen for dysbiosis. Before addition, the preparation

was tested for purity and compliance with the stated concentration. For this purpose, a series of 10-fold dilutions were prepared and each was plated on GRM-agar (State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Russia) followed by incubation. After 24 hours of incubation, growth of the bacteria of the declared species was confirmed, with no signs of extraneous microflora. The viable cell concentration corresponded to the declared value (at least  $10^8$  CFU/ml) and amounted up to  $10^9$  CFU/ml.

## STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Microbiological indicators of the microbiota composition in the samples obtained from pigs are presented in Table 1. The obtained values were comparable with published data for the microbiota of the large intestine of pigs and were used as a baseline for subsequent simulation.

**Table 1**

*Quantitative content of the studied indicators of the intestinal microbiota of pigs in the large intestine, detected by the culture method*

| Indicator             | Content, CFU/g |
|-----------------------|----------------|
| Total microbial count | $10^{12}$      |
| Lactobacillus spp     | $10^8$         |
| Bifidobacterium spp   | $10^7$         |
| Escherichia coli      | $10^8$         |
| Enterococcus spp      | $10^4$         |
| Clostridium spp.      | $10^9$         |

When designing the microbiocenosis model, diagnostic criteria for dysbiosis have been used, which include a decrease in obligate microflora (bifidobacteria, lactobacilli) and an increase in opportunistic microorganisms. By adding Amoxigard to the gastrointestinal tract system reactors and stabilizing it for three days, a microbiocenosis corresponding to a dysbiotic intestinal state was formed.

Figure 1 shows the daily dynamics of microbiological indicators in the large intestine simulation module over a 9-day experiment. The graph demonstrates that dynamic equilibrium in the bioreactor is reached on day 3 of cultivation.

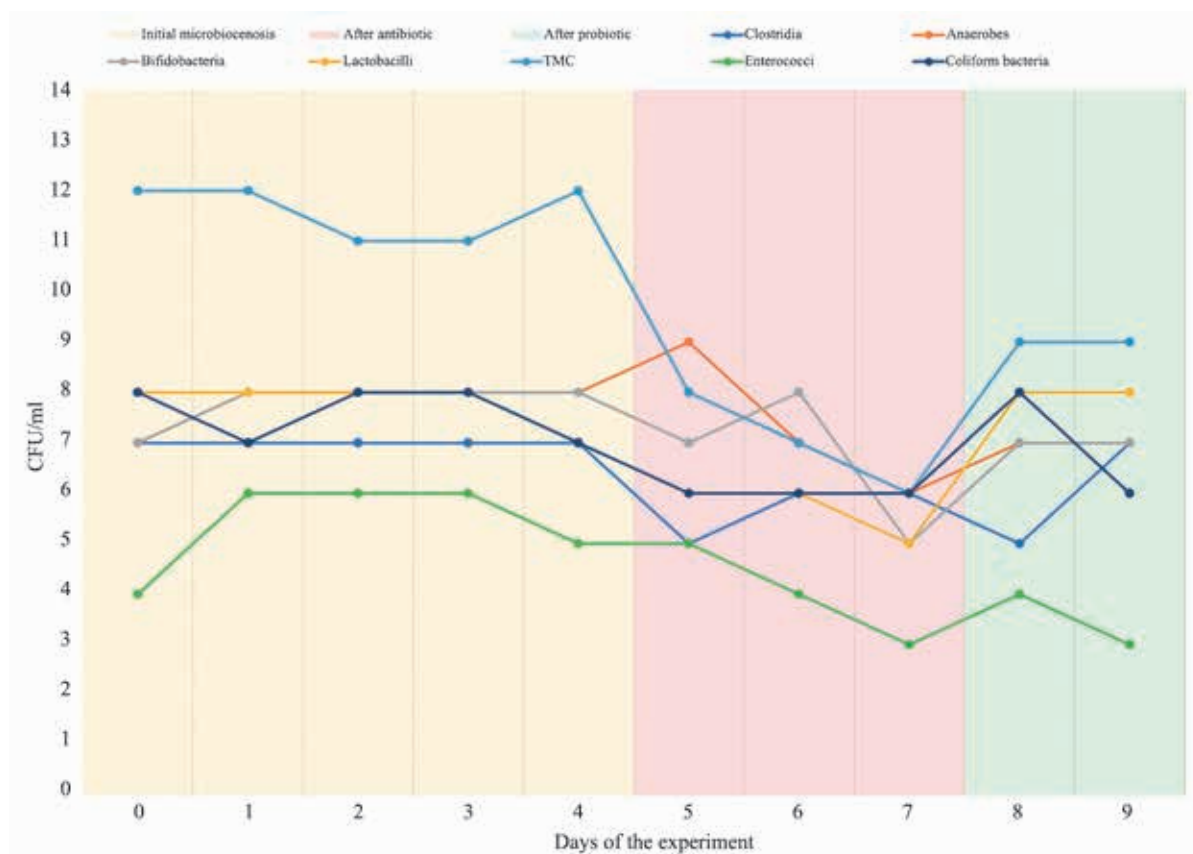
The initial microbiocenosis (days 0—4) was stable: the total microbial count was  $10^{11}$ — $10^{12}$  CFU/g, the lactobacilli, bifidobacteria, obligate anaerobes and coliform bacteria counts were within  $10^7$ — $10^8$  CFU/g,

clostridia were  $10^7$  CFU/g and enterococci were  $10^4$ — $10^6$  CFU/g. The fluctuations within the period did not exceed one order of magnitude, allowing these values to be considered as individual norms for the animals in the group.

Antibiotic administration (days 5—7) did not produce an immediate effect: on day 5, all indicators remained at baseline levels, with a decrease recorded starting on day 6. The active ingredient of the preparation is amoxicillin, a semisynthetic aminopenicillin with a bactericidal mechanism of action mediated by binding to penicillin-binding proteins and blocking peptide transpeptidation. Its spectrum of action covers gram-positive flora and some gram-negative enterobacteria, but the preparation is destroyed by  $\beta$ -lactamases, which are widely present in intestinal commensals [8]. This explains our findings: the most sensitive were

gram-positive lactobacilli (a decrease from  $10^7$ – $10^8$  to  $10^6$  CFU/g) and total microbial counts (a five-fold decrease in TMC by day 7), while coliform bacteria decreased by only 1–2 orders of magnitude and remained at  $10^6$  CFU/g, consistent with the concept of a reservoir of  $\beta$ -lactamase activity in enterobacteria.

Maximum inhibition of the microbiome occurred on day 8 — the first day after discontinuing the antibiotic and starting the probiotic regimen. At the same time, bifidobacteria and lactobacilli ( $10^5$  CFU/g each), total microbial counts and anaerobes ( $10^6$  CFU/g each) and enterococci ( $10^3$  CFU/g) reached their minimum values.



**Fig. 1.** Dynamics of microbiological indicators of the large intestine module. Horizontal axis — days of the experiment; vertical axis — content of CFU/ml.

The probiotic used contains two strains of *B. subtilis* (11B and 12B) in a titer of at least  $1 \cdot 10^8$  CFU/ml. The claimed mechanism includes the production of polypeptide antibiotic substances, hydrolytic enzymes (protease, amylase, hemicellulase), vitamins and amino acids, as well as the suppression of opportunistic microflora. A wide range of antimicrobial metabolites has been described for the *B. subtilis* species as a whole: cyclic lipopeptides (surfactin, iturin, fengycin), bacteriocins and the dipeptide bacilizin [12].

During probiotic administration (days 8–9), the dynamics was mixed. Lactobacilli and bifidobacteria recovered faster than other groups: by day 9, their levels had returned to a baseline one ( $10^8$  and  $10^7$  CFU/g, respectively). The total microbial count by day 9 reached  $10^9$  CFU/g, remaining 2–3 orders of magnitude lower than the baseline. Enterococci ( $10^3$  CFU/g)

and coliform bacteria ( $10^6$  CFU/g) levels also did not recover by the end of the experiment, while clostridia levels returned to the baseline of  $10^7$  CFU/g.

Meanwhile, *Bacillus subtilis* concentrations remained at  $10^9$  CFU/g for 3 days.

By the end of the probiotic course, the ratio of microbial groups shifted in favor of obligate lacto- and bifidoflora, with a persistent deficiency of opportunistic pathogens (coliform bacteria, enterococci) and the overall microbial mass.

The spore form provides resistance to the acidic environment of the stomach, bile acids and residual concentrations of  $\beta$ -lactam, allowing the preparation to be prescribed immediately after discontinuing the antibiotic. Based on this, administration began on day 8 (the point of maximum microbiome suppression). The resulting dynamics demonstrated an accelerated

recovery of lacto- and bifidoflora: by day 9, lactobacilli had returned to  $10^8$  CFU/g, bifidobacteria — to  $10^7$  CFU/g, while the other groups remained reduced. Coliform bacteria remained at a level of  $10^6$  CFU/g, enterococci —  $10^3$  CFU/g.

The mechanisms underlying such selectivity were not directly studied in the present study. However, the observed pattern is consistent with the properties described for *B. subtilis*. As a facultative anaerobe, this species consumes residual oxygen and reduces the redox potential of the environment, which may favor obligate anaerobes; protection of lactic acid bacteria cells by the extracellular matrix of bacilli has also been described [11, 12]. The inhibition of enterobacteria and enterococci may be associated with the antagonistic activity of bacilli and competition for the substrate. Verification of these hypotheses requires direct measurements — monitoring the redox potential of the environment, assessing antagonistic activity *in vitro* and setting up a variant without the introduction of the probiotic. By the end of the observation period, incomplete recovery of individual groups of microorganisms has been noted, which may reflect both the persistent post-antibiotic shift in the microbiocenosis and the selective effect of probiotic correction. Longer-term observations are needed to clarify this.

Table 2 presents the data on the quantitative composition of the intestinal microbiota, as determined by the PCR using the commercial Colonoflor-16 (biocenosis) kit.

The total bacterial count increased by day 3 of cultivation from  $2 \cdot 10^{11}$  to  $2 \cdot 10^{13}$  copies/ml, likely reflecting the microbiota's adaptation to the artificial envi-

ronment and the absence of host immune factors. After antibiotic therapy, a decrease to  $3 \cdot 10^{11}$  copies/ml was observed, followed by an incomplete recovery to  $2 \cdot 10^{12}$  copies/ml with the probiotic.

The obligate microflora showed significant sensitivity to the  $\beta$ -lactam antibiotic. For example, *Bifidobacterium spp.* decreased from  $5 \cdot 10^{11}$  on day 3 to  $6 \cdot 10^9$  copies/ml after antibiotic administration, while *Lactobacillus spp.* — from  $3 \cdot 10^{10}$  to  $6 \cdot 10^9$  copies/ml. The introduction of a *B. subtilis*-containing probiotic was accompanied by a partial restoration of bifidobacteria up to  $9 \cdot 10^9$  copies/ml, but lactobacilli remained at a level of  $5 \cdot 10^9$  copies/ml, not reaching the values of day 3.

*Escherichia coli* was relatively resistant to amoxicillin, with a slight decrease observed from  $4 \cdot 10^9$  to  $8 \cdot 10^8$  copies/ml, respectively, consistent with the concept of a reservoir of  $\beta$ -lactamase activity in enterobacteria. With the probiotic, *E. coli* numbers increased slightly to  $10^9$  copies/ml.

Gram-negative obligate anaerobes of the genus *Bacteroides* dominated the microbiome, with their concentration remaining at  $2\text{--}3 \cdot 10^{11}$  copies/ml after the antibiotic and probiotic treatment. It is noteworthy that this genus was not detected by culture (Table 1), indicating the predominance of uncultured representatives of this taxon in the large intestine of pigs.

The butyrate-producing species *Faecalibacterium prausnitzii* was characterized by low abundance ( $10^6\text{--}10^7$  copies/ml) and a tendency to further decrease after probiotic administration to  $6 \cdot 10^5$  copies/ml, respectively. This may reflect competitive inhibition by *B. subtilis* or substrate insufficiency in the artificial environment.

**Table 2**

*Quantitative content of the studied indicators of the intestinal microbiota of pigs, detected by the qPCR in native material and material collected from the GITs system*

| Indicator                    | Content, copies/ml |                      |                                         |                   |
|------------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------------------------|-------------------|
|                              | Whole sample       | Day 3 of cultivation | After antibiotics, day 6 of cultivation | After probiotic   |
| Total bacterial mass         | $2 \cdot 10^{11}$  | $2 \cdot 10^{13}$    | $3 \cdot 10^{11}$                       | $2 \cdot 10^{12}$ |
| Lactobacillus spp            | $9 \cdot 10^7$     | $3 \cdot 10^{10}$    | $6 \cdot 10^9$                          | $5 \cdot 10^9$    |
| Bifidobacterium spp          | $3 \cdot 10^8$     | $5 \cdot 10^{11}$    | $6 \cdot 10^9$                          | $9 \cdot 10^9$    |
| Escherichia coli             | $4 \cdot 10^8$     | $4 \cdot 10^9$       | $8 \cdot 10^8$                          | $10^9$            |
| Bacteroides spp              | $10^{11}$          | $2 \cdot 10^{13}$    | $3 \cdot 10^{11}$                       | $2 \cdot 10^{11}$ |
| Faecalibacterium prausnitzii | $2 \cdot 10^7$     | $7 \cdot 10^6$       | $8 \cdot 10^6$                          | $6 \cdot 10^5$    |

The qPCR data generally reflected the same direction of changes. However, quantitative estimates differed between the methods, likely due to different analytical sensitivities and the nature of the detected targets.

## CONCLUSION

In an *in vitro* porcine gastrointestinal tract model, a consistent change in the microbiome was observed (from an initial stable profile through antibiotic-associated dysbiosis to subsequent probiotic correction). The introduction of Amoxygard was accompanied by a decrease in the abundance of both obligate microbiota (lactobacilli, bifidobacteria and total microbial counts) and, to a lesser extent, some opportunistic enterobacteria. The most pronounced suppression was observed on day 8 of the experiment, the first day after discontinuing the antibiotic.

After administration of the probiotic preparation Vetosporin Zh, based on *Bacillus subtilis*, the lactobacilli and bifidobacteria counts returned to baseline values by day 9 of observation, while the opportunistic group (coliform bacteria, enterococci) and the total microbial count only partially recovered by the end of the experiment. Such dynamics may reflect the different resistance of individual taxa to the effects of antibiotic therapy and the different speed of their response to probiotic correction. However, there is insufficient evidence to draw unambiguous conclusions about the mechanisms of the observed changes within the framework of this work.

The obtained data suggest that the use of a spore-forming probiotic after antibiotic therapy may promote more rapid recovery of certain groups of obligate microflora, but this conclusion requires further confirmation in larger observation series.

## REFERENCES

1. Analysis of the gut bacterial communities in beef cattle and their association with feed intake, growth, and efficiency / P. R. Myer, H. C. Freetly, J. E. Wells, T. P. L. Smith, L. A. Kuehn // *Journal of Animal Science*. — 2017. — Vol. 95. — No. 7. — P. 3215—3224.
2. *Belkaid Y.* Role of the microbiota in immunity and inflammation / Y. Belkaid, T. W. Hand // *Cell*. — 2014. — Vol. 157. — No. 1. — P. 121—141. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
3. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases / E. Rinninella, P. Raoul, M. Cintoni, F. Franceschi, G. A. D. Miggiano, A. Gasbarrini, M. C. Mele // *Microorganisms*. — 2019. — Vol. 7. — No. 1. — P. 14. doi: 10.3390/microorganisms7010014.
4. Dysbiosis and the immune system / M. Levy, A. A. Kolodziejczyk, C. A. Thaiss, E. Elinav // *Nature Reviews Immunology*. — 2017. — Vol. 17. — No. 4. — P. 219—232. doi: 10.1038/nri.2017.7.
5. *Hemarajata P.* Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation / P. Hemarajata, J. Versalovic // *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. — 2013. — Vol. 6. — No. 1. — P. 39—51. doi: 10.1177/1756283X12459294.
6. *In vitro* simulation of porcine intestinal microbiota in an automated gastrointestinal tract simulation system / Yu. A. Tikhmeneva, S. N. Golovin, D. A. Sedova, M. M. Khanukaev, G. Yu. Drobot, A. V. Aleshukina, S. K. Shebeko // *Agrarnaya nauka (Agricultural science)*. — 2026. — Vol. 408. — No. 7. — P. 31—40. doi: 10.32634/0869—8155—2026—408—07—31—40.
7. *Matrenov I. S.* Determination of antibiotic susceptibility of gram-positive strains of microorganisms isolated from pathological material of pigs / I. S. Matrenov, O. S. Larionova, Ya. B. Drevko // *Vestnik Ulyanovskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii (Bulletin of Ulyanovsk State Agricultural Academy)*. — 2023. — No. 3 (63). — P. 127—132.
8. Streptococcosis in industrial pig breeding. New approaches to solving the problem / M. Parini, V. Grechishnikov, A. Panin, M. Moroz // *Effektivnoe Zhivotnovodstvo (Efficient animal husbandry)*. — 2022. — No. 6 (181). — P. 44—46.
9. *Tokarev I. N.* Growth rate, feed conversion and haematological changes in weaned piglets fed the probiotic Vetosporin / I. N. Tokarev // *Izvestiya nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professionalnoe obrazovanie (News of the Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Professional Education)*. — 2016. — No. 3 (43). — P. 148—153.
10. Amoxicillin and succinic acid: effective medicines for animal health protection (review) / A. A. Komarov, S. V. Engashev, E. S. Engasheva, D. I. Udavliev, M. A. Egorov, B. V. Usha, R. N. Selimov, I. G. Glamazdin // *Khranenie i pererabotka selkhozsyrya (Storage and processing of agricultural raw material)*. — 2022. — No. 4. — P. 98—117.
11. *Vagapov F. F.* Productive performance of Simmental bulls receiving the preparation Vetosporin / F. F. Vagapov, A. I. Semerikova, Kh. Kh. Tagirov // *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo (Livestock and forage production)*. — 2017. — No. 4 (100). — P. 110—117.
12. *Vagapov F. F.* Effect of the preparation Vetosporin Zh on the intake and digestibility of dietary nutrients in bulls / F. F. Vagapov // *Izvestiya orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (News of Orenburg State Agrarian University)*. — 2017. — No. 6 (68). — P. 154—157.
13. Certificate of state registration of a computer program No. 2025693481 Russian Federation. Software complex for controlling acidity, temperature and mechanical

transfer of contents in the sections of an artificial animal gastrointestinal tract (using pigs as an example): application 17.11.2025; published 28.11.2025 / M. M. Khanukaev, E. A. Portnova, V. V. Dolgov; applicant: Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Don State Technical University". — EDN OKWXAI.

14. Portnova E. A. Development of a protocol for applying a porcine gastrointestinal tract simulation system in experimental studies / E. A. Portnova, M. M. Khanukaev, S. K. Shebeko // State and prospects of development of the agroindustrial complex (Conference "InterAgro 2026"): Proceedings of the 19<sup>th</sup> International Scientific and Practical Conference within the framework of the 29<sup>th</sup> Agro-Industrial Forum of the South of Russia and the "Interagromash" and "Agrotechnologies" exhibitions with the use of remote technologies, Rostov-on-Don, 25—27 February 2026. — Rostov-on-Don: DGTU-PRINT LLC, 2026. — P. 175—177. — doi: 10.23947/interagro.2026.175-177. — EDN ZAPDEJ.

15. Development of an artificial intestinal medium for *in vitro* simulation of porcine microbiota / Yu. A. Tikhmeneva, S. K. Shebeko, N. V. Pimenov, S. N. Tresnitskiy // Vet-

erinariya, zootekhnika i biotekhnologiya (Veterinary science, zootechnics and biotechnology). — 2026. — Vol. 1. — No. 1. — P. 125—134. — doi: 10.36871/vet.zoo.bio.202601115. — EDN HFVCGB.

16. Guidelines for control methods 4.2.2886—11 Identification of microorganisms and determination of their susceptibility to antimicrobial agents: methodical guidelines: official edition: approved and put into force by the Chief State Sanitary Physician of the Russian Federation, Head of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing G. G. Onishchenko dtd. 30.06.2011. — Moscow: Federal Centre for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2011. — 39 p.

17. State standard 28566—90 Food products. Method for detection and enumeration of enterococci (*Enterococcus*): interstate standard of the Russian Federation: official edition: approved and put into force by the Resolution of the USSR State Committee for Product Quality Management and Standards dtd. 29.05.90 No. 1332 / developed and submitted by the All-Union Research Institute of the Canning and Vegetable Drying Industry. — Moscow: Interstate Standard, 1991. — 6 p.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Yu. A. Yarushnikova** — Postgraduate Student;

**S. N. Golovin** — Candidate of Biological Sciences, Scientific Associate;

**D. A. Sedova** — Senior Lecturer;

**M. M. Khanukaev** — Candidate of Technical Sciences, Associate Professor;

**S. K. Shebeko** — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department;

**S. N. Tresnitskiy** — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department;

**E. V. Mikhaylov** — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems;

**O. A. Manzhurina** — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate, Head of the Department of Clinical and Laboratory Studies.

The article was submitted 09.07.2026.

# ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Научная статья

УДК 59.084:619

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.50.86.010

## ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ИШЕМИИ ДИСТАЛЬНОГО ОТДЕЛА ТОЩЕЙ КИШКИ

Александра Константиновна Цыбань<sup>✉</sup>, Сергей Петрович Данников,  
Андрей Николаевич Квочко

Ставропольский государственный аграрный университет,  
Ставрополь, Россия, sashacyban@gmail.com<sup>✉</sup>

**Аннотация.** Изучена динамика биохимических показателей сыворотки крови кроликов после экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки. Проанализировано содержание общего белка, альбуминов, мочевины, креатинина, кальция, фосфора, магния, а также активность ферментов — аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и креатинфосфокиназы (КФК). Объектом исследования являлись 50 клинически здоровых самцов беспородных кроликов в возрасте 8 месяцев. Экспериментальное моделирование ишемии дистального отдела тощей кишки у кроликов сопровождается достоверным ( $p < 0,05$ ) снижением общего белка с 2 по 5 сутки, мочевины и креатинина на 4 сутки, а фосфора на 2, 3 и 5 сутки эксперимента. Предполагается, что снижение уровня общего белка является следствием дисфункции желудочно-кишечного тракта, снижение уровней мочевины и креатинина обусловлено развитием белкового дефицита и снижением интенсивности мышечного метаболизма, а причиной снижения фосфора является нарушение его всасывания из поврежденного ишемией кишечника. Анализ ферментов сыворотки крови у животных с экспериментальной моделью ишемии дистального отдела тощей кишки показал достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение активности АСТ на 4 и 5 сутки, а ЩФ на 2, 3 и 5 сутки, при этом активность КФК, напротив, достоверно ( $p < 0,05$ ) возрастает на 1 и 2 сутки эксперимента. По нашему мнению, снижение активности АСТ не имеет клинической значимости, снижение активности ЩФ может быть вызвано низким содержанием фосфора и общего белка в сыворотке крови, а увеличение активности КФК происходит из-за ее высвобождения в кровь из поврежденных ишемией тканей кишечника.

**Ключевые слова:** острая мезентериальная ишемия, дистальный отдел тощей кишки, биохимические показатели сыворотки крови, тромбоз, ферменты, макроэлементы, общий белок, альбумины, продукты азотистого обмена

Острая мезентериальная ишемия — это группа заболеваний, характеризующаяся нарушением или полным прекращением кровообращения в различных отделах кишечника, приводящим к ишемии и вторичным воспалительным процессам. Тяжесть ишемического повреждения кишечника обратно пропорциональна кровотоку. Снижение кровотока в кишечнике может быть следствием общего нарушения системного кровоснабжения (шок или сердечная недостаточность) или результатом локаль-

ных изменений в брыжеечных сосудах (тромбоз, перекут кишечника.) [1]. Данная патология сопровождается внезапной гипоперфузией кишечника, возникающей после резкого нарушения артериального или венозного кровообращения [2].

Неспецифичность клинической картины при острой ишемии брыжейки создает трудности в дифференциальной диагностике, ее сложно отличить от других внутрибрюшных патологий, например, таких как острый холецистит, панкреатит

или тонкокишечная непроходимость. Из-за отсутствия специфических симптомов и затрудненной диагностики мезентериальная ишемия имеет высокую летальность вследствие возникновения вторичных осложнений в виде некроза кишечника и развития сепсиса [3,4]. У животных основными симптомами при тромбозе и ишемии мезентериальных сосудов могут являться вялость, анорексия, рвота, отсутствие дефекации, болезненность живота при пальпации [5,6,7].

Известны методы экспериментального моделирования ишемии кишечника у свиней [8], собак [9], крыс [10, 11], мышей [12], кроликов [13], которые были разработаны и воспроизведены с целью углубленного изучения патофизиологических процессов, динамики микроциркуляторных нарушений в кишечной стенке, оценки стадийности ишемического повреждения и реперфузионных изменений, и разработки теоретической и практической базы для диагностики и лечения данной группы патологий.

Биохимические исследования сыворотки крови имеют важное значение в клинко-лабораторной диагностике, отражая состояние гомеостаза в животном организме, позволяют получить развернутую картину метаболических процессов в организме животного, своевременно выявить нарушения гомеостаза и обоснованно назначить лечебные и профилактические мероприятия.

Белки — являются основным структурообразующим компонентом всех тканей организма, кроме этого, они выполняют структурную, транспортную, защитную, двигательную, энергетическую ферментативную, регуляторную, рецепторную и другие функции в организме [14].

Продукты азотистого обмена, к которым относятся мочевины, креатинин, мочевая кислота, аммиак, образуются в организме животного в результате катаболизма белков, нуклеиновых кислот и других азотсодержащих соединений. Эти вещества являются в разной степени токсичными, и должны выводиться из организма [15]. Мочевина и креатинин — основные показатели, определяемые в биохимических исследованиях сыворотки крови для функциональной оценки почек, статуса мышечно-го и белкового метаболизма.

Ферменты участвуют в регуляции метаболизма, являясь катализаторами для протекания биохимических реакций в клетках живых организмов, поддерживают гомеостаз, участвуют в синтезе и распаде биологически активных соединений, и их определение в сыворотке крови является диа-

гностическим критерием тяжести и направленности повреждения различных тканей и органов [16].

Макроэлементы имеют важное значение в регуляции метаболизма и необходимы для поддержания нормальной жизнедеятельности животного организма.

Они играют роль в функционировании мышечной, сердечно-сосудистой, иммунной, нервной систем. Макроэлементы принимают участие в синтезе жизненно важных биологически активных веществ, в процессах энергетического обмена, кроветворении и работе желудочно-кишечного тракта [17, 18].

Несмотря на развитие современной клинко-лабораторной диагностики и непрерывного внимания к изучению патогенеза мезентериальной ишемии, биохимические показатели сыворотки крови, при данной патологии, остаются достаточно малоизученными и нередко носят противоречивый характер [19].

В соответствии с вышесказанным, цель данного исследования состоит в определении и анализе динамики биохимических показателей сыворотки крови после экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки у кроликов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись 50 клинически здоровых самцов беспородных кроликов в возрасте 8 месяцев с массой тела от 4 до 4,5 кг, которые были разделены на 2 группы, опытную (I) и контрольную (II), по 25 особей. На каждом сроке исследования от начала эксперимента из обеих групп выводили по 5 особей.

Животным, включенным во I экспериментальную группу, была смоделирована ишемия дистального отдела тощей кишки по разработанной нами методике [20], в основе которого лежит наложение на тощекишечный ствол лигатуры из нерассасывающегося шовного материала так, чтобы тощекишечные артерии находились дистальнее самой лигатуры.

Представителям II контрольной группы выполняли неингаляционный наркоз и срединную лапаротомию с последующим закрытием операционной раны в равнозначном объеме по отношению к животным опытной группы.

В послеоперационный период особям из I и II группы лечебные мероприятия не проводились.

Кровь для биохимического исследования отбирали натошак путем пункции краевой ушной вены

через 1, 2, 3, 4 и 5 сутки эксперимента в вакуумные пробирки Lab-Vac с активатором свертывания объемом 4 мл производства Shandong Chengwu Medical Products Factory (Китай). На каждом сроке исследования от начала эксперимента из обеих экспериментальных групп выводили по 5 особей.

Для определения биохимических параметров сыворотки крови, таких как общий белок, альбумины, мочевины, креатинин, кальций, фосфор, маг-

ний, активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и креатинфосфокиназы (КФК) использовался автоматический биохимический анализатор Accent 200. В работе применялись наборы реагентов производства Mindray (Китай).

Референтные значения нормы биохимических показателей сыворотки крови кроликов представлены в таблице 1.

**Таблица 1**

*Референтные значения биохимических показателей кроликов*

| Биохимический показатель | Нормальные значения    |
|--------------------------|------------------------|
| Общий белок, г/л         | 49—71 <sup>2</sup>     |
| Альбумин, г/л            | 27—50 <sup>2</sup>     |
| Мочевина, ммоль/л        | 2,93—8,28 <sup>1</sup> |
| Креатинин, мкмоль/л      | 74—171 <sup>1</sup>    |
| Кальций, ммоль/л         | 2,2—3,9 <sup>1</sup>   |
| Фосфор, ммоль/л          | 1,0—2,2 <sup>1</sup>   |
| Магний, ммоль/л          | 0,8—1,2 <sup>2</sup>   |
| АЛТ, Ед/л                | 27,4—72,2 <sup>3</sup> |
| АСТ, Ед/л                | 10,0—78,0 <sup>3</sup> |
| ЩФ, Ед/л                 | 36—224 <sup>1</sup>    |
| КФК, Ед/л                | 58,6—175 <sup>3</sup>  |

<sup>1</sup> А. Ewringmann (2010) [21]

<sup>2</sup> М. Varga [22]

<sup>3</sup> Р. Wesche (2016) [23]

Для выявления статистически значимых различий между группами данных был использован однофакторный дисперсионный анализ и критерий Ньюмена — Кейлса. Все вычисления выполнялись в программе Primer of Biostatistics 4.03 для Windows, а порог достоверности был установлен на уровне  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ АНАЛИЗ

Анализ уровня общего белка после экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки у кроликов показал (табл. 2), что его содержание в сыворотке крови животных опытной группы достоверно изменяется на 2, 3, 4 и 5 сутки от начала эксперимента, по сравнению

с животными контрольной группы. Определено снижение данного показателя у кроликов I группы, в сравнении с II группой, на 20,85, 14,88, 11,06 и 10,62 % соответственно. Статистический анализ показал достоверное уменьшение уровня общего белка между сроками исследования от начала эксперимента в I группе на 19,89 % исключительно на 2 сутки, тогда как в иные сроки исследования динамики не выявлено. Концентрация альбуминов в сыворотке крови кроликов обеих групп не имела статистически достоверных отличий на протяжении всего периода наблюдения.

На основании полученных данных можно предположить, что статистически значимое снижение концентрации общего белка в сыворотке крови животных опытной группы, наблюдаемое со 2 су-

ток исследования, связано с нарушениями белкового метаболизма. Эти нарушения, вероятно, являются следствием дисфункции желудочно-кишечного тракта. При этом снижение уровня общего белка приходится на его глобулиновую фракцию. Средние значения концентрации общего белка и альбуминов не выходят за пределы нормальных величин, представленных в таблице 1.

Концентрация азотистых метаболитов в сыворотке крови кроликов после экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки изменяется следующим образом (табл. 3). Уровень мочевины в опытной группе до-

стоверно снижается лишь на 4 сутки эксперимента на 54,26 %, в сравнении с контрольной группой.

При анализе динамики мочевины в сыворотке крови у животных опытной группы выявлено существенное снижение показателя в период с 3 по 4 сутки эксперимента на 82,54 %, причем на 4 сутки исследования концентрация мочевины достигла наименьшего зафиксированного значения. Анализ динамики уровня креатинина выявил статистически значимое уменьшение его концентрации в I экспериментальной группе на 65,92 % в 4 сутки исследования, что существенно отличалось от зафиксированных в контрольной группе значений.

**Таблица 2**

*Содержание общего белка и альбумина в сыворотке крови после экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки*

| Исследуемые показатели | Группы животных (n = 5) | Сроки исследования от начала эксперимента |                            |                           |                           |                           |
|------------------------|-------------------------|-------------------------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                        |                         | 1 сутки (M ± m)                           | 2 сутки (M ± m)            | 3 сутки (M ± m)           | 4 сутки (M ± m)           | 5 сутки (M ± m)           |
| Общий белок, г/л       | Контрольная             | 62,92 ± 0,96                              | 68,04 ± 1,65               | 65,94 ± 0,69              | 62,46 ± 1,03              | 63,12 ± 1,00              |
|                        | Опытная                 | 67,50 ± 0,30                              | 56,30 ± 2,16 <sup>*#</sup> | 57,40 ± 0,87 <sup>*</sup> | 56,24 ± 0,90 <sup>*</sup> | 57,06 ± 1,56 <sup>*</sup> |
| Альбумины, г/л         | Контрольная             | 41,92 ± 1,52                              | 40,62 ± 1,84               | 41,06 ± 1,82              | 40,18 ± 1,66              | 41,34 ± 0,74              |
|                        | Опытная                 | 41,24 ± 2,29                              | 36,48 ± 1,31               | 39,30 ± 0,81              | 40,16 ± 0,82              | 38,52 ± 1,91              |

**Примечание:** знак \* используется для выделения статистически существенных расхождений (при  $p < 0,05$ ) между показателями опытной и контрольной групп, зафиксированными в одни и те же периоды наблюдения; знак # применяется для обозначения статистически значимых тенденций внутри опытной группы по сравнению с предыдущим сроком.

**Таблица 3**

*Концентрация мочевины и креатинина в сыворотке крови после экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки*

| Исследуемые показатели | Группы животных (n = 5) | Сроки исследования от начала эксперимента |                 |                 |                            |                             |
|------------------------|-------------------------|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|----------------------------|-----------------------------|
|                        |                         | 1 сутки (M ± m)                           | 2 сутки (M ± m) | 3 сутки (M ± m) | 4 сутки (M ± m)            | 5 сутки (M ± m)             |
| Мочевина, ммоль/л      | Контрольная             | 6,33 ± 0,62                               | 4,50 ± 0,42     | 4,98 ± 0,27     | 4,86 ± 0,37                | 5,76 ± 0,26                 |
|                        | Опытная                 | 5,33 ± 0,28                               | 6,14 ± 0,18     | 5,75 ± 0,64     | 3,15 ± 0,18 <sup>*#</sup>  | 4,19 ± 0,47                 |
| Креатинин, мкмоль/л    | Контрольная             | 102,10 ± 10,63                            | 98,82 ± 3,89    | 86,74 ± 4,84    | 104,50 ± 2,41              | 104,50 ± 3,24               |
|                        | Опытная                 | 85,48 ± 6,63                              | 93,12 ± 5,11    | 87,96 ± 4,82    | 62,98 ± 5,31 <sup>*#</sup> | 111,50 ± 10,53 <sup>#</sup> |

**Примечание:** знак \* используется для выделения статистически существенных расхождений (при  $p < 0,05$ ) между показателями опытной и контрольной групп, зафиксированными в одни и те же периоды наблюдения; знак # применяется для обозначения статистически значимых тенденций внутри опытной группы по сравнению с предыдущим сроком.

Динамика креатинина у животных опытной группы характеризовалась следующими этапами: на 4 сутки эксперимента зафиксировано достоверное снижение на 39,66 % до минимальных значений, а на 5 сутки — значительное увеличение на 77,04 %. Следует отметить, что средние значения уровня креатинина в сыворотке крови у кроликов опытной группы на 4 сутки эксперимента становятся ниже показателей нормы, представленных в таблице 1.

Наблюдаемое уменьшение уровня мочевины в сыворотке крови животных опытной группы, предположительно, обусловлено развитием белко-

вого дефицита, который, может вызывать гиподинамию и снижение интенсивности мышечного метаболизма, что, в свою очередь, приводит к более низким значениям креатинина в сыворотке крови. Данные патологические изменения могут являться результатом дисфункции кишечника, индуцированной экспериментально созданной ишемией.

В процессе исследования уровня макроэлементов, проведенного в образцах сыворотки крови кроликов (табл. 4), было выявлено, что значения кальция и магния не демонстрируют статистически значимых различий между первой и второй группами животных.

Таблица 4

Динамика макроэлементов в сыворотке крови после экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки

| Исследуемые показатели | Группы животных (n = 5) | Сроки исследования от начала эксперимента |                 |                 |                          |                           |
|------------------------|-------------------------|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|---------------------------|
|                        |                         | 1 сутки (M ± m)                           | 2 сутки (M ± m) | 3 сутки (M ± m) | 4 сутки (M ± m)          | 5 сутки (M ± m)           |
| Кальций, ммоль/л       | Контрольная             | 2,95 ± 0,05                               | 3,05 ± 0,05     | 3,16 ± 0,09     | 3,13 ± 0,06              | 3,00 ± 0,05               |
|                        | Опытная                 | 3,00 ± 0,04                               | 2,94 ± 0,05     | 3,07 ± 0,03     | 3,24 ± 0,06              | 3,12 ± 0,10               |
| Фосфор, ммоль/л        | Контрольная             | 2,00 ± 0,06                               | 2,15 ± 0,12     | 1,97 ± 0,05     | 2,04 ± 0,02              | 2,07 ± 0,04               |
|                        | Опытная                 | 1,75 ± 0,04                               | 1,54 ± 0,13*    | 1,55 ± 0,04*    | 2,10 ± 0,05 <sup>#</sup> | 1,67 ± 0,14* <sup>#</sup> |
| Магний, ммоль/л        | Контрольная             | 0,86 ± 0,07                               | 1,01 ± 0,10     | 0,84 ± 0,06     | 0,79 ± 0,05              | 0,92 ± 0,03               |
|                        | Опытная                 | 0,75 ± 0,06                               | 0,75 ± 0,07     | 0,70 ± 0,04     | 0,99 ± 0,06 <sup>#</sup> | 0,93 ± 0,04               |

**Примечание:** знак \* используется для выделения статистически существенных расхождений (при  $p < 0,05$ ) между показателями опытной и контрольной групп, зафиксированными в одни и те же периоды наблюдения; знак <sup>#</sup> применяется для обозначения статистически значимых тенденций внутри опытной группы по сравнению с предыдущим сроком.

По результатам анализа концентрации макроэлементов в сыворотке крови кроликов обеих групп определены следующие средние значения: кальций в обеих группах варьируют от 2,95 ± 0,05 до 3,24 ± 0,06 ммоль/л, магний — от 0,70 ± 0,04 до 1,01 ± 0,10 ммоль/л соответственно.

Достоверное снижение содержания фосфора в сыворотке крови опытной группы установлено на 2, 3 и 5 сутки, по сравнению с контрольной. Значение этого показателя уменьшается на 39,61, 27,10 и 23,95 % соответственно.

В опыте на 4 сутки происходит достоверное повышение содержания фосфора на 35,48 %, а на 5 сутки достоверное снижение фосфора 25,75 % в сравнении с предыдущими сутками. Средние значения содержания кальция и фосфора в сыворот-

ке крови кроликов опытной и контрольной группы находятся в пределах показателей нормы, указанных в таблице 1, тогда как средние значения магния в опытной группе с 1 по 3 сутки эксперимента становятся очевидно ниже референсных величин.

Достоверное снижение фосфора, а также выявленная тенденция к снижению магния у животных опытной группы происходит, вероятно, из-за нарушения его всасывания из поврежденного ишемией кишечника.

Анализ активности ферментов в сыворотке крови кроликов (табл. 5) установил отсутствие достоверных различий активности АЛТ между первой и второй группами животных. Активность показателя варьируется в пределах от 49,08 ± 2,91 до 89,18 ± 10,72 Ед/л.

Таблица 5

*Активность ферментов в сыворотке крови после экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки*

| Исследуемые показатели | Группы животных<br>(n = 5) | Сроки исследования от начала эксперимента |                    |                             |                            |                             |
|------------------------|----------------------------|-------------------------------------------|--------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
|                        |                            | 1 сутки<br>(M ± m)                        | 2 сутки<br>(M ± m) | 3 сутки<br>(M ± m)          | 4 сутки<br>(M ± m)         | 5 сутки<br>(M ± m)          |
| АЛТ, Ед/л              | Контрольная                | 62,10 ± 3,00                              | 61,66 ± 5,29       | 80,34 ± 4,08                | 89,18 ± 10,72              | 55,24 ± 3,99                |
|                        | Опытная                    | 49,08 ± 2,91                              | 49,86 ± 4,83       | 69,44 ± 7,34                | 71,60 ± 4,10               | 70,54 ± 17,25               |
| АСТ, Ед/л              | Контрольная                | 24,50 ± 3,64                              | 23,74 ± 4,13       | 35,70 ± 2,70                | 45,32 ± 8,60               | 44,48 ± 4,88                |
|                        | Опытная                    | 17,22 ± 1,81                              | 21,98 ± 3,18       | 25,48 ± 4,17                | 14,92 ± 1,76*              | 28,44 ± 4,70*               |
| ЩФ, Ед/л               | Контрольная                | 119,50 ± 4,50                             | 143,40 ± 7,71      | 123,00 ± 4,47               | 118,20 ± 3,74              | 124,10 ± 3,73               |
|                        | Опытная                    | 66,72 ± 10,29*                            | 51,78 ± 5,13*      | 86,48 ± 15,16* <sup>#</sup> | 110,20 ± 7,84 <sup>#</sup> | 59,56 ± 11,12* <sup>#</sup> |
| КФК, Ед/л              | Контрольная                | 325,00 ± 28,73                            | 310,60 ± 39,90     | 428,90 ± 95,33              | 425,00 ± 50,38             | 352,50 ± 22,62              |
|                        | Опытная                    | 1771,00 ± 432,20*                         | 1548,00 ± 496,30*  | 988,80 ± 80,81              | 709,60 ± 49,52             | 829,10 ± 136,20             |

**Примечание:** знак \* используется для выделения статистически существенных расхождений (при  $p < 0,05$ ) между показателями опытной и контрольной групп, зафиксированными в одни и те же периоды наблюдения; знак <sup>#</sup> применяется для обозначения статистически значимых тенденций внутри опытной группы по сравнению с предыдущим сроком.

Результаты анализа активности АСТ показывают следующую динамику. На 4 сутки эксперимента в группе животных с моделью ишемии дистального отдела тощей кишки, в сравнение с контролем, отмечается статистически значимое ее снижение в 3,04 раза, а на 5 сутки — в 1,60 раза соответственно. Достоверное снижение АСТ в данный период, по нашему мнению, может быть связано с тем, что острое повреждение тощей кишки (ишемия) могло вызвать дефицит витамина В6 (пиридоксина), поскольку его большая часть синтезируется в кишечнике кроликов и не накапливается в организме. Активная форма витамина В6 является кофактором (коферментом) АСТ, который необходим для процесса переноса аминокислоты (трансаминирования) между аминокислотами L-аспаратом и 2-оксоглутаратом. Следовательно, острое повреждение кишечника могло привести к дефициту витамина В6 и, следовательно, к снижению активности АСТ, однако для подтверждения данного предположения нужны более расширенные исследования.

В ходе эксперимента зафиксировано статистически значимое снижение активности ЩФ в опытной группе относительно контрольной. Динамика снижения имела волнообразный характер. Так,

в первые сутки активность данного фермента была ниже в 1,78 раза, 2 сутки — в 2,77 раза, 3 сутки — в 1,42 раза, 5 сутки — в 2,08 раза.

При отслеживании динамики активности ЩФ в сыворотке крови кроликов опытной группы выявлены статистически достоверные изменения между исследуемыми временными точками. Так, на 3 сутки зафиксировано повышение активности фермента на 67,01 %, на 4 сутки — на 27,43 % по сравнению с предшествующим периодом. На 5 сутки наблюдалось статистически значимое снижение активности ЩФ на 85,02 % относительно показателя предыдущих суток.

На наш взгляд, снижение активности ЩФ в опытной группе кроликов объясняется выявленным у них более низким содержанием фосфора и общего белка в сыворотке крови. Схожая взаимосвязь данных показателей прослеживается в работе М. С. Мансуровой, Е. Ю. Залубовской, М. Е. Остяковой (2024) [24]. Также снижению активности ЩФ в сыворотке крови у животных опытной группы могла поспособствовать выявленная тенденция к снижению магния, так как он является важнейшим кофактором и структурным активатором данного фермента.

Результаты исследования выявили достоверное увеличение активности КФК у животных I экспериментальной группы в первые 2 дня наблюдения по сравнению с контрольными показателями. В количественном выражении это проявлялось следующим образом: на первые сутки активность КФК у опытных кроликов была выше в 5,44 раз, а в 2 сутки — в 4,98 раза.

Средние значения активности АЛТ, АСТ и ЩФ в сыворотке крови у кроликов опытной и контрольной группы находятся в пределах показателей нормы, представленных в таблице 1, тогда как средние значения КФК у животных обеих групп существенно выше указанных референсных величин.

По нашему мнению, увеличение активности КФК в сыворотке крови животных опытной группы происходит из-за ее высвобождения в кровь из поврежденных ишемией тканей кишечника.

Полученные нами данные отличаются от результатов исследований [25], где авторы отмечают увеличение активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы через несколько часов после моделирования тотальной острой мезентериальной ишемии у кроликов.

Эти данные, по нашему мнению, указывают на то, что активность данных ферментов напрямую зависит от распространенности и степени тяжести патологического процесса.

Чем выше активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в сыворотке крови, тем более обширную ишемию кишечника следует предполагать и, напротив, при локальной ишемии дистального отдела тощей кишки — повышения данных ферментов не определяется.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, экспериментальное моделирование ишемии дистального отдела тощей кишки у кроликов сопровождается достоверным ( $p < 0,05$ ) снижением общего белка с 2 по 5 сутки, мочевины и креатинина на 4 сутки, а фосфора на 2, 3 и 5 сутки эксперимента. Анализ некоторых ферментов сыворотки крови у животных опытной группы показал достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение активности АСТ на 4 и 5 сутки, а ЩФ на 2, 3 и 5 сутки, при этом активность КФК, напротив, достоверно ( $p < 0,05$ ) возрастает на 1 и 2 сутки эксперимента.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Patel A. Pathophysiology of mesenteric ischemia / A. Patel, R. N. Kaleya, R. J. Sammartano // *Surgical Clinics of North America*. — 1992. — Vol. 72. — P. 31—41.

2. Acute and chronic mesenteric ischemia: single center analysis of open, endovascular, and hybrid surgery / A. Rebelo, M. Mammadov, J. Partsakhashvili [et al.] // *BMC Surgery*. — 2022. — Vol. 22, № 1. — 56.

3. Contemporary management of acute and chronic mesenteric ischemia: 10-year experience from a multihospital healthcare system / E. A. Andraska, L. M. Tran, L. M. Haga, [et al.] // *Journal of Vascular Surgery*. — 2022. — Vol. 75, № 5. — P. 1624—1633.

4. Incidence and outcomes of acute mesenteric ischaemia: a systematic review and meta-analysis / K. Tamme, A. Reintam Blaser, K. T. Laissaar, [et al.] // *BMJ Open*. — 2022. — Vol. 12(10). — e062846.

5. Shahar R. Mesenteric vein thrombosis in a dog / R. Shahar, S. Harrus, B. Yakobson // *Journal of the American Animal Hospital Association*. — 1998. — Vol. 34, № 5. — P. 431—433.

6. Mesenteric vascular thrombosis associated with disseminated abdominal visceral hemangiosarcoma in a cat / R. L. Currao, N. J. Buote, A. B. Flory, S. M. Liu // *Journal of the American Animal Hospital Association*. — 2011. — Vol. 47, № 6. — P. 168—172.

7. Imaging diagnosis — acute mesenteric ischemia associated with hypertrophic cardiomyopathy in a cat / M. Lee, N. Park, J. Kim [et al.] // *Veterinary Radiology & Ultrasound*. — 2015. — Vol. 56, № 4. — P. 44—47.

8. Establishment of mesenteric venous thrombosis in a porcine model using a transhepatic endovascular approach / L. Kai, M. Jiaxiang, F. Xinxin [et al.] // *Thrombosis research*. — 2015. — Vol. 136, № 6. — P. 1179—1184.

9. Superior mesenteric arteriography in experimental mesenteric venous thrombosis / M. J. Friedenbergh, H. C. Polk Jr, W. H. Mcalister, S. J. Shochat // *Radiology*. — 1965. — Vol. 85. — P. 38—45.

10. In the Experimental Model of Acute Mesenteric Ischemia, The Correlation of Blood Diagnostic Parameters with the Duration of Ischemia and their Effects on Choice of Treatment / M. Cakir, D. Yildirim, F. Sarac [et al.] // *Journal of investigative surgery: the official journal of the Academy of Surgical Research*. — 2019. — Vol. 32, № 6. — P. 507—514.

11. Mesenteric flow in an experimental model of ischaemia-reperfusion in rats / F. Caceres, M. Castanon, J. Larena [et al.] // *Anales de pediatria*. — 2014. — Vol. 80, № 3. — P. 151—158.

12. Factors Influencing FeCl<sub>3</sub>-Induced Mouse Mesenteric Arteriole Thrombosis Model / Y. Zhang, R. Yan, Q. Cui [et al.] // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. — 2017. — Vol. 25, № 5. — P. 1504—1508.

13. MR imaging-based evaluation of mesenteric ischemia caused by strangulated small bowel obstruction and mesenteric venous occlusion: an experimental study using rabbits / A. Inoue, N. Nitta, S. Ota [et al.] // *Magnetic resonance in medical sciences: MRMS: an official journal of Japan Society of Magnetic Resonance in Medicine*. — 2020. — Vol. 19, № 2. — P. 125—134.

14. *Wu G.* Amino acids: metabolism, functions, and nutrition / G. Wu // *Amino acids*. — 2009. — Vol. 37, № 1. — P. 1—17.
15. *King P. A.* Renal excretion of nitrogenous compounds in vertebrates / P. A. King, L. Goldstein // *Renal Physiology*. — 1985. — Vol 8, № 4—5. — P. 261—278.
16. *Конопатов Ю. В.* Биохимия животных: учебное пособие для вузов / Ю. В. Конопатов, С. В. Васильева. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2025. — 384 с.
17. *Magnesium Matters: A Comprehensive Review of Its Vital Role in Health and Diseases* / G. Fatima, A. Dzupina, B. H. Alhmadi [et al.] // *Cureus Journal of Medical Science*. — 2024. — Vol. 16, № 10. — e71392.
18. *Stehle R.* Calcium regulation of troponin and its role in the dynamics of contraction and relaxation / R. Stehle, B. Iorga, G. Pfitzer // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. — 2007. — Vol. 292, № 3. — P. 1125—1128.
19. *Абуов С. М.* Острое нарушение мезентерального кровообращения: вопросы своевременной диагностики и лечения (обзор литературы) / С. М. Абуов, Л. К. Кошербаева, Н. Е. Жаппаргалы // *Вестник Казахского Национального медицинского университета*. — 2020. — № 4. — С. 355—362.
20. Патент 2832244 (13) Российская Федерация МПК А61В17/12 (2006.01) G09В23/28 (2006.01) Способ экспериментального моделирования ишемии дистального отдела тощей кишки у кроликов: № 2024115499: заяв. 06.06.2024; опуб. 23.12.2024 / Данников С. П., Цыбань А. К.; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет» — Бюл. № 36. — 8 с.
21. *Ewringmann A.* Leitsymptome beim Kaninchen: Diagnostischer Leitfaden und Therapie / A. Ewringmann. — 2. überarbeitete Auflage. — Stuttgart: Enke, 2010. — 320 S.
22. *Varga M.* Clinical pathology / M. Varga. — 2nd ed. — Edinburg: Butterworth-Heinemann, 2014. — P. 111—136.
23. *Wesche P.* Clinical pathology // *BSAVA Manual of Rabbit Medicine* / edited by Meredith A., Lord B. — British Small Animal Veterinary Association: Gloucester, 2016. — P. 124—137.
24. *Мансурова М. С., Залюбовская Е. Ю., Остякова М. Е.* Влияние растительной добавки на биохимические показатели крови яичных цыплят // *Дальневосточный аграрный вестник*. — 2024. — Т. 18, № 3. — С. 65—73.
25. *Analysis of serum enzyme levels in a rabbit model of acute mesenteric ischemia* / F. X. Zhang, B. B. Ma, G. Z. Liang, H. Zhang // *Molecular Medicine Reports*. — 2011. — Vol. 4, № 6. P. — 1095—1099.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**А. К. Цыбань**— аспирант кафедры физиологии, хирургии и акушерства;

**С. П. Данников**— доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии, хирургии и акушерства, руководитель научно-диагностического и терапевтического ветеринарного центра;

**А. Н. Квочко**— доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии, хирургии и акушерства.

Статья поступила в редакцию 10.08.2026.

PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY  
AND EXPERIMENTAL THERAPY

Original article  
UDC 59.084:619

DYNAMICS OF SERUM BIOCHEMICAL INDICATORS  
AFTER EXPERIMENTAL SIMULATION  
OF DISTAL JEJUNUM ISCHEMIA

Aleksandra Konstantinovna Tsyban<sup>✉</sup>, Sergey Petrovich Dannikov,  
Andrey Nikolaevich Kvochko

*Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia, sashacyban@gmail.com<sup>✉</sup>*

**Abstract.** The dynamics of serum biochemical indicators in rabbits after experimental simulation of distal jejunum ischemia was studied. Total protein, albumin, urea, creatinine, calcium, phosphorus and magnesium levels were analyzed, as well as the enzyme activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and creatine phosphokinase (CPK). The study involved 50 clinically healthy male mongrel rabbits aged 8 months. Experimental simulation of distal jejunum ischemia in rabbits was accompanied by a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in total protein from days 2 to 5, urea and creatinine — on day 4, and phosphorus — on days 2, 3 and 5 of the experiment. It is believed that the decrease in total protein levels is a consequence of gastrointestinal dysfunction, the decrease in urea and creatinine levels is due to the protein deficiency development and a decrease in muscle metabolism, and the decrease in phosphorus is due to impaired absorption from the ischemic-damaged intestine. The analysis of serum enzymes in the animals with an experimental model of distal jejunum ischemia revealed a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in AST activity on days 4 and 5, and alkaline phosphatase — on days 2, 3 and 5. Conversely, CPK activity significantly ( $p < 0.05$ ) increased on days 1 and 2 of the experiment. In our opinion, the decrease in AST activity is not clinically significant. The decrease in ALP activity may be caused by low phosphorus and total protein levels in the serum, and the increase in CPK activity occurs due to its release into the blood from ischemic-damaged intestinal tissue.

**Keywords:** acute mesenteric ischemia, distal jejunum, serum biochemical indicators, thrombosis, enzymes, macronutrients, total protein, albumins, nitrogen metabolism products

Acute mesenteric ischemia is a group of diseases characterized by impaired or complete cessation of blood flow to various parts of the intestine, leading to ischemia and secondary inflammatory processes. The severity of ischemic intestinal damage is inversely proportional to blood flow. Decreased intestinal blood flow may be due to a general disruption of the systemic blood supply (shock or heart failure) or to local changes in the mesenteric vessels (thrombosis, intestinal torsion) [1]. This pathology is accompanied by sudden intestinal hypoperfusion, which occurs after a sharp disruption of arterial or venous circulation [2].

The nonspecific clinical presentation of acute mesenteric ischemia creates difficulties in differential diagnosis. It is difficult to distinguish it from other intra-abdominal pathologies, such as acute cholecystitis, pancreatitis, or small bowel obstruction. Due to the lack

of specific symptoms and difficult diagnosis, mesenteric ischemia has a high mortality rate due to the occurrence of secondary complications in the form of intestinal necrosis and the development of sepsis [3, 4]. In animals, the main symptoms of thrombosis and ischemia of the mesenteric vessels can include lethargy, anorexia, vomiting, lack of defecation and abdominal tenderness upon palpation [5—7].

Experimental simulation methods for intestinal ischemia in pigs [8], dogs [9], rats [10, 11], mice [12] and rabbits [13] have been developed and replicated for the purpose of in-depth study of pathophysiological processes, the dynamics of microcirculatory disturbances in the intestinal wall, assessment of the stages of ischemic injury and reperfusion changes, and the development of a theoretical and practical basis for the diagnosis and treatment of this group of pathologies.

Biochemical studies of serum are important in clinical laboratory diagnosis, reflecting the state of homeostasis in the animal organism, allowing for a comprehensive picture of metabolic processes in the animal's body, timely detection of homeostasis disturbances, and the appropriate prescription of therapeutic and preventive measures.

Proteins are the primary structure-forming component of all body tissues. They also perform structural, transport, protective, motor, energetic, enzymatic, regulatory, receptor and other functions in the body [14].

Nitrogen metabolism products, including urea, creatinine, uric acid and ammonia, are formed in the animal body as a result of the catabolism of proteins, nucleic acids and other nitrogen-containing compounds. These substances are toxic to varying degrees and must be eliminated from the body [15]. Urea and creatinine are the main indicators determined in serum biochemistry to assess renal function, muscle status and protein metabolism.

Enzymes regulate metabolism, acting as catalysts for biochemical reactions in the cells of living organisms. They maintain homeostasis and participate in the synthesis and breakdown of biologically active compounds. Their detection in serum is a diagnostic criterion for the severity and direction of damage to various tissues and organs [16].

Macronutrients are essential in regulating metabolism and are necessary for maintaining normal functioning of animals. They play a role in the functioning of the muscular, cardiovascular, immune and nervous systems. Macronutrients are involved in the synthesis of vital biologically active substances, energy metabolism, hematopoiesis and gastrointestinal tract [17, 18].

Despite the development of modern clinical laboratory diagnosis and continued attention to the study of the pathogenesis of mesenteric ischemia, serum biochemical indicators in case of this pathology remain relatively poorly understood and often contradictory [19].

In accordance with the above, the research objective is to determine and analyze the dynamics of serum biochemical indicators after experimental simulation of distal jejunum ischemia in rabbits.

## MATERIAL AND METHODS

The object of the study was 50 clinically healthy male mongrel rabbits, 8 months old and weighing 4 to 4.5 kg, divided into two groups: experimental (I) and control (II), each containing 25 animals. Five animals were removed from each group at each study time point from the experiment onset.

The animals of the experimental group I have underwent distal jejunum ischemia using a technique we developed [20], which involves ligating the jejunal trunk with a non-absorbable suture so that the jejunal arteries are located distal to the ligature.

The animals of the second control group underwent non-inhalation anesthesia and a midline laparotomy, followed by wound closure to the same extent as those in the experimental group. No postoperative treatment was administered to the animals of groups I and II.

Blood for biochemical analysis was collected in a fasting state by puncture of the marginal ear vein on days 1, 2, 3, 4 and 5 of the experiment. Blood was collected into Lab-Vac vacuum tubes containing 4 ml of clot activator (Shandong Chengwu Medical Products Factory, China). Five animals were isolated from each experimental group at each study date.

An Accent 200 automated biochemistry analyzer was used to determine serum biochemical indicators, including total protein, albumin, urea, creatinine, calcium, phosphorus, magnesium, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and creatine phosphokinase (CPK) activity. Reagent kits from Mindray (China) were used in the study.

Reference values of the norm for serum biochemical indicators of rabbits are presented in Table 1.

To identify statistically significant differences between data groups, one-way analysis of variance and the Newman — Keuls test were used. All calculations were performed using a Primer of Biostatistics 4.03 for Windows, and the significance threshold was set at  $p < 0.05$ .

## STUDY RESULTS AND ANALYSIS

The analysis of total protein levels after experimental simulation of distal jejunum ischemia in rabbits showed (Table 2) that serum total protein levels in the animals of the experimental group significantly changed on days 2, 3, 4 and 5 from the experiment onset, compared to the animals of the control group. This indicator was found to decrease in the rabbits of group I, compared to group II by 20.85 %, 14.88 %, 11.06 %, and 10.62 %, respectively.

The statistical analysis revealed a significant decrease in total protein levels between study periods from the experiment onset in Group I by 19.89 %, exclusively on day 2, while no changes were observed at other study time points.

Serum albumin concentration in the rabbits of both groups showed no statistically significant differences throughout the entire observation period.

Table 1

## Reference values of biochemical indicators of rabbits

| Biochemical indicators  | Normal values          |
|-------------------------|------------------------|
| Total protein, g/L      | 49—71 <sup>2</sup>     |
| Albumin, g/L            | 27—50 <sup>2</sup>     |
| Urea, mmol/L            | 2.93—8.28 <sup>1</sup> |
| Creatinine, $\mu$ mol/L | 74—171 <sup>1</sup>    |
| Calcium, mmol/L         | 2.2—3.9 <sup>1</sup>   |
| Phosphorus, mmol/L      | 1.0—2.2 <sup>1</sup>   |
| Magnesium, mmol/L       | 0.8—1.2 <sup>2</sup>   |
| ALT, U/L                | 27.4—72.2 <sup>3</sup> |
| AST, U/L                | 10.0—78.0 <sup>3</sup> |
| ALP, U/L                | 36—224 <sup>1</sup>    |
| CPK, U/L                | 58.6—175 <sup>3</sup>  |

<sup>1</sup> A. Ewringmann (2010) [21]<sup>2</sup> M. Varga [22]<sup>3</sup> P. Wesche (2016) [23]

Table 2

## Serum total protein and albumin levels after experimental simulation of distal jejunum ischemia

| Indicators studied | Groups of animals ( $n = 5$ ) | The study period from the experiment onset |                                |                               |                               |                               |
|--------------------|-------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                    |                               | d 1<br>( $M \pm m$ )                       | d 2<br>( $M \pm m$ )           | d 3<br>( $M \pm m$ )          | d 4<br>( $M \pm m$ )          | d 5<br>( $M \pm m$ )          |
| Total protein, g/L | Control                       | 62.92 $\pm$ 0.96                           | 68.04 $\pm$ 1.65               | 65.94 $\pm$ 0.69              | 62.46 $\pm$ 1.03              | 63.12 $\pm$ 1.00              |
|                    | Experimental                  | 67.50 $\pm$ 0.30                           | 56.30 $\pm$ 2.16 <sup>*#</sup> | 57.40 $\pm$ 0.87 <sup>*</sup> | 56.24 $\pm$ 0.90 <sup>*</sup> | 57.06 $\pm$ 1.56 <sup>*</sup> |
| Albumins, g/L      | Control                       | 41.92 $\pm$ 1.52                           | 40.62 $\pm$ 1.84               | 41.06 $\pm$ 1.82              | 40.18 $\pm$ 1.66              | 41.34 $\pm$ 0.74              |
|                    | Experimental                  | 41.24 $\pm$ 2.29                           | 36.48 $\pm$ 1.31               | 39.30 $\pm$ 0.81              | 40.16 $\pm$ 0.82              | 38.52 $\pm$ 1.91              |

**Note.** the \* sign is used to highlight statistically significant differences (at  $p < 0.05$ ) between the indicators of the experimental and control groups recorded during the same observation periods; the # sign is used to indicate statistically significant trends within the experimental group, compared to the previous period.

Based on the data obtained, it can be assumed that the statistically significant decrease in serum total protein concentration in the animals of the experimental group, observed starting on day 2 of the study, is associated with protein metabolism disturbances. These disturbances are likely the result of gastrointestinal dysfunction. The decrease in total protein levels is attributed to the globulin fraction. The mean total pro-

tein and albumin concentrations are within the normal ranges presented in Table 1.

The concentration of nitrogen metabolites in the serum of rabbits after experimental simulation of distal jejunum ischemia changed as follows (Table 3). Urea levels in the experimental group significantly decreased by 54.26 % only on day 4 of the experiment, compared to the control group.

The analysis of serum urea dynamics in the animals of the experimental group revealed a significant decrease by 82.54 % between days 3 and 4 of the experiment, with the urea concentration reaching its lowest recorded value on day 4.

The analysis of creatinine dynamics revealed a statistically significant decrease by 65.92 % in creatinine concentrations in the experimental group I on day 4 of the study, significantly different from the values recorded in the control group.

Creatinine dynamics in the animals of the experimental group was characterized by the following stages: a significant decrease by 39.66 % to minimum values was recorded on day 4 of the experiment, followed by a significant increase by 77.04 % on day 5. It should

be noted that mean serum creatinine levels in the rabbits of the experimental group on day 4 of the experiment fell below the normal values presented in Table 1.

The observed decrease in serum urea levels in the animals of the experimental group is presumably due to the development of protein deficiency, which can cause physical inactivity and decreased muscle metabolism, leading to lower serum creatinine levels. These pathological changes may be the result of intestinal dysfunction induced by experimentally induced ischemia.

The study of macronutrient levels in rabbit serum samples (Table 4) revealed that calcium and magnesium levels did not show statistically significant differences between the animals of the first and second groups.

Table 3

*Serum urea and creatinine concentration after experimental simulation of distal jejunum ischemia*

| Indicators studied | Groups of animals (n = 5) | The study period from the experiment onset |              |              |                |                 |
|--------------------|---------------------------|--------------------------------------------|--------------|--------------|----------------|-----------------|
|                    |                           | d 1 (M ± m)                                | d 2 (M ± m)  | d 3 (M ± m)  | d 4 (M ± m)    | d 5 (M ± m)     |
| Urea, mmol/L       | Control                   | 6.33 ± 0.62                                | 4.50 ± 0.42  | 4.98 ± 0.27  | 4.86 ± 0.37    | 5.76 ± 0.26     |
|                    | Experimental              | 5.33 ± 0.28                                | 6.14 ± 0.18  | 5.75 ± 0.64  | 3.15 ± 0.18*#  | 4.19 ± 0.47     |
| Creatinine, μmol/L | Control                   | 102.10 ± 10.63                             | 98.82 ± 3.89 | 86.74 ± 4.84 | 104.50 ± 2.41  | 104.50 ± 3.24   |
|                    | Experimental              | 85.48 ± 6.63                               | 93.12 ± 5.11 | 87.96 ± 4.82 | 62.98 ± 5.31*# | 111.50 ± 10.53# |

**Note.** the \* sign is used to highlight statistically significant differences (at  $p < 0.05$ ) between the indicators of the experimental and control groups recorded during the same observation periods; the # sign is used to indicate statistically significant trends within the experimental group, compared to the previous period.

Table 4

*Dynamics of macronutrients in serum after experimental simulation of distal jejunum ischemia*

| Indicators studied | Groups of animals (n = 5) | The study period from the experiment onset |              |              |              |               |
|--------------------|---------------------------|--------------------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
|                    |                           | d 1 (M ± m)                                | d 2 (M ± m)  | d 3 (M ± m)  | d 4 (M ± m)  | d 5 (M ± m)   |
| Calcium, mmol/L    | Control                   | 2.95 ± 0.05                                | 3.05 ± 0.05  | 3.16 ± 0.09  | 3.13 ± 0.06  | 3.00 ± 0.05   |
|                    | Experimental              | 3.00 ± 0.04                                | 2.94 ± 0.05  | 3.07 ± 0.03  | 3.24 ± 0.06  | 3.12 ± 0.10   |
| Phosphorus, mmol/L | Control                   | 2.00 ± 0.06                                | 2.15 ± 0.12  | 1.97 ± 0.05  | 2.04 ± 0.02  | 2.07 ± 0.04   |
|                    | Experimental              | 1.75 ± 0.04                                | 1.54 ± 0.13* | 1.55 ± 0.04* | 2.10 ± 0.05# | 1.67 ± 0.14*# |
| Magnesium, mmol/L  | Control                   | 0.86 ± 0.07                                | 1.01 ± 0.10  | 0.84 ± 0.06  | 0.79 ± 0.05  | 0.92 ± 0.03   |
|                    | Experimental              | 0.75 ± 0.06                                | 0.75 ± 0.07  | 0.70 ± 0.04  | 0.99 ± 0.06# | 0.93 ± 0.04   |

**Note.** the \* sign is used to highlight statistically significant differences (at  $p < 0.05$ ) between the indicators of the experimental and control groups recorded during the same observation periods; the # sign is used to indicate statistically significant trends within the experimental group, compared to the previous period.

Based on the analysis of macronutrient concentrations in serum of the rabbits of both groups, the following mean values were detected: calcium in both groups ranged from  $2.95 \pm 0.05$  to  $3.24 \pm 0.06$  mmol/L, and magnesium — from  $0.70 \pm 0.04$  to  $1.01 \pm 0.10$  mmol/L, respectively.

A significant decrease in serum phosphorus in the experimental group was observed on days 2, 3 and 5, compared to the control group. This indicator decreased by 39.61, 27.10 and 23.95 % respectively.

In the experiment, a significant increase in phosphorus content by 35.48 % occurred on day 4, and a significant decrease by 25.75 % — on day 5, compared to the previous day. The mean serum calcium and phosphorus levels in the rabbits of the experimental and control groups were within the normal ranges shown in Table 1, while mean magnesium levels in the experimental group from days 1 to 3 of the experiment were significantly below reference values.

A significant decrease in phosphorus, as well as the observed trend toward decreased magnesium levels in the animals of the experimental group, likely occurred due to impaired absorption from the ischemic-damaged intestine.

The analysis of serum enzyme activity in the rabbits (Table 5) revealed no significant differences in ALT activity between the first and second groups of

animals. The activity ranged from  $49.08 \pm 2.91$  to  $89.18 \pm 10.72$  U/L. The results of the AST activity analysis show the following dynamics. On day 4 of the experiment, a statistically significant 3.04-fold decrease was observed in the group of animals with distal jejunum ischemia, compared to the control group, and on day 5, a 1.60-fold decrease was observed, respectively. The significant decrease in AST during this period, in our opinion, may be due to the fact that acute jejunum injury (ischemia) could have caused a vitamin B6 (pyridoxine) deficiency, since most of it is synthesized in the rabbit intestine and does not accumulate in the body. The active form of vitamin B6 is a cofactor (coenzyme) for AST, which is necessary for the process of amino group transfer (transamination) between the amino acids L-aspartate and 2-oxoglutarate. Therefore, acute intestinal injury could have led to a vitamin B6 deficiency and, consequently, a decrease in AST activity. However, more extensive studies are needed to confirm this hypothesis.

During the experiment, a statistically significant decrease in alkaline phosphatase activity was recorded in the experimental group, relative to the control group. The decline followed a wave-like pattern. Thus, on the first day, activity of this enzyme was by 1.78 times lower, on day 2 — by 2.77 times lower, on day 3 — by 1.42 times lower, and on day 5 — by 2.08 times lower.

Table 5

*Serum enzyme activity after experimental simulation of distal jejunum ischemia*

| Indicators studied | Groups of animals ( $n = 5$ ) | The study period from the experiment onset |                        |                        |                        |                        |
|--------------------|-------------------------------|--------------------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
|                    |                               | d 1<br>( $M \pm m$ )                       | d 2<br>( $M \pm m$ )   | d 3<br>( $M \pm m$ )   | d 4<br>( $M \pm m$ )   | d 5<br>( $M \pm m$ )   |
| ALT, U/L           | Control                       | $62.10 \pm 3.00$                           | $61.66 \pm 5.29$       | $80.34 \pm 4.08$       | $89.18 \pm 10.72$      | $55.24 \pm 3.99$       |
|                    | Experimental                  | $49.08 \pm 2.91$                           | $49.86 \pm 4.83$       | $69.44 \pm 7.34$       | $71.60 \pm 4.10$       | $70.54 \pm 17.25$      |
| AST, U/L           | Control                       | $24.50 \pm 3.64$                           | $23.74 \pm 4.13$       | $35.70 \pm 2.70$       | $45.32 \pm 8.60$       | $44.48 \pm 4.88$       |
|                    | Experimental                  | $17.22 \pm 1.81$                           | $21.98 \pm 3.18$       | $25.48 \pm 4.17$       | $14.92 \pm 1.76^*$     | $28.44 \pm 4.70^*$     |
| ALP, U/L           | Control                       | $119.50 \pm 4.50$                          | $143.40 \pm 7.71$      | $123.00 \pm 4.47$      | $118.20 \pm 3.74$      | $124.10 \pm 3.73$      |
|                    | Experimental                  | $66.72 \pm 10.29^*$                        | $51.78 \pm 5.13^*$     | $86.48 \pm 15.16^{*#}$ | $110.20 \pm 7.84^{\#}$ | $59.56 \pm 11.12^{\#}$ |
| CPK, U/L           | Control                       | $325.00 \pm 28.73$                         | $310.60 \pm 39.90$     | $428.90 \pm 95.33$     | $425.00 \pm 50.38$     | $352.50 \pm 22.62$     |
|                    | Experimental                  | $1771.00 \pm 432.20^*$                     | $1548.00 \pm 496.30^*$ | $988.80 \pm 80.81$     | $709.60 \pm 49.52$     | $829.10 \pm 136.20$    |

**Note.** the \* sign is used to highlight statistically significant differences (at  $p < 0.05$ ) between the indicators of the experimental and control groups recorded during the same observation periods; the # sign is used to indicate statistically significant trends within the experimental group, compared to the previous period.

When monitoring the dynamics of serum alkaline phosphatase activity in the rabbits of the experimental group, statistically significant changes were detected between the studied time points. Thus, on day 3, an increase in enzyme activity by 67.01 % was recorded, and on day 4 — by 27.43 %, compared to the previous period. On day 5, a statistically significant decrease in alkaline phosphatase activity by 85.02 % was observed, compared to the previous day's value.

In our opinion, the decrease in alkaline phosphatase activity in the rabbits of the experimental group is explained by the lower phosphorus and total protein levels in their serum. A similar relationship between these indicators is observed in the work of M. S. Mansurova, E. Yu. Zalyubovskaya and M. E. Ostyakova (2024) [24]. The observed trend toward decreased magnesium levels, as a key cofactor and structural activator of this enzyme, could also have contributed to the decrease in alkaline phosphatase activity in the serum of the animals of the experimental group.

The study results revealed a significant increase in CPK activity in the animals of the first experimental group during the first two days of observation, compared to the control values. Quantitatively, this was demonstrated as follows: on day 1, CPK activity in the experimental rabbits was by 5.44 times higher, and on day 2, it was by 4.98 times higher.

The mean serum ALT, AST and ALP levels in the rabbits of the experimental and control groups were within the normal ranges presented in Table 1, while the mean CPK values in the animals of both groups were significantly higher than the indicated reference values.

In our opinion, the increase in serum CPK activity in the animals of the experimental group is due to its release into the blood from intestinal tissue damaged by ischemia.

Our data differ from the results of studies [25], where the authors noted an increase in aminotransferase and alkaline phosphatase activity several hours after simulating total acute mesenteric ischemia in rabbits. These data, in our opinion, indicate that the activity of these enzymes is directly related to the prevalence and severity of the pathological process. The higher the serum aminotransferase and alkaline phosphatase activity, the more extensive intestinal ischemia should be assumed. Conversely, in case of local ischemia of the distal jejunum, no increase in these enzymes is detected.

## CONCLUSION

Thus, experimental simulation of distal jejunum ischemia in rabbits was accompanied by a significant

( $p < 0.05$ ) decrease in total protein from days 2 to 5, urea and creatinine — on day 4, and phosphorus — on days 2, 3 and 5 of the experiment. The analysis of several serum enzymes in the animals of the experimental group revealed a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in AST activity on days 4 and 5, and alkaline phosphatase — on days 2, 3 and 5. Conversely, CPK activity significantly increased ( $p < 0.05$ ) on days 1 and 2 of the experiment.

## REFERENCES

1. Patel A. Pathophysiology of mesenteric ischemia / A. Patel, R. N. Kaleya, R. J. Sammartano // *Surgical Clinics of North America*. — 1992. — Vol. 72. — P. 31—41.
2. Acute and chronic mesenteric ischemia: single center analysis of open, endovascular, and hybrid surgery / A. Rebelo, M. Mammadov, J. Partsakhashvili [et al.] // *BMC Surgery*. — 2022. — Vol. 22, No. 1. — 56.
3. Contemporary management of acute and chronic mesenteric ischemia: 10-year experience from a multihospital healthcare system / E. A. Andraska, L. M. Tran, L. M. Haga, [et al.] // *Journal of Vascular Surgery*. — 2022. — Vol. 75, No. 5. — P. 1624—1633.
4. Incidence and outcomes of acute mesenteric ischaemia: a systematic review and meta-analysis / K. Tamme, A. Reintam Blaser, K. T. Laisaar, [et al.] // *BMJ Open*. — 2022. — Vol. 12(10). — e062846.
5. Shahar R. Mesenteric vein thrombosis in a dog / R. Shahar, S. Harrus, B. Yakobson // *Journal of the American Animal Hospital Association*. — 1998. — Vol. 34, No. 5. — P. 431—433.
6. Mesenteric vascular thrombosis associated with disseminated abdominal visceral hemangiosarcoma in a cat / R. L. Currao, N. J. Buote, A. B. Flory, S. M. Liu // *Journal of the American Animal Hospital Association*. — 2011. — Vol. 47, No. 6. — P. 168—172.
7. Imaging diagnosis — acute mesenteric ischemia associated with hypertrophic cardiomyopathy in a cat / M. Lee, N. Park, J. Kim [et al.] // *Veterinary Radiology & Ultrasound*. — 2015. — Vol. 56, No. 4. — P. 44—47.
8. Establishment of mesenteric venous thrombosis in a porcine model using a transhepatic endovascular approach / L. Kai, M. Jiaxiang, F. Xinxin [et al.] // *Thrombosis research*. — 2015. — Vol. 136, No. 6. — P. 1179—1184.
9. Superior mesenteric arteriography in experimental mesenteric venous thrombosis / M. J. Friedenberg, H. C. Polk Jr, W. H. Mcalister, S. J. Shochat // *Radiology*. — 1965. — Vol. 85. — P. 38—45.
10. In the Experimental Model of Acute Mesenteric Ischemia, The Correlation of Blood Diagnostic Parameters with the Duration of Ischemia and their Effects on Choice of Treatment / M. Cakir, D. Yildirim, F. Sarac [et al.] // *Journal of investigative surgery: the official journal of the Academy of Surgical Research*. — 2019. — Vol. 32, No. 6. — P. 507—514.

11. Mesenteric flow in an experimental model of ischaemia-reperfusion in rats / F. Caceres, M. Castanon, J. Llerena [et al.] // *Anales de pediatria*. — 2014. — Vol. 80, No. 3. — P. 151—158.
12. Factors Influencing FeCl<sub>3</sub>-Induced Mouse Mesenteric Arteriole Thrombosis Model / Y. Zhang, R. Yan, Q. Cui [et al.] // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. — 2017. — Vol. 25, No. 5. — P. 1504—1508.
13. MR imaging-based evaluation of mesenteric ischemia caused by strangulated small bowel obstruction and mesenteric venous occlusion: an experimental study using rabbits / A. Inoue, N. Nitta, S. Ota [et al.] // *Magnetic resonance in medical sciences: MRMS: an official journal of Japan Society of Magnetic Resonance in Medicine*. — 2020. — Vol. 19, No. 2. — P. 125—134.
14. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition / G. Wu // *Amino acids*. — 2009. — Vol. 37, No. 1. — P. 1—17.
15. King P. A. Renal excretion of nitrogenous compounds in vertebrates / P. A. King, L. Goldstein // *Renal Physiology*. — 1985. — Vol 8, No. 4—5. — P. 261—278.
16. Konopatov, Yu. V. Animal biochemistry: a textbook for universities / Yu. V. Konopatov, S. V. Vasilyeva. — 2<sup>nd</sup> ed., reprinted. — St. Petersburg: Lan, 2025. — 384 p.
17. Magnesium Matters: A Comprehensive Review of Its Vital Role in Health and Diseases / G. Fatima, A. Dzupina, B. H. Alhmadi [et al.] // *Cureus Journal of Medical Science*. — 2024. — Vol. 16, No. 10. — e71392.
18. Stehle R. Calcium regulation of troponin and its role in the dynamics of contraction and relaxation / R. Stehle, B. Iorga, G. Pfister // *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. — 2007. — Vol. 292, No. 3. — P. 1125—1128.
19. Abuov S. M. Acute mesenteric circulatory disorder: issues of timely diagnosis and treatment (literature review) / S. M. Abuov, L. K. Kosherbaeva, N. E. Zhappargaly // *Vestnik Kazakhskogo Natsionalnogo meditsinskogo universiteta (Bulletin of Kazakh National Medical University)*. — 2020. — No. 4. — P. 355—362.
20. Patent 2832244 (13) Russian Federation IPC A61B17/12 (2006.01) G09B23/28 (2006.01) Method for experimental simulation of distal jejunum ischemia in rabbits: No. 2024115499: appl. 06.06.2024: publ. 23.12.2024 // S. P. Dannikov, A. K. Tsyban; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Stavropol State Agrarian University — Bull. No. 36. — 8 p.
21. Ewringmann A. Leitsymptome beim Kaninchen: Diagnostischer Leitfaden und Therapie / A. Ewringmann. — 2. überarbeitete Auflage. — Stuttgart: Enke, 2010. — 320 P.
22. Varga M. Clinical pathology / M. Varga. — 2<sup>nd</sup> ed. — Edinburg: Butterworth-Heinemann, 2014. — P. 111—136.
23. Wesche P. Clinical pathology // *BSAVA Manual of Rabbit Medicine* / edited by Meredith A., Lord B. — British Small Animal Veterinary Association: Gloucester, 2016. — P. 124—137.
24. Mansurova M. S., Zalyubovskaya E. Yu., Ostyakova M. E. Effect of plant additive on blood biochemical indicators of egg-laying chicks // *Dalnevostochnyy agrarnyy vestnik (Far Eastern Agrarian Bulletin)*. — 2024. — Vol. 18, No. 3. — P. 65—73.
25. Analysis of serum enzyme levels in a rabbit model of acute mesenteric ischemia / F. X. Zhang, B. B. Ma, G. Z. Liang, H. Zhang // *Molecular Medicine Reports*. — 2011. — Vol. 4, No. 6. P. — 1095—1099.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**A. K. Tsyban** — Postgraduate Student of the Department of Physiology, Surgery and Obstetrics;

**S. P. Dannikov** — Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Physiology, Surgery and Obstetrics, Head of the Research Diagnostic and Therapeutic Veterinary Center;

**A. N. Kvochko** — Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Physiology, Surgery and Obstetrics.

The article was submitted 10.08.2026.

Научная статья

УДК 636.5.082.474

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.38.36.011

## ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА У ПОПУЛЯРНЫХ ВИДОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ ПРИ ТРАНСОВАРИАЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ ГЛУТАТИОНА

Валерия Александровна Попова\*, Татьяна Олеговна Азарнова\*\*,  
Федор Иванович Василевич\*\*\*, Елена Александровна Золотухина\*\*\*\*

\*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии —  
МВА имени К. И. Скрябина, Москва, Россия, valer-ka99@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-8578-8195>

\*\*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии —  
МВА имени К. И. Скрябина, Москва, Россия, azarena@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8760-7603>

\*\*\*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии —  
МВА имени К. И. Скрябина, Москва, Россия, f-vasilevich@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0786-5317>

\*\*\*\*Загорское ЭПХ — филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН, Сергиев Посад,  
Россия, <https://orcid.org/0009-0000-2516-929X>

**Аннотация.** Сельскохозяйственная птица отличается высокой интенсивностью метаболизма, что сопровождается повышенной физиологической нагрузкой на ее организм, обуславливая риски несостоятельности реализации механизмов стрессоустойчивости. Как известно, все обменные процессы взаимосвязаны, поэтому особенно важно рассматривать их в совокупности. Изучение таковых у различных видов и кроссов с/х птицы значительно углубляет знания о физиологических особенностях роста и развития молодняка. В данной статье рассмотрено трансовариальное влияние антиоксиданта — глутатиона на метаболизм наиболее популярных видов сельскохозяйственной птицы в сравнительном аспекте. Так, была зафиксирована тенденция к некоторому истощению белкового обмена у всех обсуждаемых видов с/х птиц, что не позволило получить превосходства по живой массе относительно контроля. При этом, наименее значимые в этом отношении «сдвиги» фиксировали у индеек, что, однако, определило некоторую позитивную тенденцию по данному показателю. В свою очередь, углеводный обмен имел тенденцию к активизации, что обусловило более высокие показатели эмбриональной жизнеспособности — вывода молодняка и выводимости яиц: у индюшат на 3,9 и 1,2 %, у перепелат на 7,6 и 4,4 %, у цыплят на 4,0 и 3,6 % соответственно. Наименее выраженный эффект интенсификации был установлен у индеек, что определило получение минимальных «прибавок» по обсуждаемым витальным маркерам. При этом некоторое снижение интенсивности липидного обмена у цыплят и перепелат, вероятно, указывает на их перерасход в предшествующие периоды для адекватного энергообеспечения эмбриона, в частности на этапе, когда с ростом функциональности аллантаиса, в организме увеличивается концентрация кислорода, необходимого для расщепления жирных кислот (составляющих липиды) на энергию, что отчасти подтверждается снижением категорий отходов инкубации в виде «кровяных колец» у представителей этих видов птиц. Тогда как у индеек была зафиксирована тенденция к активизации липидного обмена, определив их преимущество по объективно-субъективным критериям шкал «Пасгар» и «Оптистарт» относительно других видов птиц.

**Ключевые слова:** глутатион, цыплята, индюшата, перепелята, обмен веществ, эмбриогенез

Высокая интенсивность обменных процессов является одной из биологических особенностей птиц, которая обуславливает быстрый рост и высокий уровень продуктивности, указанное неизбежно сопровождается повышенной нагрузкой на организм молодняка, снижая его стрессоустойчивость [1, 2].

Как известно, для оценки физиологического состояния птицы и своевременного предупреждения, а также нивелирования метаболических нарушений в их организме, необходим контроль биохимического статуса особей на разных этапах онтогенеза [3]. Указанное особенно актуально в ранний пост-эмбриональный период (1—3 сутки после вылуп-

ления), так как в этот момент организм молодняка испытывает максимальное напряжение адаптационных механизмов, вследствие незавершившегося формирования ключевых физиологических систем, одновременно интенсивного функционирования органов и их роста, повышенной стрессовой нагрузки, обусловленной особенностями производственного цикла [4].

Все биохимические процессы взаимосвязаны, осуществляются при непосредственном участии строго специфических для каждой биохимической реакции гормонов и ферментов [1]. Из этого следует, что изменение активности или направления одного из обменов может нарушить баланс всего метаболизма в целом [1]. Так, например, белковый обмен первостепенно оказывает влияние на рост и развитие птицы [5]. В период эмбриогенеза потребление зародышем протеинов из белкового мешка детерминирует активацию белкового метаболизма, что способствует увеличению его массы и формированию оперения [2]. В свою очередь, в развитии эмбриона птицы липиды являются главным источником энергии, прежде всего в середине инкубации и структурным компонентом клеточных мембран [6,7]. Тогда как, углеводный обмен играет ключевую роль в эмбриогенезе, в частности в периоды гипоксии, особенно на этапе вывода [8]. Быстрый рост эмбриона требует больших затрат энергии. Запасы гликогена в печени и мышцах нередко недостаточны для всех метаболических потребностей зародыша, в частности в последние сутки эмбриогенеза вследствие истощения в предшествующие периоды из-за высоких стрессовых нагрузок, обусловленных несовершенством промышленной инкубации. Низкая концентрация гликогена в печени прямо коррелирует с удлинением периода вылупления и низкой массой молодняка на выводе [8,9]. Для поддержания уровня глюкозы в крови эмбрион вынужден синтезировать энергию альтернативными способами, к примеру, посредством глюконеогенеза с использованием в качестве субстрата глицерола, (образующийся после липолиза) или аминокислот (после протеолиза с последующей деградацией белков), что негативно влияет на его развитие. Из-за того, что в яйце, в особенности при повышенных стрессовых нагрузках, быстро истощаются углеводы, запасы гликогена могут начать восстанавливаться только после того, как вылупившийся молодняк получит доступ к корму [8,10]. Таким образом, белковый, липидный, углеводный обмены взаимосвязаны, а их интенсивность на физиологически

необходимом уровне критически важна для качественного развития особи. Нарушение их баланса в эмбриогенезе обуславливает негативные последствия в дальнейшем онтогенезе. Понимание динамики изменений обмена веществ во время эмбриогенеза и после вылупления молодняка существенно расширяет знания о физиологических особенностях развития птицы [1, 6]. В этой связи, детальное изучение особенностей метаболизма в эмбриональный и постэмбриональный периоды позволят экономично, в тоже время правильно, научно-обосновано усовершенствовать искусственную инкубацию, оптимизировать процессы роста и развития особи, что особенно важно как для её высокой результативности, так и дальнейшего выращивания с/х птицы. При этом следует принимать во внимание, что вид, порода, кросс, направление продуктивности и иные индивидуальные особенности также оказывают значимое влияние на интенсивность обменных процессов у особи [11]. В этой связи, важно осуществлять тщательное изучение и анализ особенностей метаболизма у популярных видов сельскохозяйственной птицы в сравнительном аспекте, что позволит найти грамотный высокоэффективный подход к их коррекции и получить более жизнеспособный молодняк с высокими показателями качества и продуктивности.

Для поддержания интенсивности обменных процессов, в условиях повышенных стрессовых нагрузок, и получения биологически полноценных особей, многие ученые рекомендуют применение естественных метаболитов [12, 13]. Однако следует учитывать, что влияние одних и тех же биостимуляторов на обмен веществ разных видов птиц может отличаться и давать далеко не всегда одинаково проявляющийся и долгосрочный эффект, поэтому необходимо проводить оценку их влияния не только сразу после воздействия на биологический объект, но, что особенно важно, в более отдалённые периоды онтогенеза. В данной работе использовали глутатион — трипептид, состоящий из глутаминовой кислоты, глицина и цистеина, присутствующий во всех эукариотических клетках, главной функцией которого является инактивация токсичных свободных радикалов, определяющие повреждение ДНК, липидов, белков, нарушающие клеточный гомеостаз [14]. Обсуждаемый метаболит является донором внутриклеточного цистеина, участвует в синтезе оксида азота, выполняет роль тиолового буфера для некоторых внутриклеточных белков (металлотионеин, тиоредоксин), способствует восстановлению функций других антиоксидантов

(токоферолы, аскорбат) [15]. Из-за взаимодействия восстановленной и окисленной формы глутатиона с рядом белков и ферментов, он оказывает регулирующее влияние на углеводный, липидный, белковый обмены [16]. Помимо этого он также принимает участие в синтезе белков теплового шока, обуславливая защиту клетки от денатурации, путем ренатурации [17]. Исходя из того, что заявленный трипептид является широко распространенным во всех эукариотических клетках, и при стрессах его пул быстро истощается [18,19], применение такового перед инкубацией для гармонизации метаболизма популярных видов сельскохозяйственной птицы является актуальным.

Цель работы: изучить особенности метаболизма у популярных видов сельскохозяйственной птицы при трансовариальном применении глутатиона.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперимент проводили в условиях Бронницкой птицефабрики, СГЦ «Загорское ЭПХ» — филиал ФНЦ ВНИТИП РАН, Шепиловской птицефабрики, а также на кафедре химии имени профессоров С. И. Афонского, А. Г. Малахова ФГБОУ ВО МГАВМиБ — МВА имени К. И. Скрябина и в лаборатории «Неовет». Для осуществления опыта в партии были взяты: яйца индеек кросса «Хайбрид Конвертер» (по 208 штук в каждую), кур кросса «Росс 308» (по 252 штуки в каждую) и перепелов японской породы (по 250 штук в каждую), при соблюдении принципа аналогов для каждого вида сельскохозяйственной птицы, а именно: сроков снесения, хранения, массы. Опытные партии орошали оптимальным раствором глутатиона, концентрация которого была выявлена в серии предшествующих экспериментов — 2,5 % [20,21,22]. Контроли обработке не подвергали. Живую массу суточного молодняка определяли с помощью весов марки KL20-Series с точностью до 0,001 г. Расчёт вывода цыплят и выводимости яиц проводили, основываясь на рекомендациях Бессарабова Б. Ф. (2015) [2].

Для исследования биохимических показателей использовали цельную кровь и сыворотку суточных индюшат, перепелят и цыплят в суточном возрасте опытной и контрольной групп. Изучение данных параметров крови проводили с использованием биохимического анализатора Dirui CS-600B.

Наряду с этим суточный молодняк оценивали по критериям качества шкал «Пасгар» (рефлекс переворота со спины на ноги, состояние пупочного кольца, плюсны ног, пальцев и живота)

и «Оптистарт» (мышечный тонус (подъём головы в положении «провис головой вниз»), рефлекс переворота со спины на ноги, состояние пупочного кольца, клюва и живота) в соответствии с методикой Е. Э. Епимаховой (2013) [23].

Полученный в ходе научно-исследовательской работы цифровой материал подвергали статистической обработке при помощи критерия Стьюдента с использованием программы Microsoft Excel [24]. Результат считали достоверными при  $p < 0,05$  (\*-  $p < 0,05$ ; \*\*-  $p < 0,01$ ; \*\*\*-  $p < 0,001$ ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Трансовариальная обработка яиц оптимальной концентрацией раствора глутатиона способствовала увеличению вывода молодняка и выводимости яиц в опытных группах. Так, разница по данным показателям между опытом и контролем у индюшат составила 3,9 и 1,2 %, у перепелят 7,6 и 4,4 %, у цыплят 4,0 и 3,6 % (диаграмма 1), соответственно. Из этого следует, что наибольший эффект повышения жизнеспособности был зафиксирован у перепелов. Вышеуказанные преимущества от применения данного трипептида сопровождались рядом изменений метаболизма у изучаемых видов сельскохозяйственной птицы.

Как видно из таблицы 1, у всех представителей опытных групп зафиксирована некоторая тенденция к снижению интенсивности белкового обмена. Так, у перепелят и цыплят концентрация общего белка уменьшилась на 4,2 и 6,9 %, альбуминов на 7,2 % ( $p < 0,05$ ) и 9,9 % ( $p < 0,05$ ), соответственно. Указанное не позволило получить позитивную разницу по показателям живой массы, она была фактически равнозначна контролю у обсуждаемых видов с/х птиц (табл. 2). При этом у индюшат было отмечено наименее значительное уменьшение общего белка на 1,2 % при повышении альбуминов на 5,8 %, это вероятно, позволило получить некоторое преимущество по живой массе на 2,5 % ( $p < 0,01$ ) относительно контрольной группы.

При этом повышение интенсивности углеводного обмена было зафиксировано у перепелят и цыплят, за счет увеличения концентрации глюкозы в крови относительно контроля на 20,8 % и на 1,6 %, активности  $\alpha$ -амилазы в сыворотке крови в 1,5 раза и на 8,5 %, при снижении ЛДГ на 7,8 % и на 21,5 % — это свидетельствует об уменьшении доли анаэробного гликолиза и, вероятно, увеличении аэробного, что необходимо для улучшения энергообеспечения органов и тканей развивающейся

ся особи, а также позволило повысить витальный потенциал у представителей опытных групп относительно контроля (диаграмма 1). По данным Никитина Ю. И. (2006), получаемая организмом энергия в первую очередь направляется на поддержание жизнеобеспечения, что во многом согласуется с данными, представленными в нашей работе [25]. В свою очередь у индюшат было отмечено снижение концентрации глюкозы на 6,7 %, при по-

вышении активности  $\alpha$ -амилазы на 47 %, ЛДГ на 40,5 %, что может указывать риски истощения углеводов, развитие лактоацидоза и повышение активности бескислородного гликолиза, что свидетельствует о повышении напряженности, прежде всего, энергетического обмена. Заявленное определило менее выраженное преимущество относительно других видов сельскохозяйственной птицы по эмбриональной жизнеспособности.

Диаграмма 1

Вывод молодняка и выводимость яиц



Таблица 1

Биохимические показатели крови и сыворотки крови молодняка суточного возраста, n = 5

| Показатель \ Группа    | Индюшата      |               | Перепелята    |               | Цыплята       |               |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                        | контрольная   | опытная       | контрольная   | опытная       | контрольная   | опытная       |
| Общий белок, г/л       | 25,4 ± 0,28   | 25,1 ± 0,33   | 22,0 ± 0,22   | 21,8 ± 0,21   | 25,02 ± 0,13  | 23,30 ± 0,18  |
| Альбумин, г/л          | 6,18 ± 0,08   | 6,54 ± 0,12   | 7,24 ± 0,09   | 6,72 ± 0,11*  | 9,48 ± 0,21   | 8,54 ± 0,17*  |
| $\alpha$ -амилаза, Е/л | 316,4 ± 1,96  | 465,2 ± 2,47  | 254,6 ± 2,94  | 374,8 ± 2,15  | 1084,6 ± 6,67 | 1176,4 ± 6,01 |
| Глюкоза, ммоль/л       | 13,4 ± 0,06   | 12,5 ± 0,12   | 11,5 ± 0,22   | 13,9 ± 0,09   | 13,57 ± 0,02  | 13,79 ± 0,03  |
| ЛДГ, Е/л               | 2452,8 ± 2,82 | 3445,0 ± 4,07 | 1306,4 ± 3,57 | 1205,0 ± 3,22 | 1265,6 ± 2,16 | 1041,0 ± 2,39 |
| Триглицериды, ммоль/л  | 0,88 ± 0,01   | 1,53 ± 0,02   | 1,02 ± 0,01   | 0,86 ± 0,02   | 0,65 ± 0,02   | 0,59 ± 0,01*  |
| Липаза, Е/л            | 8,44 ± 0,1    | 9,00 ± 0,1*   | 61,7 ± 0,44   | 53,6 ± 0,50   | 11,78 ± 0,09  | 9,62 ± 0,10   |

Здесь и далее

\*  $p < 0,05$ \*\*  $p < 0,01$ \*\*\*  $p < 0,001$

Изменение липидного обмена у индюшат сопровождалось повышением активности липазы, которая достоверно повысилась на 6,6 % ( $p < 0,05$ ), и концентрации триглицеридов на 73,9 %, что может свидетельствовать об отсутствии их перерас-

хода в предшествующие периоды эмбриогенеза, вероятно, создав предпосылки к наибольшей разницы относительно контроля по сравнению с другими видами птиц по критериям шкал «Пасгар» и «Оптистарт» (табл. 3).

Таблица 2

Масса суточных индюшат, перепелят и цыплят, ( $n = 5$ ), г

| Показатель  | Индюшата     |                | Перепелята    |               | Цыплята     |             |
|-------------|--------------|----------------|---------------|---------------|-------------|-------------|
|             | контроль     | опыт           | контроль      | опыт          | контроль    | опыт        |
| Живая масса | 60,55 ± 0,20 | 62,05 ± 0,23** | 8,716 ± 0,131 | 8,718 ± 0,155 | 45,6 ± 1,94 | 46,5 ± 1,85 |

В свою очередь у перепелят и цыплят было зафиксировано снижение триглицеридов на 15,7 % и на 9,2 % ( $p < 0,05$ ), при уменьшении активности липазы на 13,1 % на 18,3 %.

Указанное может быть обусловлено тем, что в предыдущие этапы эмбриогенеза у данных видов птиц более интенсивно поддерживался энергообмен за счёт липидов, что привело к некоторому истощению их запасов [7] для адекватного энерго-

обеспечения эмбриона, в частности на этапе, когда с ростом функциональности аллантаиса, в организме увеличивается концентрация кислорода, критически необходимого для расщепления жирных кислот (составляющих липиды) на энергию, что отчасти подтверждается более выраженным снижением категорий отходов инкубации в виде «кровяных колец» у представителей обсуждаемых опытных групп, относительно индексов.

Таблица 3

Качество молодняка в суточном возрасте по шкалам «Пасгар» и «Оптистарт», балл,  $n = 10$

| Показатель                      | Индюшата   |            | Перепелята |            | Цыплята    |            |
|---------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                                 | контроль   | опыт       | контроль   | опыт       | контроль   | опыт       |
| Совокупный критерий «Пасгар»    | 9,3 ± 0,42 | 9,8 ± 0,13 | 9,3 ± 0,40 | 9,5 ± 0,17 | 9,6 ± 0,31 | 9,9 ± 0,10 |
| Совокупный критерий «Оптистарт» | 9,1 ± 0,48 | 9,7 ± 0,21 | 9,0 ± 0,40 | 9,3 ± 0,34 | 9,4 ± 0,34 | 9,8 ± 0,20 |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Трансвариальное применение оптимальной концентрации глутатиона определило повышение эмбриональной жизнеспособности у всех обсуждаемых видов сельскохозяйственной птицы. Также было зафиксировано, что обменные процессы балансируют «на грани», за счет чего и было достигнуто некоторое увеличение показателей вывода молодняка и выводимости яиц у опытных групп, однако не получено значимых различий по живой массе относительно контроля. При этом нужно отметить, что интенсивность белкового обмена имеет четкую ассоциацию, прежде всего, с показателями живой массы, а интенсивность углеводного

метаболизма — с жизнеспособностью. Указанное создает перспективы необходимости дополнительного введения данного трипептида в последующие этапы онтогенеза, а для предынкубационного использования — проведение доработки композиции веществами укрепляющими метаболизм.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Котлярова О. С. Сравнительная оценка биохимического статуса цыплят-бройлеров при разных технологиях выращивания / О. С. Котлярова, И. В. Тюньков, Е. А. Дегтярев // Инновации и продовольственная безопасность. — 2018. — № 2(20). — С. 93—96. — EDN XOVJRI.

2. Бессарабов Б. Ф. Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы / Б. Ф. Бессарабов, А. А. Крыканов, А. Л. Киселев. — Санкт-Петербург: Лань, 2015. — 160 с. — EDN UPUGIF.
3. Боголюбова Н. В. Биохимический профиль организма кур разного направления продуктивности / Н. В. Боголюбова, Р. В. Некрасов, А. А. Зеленченкова, Рыков Р. А., Колесник Н. С., Волкова Н. А., Ветох А. Н. // Ветеринария и кормление. — 2022. — № 6. — С. 11—15. — DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2022-6-3.
4. Азарнова Т. О. Научно-практические аспекты профилактики оксидативного стресса, как способа оптимизации условий инкубации и акселерации эмбрионов кур: дис. ... доктора биол. наук. / Т. О. Азарнова; МГАВМиБ — М., 2013. — 309 с. — EDN SUNBYD.
5. Нирян Ю. Л. Белковый обмен у цыплят-бройлеров при использовании кремнийсодержащей кормовой добавки и пробиотика / Ю. Л. Нирян, В. Н. Никулин // Международный научно-исследовательский журнал. — 2024. — № 6 (144). — DOI: 10.60797/IRJ.2024.144.85
6. Чугунова Е. Г. Липидный метаболизм в раннем онтогенезе кур и его генетическая и эпигенетическая регуляция / Е. Г. Чугунова, М. В. Позовникова // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. — 2025. — № 2. — С. 204—223. — DOI 10.17072/1994—9952—2025—2—204—223.
7. Тагиров М. Т. Питание и основные метаболические пути в развивающемся зародыше птицы / М. Т. Тагиров, О. В. Терещенко // Вестник Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина. Серия: биология. Выпуск 10. — № 878. — 2009. — С. 48—59.
8. Долгорукова А. М. Пренатальное питание домашней птицы и его постнатальные эффекты (обзор) / А. М. Долгорукова, В. Ю. Титов, В. И. Фисинин, А. А. Зотов // Сельскохозяйственная биология. — 2020. — Т. 55, № 6. — С. 1061—1072. — DOI 10.15389/agrobiology.2020.6.1061rus. — EDN IBWJAF.
9. Christensen V., Wineland M. J., Yildirim I., Ort D. T., Mann K. M. Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage affects intestinal maturation of turkey embryos. *International Journal of Poultry Science*, 2004, 3(6): 378—385 (doi: 10.3923/ijps.2004.378.385).
10. Moran E. T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science*, 2007, 86(5):1043—1049 (doi: 10.1093/ps/86.5.1043).
11. Кырылив Б. Я. Биологические и метаболические особенности различных видов сельскохозяйственной птицы / Б. Я. Кырылив, И. Б. Ратич, А. В. Гунчак, Е. И. Федорович // Научный вестник Львовского национального университета ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. С. Гжицкого. — 2015. — Т. 17, № 1—3(61). — С. 71—80. — EDN VLAAMF.
12. Найденский М. С. Экологически безопасные методы повышения вывода кондиционных цыплят / М. С. Найденский, В. В. Нестеров, Н. Ю. Лазарева // Био. Ветеринарному специалисту. — 2007. — № 10. — С. 23—24. — EDN VDJMJF.
13. Сурай П. Природные антиоксиданты в эмбриогенезе кур и защита от стрессов в постнатальном развитии (обзор) / П. Сурай, В. И. Фисинин // Сельскохозяйственная биология. — 2013. — Т. 48. — № 2. — С. 3—18. — EDN OJNVCH.
14. Толпыгина О. А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) / О. А. Толпыгина // Бюллетень Восточно — Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. — 2012. — № 2—2(84). — С. 178—180. EDN: PC-QJAR
15. Борисенок О. А. Биологическая роль глутатиона / О. А. Борисенок, М. И. Бушма, О. Н. Басалай, А. Ю. Радковец // Медицинские новости. — 2019. — № 7(298). — С. 3—8. — EDN DHOURO.
16. Минаева Л. В. Экспериментальная оценка роли изменений системы глутатиона в реализации побочных цитотоксических эффектов повторного введения циклофосфана: специальность 14.00.2003.00.04: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Минаева Любовь Валерьевна. — Санкт-Петербург, 2007. — 20 с. — EDN NISTZB.
17. Жидко Е. В. Показатели минерального обмена и антиоксидантной защиты при острой алкогольной интоксикации: автореферат дис.. канд. мед. наук. Челябинск, 2017. 23 с. EDN: ZVQFVV
18. Смирнов Л. П. Роль глутатиона в функционировании систем антиоксидантной защиты и биотрансформации (обзор) / Л. П. Смирнов, И. В. Суховская // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. — 2014—№ 6—34 с. — EDN SVOCJZ.
19. Gardiner C. S., Reed D. J. (1995). Synthesis of glutathione in the preimplantation mouse embryo. *Arch. Biochem. Biophys.* 318, 30—36 10.1006/abbi.1995.1200
20. Азарнова Т. О. Эффективность реализации антиоксидантного и обменостимулирующего действий глутатиона в промышленном перепеловодстве / Т. О. Азарнова, В. А. Попова, М. С. Найденский, И. С. Луговая, В. А. Комар // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2020. — № 3(12). — С. 70—80. — DOI 10.17238/issn2541—8203.2020.3.70.
21. Петрова Ю. В. Качество индюшат и безопасность их мяса при трансовариальном использовании глутатиона / Ю. В. Петрова, В. А. Попова, Т. О. Азарнова, С. В. Полябин, И. С. Луговая // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. — 2021. — № 2. — С. 11—18. — EDN ZBIBUL.
22. Попова В. А. Эффективность реализации некоторых механизмов адаптации при использовании глутатиона у цыплят-бройлеров / В. А. Попова, Т. О. Азарнова, И. С. Луговая, Е. А. Золотухина // Балтийский морской форум: Материалы IX Международного Балтийского морского форума. В 6-ти томах. XIX Междуна-

родная научная конференция, Калининград, 04—09 октября 2021 года. Том 1. — Калининград: Калининградский государственный технический университет, 2022. — С. 220—226. — EDN MEDESU.

23. *Епимахова Е. Э.* Научно-практическое обоснование повышения выхода инкубационных яиц и кондиционного молодняка сельскохозяйственной птицы в ранний постнатальный период: автореф. дис. ... д-ра с. — х. наук. Ставрополь, 2013. 38 с. EDN: ZOZTLZ

24. *Кочиш И. И.* Селекция в птицеводстве / И. И. Кочиш. — Москва: Издательство «Колос», 1992. — 271 с. — EDN SUEKMM.

25. *Никитин Ю. И.* Физиология сельскохозяйственных животных: учебное пособие для студентов вузов по специальностям «Ветеринарная медицина» и «Зоотехния» / Ю. И. Никитин, В. К. Гусаков, Н. С. Мотузко В. А. Медведский, П. Н. Котуранов, — Минск: Техноперспектива, 2006. — 463 с. — EDN SZRJOV.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Попова В. А.** — соискатель кафедр паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы и химии имени проф. С. И. Афонского и А. Г. Малахова;

**Азарнова Т. О.** — доктор биологических наук, профессор кафедры химии имени проф. С. И. Афонского и А. Г. Малахова;

**Василевич Ф. И.** — академик РАН, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы;

**Золотухина Е. А.** — заместитель директора.

Статья поступила в редакцию 01.07.2026.

## FEATURES OF METABOLISM IN POPULAR POULTRY SPECIES IN CASE OF TRANSOVARIAL APPLICATION OF GLUTATHIONE

Valeriya Aleksandrovna Popova\*, Tatyana Olegovna Azarnova\*\*, Fedor Ivanovich Vasilevich\*\*\*, Elena Aleksandrovna Zolotukhina\*\*\*\*

\*Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA named after K. I. Skryabin, Moscow, Russia, valer-ka99@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-8578-8195>

\*\*Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA named after K. I. Skryabin, Moscow, Russia, azarena@list.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8760-7603>

\*\*\*Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA named after K. I. Skryabin, Moscow, Russia, f-vasilevich@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0786-5317>

\*\*\*\*Zagorskoe EBF — branch of FSC “ARRTPI” of the RAS, Sergiev Posad, Russia, <https://orcid.org/0009-0000-2516-929X>

**Abstract.** Poultry has a high metabolic rate, which is accompanied by increased physiological stress on their bodies, increasing the risk of failure of stress-resistance mechanisms. All metabolic processes are interconnected, so it is especially important to consider them holistically. Studying these processes in various poultry species and crosses significantly enhances our understanding of the physiological features of young poultry growth and development. This article examines the transovarial effect of the antioxidant glutathione on the metabolism of the most popular poultry species in a comparative aspect. Thus, there was a tendency to a certain depletion of protein metabolism in all poultry species discussed, which did not allow for superiority in live weight, relative to the control. At the same time, the least significant changes in this regard were recorded in turkeys, which, however, determined some positive trend in this indicator. In turn, carbohydrate metabolism tended to intensify, which led to higher rates of embryonic viability — hatchability of young poultry and capacity of egg hatching: in turkey poults — by 3.9 and 1.2 %, in quail poults — by 7.6 and 4.4 %, in chicks — by 4.0 and 3.6 % respectively. The least pronounced intensification effect was observed in turkeys, resulting in minimal gains in the vital markers discussed. Moreover, a slight decrease in lipid metabolism in chicks and quail poults likely indicates their overconsumption in previous periods to adequately supply the embryo with energy, particularly during the stage when, with the growth of allantois functionality, the body's oxygen concentration increases, which is necessary for the breakdown of fatty acids (which make up lipids) into energy. This is partly confirmed by the reduction in the categories of incubation waste, such as “blood rings,” in the representatives of these poultry species. Whereas turkeys showed a tendency to activate lipid metabolism, determining their advantage according to the objective and subjective criteria of the Pasgar and Optistart scales, relative to other poultry species.

**Keywords:** glutathione, chicks, turkey poults, quail poults, metabolism, embryogenesis

High metabolic rates are a biological characteristic of poultry, leading to rapid growth and high productivity/yield. This inevitably leads to increased stress on the young poultry, reducing their resistance to stress [1, 2].

As it is well known, monitoring the biochemical status of poultry at various stages of ontogenesis is essential to assess their physiological state and promptly prevent and mitigate metabolic disturbances [3]. This is especially important during the early postembryonic period (1—3 days after hatching), as this is when the young poultry experience maximum strain on their adaptive mechanisms due to the incomplete develop-

ment of key physiological systems, the simultaneous intense functioning and growth of organs, and the increased stress associated with the specifics of the production cycle [4].

All biochemical processes are interconnected and are carried out with the direct participation of hormones and enzymes strictly specific for each biochemical reaction [1]. It follows that a change in the activity or direction of one of the metabolisms can disrupt the balance of the entire metabolism as a whole [1]. For example, protein metabolism has a primary effect on the growth and development of poultry [5]. During

embryogenesis, the consumption of proteins from the protein sac by the embryo determines the activation of protein metabolism, which contributes to an increase in its mass and the formation of plumage [2]. In turn, lipids are the main source of energy in the development of the bird embryo, especially in the middle of incubation and a structural component of cell membranes [6,7]. Whereas, carbohydrate metabolism plays a key role in embryogenesis, in particular during periods of hypoxia, especially at the hatching stage [8]. Rapid growth of the embryo requires large amounts of energy. Glycogen reserves in the liver and muscles are often insufficient to meet all the metabolic needs of the embryo, particularly during the last days of embryogenesis due to exhaustion in the preceding periods as a result of high stress loads caused by imperfect industrial incubation. Low glycogen concentration in the liver directly correlates with an extension of the hatching period and low hatchling weight [8,9]. To maintain blood glucose levels, the embryo is forced to synthesize energy by alternative means, for example, through gluconeogenesis using glycerol (formed after lipolysis) or amino acids (after proteolysis with subsequent protein degradation) as a substrate, which negatively affects its development. Due to the fact that carbohydrates are quickly depleted in the egg, especially under increased stress loads, glycogen reserves can begin to restore only after the hatched young poultry have access to food [8,10]. Thus, protein, lipid and carbohydrate metabolism are interconnected, and their intensity at the physiologically necessary level is critical for the high-quality development of the individual. Disruption of their balance during embryogenesis causes negative consequences in subsequent ontogenesis. Understanding the dynamics of metabolic changes during embryogenesis and after hatching of young poultry significantly expands knowledge about the physiological characteristics of poultry development [1, 6]. In this regard, a detailed study of the metabolic characteristics in the embryonic and postembryonic periods will allow for cost-effective, at the same time correct, scientifically sound improvement of artificial incubation, optimization of the growth and development processes of the individual, which is especially important both for its high productivity and for the further rearing of poultry. It should be taken into account that the species, breed, cross, productivity direction and other individual characteristics also have a significant effect on the intensity of metabolic processes in an individual [11]. In this regard, it is important to conduct a thorough study and analysis of the metabolic features of popular poultry species in a compara-

tive perspective, which will allow to find a competent, highly effective approach to their correction and obtain more viable young poultry with high quality and productivity indicators.

To maintain the intensity of metabolic processes under conditions of increased stress and to obtain biologically complete individuals, many scientists recommend the use of natural metabolites [12,13]. However, it should be taken into account that the effect of the same biostimulants on the metabolism of various poultry species may differ and not always produce the same manifested and long-term effect, therefore it is necessary to assess their effect not only immediately after exposure to a biological object, but, most importantly, in more distant periods of ontogenesis. In this study, we used glutathione — a tripeptide consisting of glutamic acid, glycine and cysteine, present in all eukaryotic cells, the main function of which is the inactivation of toxic free radicals that determine damage to DNA, lipids, proteins, disrupting cellular homeostasis [14]. The metabolite in question is a donor of intracellular cysteine, participates in the synthesis of nitric oxide, acts as a thiol buffer for some intracellular proteins (metallothionein, thioredoxin), and promotes the restoration of the functions of other antioxidants (tocopherols, ascorbate) [15]. Due to the interaction of the reduced and oxidized forms of glutathione with a number of proteins and enzymes, it has a regulatory effect on carbohydrate, lipid and protein metabolism [16]. In addition, it is also involved in the synthesis of heat shock proteins, providing protection of the cell from denaturation by renaturation [17].

Given that the claimed tripeptide is widespread in all eukaryotic cells and its pool is rapidly depleted under stress [18,19], its use before incubation to harmonize the metabolism of popular poultry species is relevant.

The research objective is to study the metabolic characteristics of popular poultry species in case of transovarial administration of glutathione.

## **MATERIAL AND METHODS**

The experiment was conducted at Bronnitskaya Poultry Farm, SGC “Zagorskoe EBF” — branch of the FSC “ARRTPI” of the RAS, Shepilovskaya Poultry Farm, also at the Department of Chemistry named after S. I. Afonskiy and A. G. Malakhov of Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin and the Neovet laboratory. The following eggs were used for the experiment: eggs from Hybrid Converter turkeys (208 eggs each), Ross 308 chicks (252 eggs each), and Japanese quail

(250 eggs each), all with the same principles for each poultry species, namely, laying time, storage time and weight. Experimental lots were irrigated with an optimal glutathione solution, the concentration of which had been determined in a series of previous experiments — 2.5 % [20—22].

The controls were not treated. The live weight of day-old chicks was determined using a KL20-Series scale with an accuracy of 0.001 g. Hatchability of chicks and capacity of egg hatching were calculated based on the recommendations of Bessarabov B. F. (2015) [2].

Whole blood and serum from day-old turkey poults, quail poults and day-old chicks in the experimental and control groups were used to study biochemical indicators. These blood parameters were analyzed using a Dirui CS-600B biochemical analyzer.

In addition, day-old chicks were assessed according to the quality criteria of the Pasgar scale (the roll-over reflex, the condition of the umbilical ring, metatarsus, toes and abdomen) and the Optistart scale (muscle

tone (head lift in the “head-down” position), the roll-over reflex, the condition of the umbilical ring, beak and abdomen) in accordance with the methodology of E. E. Epimakhova (2013) [23].

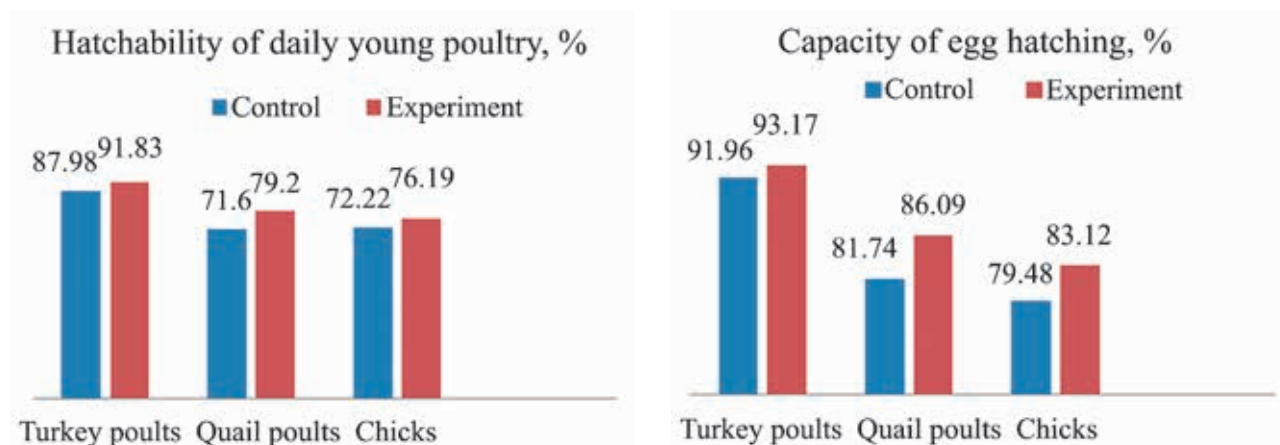
The digital material obtained during the research work was subjected to statistical processing using the Student's t-test in Microsoft Excel [24]. The result was considered significant at  $p < 0.05$  (\* —  $p < 0.05$ ; \*\* —  $p < 0.01$ ; \*\*\* —  $p < 0.001$ ).

## STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Transovarian treatment of eggs with an optimal concentration of glutathione solution increased the hatchability of young poultry and capacity of egg hatching in the experimental groups. The differences in these indicators between the experimental and control groups were 3.9 and 1.2 % for turkey poults, 7.6 and 4.4 % — for quail poults, and 4.0 and 3.6 % — for chicks (Chart 1) respectively. This suggests that the greatest improvement in viability was observed in quail.

Chart 1

Hatchability of young poultry and capacity of egg hatching



The aforementioned benefits of using this tripeptide were accompanied by a number of metabolic changes in the studied poultry species. As can be seen from Table 1, all experimental groups showed a slight tendency toward a decrease in protein metabolism. Thus, in quail poults and chicks, total protein concentration decreased by 4.2 and 6.9 %, and albumin — by 7.2 % ( $p < 0.05$ ) and 9.9 % ( $p < 0.05$ ), respectively. This did not result in a positive difference in live weight indicators; it was essentially equivalent to the control group for the discussed poultry species (Table 2). Turkey poults, however, showed the least significant decrease in total protein by 1.2 % with an increase

in albumin by 5.8 %. This likely contributed to a slight advantage in live weight by 2.5 % ( $p < 0.01$ ), relative to the control group.

Moreover, an increase in the intensity of carbohydrate metabolism was recorded in quail poults and chicks, due to an increase in the concentration of glucose in the blood, relative to the control by 20.8 and 1.6 %, the activity of  $\alpha$ -amylase in the blood serum — by 1.5 times and 8.5 %, with a decrease in LDH by 7.8 and 21.5 %. This indicates a decrease in the proportion of anaerobic glycolysis and, probably, an increase in aerobic, which is necessary to improve the energy supply of organs and tissues of a developing individ-

ual, and also made it possible to increase the vital potential of representatives of the experimental groups, relative to the control (Chart 1). According to Nikitin Yu. I. (2006), the energy received by the body is primarily directed to maintaining life support, which is largely consistent with the data presented in our work [25]. In turn, turkey poultts showed a 6.7 % decrease in glucose concentration, with an increase in  $\alpha$ -amylase activity by 47 % and LDH — by 40.5 %. This may indicate risks of carbohydrate depletion, the development of lactic acidosis, and an increase in anoxic glycolysis, indicating increased stress, primarily in

energy metabolism. This finding revealed a less pronounced advantage relative to other poultry species in terms of embryo viability.

Changes in lipid metabolism in turkey poultts were accompanied by an increase in lipase activity, which significantly increased by 6.6 % ( $p < 0.05$ ), and triglyceride concentration — by 73.9 %. This may indicate the absence of excess consumption during the preceding periods of embryogenesis, likely creating the preconditions for the greatest difference, relative to the control, compared to other poultry species, according to the Pasgar and Optistart scales (Table 3).

**Table 1**

*Biochemical indicators of blood and serum of day-old young poultry,  $n = 5$*

| Indicator \ Group      | Turkey poultts |               | Quail poultts |               | Chicks        |               |
|------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                        | control        | experimental  | control       | experimental  | control       | experimental  |
| Total protein, g/L     | 25.4 ± 0.28    | 25.1 ± 0.33   | 22.0 ± 0.22   | 21.8 ± 0.21   | 25.02 ± 0.13  | 23.30 ± 0.18  |
| Albumin, g/L           | 6.18 ± 0.08    | 6.54 ± 0.12   | 7.24 ± 0.09   | 6.72 ± 0.11*  | 9.48 ± 0.21   | 8.54 ± 0.17*  |
| $\alpha$ -amylase, U/L | 316.4 ± 1.96   | 465.2 ± 2.47  | 254.6 ± 2.94  | 374.8 ± 2.15  | 1084.6 ± 6.67 | 1176.4 ± 6.01 |
| Glucose, mmol/L        | 13.4 ± 0.06    | 12.5 ± 0.12   | 11.5 ± 0.22   | 13.9 ± 0.09   | 13.57 ± 0.02  | 13.79 ± 0.03  |
| LDH, U/L               | 2452.8 ± 2.82  | 3445.0 ± 4.07 | 1306.4 ± 3.57 | 1205.0 ± 3.22 | 1265.6 ± 2.16 | 1041.0 ± 2.39 |
| Triglycerides, mmol/L  | 0.88 ± 0.01    | 1.53 ± 0.02   | 1.02 ± 0.01   | 0.86 ± 0.02   | 0.65 ± 0.02   | 0.59 ± 0.01*  |
| Lipase, U/L            | 8.44 ± 0.1     | 9.00 ± 0.1*   | 61.7 ± 0.44   | 53.6 ± 0.50   | 11.78 ± 0.09  | 9.62 ± 0.10   |

Here and further:

\*  $p < 0.05$

\*\*  $p < 0.01$

\*\*\*  $p < 0.001$

**Table 2**

*Weight of day-old turkey poultts, quail poultts and chicks ( $n = 5$ ), g*

| Indicators  | Turkey poultts |                | Quail poultts |               | Chicks      |              |
|-------------|----------------|----------------|---------------|---------------|-------------|--------------|
|             | control        | experimental   | control       | experimental  | control     | experimental |
| Live weight | 60.55 ± 0.20   | 62.05 ± 0.23** | 8.716 ± 0.131 | 8.718 ± 0.155 | 45.6 ± 1.94 | 46.5 ± 1.85  |

In turn, quail poultts and chicks showed a decrease in triglycerides by 15.7 and 9.2 % ( $p < 0.05$ ), with a decrease in lipase activity by 13.1 and 18.3 %. This may be due to the fact that at the previous stages of embryogenesis in these poultry species, energy metab-

olism was more intensively maintained due to lipids, which led to some depletion of their reserves [7] for adequate energy supply of the embryo, in particular at the stage when, with the growth of the functionality of the allantois, the concentration of oxygen in the body

increases, which is critically necessary for the breakdown of fatty acids (which make up lipids) into energy, which is partly confirmed by a more pronounced

decrease in the categories of incubation waste in the form of “blood rings” in representatives of the discussed experimental groups, relative to turkeys.

Table 3

*Quality of day-old young poultry according to the Pasgar and Optistart*

| Indicators                        | Turkey poult |              | Quail poult |              | Chicks     |              |
|-----------------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|------------|--------------|
|                                   | control      | experimental | control     | experimental | control    | experimental |
| The Pasgar aggregate criterion    | 9.3 ± 0.42   | 9.8 ± 0.13   | 9.3 ± 0.40  | 9.5 ± 0.17   | 9.6 ± 0.31 | 9.9 ± 0.10   |
| The Optistart aggregate criterion | 9.1 ± 0.48   | 9.7 ± 0.21   | 9.0 ± 0.40  | 9.3 ± 0.34   | 9.4 ± 0.34 | 9.8 ± 0.20   |

## CONCLUSION

Transovarian administration of optimal glutathione concentrations resulted in increased embryonic viability in all poultry species discussed. Metabolic processes were also found to be “on the edge,” due to which a slight increase in the hatchability of young poultry and capacity of egg hatching was achieved in the experimental groups. However, no significant differences in live weight were observed, compared to the control group. It should be noted that protein metabolism is clearly associated primarily with live weight, while carbohydrate metabolism is associated with viability. This suggests the need for additional administration of this tripeptide during subsequent stages of development, and for pre-incubation use, the composition should be supplemented with substances that enhance metabolism.

## REFERENCES

1. Kotlyarova O. S. Comparative assessment of the biochemical status of broiler chicks under different rearing technologies / O. S. Kotlyarova, I. V. Tyunkov, E. A. Degtyarev // *Innovatsii i prodovolstvennaya bezopasnost* (Innovations and Food Safety). — 2018. — No. 2(20). — P. 93—96. — EDN XOVRJ.
2. Bessarabov B. F. Incubation of poultry eggs / B. F. Bessarabov, A. A. Krykanov, A. L. Kiselev. — St. Petersburg: Lan, 2015. — 160 p. — EDN UPUGIF.
3. Bogolyubova N. V. Biochemical profile of the body of chicks of different productive directions / N. V. Bogolyubova, R. V. Nekrasov, A. A. Zelenchenkova, Rykov R. A., Kolesnik N. S., Volkova N. A., Vetokh A. N. // *Veterinariya i kormlenie* (Veterinary Medicine and Feeding). — 2022. — No. 6. — Pp. 11—15. — DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2022-6-3.
4. Azarnova T. O. Scientific and practical aspects of oxidative stress prevention as a way to optimize the conditions of incubation and acceleration of chicken embryos: Thesis ... Doctor of Biological Sciences. / T. O. Azarnova; MSAVM&B—Moscow, 2013. — 309 p. — EDN SUNBYD.
5. Niryan, Yu. L. Protein metabolism in broiler chicks using a silicon-containing feed supplement and a probiotic / Yu. L. Niryan, V. N. Nikulin // *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal* (International Research Journal). — 2024. — No. 6 (144). — DOI: 10.60797/IRJ.2024.144.85
6. Chugunova E. G. Lipid metabolism in early ontogenesis of chicks and its genetic and epigenetic regulation / E. G. Chugunova, M. V. Pozovnikova // *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya* (Bulletin of Perm University. Series: Biology). — 2025. — No. 2. — P. 204—223. — DOI 10.17072/1994-9952-2025-2-204-223.
7. Tagirov M. T. Nutrition and main metabolic pathways in the developing poultry embryo / M. T. Tagirov, O. V. Tereshchenko // *Vestnik Kharkovskogo natsionalnogo universiteta imeni V.N. Karazina* (Bulletin of the National Kharkiv University named after V. N. Karazin. Series: Biology). Issue 10. — No. 878. — 2009. — P. 48—59.
8. Dolgorukova A. M. Prenatal nutrition of poultry and its postnatal effects (review) / A. M. Dolgorukova, V. Yu. Titov, V. I. Fisinin, A. A. Zotov // *Selskokhozyaystvennaya biologiya* (Agricultural Biology). — 2020. — Vol. 55, No. 6. — P. 1061—1072. — DOI 10.15389/agrobiolog.2020.6.1061rus. — EDN IBWJAF.
9. Christensen V., Wineland M. J., Yildirim I., Ort D. T., Mann K. M. Incubator temperature and oxygen concentration at the plateau stage affects intestinal maturation of turkey embryos. *International Journal of Poultry Science*, 2004, 3(6): 378—385 (doi: 10.3923/ijps.2004.378.385).
10. Moran E. T. Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poultry Science*, 2007, 86(5):1043—1049 (doi: 10.1093/ps/86.5.1043).

11. Kyryliv B. Ya. Biological and metabolic features of various types of poultry / B. Ya. Kyryliv, I. B. Ratich, A. V. Gunchak, E. I. Fedorovich // Nauchnyy vestnik Lvovskogo natsionalnogo universiteta veterinarnoy meditsiny i biotekhnologii imeni S. S. Gzhitskogo (Scientific Bulletin of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. S. Gzhitskiy). — 2015. — Vol. 17, No. 1—3(61). — P. 71—80. — EDN VLAAMF.
12. Naydenskiy M. S. Environmentally friendly methods of increasing the hatching of conditionally healthy chicks / M. S. Naydenskiy, V. V. Nesterov, N. Yu. Lazareva // Bio. Veterinarnomu spetsialistu (Bio. For a veterinary specialist). — 2007. — No. 10. — P. 23—24. — EDN VD-MJF.
13. Suray P. Natural antioxidants in chicken embryogenesis and protection against stress in postnatal development (review) / P. Suray, V. I. Fisinin // Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural Biology). — 2013. — Vol. 48. — No. 2. — P. 3—18. — EDN OJNVCH.
14. Tolpygina O. A. Role of glutathione in the antioxidant protection system (review) / O. A. Tolpygina // Byulleten Vostochno — Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk (Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences). — 2012. — No. 2—2(84). — P. 178—180. EDN: PC-QJAR
15. Borisenok O. A. Biological role of glutathione / O. A. Borisenok, M. I. Bushma, O. N. Basalay, A. Yu. Radkovets // Meditsinskie novosti (Medical News). — 2019. — No. 7(298). — P. 3—8. — EDN DHOURO.
16. Minaeva L. V. Experimental assessment of the role of changes in the glutathione system in the implementation of the side cytotoxic effects of repeated administration of cyclophosphamide: specialty 14.00.2003.00.04: abstract of a thesis ... Candidate of Medical Sciences / Minaeva Lyubov Valeryevna. — Saint Petersburg, 2007. — 20 p. — EDN NISTZB.
17. Zhidko E. V. Indicators of Mineral Metabolism and Antioxidant Protection in Acute Alcohol Intoxication: Abstract of a thesis ... Candidate of Medical Sciences. Chelyabinsk, 2017. 23 p. EDN: ZVQFVV.
18. Smirnov L. P. Role of glutathione in the functioning of antioxidant protection and biotransformation systems (review) / L. P. Smirnov, I. V. Sukhovskaya // Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta (Transactions of Petrozavodsk State University). — 2014-No. 6—34 p. — EDN SVOCJZ.
19. Gardiner C. S., Reed D. J. (1995). Synthesis of glutathione in the preimplantation mouse embryo. Arch. Biochem. Biophys. 318, 30—3610.1006/abbi.1995.1200
20. Azarnova T. O. Effectiveness of the antioxidant and metabolism-stimulating effects of glutathione in industrial scale quail farming / T. O. Azarnova, V. A. Popova, M. S. Naydenskiy, I. S. Lugovaya and V. A. Komar // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2020. — No. 3(12). — P. 70—80. — DOI 10.17238/issn2541—8203.2020.3.70.
21. Petrova Yu. V. Quality of turkeys and safety of their meat in case of transovarial use of glutathione / Yu. V. Petrova, V. A. Popova, T. O. Azarnova, S. V. Pozyabin, I. S. Lugovaya // Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya (Veterinary Medicine, Zootechnics and Biotechnology). — 2021. — No. 2. — P. 11—18. — EDN ZBIBUL.
22. Popova V. A. Effectiveness of the implementation of some adaptation mechanisms in case of glutathione use in broiler chicks / V. A. Popova, T. O. Azarnova, I. S. Lugovaya, E. A. Zolotukhina // Baltic Sea Forum: Proceedings of the IX International Baltic Sea Forum. In 6 volumes. XIX International Scientific Conference, Kaliningrad, October 04—09, 2021. Volume 1. — Kaliningrad: Kaliningradskiy gosudarstvennyy tekhnicheskii universitet (Kaliningrad State Technical University), 2022. — P. 220—226. — EDN MEDESU.
23. Epimakhova E. E. Scientific and practical substantiation of increasing the yield of hatching eggs and conditioned young poultry in the early postnatal period: Abstract of a thesis ... Doctor of Agricultural Sciences. Stavropol, 2013. 38 p. EDN: ZOZTLZ.
24. Kochish I. I. Selection in poultry farming / I. I. Kochish. — Moscow: Kolos Publishing House, 1992. — 271 p. — EDN SUEKMM.
25. Nikitin, Yu. I. Physiology of Farm Animals: a textbook for university students majoring in "Veterinary medicine" and "Animal science" / Yu. I. Nikitin, V. K. Gusakov, N. S. Motuzko, V. A. Medvedskiy, and P. N. Koturanov. Minsk: Tekhnoperspetiva, 2006. 463 p. EDN SZRJVO.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**V. A. Popova** — Applicant for a Degree of the Departments of Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise and Chemistry named after Prof. S. I. Afonskiy and A. G. Malakhov;

**T. O. Azarnova** — Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Chemistry named after Prof. S. I. Afonskiy and A. G. Malakhov;

**F. I. Vasilevich** — Academician of the RAS, Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise;

**E. A. Zolotukhina** — Deputy Director.

The article was submitted 01.07.2026.

Научная статья

УДК 619:612.017.1:591.111:636.4

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.94.63.012

## ТРЕХФАЗНАЯ МОДЕЛЬ СТАНОВЛЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ПОРОСЯТ В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД: ИНТЕГРАЦИЯ ГОРМОНАЛЬНОЙ, ЦИТОКИНОВОЙ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Евгений Владимирович Михайлов

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, voronezh81@rambler.ru*

**Аннотация.** Ранний постнатальный период является критическим для программирования иммунной системы поросят, однако механизмы координации между эндокринной, иммунной и микробиотной системами остаются недостаточно изученными. Выявление закономерностей становления иммунной системы у поросят в этот период и установление системных взаимосвязей между гормональным статусом, цитокиновым профилем и метаболической активностью кишечного микробиома является одной из основных задач. Исследование проведено на 20 поросятах-нормотрофиках в возрасте 1, 7, 14 и 21 день. Определены гормоны (кортизол, тимулин методом ИФА); цитокины в крови и кишечнике (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-8, IL-4, IFN- $\gamma$  методом RT-qPCR); маркеры пролиферации и дифференцировки лимфоцитов (Ki-67, CD-3<sup>+</sup>, PAX-5 методом иммуногистохимии); метаболические пути микробиома (анализ KEGG/MetaCyc). Статистическая обработка включала корреляционный анализ Пирсона и множественную регрессию. Установлена трёхфазная динамика развития иммунной системы, включающая фазу адаптации (1—7 дни) — пик кортизола (в 4,5 раза) и системный гиперинфлямматорный ответ (повышение экспрессии генов IL-1 $\beta$  в 18 раз, IFN- $\alpha$  в 172 раза); фазу стабилизации (7—14 дни) — нормализация гормонального фона, снижение системного воспаления и активация регуляторных механизмов (повышение экспрессии TGF- $\beta$  в 14 раз); фазу созревания (14—21 дни) — локализация иммунного ответа в кишечнике (экспоненциальный рост IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$ , IL-8 до 10 000—12 600 крат) и формирование кишечного иммунного барьера. Выявлены три ключевые системные оси: кишечно-тимусная (IL-1 $\beta$  кишечник  $\leftrightarrow$  Ki-67 тимус:  $r = 0,82$ ), метаболично-пролиферативная (синтез нуклеотидов  $\leftrightarrow$  Ki-67 тимус:  $r = 0,92$ ) и аминокислотно-воспалительная (синтез валина  $\leftrightarrow$  CD-3<sup>+</sup> селезёнка:  $r = 0,81$ ). Обнаружена инверсная корреляция между системным и локальным воспалением ( $r = -0,73$ ), обеспечивающая оральную толерантность. Становление иммунной системы поросят представляет собой координированный процесс, управляемый гормональными сигналами, с межсистемной интеграцией через метаболиты микробиоты. Выявленные критические периоды (1—7 и 14—21 дни) определяют «окна» для фармакологической коррекции иммунодефицитных состояний.

**Ключевые слова:** иммунная система, поросята, постнатальный онтогенез, кортизол, тимулин, цитокины, кишечный микробиом, метаболические пути, KEGG

### ВВЕДЕНИЕ

Ранний постнатальный период жизни сельскохозяйственных животных характеризуется высокой уязвимостью к инфекционным агентам, обусловленной незрелостью иммунной системы [1, 2]. У поросят, в отличие от человека, трансплацентарная передача иммуноглобулинов отсутствует, что делает их полностью зависимыми от пассивного иммунитета, получаемого с молозивом в те-

чение первых 24 часов жизни [3, 4, 25]. При этом, как показали Шахов и соавт. [25], в колоструме свиноматок содержится  $73,1 \pm 1,69$  мг/мл общих иммуноглобулинов с преобладанием класса IgG (83,1 %), тогда как у поросят при рождении содержание иммуноглобулинов значительно ниже —  $0,3 \pm 0,01$  мг/мл, достигая максимума через 24 ч после потребления молозива —  $48,8 \pm 2,24$  мг/мл. Однако даже при адекватном получении колостру-

ма иммунная система новорожденных поросят остаётся функционально незрелой [26], особенно у гипотрофиков [5, 6], что обуславливает высокую заболеваемость и экономические потери в свиноводстве. Клеточный иммунитет в ранний постнатальный период характеризуется лейкоцитопенией, лимфоцитопенией и дефицитом Т- и В-лимфоцитов до приёма молозива, с последующим повышением на фоне колостральной защиты и транзиторным снижением показателей к 14 суткам, отражающим период ослабления пассивного иммунитета и начало активации собственной иммунной системы [26].

Современные концепции иммунного онтогенеза рассматривают развитие иммунной системы не как изолированный процесс, а как результат сложной межсистемной интеграции, включающей эндокринную регуляцию, цитокиновые сети и метаболическую активность кишечного микробиома [7, 8]. Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось (ГГН-ось) играет ключевую роль в модуляции иммунного ответа через глюкокортикоиды, в то время как тимус-зависимый гормон тималин обеспечивает специфическую поддержку Т-клеточного звена [9, 10]. Взаимодействие между центральными (тимус) и периферическими (селезёнка, лимфоузлы, кишечник) лимфоидными органами координируется цитокиновыми сигналами, среди которых особое значение приобретают интерфероны I типа и трансформирующий фактор роста- $\beta$  [11, 12].

В последние годы накоплены убедительные данные о роли кишечного микробиома как метаболического «органа», обеспечивающего синтез незаменимых аминокислот, нуклеотидов и витаминов, необходимых для пролиферации и дифференцировки иммунокомпетентных клеток [13, 14, 27]. В статье Паршина и соавт. [27], в ранний неонатальный период у нормотрофиков преобладают *Enterococcus cecorum*, *Clostridium sensu stricto 2 disporicum*, *Atopobium fossor* и *Faecalicoccus pleomorphus*, в то время как у гипотрофиков отмечается снижение видового разнообразия и дефицит указанных видов, что коррелирует с низкой реактивностью врождённого иммунитета и дезорганизацией лимфоидных органов. Однако механизмы метаболической координации между микробиотой и лимфоидными органами в раннем постнатальном периоде изучены недостаточно, что ограничивает возможности разработки патогенетически обоснованных методов фармакокоррекции иммунодефицитов.

Цель настоящего исследования — выявить закономерности становления иммунной системы у поросят-нормотрофиков в возрасте 1—21 день

и установить системные взаимосвязи между гормональным статусом, цитокиновым профилем и метаболической активностью кишечного микробиома.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 20 поросятах F<sub>1</sub> с нормальной массой тела при рождении (1200—1400 г), полученных от здоровых свиноматок 3—5-го опороса в условиях крупного промышленного свиноводческого комплекса Воронежской области. Животные содержались в соответствии с принятыми стандартами технологии. Исследовательские группы сформированы по возрасту: 1-й день ( $n = 5$ ), 7-й день ( $n = 5$ ), 14-й день ( $n = 5$ ), 21-й день ( $n = 5$ ). Эвтаназию проводили с соблюдением принципов гуманного отношения к животным (Директива 2010/63/EU). Концентрацию кортизола и тимулина в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом с использованием анализатора АИФР-01 «УНИПЛАН» и коммерческих наборов реагентов (Cusabio, Китай). Концентрация выражена в нг/мл. Экспрессию генов цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-8, IL-4, IFN- $\gamma$ ) определяли методом количественной ПЦР в реальном времени (RT-qPCR) с использованием праймеров, специфичных к *Sus scrofa* (табл. 1). РНК изолировали из гомогенатов крови и слизистой оболочки тощей кишки с помощью набора «Синген» (Россия). Обратную транскрипцию выполняли с использованием набора «Reverta» (Амплисенс, Россия). Реакцию проводили на приборе CFX96 (Bio-Rad, США) с использованием SYBR Green. Ген  $\beta$ -актина использовали как референсный. Относительную экспрессию рассчитывали по методу  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

Фрагменты тимуса, селезёнки и мезентериальных лимфоузлов фиксировали в 10 % нейтральном формалине, заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали иммуногистохимически с использованием первичных антител к Ki-67 (пролиферация), CD-3 (Т-лимфоциты) и PAX-5 (В-лимфоциты) (Abcam, Великобритания) и системы визуализации Novolink Polymer (Leica Biosystems, Германия). Количество позитивных клеток подсчитывали в 10 полях зрения ( $\times 400$ ) и выражали в процентах. Метагеномную ДНК извлекали из содержимого тощей кишки с использованием набора QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Германия). Секвенирование проводили на платформе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) с амплификацией гипервариабельного участка V3 16S

pPHK. Биоинформатический анализ включал аннотацию операционных таксономических единиц (OTU) и реконструкцию метаболических путей по базам KEGG и MetaCyc с использованием пакета PICRUSt2. Активность путей выражали в относительных единицах (0—1). Статистическая обработка выполнена с помощью программы Statistica v.6.1 (StatSoft, США). Нормальность распределе-

ния оценивали тестом Шапиро — Уилка. Для сравнения групп применяли t-критерий Стьюдента или U-критерий Манна — Уитни. Корреляционный анализ проводили с расчётом коэффициента корреляции Пирсона ( $r$ ). Многофакторный регрессионный анализ использовали для построения предиктивных моделей. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Таблица 1

Последовательности праймеров для RT-qPCR

| Ген            | Прямой праймер      | Обратный праймер    |
|----------------|---------------------|---------------------|
| IL-1 $\beta$   | AGCCAGTGAAATGATGGCT | AGGCTGTCTAATGGGAACG |
| TNF- $\alpha$  | CCCTGGTATGAGCCCATG  | CCATTGGCCAGGAGGGAT  |
| IFN- $\alpha$  | GCTGCGGAGAGAGAAGAA  | CAGGTCATCAGCATCCTC  |
| TGF- $\beta$   | CCGCAGCTCAGAGAGAAG  | GGGTTGTGTTGGTTGTAG  |
| IL-8           | TTCGATGCCAGTGCATAA  | GGGTGGAAGGGGTGAGA   |
| IL-4           | CCTGGATTCATCGCAACT  | GGTCTTCCTTCTCCTCAC  |
| IFN- $\gamma$  | GCTGACTGAACTGGCAA   | GACTCCTTTTCCGCTTC   |
| $\beta$ -актин | CATCCTGCGTCTGGACCT  | GGTGAGGATCTTCATGAG  |

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ гормонального профиля выявил выраженную динамику ГГН-оси и тимус-зависимой регуляции (рис. 1). На 1-е сутки уровень кортизола составлял базовое значение, к 7-м суткам отмечался его резкий рост в 4,5 раза ( $p < 0,001$ ), достигающий пикового значения 666,72 нг/мл, что соответствует острой стрессовой реакции на колонизацию микрофлоры и первичную антигенную стимуляцию. К 14-м суткам концентрация кортизола снизилась на 58,0 % ( $p < 0,01$ ), а к 21-м суткам достигла значений, близких к исходным. Противоположную динамику наблюдали для тимулина. Так, на фоне пика кортизола (7-е сутки) отмечали снижение концентрации тимулина, тогда как при нормализации кортизола к 14-м суткам происходило повышение концентрации тимулина. К 21-м суткам уровень тимулина снизился на 50,6 % от максимума ( $p < 0,05$ ), что отражает завершение острой фазы тимического созревания.

Экспрессия генов цитокинового профиля демонстрировала двухфазную динамику (табл. 2). В период 1—7 дней наблюдали «гиперинфламаторную фазу»: экспрессия IL-1 $\beta$  возросла с 0,037 до

0,672 отн. ед. (в 18 раз,  $p < 0,001$ ), IFN- $\alpha$  — с 0,002 до 0,413 отн. ед. (в 172 раза,  $p < 0,001$ ), что свидетельствует об активации врождённого противовирусного иммунитета и системной воспалительной реакции.

В период 14—21 дней происходила фаза иммунорегуляции: уровни проинфламаторных цитокинов снизились в 3—5 раз, в то время как экспрессия TGF- $\beta$  увеличилась с 0,004 до 0,057 отн. ед. (в 14 раз,  $p < 0,01$ ), что указывает на включение механизмов толерогенеза.

В слизистой оболочке кишки динамика экспрессии генов носила экспоненциальный характер (рис. 2). К 21-му дню отмечался взрывной рост экспрессии генов IFN- $\alpha$  — с 0,002 до 25,211 отн. ед. (в 12 600 раз), IL-1 $\beta$  — с 0,00016 до 1,6245 отн. ед. (в 10 000 раз), IL-8 — с 0,00009 до 2,408 отн. ед. (в 12 000 раз). Это свидетельствует об интенсивной колонизации микробиоты и формировании кишечного иммунного барьера. IFN- $\gamma$  демонстрировал резкий рост в кишечнике (с 0,0005 до 0,004 отн. ед.), тогда как IL-4 оставался на низком уровне (0,0005—0,0015 отн. ед.), что указывает на недостаточную дифференцировку Th2-субпопуляций и позднее созревание гуморального звена (рис. 1).

Таблица 2

Динамика цитокинового профиля в крови поросят (отн. ед.,  $M \pm t$ )

| Возраст | IL-1 $\beta$       | IFN- $\alpha$      | TGF- $\beta$       | TNF- $\alpha$      |
|---------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 1 день  | 0,037 $\pm$ 0,005  | 0,002 $\pm$ 0,001  | 0,004 $\pm$ 0,001  | 0,015 $\pm$ 0,003  |
| 7 дней  | 0,672 $\pm$ 0,089* | 0,413 $\pm$ 0,052* | 0,008 $\pm$ 0,002  | 0,089 $\pm$ 0,012* |
| 14 дней | 0,156 $\pm$ 0,021* | 0,124 $\pm$ 0,018* | 0,031 $\pm$ 0,005* | 0,042 $\pm$ 0,006  |
| 21 день | 0,018 $\pm$ 0,003  | 0,089 $\pm$ 0,011  | 0,057 $\pm$ 0,008* | 0,028 $\pm$ 0,004  |

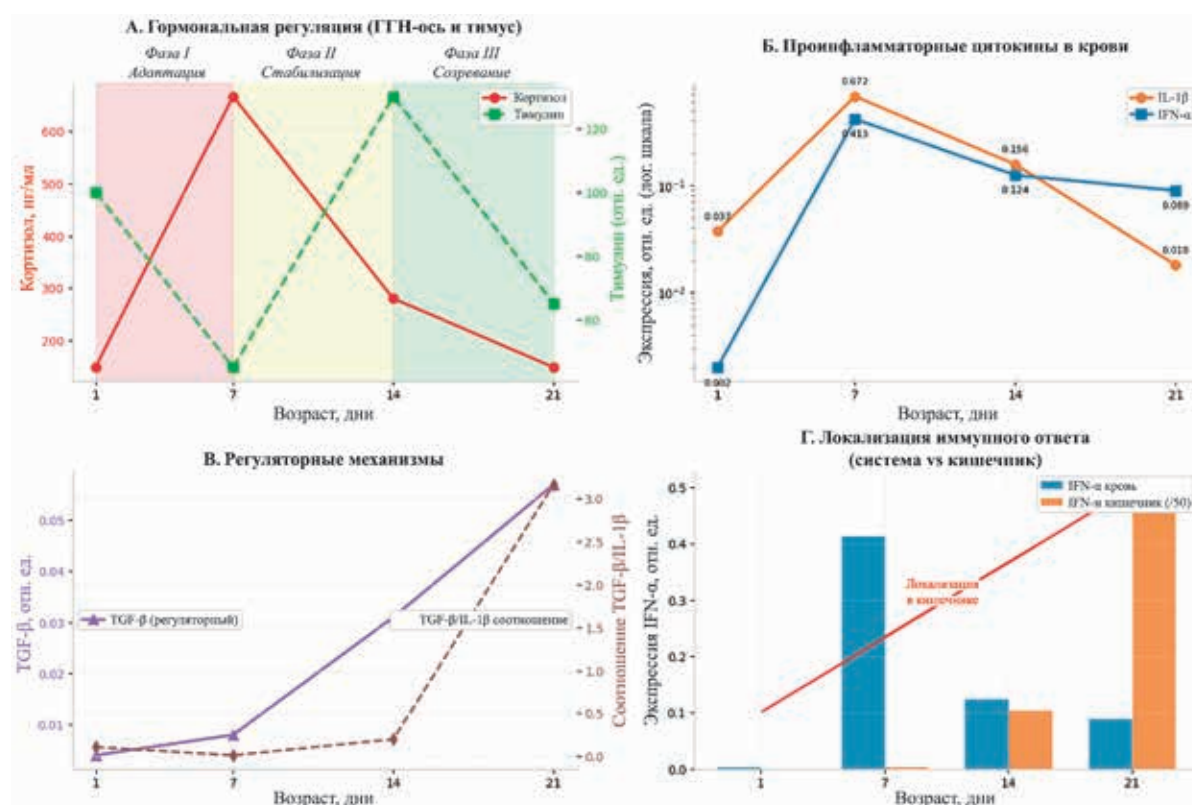
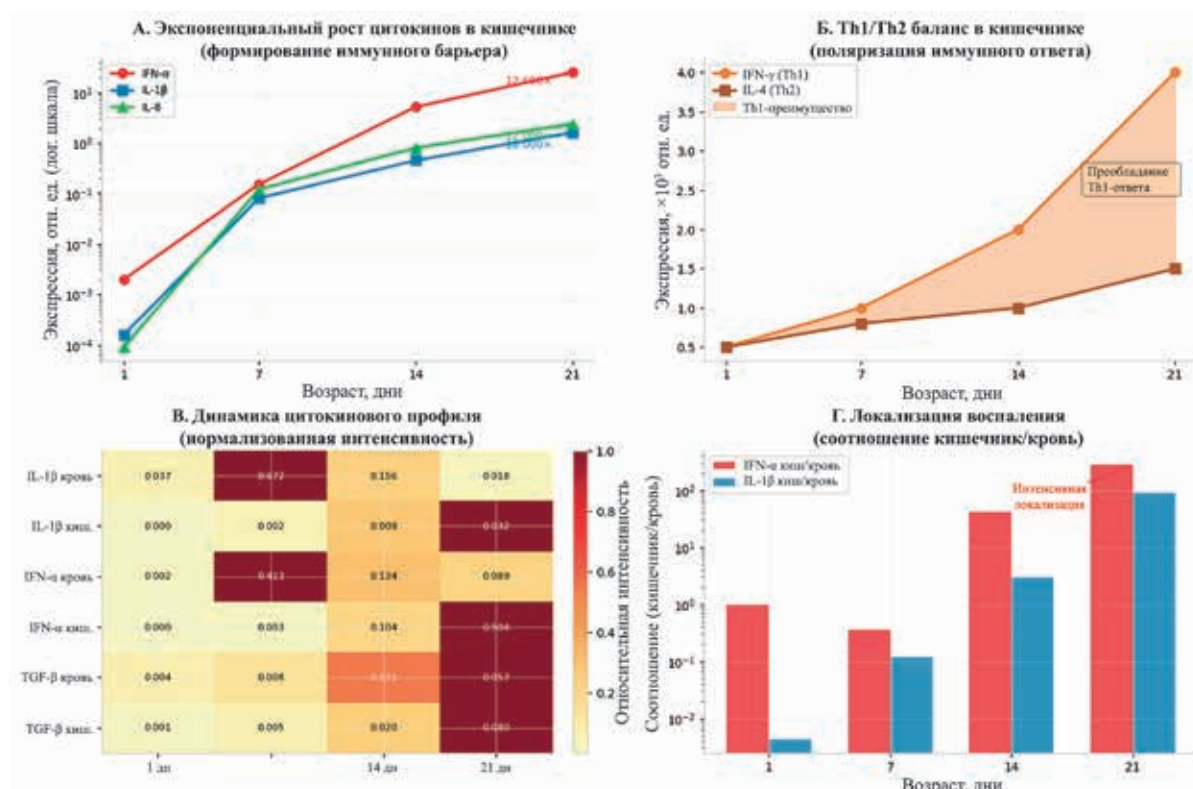
\*  $p < 0,05$  по сравнению с предыдущей точкой

Рис. 1. Динамика гормонального статуса и системного иммунитета у поросят нормотрофиков в ранний постнатальный период

Иммуногистохимическое исследование выявило органоспецифические паттерны созревания (табл. 3). В тимусе наблюдали стабильно высокую пролиферативную активность ( $Ki-67 > 91,3\%$  на всех этапах) с доминированием Т-клеток ( $CD-3^+ > 94,0\%$ ). В селезенке отмечали двухфазную динамику: наблюдалось снижение Т-клеток к 7-му дню с последующим восстановлением и значительным увеличением В-клеток (РАХ-5) к 14-му дню (с  $15,3\%$  до  $53,8\%$ ,  $p < 0,001$ ). В лимфоузлах прослеживалось постепенное накопление Т-клеток (с  $25,4\%$  до  $50,9\%$ ) и формирование В-зоны.

Анализ функционального потенциала микробиома выявил три ключевые метаболические функции (рис. 3). Наивысшую активность отмечали для синтеза аминокислот ( $0,785$ ), что критично для быстрорастущего организма. Умеренную активность наблюдали для синтеза нуклеотидов ( $0,433$ ), необходимых для пролиферации лимфоцитов. Наименьшая активность характерна для синтеза витаминов ( $0,195$ ), что указывает на зависимость от экзогенного поступления.

Корреляционный анализ выявил три ключевые системные оси (табл. 4).



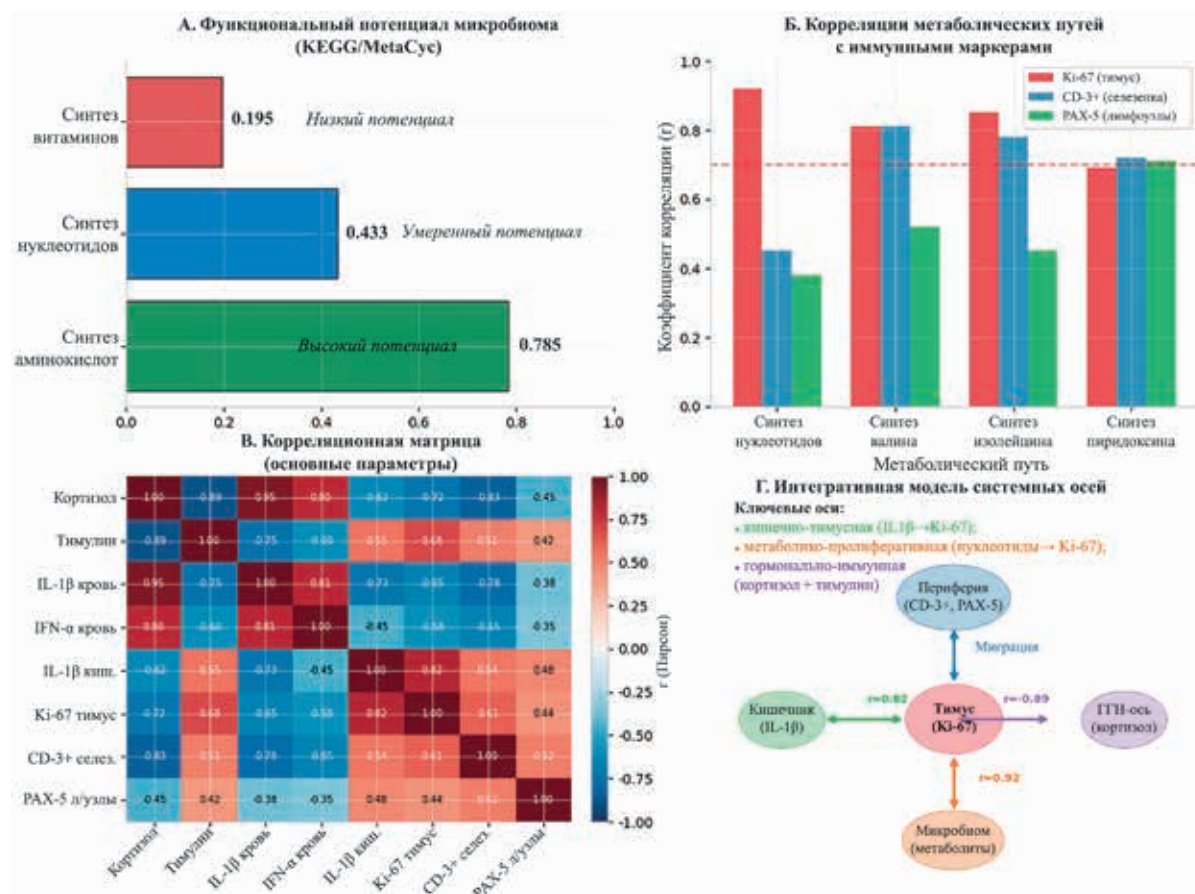
**Рис. 2.** Динамика цитокинового профиля и локализация иммунного ответа в системе «кровь — кишечник» у поросят в раннем постнатальном онтогенезе

**Таблица 3**

Динамика маркеров пролиферации и дифференцировки в лимфоидных органах (% позитивных клеток,  $M \pm m$ )

| Орган/Маркер        | 1 день      | 7 дней       | 14 дней      | 21 день      |
|---------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Тимус               |             |              |              |              |
| Ki-67               | 91,3 ± 1,74 | 92,7 ± 0,82  | 93,8 ± 0,90  | 96,2 ± 0,46* |
| CD-3 <sup>+</sup>   | 95,6 ± 2,64 | 97,0 ± 0,54  | 94,7 ± 0,42* | 95,8 ± 0,38  |
| PAX-5               | 2,44 ± 1,58 | 1,1 ± 0,60   | Не выявлено  | Не выявлено  |
| Селезёнка           |             |              |              |              |
| Ki-67               | 60,1 ± 2,71 | 59,7 ± 1,20  | 55,0 ± 0,83  | 64,3 ± 1,12* |
| CD-3 <sup>+</sup>   | 56,2 ± 1,33 | 43,6 ± 1,54* | 46,1 ± 0,79  | 52,2 ± 0,51* |
| PAX-5               | 21,3 ± 1,41 | 15,3 ± 1,23  | 53,8 ± 0,72* | 49,2 ± 1,36  |
| Лимфоузлы (паховые) |             |              |              |              |
| Ki-67               | 56,5 ± 1,83 | 56,3 ± 3,01  | 43,6 ± 0,83* | 50,3 ± 2,25  |
| CD-3 <sup>+</sup>   | 25,4 ± 0,76 | 31,3 ± 1,71  | 37,5 ± 1,18* | 50,9 ± 1,66* |
| PAX-5               | 26,4 ± 6,27 | 27,2 ± 13,2  | 34,5 ± 1,66* | 40,3 ± 1,39  |

\*  $p < 0,05$  по сравнению с предыдущей возрастной точкой



**Рис. 3.** Функциональная активность микробиома (KEGG/MetaCyc) и формирование кишечно-тимусной, метаболическо-пролиферативной и гормонально-иммунной осей в постнатальном онтогенезе поросят

Установлена инверсная корреляция между локальным (кишечник) и системным (кровь) воспалением ( $r = -0,73$ ), что свидетельствует о механизме оральной толерантности, предотвращающем генерализацию воспалительного ответа. Метаболические пути синтеза нуклеотидов и аминокислот с разветвлённой цепью (BCAA) демонстрировали наиболее тесные связи с пролиферацией в тимусе ( $r = 0,92$  и  $0,85$  соответственно). Многофакторная регрессионная модель предсказания пролиферативной активности в тимусе включала синтез нуклеотидов ( $\beta = 0,47$ ;  $p < 0,001$ ), синтез валина ( $\beta = 0,32$ ;  $p < 0,01$ ) и системный IL-1β ( $\beta = 0,21$ ;  $p < 0,05$ ) с общей объяснённой дисперсией  $R^2 = 0,894$  ( $p < 0,001$ ).

Полученные данные свидетельствуют о трёхфазной модели становления иммунной системы поросят в ранний постнатальный период, интегрирующей гормональную, цитокиновую и метаболическую регуляцию.

Фаза I (1—7 день) — адаптация, характеризуется острой стрессовой реакцией с пиком кортизо-

ла и системным гиперинфламаторным ответом. Эта фаза соответствует «окну восприимчивости» (window of susceptibility), описанному в зарубежной литературе [15, 16]. Высокие уровни кортизола, коррелирующие с системными цитокинами ( $r = 0,95$ ), выполняют адаптивную функцию, мобилизуя ресурсы организма, но подавляют тимопоэз, что подтверждается отрицательной корреляцией кортизола с тимулином ( $r = -0,89$ ). Наши данные согласуются с работами [17], демонстрирующими иммуносупрессивное действие глюкокортикоидов на тимус в неонатальном периоде. Кроме того, применение интерферонсодержащих препаратов (биферон-С) в ранний неонатальный период способствует повышению естественной резистентности и профилактике желудочно-кишечных заболеваний [28], что подтверждает эффективность цитокиновой коррекции в критическое «окно» 1—3 дней. Фаза II (7—14 день) — стабилизация: происходит нормализация ГГН-оси, снижение системного воспаления и активация регуляторных механизмов через TGF-β.

Таблица 4

Ключевые корреляции между метаболическими, иммунологическими и гормональными параметрами

| Параметр 1                      | Параметр 2                  | <i>r</i> | <i>p</i> |
|---------------------------------|-----------------------------|----------|----------|
| Кишечно-тимусная ось            |                             |          |          |
| IL-1β кишечник                  | Ki-67 тимус                 | +0,82    | < 0,001  |
| IFN-α кишечник                  | Ki-67 тимус                 | +0,74    | < 0,01   |
| Метаболично-пролиферативная ось |                             |          |          |
| Синтез нуклеотидов              | Ki-67 тимус                 | +0,92    | < 0,001  |
| Синтез валина                   | CD-3 <sup>+</sup> селезёнка | +0,81    | < 0,001  |
| Синтез изолейцина               | Ki-67 тимус                 | +0,85    | < 0,001  |
| Гормонально-иммунная ось        |                             |          |          |
| Кортизол                        | IL-1β кровь                 | +0,95    | < 0,001  |
| Кортизол                        | Тимулин                     | −0,89    | < 0,001  |
| Тимулин                         | CD-3 <sup>+</sup> селезёнка | +0,51    | < 0,05   |
| Противовоспалительная регуляция |                             |          |          |
| IL-1β кишечник                  | IL-1β кровь                 | −0,73    | < 0,01   |
| TGF-β кровь                     | Ki-67 тимус                 | −0,41    | < 0,05   |

Эта фаза критична для предотвращения ауто-иммунных реакций и формирования иммунологической толерантности к комменсальной микробиоте. Интересно, что на фоне снижения системного воспаления в крови происходит нарастание цитокинового ответа в кишечнике, что отражает начало формирования местного иммунного барьера.

Фаза III (14—21 день) — созревание: иммунный ответ окончательно локализуется в кишечнике, что связано с интенсивной колонизацией микробиоты и подготовкой к отъёму.

Экспоненциальный рост экспрессии цитокинов в кишечнике (10 000—12 600 крат) сопровождается второй волной пролиферации в периферических лимфоидных органах и формированием зрелых Т- и В-клеточных популяций.

Эта динамика коррелирует с данными [18], показывающими, что микробиота стимулирует Th1-поляризацию через активацию TLR и продукцию IFN-γ.

Ключевым результатом является выявление метаболично-пролиферативной оси — тесной связи между синтетическим потенциалом микробиома и активностью лимфоидных органов.

Наиболее сильная корреляция между синтезом нуклеотидов и пролиферацией в тимусе ( $r = 0,92$ ) подчёркивает роль микробиоты как поставщика «строительных блоков» для ДНК-репликации в условиях интенсивного клонального расширения Т-клеток. Это согласуется с данными [27], показывающими, что гипотрофия ассоциирована со слабым видовым разнообразием микробиома и низкой реактивностью врождённого иммунитета, а также с концепцией «иммунного метаболизма» [19], согласно которой пролиферация лимфоцитов требует экзогенных источников нуклеотидов и аминокислот. Связь синтеза валина с пулом Т-клеток в селезёнке ( $r = 0,81$ ) отражает метаболическую зависимость периферических лимфоцитов от микробиотных метаболитов. ВСАА (валин, лейцин, изолейцин) являются субстратами для синтеза глутамина, критического для энергетического обеспечения иммунного ответа [20].

Сравнение с данными, полученными при аналогичных исследованиях на поросятах-гипотрофиках [5, 22—24, 27], показывает, что при врождённой гипотрофии все описанные процессы нарушены: отсутствует пик кортизола на 7-е сутки, систем-

ное воспаление хронически повышено, а локальная цитокиновая продукция в кишечнике снижена. Это подтверждает патогенетическую значимость выявленных механизмов и обосновывает необходимость фармакокоррекции в критические периоды (1—7 и 14—21 дни).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Становление иммунной системы у поросят-нормотрофиков в ранний постнатальный период следует трёхфазной модели: адаптация (1—7 дни) — острый стресс и системное воспаление; стабилизация (7—14 дни) — нормализация гормонального фона и включение регуляторных механизмов; созревание (14—21 дни) — локализация иммунного ответа в кишечнике и формирование периферических лимфоидных структур.

Выявлены три ключевые системные оси, координирующие иммунный онтогенез: кишечнотимусная ось (локальное воспаление стимулирует тимопоз), метаболито-пролиферативная ось (микробиотные метаболиты обеспечивают пролиферацию лимфоцитов) и гормонально-иммунная ось (кортизол-тимулиновый баланс). Установлена центральная роль функционально зрелой микробиоты как метаболического «партнёра» иммунной системы через обеспечение нуклеотидами и аминокислотами.

Определены критические периоды фармакокоррекции: 1—7 дни (коррекция стресса и поддержка тимопоза) и 14—21 день (модуляция кишечного иммунного барьера перед отъёмом). Практическая значимость результатов заключается в разработке патогенетически обоснованных подходов к профилактике иммунодефицитов у новорожденных поросят, включая временные рамки применения иммуномодуляторов и метаболитических корректоров.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Butler J. E., Sinkora M. The enigma of the lower gut-associated lymphoid tissue (GALT) // *Vet. Immunol. Immunopathol.* — 2013. — Т. 152, № 1—2. — С. 3—9. — DOI 10.1016/j.vetimm.2012.09.017
2. Mair K. H., [и др.]. The porcine innate immune system: An update // *Dev. Comp. Immunol.* — 2014. — Т. 45, № 2. — С. 321—343. — DOI 10.1016/j.dci.2014.03.010
3. Bandrick M., [и др.]. Maternal immunity enhances *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination induced cell-mediated immune responses in piglets // *BMC Vet. Res.* — 2014. — Т. 10. — С. 124. — DOI 10.1186/1746—6148—10—124
4. Rooke J. A., [и др.]. The effect of feeding salmon oil to sows throughout pregnancy on pre-weaning mortality of piglets // *Anim. Sci.* — 2001. — Т. 73, № 3. — С. 489—500. — DOI 10.1017/S1357729800058701
5. Михайлов Е. В., [и др.]. Влияние препарата «Простимул» на функциональную группу лимфоцитов и эндокринную систему поросят-гипотрофиков в неонатальный период // *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии.* — 2024. — № 4(52). — С. 613—621. — DOI 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202404018
6. Stokes C. R., Bailey, M., Haverson, K. Development of the intestinal immune system in the pig // *Vet. Immunol. Immunopathol.* — 2004. — Т. 87, № 3—4. — С. 123—128. — DOI 10.1016/j.vetimm.2003.11.005
7. Belkaid Y., Hand T. W. Role of the microbiota in immunity and inflammation // *Cell.* — 2014. — Т. 157, № 1. — С. 121—141. — DOI 10.1016/j.cell.2014.03.011
8. Thaiss C. A., [и др.]. The microbiome and innate immunity // *Nature.* — 2016. — Т. 535, № 7610. — С. 65—74. — DOI 10.1038/nature18847
9. Savino W., [и др.]. The thymus is a common target organ in infectious diseases // *PLoS Pathog.* — 2015. — Т. 11, № 12. — e1004711. — DOI 10.1371/journal.ppat.1004711
10. Bach J. F. The thymus in immunodeficiency diseases // *N. Engl. J. Med.* — 2023. — Т. 388, № 5. — С. 456—467.
11. McNab, F., [и др.]. Type I interferons in infectious disease // *Nat. Rev. Immunol.* — 2015. — Т. 15, № 2. — С. 87—103. — DOI 10.1038/nri3787
12. Li M. O., [и др.]. Transforming growth factor- $\beta$  regulation of immune responses // *Annu. Rev. Immunol.* — 2006. — Т. 24. — С. 99—146. — DOI 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737
13. Kamada N., [и др.]. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota // *Nat. Immunol.* — 2013. — Т. 14, № 7. — С. 685—690. — DOI 10.1038/ni.2608
14. Zheng D., [и др.]. Interaction between microbiota and immunity in health and disease // *Cell Res.* — 2020. — Т. 30, № 6. — С. 492—506. — DOI 10.1038/s41422-020-0332-7
15. Butler J. E., [и др.]. Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets // *Vet. Immunol. Immunopathol.* — 2005. — Т. 87, № 3—4. — С. 339—344.
16. Sinkora M., Butler, J. E. The ontogeny of the porcine immune system // *Dev. Comp. Immunol.* — 2009. — Т. 33, № 3. — С. 273—283. — DOI 10.1016/j.dci.2008.05.003
17. Coutinho A. E., Chapman, K. E. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights // *Mol. Cell. Endocrinol.* — 2011. — Т. 335, № 1. — С. 2—13. — DOI 10.1016/j.mce.2010.04.005
18. Ivanov I. I., [и др.]. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria // *Cell.* — 2009. — Т. 139, № 3. — С. 485—498. — DOI 10.1016/j.cell.2009.09.033

19. O'Neill L. A. J., [и др.]. A guide to immunometabolism for immunologists // *Nat. Rev. Immunol.* — 2016. — Т. 16, № 9. — С. 553—565. — DOI 10.1038/nri.2016.70
20. Carr E. L., [и др.]. Glutamine uptake and metabolism are coordinately regulated by ERK/MAPK during T lymphocyte activation // *J. Immunol.* — 2010. — Т. 185, № 2. — С. 1037—1044. — DOI 10.4049/jimmunol.0903586
21. Round J. L., Mazmanian S. K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease // *Nat. Rev. Immunol.* — 2009. — Т. 9, № 5. — С. 313—323. — DOI 10.1038/nri2515
22. Михайлов Е. В., [и др.]. Влияние препарата «Простимул» на энергетический обмен и неферментативное звено антиоксидантной системы у поросят с врожденной гипотрофией // *Учёные записки УО ВГАВМ.* — 2024. — Т. 60, вып. 2. — С. 37—42. — DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-2-37-42
23. Михайлов Е. В., [и др.]. Влияние препарата «Простимул» на элементный гомеостаз поросят-гипотрофиков раннего неонатального периода // *Учёные записки УО ВГАВМ.* — 2024. — Т. 60, вып. 3. — С. 34—39. — DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-3-34-39
24. Шахов А. Г., [и др.]. Влияние интерферонсодержащих препаратов на про- и антиоксидантный статус у новорожденных поросят // *Учёные записки УО ВГАВМ.* — 2022. — Т. 58, вып. 1. — С. 109—113. — DOI 10.52368/2078-0109-58-1-109-113
25. Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Востроилова Г. А., Ермолова Т. Г., Владимирова Ю. Ю. State of humoral immunity in lactating sows and suckling piglets // *BIO Web of Conferences.* — 2021. — Т. 36. — 06018.
26. Шахов А. Г., Шабунин С. В., Сашнина Л. Ю., Жейнес М. Ю., Карманова Н. В. Состояние клеточного иммунитета у поросят в ранний постнатальный период // *Российская сельскохозяйственная наука.* — 2020. — № 3.
27. Паршин П. А., Михайлов Е. В., Шутиков В. А., Некрасов А. В., Шабунин Б. В., Степанов Е. М., Степанов Д. С., Шабанов Д. И., Сыромятников М. Ю. Роль кишечной микробиоты в становлении иммунной системы новорожденных поросят // *Сельскохозяйственная биология.* — 2025. — Т. 60. — С. 651—663.
28. Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Жейнес М. Ю., Владимирова Ю. Ю., Карманова Н. В. Влияние биферона-С на естественную резистентность и клинический статус поросят на фоне иммуномодулирующей профилактики послеродовых болезней у свиноматок // *Учёные записки УО ВГАВМ.* — 2020. — Т. 56, вып. 4. — С. 72—77.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

**Е. В. Михайлов** — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем.

Статья поступила в редакцию 22.07.2026.

## A THREE-PHASE MODEL OF IMMUNE SYSTEM DEVELOPMENT IN PIGLETS IN THE EARLY POSTNATAL PERIOD: INTEGRATION OF HORMONAL, CYTOKINE AND METABOLIC REGULATION

**Evgeniy Vladimirovich Mikhaylov**

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,  
Voronezh, Russia, voronezh81@rambler.ru*

**Abstract.** The early postnatal period is critical for the development of the piglet immune system. However, the mechanisms of coordination between the endocrine, immune and microbiota systems remain poorly understood. One of the main objectives is to identify the patterns in the development of the piglet immune system during this period and to establish systemic relationships between the hormonal status, cytokine profile and metabolic activity of the intestinal (gut) microbiome. The study was conducted on 20 normotrophic piglets aged 1, 7, 14 and 21 days. There were detected hormones (cortisol, thymulin by ELISA); cytokines in the blood and intestine (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-8, IL-4, IFN- $\gamma$  by RT-qPCR); lymphocyte proliferation and differentiation markers (Ki-67, CD-3<sup>+</sup>, PAX-5 using immunohistochemistry); microbiome metabolic pathways (KEGG/MetaCyc analysis). Statistical processing included the Pearson correlation analysis and multiple regression. A three-phase dynamics of immune system development was established, including the adaptation phase (days 1—7) — cortisol peak (by 4.5 times) and systemic hyperinflammatory response (increased IL-1 $\beta$  gene expression by 18 times, IFN- $\alpha$  — by 172 times); stabilization phase (days 7—14) — normalization of hormonal levels, reduction of systemic inflammation and activation of regulatory mechanisms (increased TGF- $\beta$  expression by 14 times); maturation phase (days 14—21) — localization of the immune response in the intestine (exponential growth of IL-1 $\beta$ , IFN- $\alpha$ , IL-8 up to 10000—12600 times) and formation of the intestinal immune barrier. Three key systemic axes were identified: gut-thymus (IL-1 $\beta$  intestine/gut  $\leftrightarrow$  Ki-67 thymus:  $r = 0.82$ ), metabolic-proliferative (nucleotide synthesis  $\leftrightarrow$  Ki-67 thymus:  $r = 0.92$ ) and amino acid-inflammatory (valine synthesis  $\leftrightarrow$  CD-3<sup>+</sup> spleen:  $r = 0.81$ ). An inverse correlation was found between systemic and local inflammation ( $r = -0.73$ ), providing oral tolerance. The development of the piglet immune system is a coordinated process driven by hormonal signals, with inter-system integration via microbiota metabolites. The identified critical periods (days 1—7 and 14—21) define “windows” for pharmacological correction of immunodeficiency conditions.

**Keywords:** immune system, piglets, postnatal ontogenesis, cortisol, thymulin, cytokines, intestinal microbiome, metabolic pathways, KEGG

### INTRODUCTION

The early postnatal period of life of farm animals is characterized by high vulnerability to infectious agents due to the immaturity of the immune system [1, 2]. Piglets lack transplacental transfer of immunoglobulins, making them completely dependent on passive immunity obtained with colostrum during the first 24 hours of life [3, 4, 25]. Moreover, as shown by Shakhov et al. [25], the colostrum of sows contains  $73.1 \pm 1.69$  mg/ml of total immunoglobulins, with a predominance of the IgG class (83.1 %), whereas in piglets at birth, the immunoglobulin content is significantly lower —  $0.3 \pm 0.01$  mg/ml, reaching a

maximum 24 hours after colostrum consumption —  $48.8 \pm 2.24$  mg/ml. However, even with adequate colostrum intake, the immune system of newborn piglets remains functionally immature [26], especially in hypotrophic piglets [5, 6], leading to high morbidity and economic losses in pig breeding. Cellular immunity in the early postnatal period is characterized by leukopenia, lymphopenia and a deficiency of T- and B-lymphocytes prior to colostrum ingestion, followed by an increase in these parameters against the background of colostrum protection and a transient decrease by day 14, reflecting a period of weakening passive immunity and the onset of activation of the intrinsic im-

immune system [26]. Modern concepts of immune ontogenesis view the development of the immune system not as an isolated process, but as the result of complex intersystemic integration, including endocrine regulation, cytokine networks and the metabolic activity of the intestinal microbiome [7, 8]. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA axis) plays a key role in modulating the immune response through glucocorticoids, while the thymus-dependent hormone thymulin provides specific support for the T-cell component [9, 10]. The interaction between central (thymus) and peripheral (spleen, lymph nodes, intestine) lymphoid organs is coordinated by cytokine signals, among which type I interferons and transforming growth factor- $\beta$  are of particular importance [11, 12, 30].

In recent years, convincing data has accumulated on the role of the intestinal microbiome as a metabolic “organ” that ensures the synthesis of essential amino acids, nucleotides and vitamins necessary for the proliferation and differentiation of immunocompetent cells [13, 14, 27].

In the article by Parshin et al. [27], in the early neonatal period, normotrophic individuals are dominated by *Enterococcus cecorum*, *Clostridium sensu stricto 2 disporicum*, *Atopobium fossor* and *Faecalicoccus pleomorphus*, while hypotrophic individuals exhibit a decrease in species diversity and a deficiency of these species, which correlates with low reactivity of the innate immune system and disorganization of the lymphoid organs. However, the mechanisms of metabolic coordination between the microbiota and lymphoid organs in the early postnatal period have not been sufficiently studied, which limits the possibilities of de-

veloping pathogenetically based methods for the pharmacocorrection of immunodeficiencies.

The research objective was to identify patterns of immune system development in normotrophic piglets aged 1—21 days and to establish systemic relationships between hormonal status, cytokine profile and metabolic activity of the intestinal microbiome.

## MATERIAL AND METHODS

The study was conducted on 20 F<sub>1</sub> piglets with normal birth weight (1200—1400 g) obtained from healthy sows in parity 3—5 at a large industrial pig breeding farm in Voronezh region. The animals were kept in accordance with accepted standards. Study groups were formed by age: day 1 ( $n = 5$ ), day 7 ( $n = 5$ ), day 14 ( $n = 5$ ) and day 21 ( $n = 5$ ). Euthanasia was performed in compliance with the principles of humane animal welfare (Directive 2010/63/EU). Serum cortisol and thymulin concentrations were detected by enzyme-linked immunosorbent assay using an AIFR-01 UNIPLAN analyzer and commercial reagent kits (Cusabio, China). Concentrations are expressed in ng/ml. Cytokine gene expression (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , IL-8, IL-4, IFN- $\gamma$ ) was determined by quantitative real-time PCR (RT-qPCR) using primers specific for *Sus scrofa* (Table 1). RNA was isolated from blood and jejunal mucosal homogenates using a Syngen kit (Russia). Reverse transcription was performed using a Reverta kit (Amplisens, Russia). The reaction was performed on a CFX96 device (Bio-Rad, USA) using SYBR Green. The  $\beta$ -actin gene was used as a reference. Relative expression was calculated using the  $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$  method.

Table 1

Primer sequences for RT-qPCR

| Gene           | Direct primer       | Reverse primer      |
|----------------|---------------------|---------------------|
| IL-1 $\beta$   | AGCCAGTGAAATGATGGCT | AGGCTGTCTAATGGGAACG |
| TNF- $\alpha$  | CCCTGGTATGAGCCCATG  | CCATTGGCCAGGAGGGAT  |
| IFN- $\alpha$  | GCTGCGGAGAGAGAAGAA  | CAGGTCATCAGCATCCTC  |
| TGF- $\beta$   | CCGCAGCTCAGAGAGAAG  | GGGTTGTGTTGGTTGTAG  |
| IL-8           | TTCGATGCCAGTGCATAA  | GGGTGGAAGGGTGAGA    |
| IL-4           | CCTGGATTCATCGCAACT  | GGTCTTCCTTCTCCTCAC  |
| IFN- $\gamma$  | GCTGACTGAACTGGCAA   | GACTCCTTTTCCGCTTC   |
| $\beta$ -actin | CATCCTGCGTCTGGACCT  | GGTGAGGATCTTCATGAG  |

Thymus, spleen and mesenteric lymph node fragments were fixed in 10 % neutral formalin and embedded in paraffin. 5- $\mu$ m-thick sections were stained immunohistochemically using primary antibodies to Ki-67 (proliferation), CD-3 (T-lymphocytes), and PAX-5 (B-lymphocytes) (Abcam, UK) and the Novolink Polymer imaging system (Leica Biosystems, Germany). The number of positive cells was counted in 10 fields of view ( $\times 400$ ) and expressed as a percentage. Metagenomic DNA was extracted from the jejunum contents using the QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Germany). Sequencing was performed on the DNBSEQ-G50 platform (MGI, China) with amplification of the V3 hypervariable region of 16S rRNA. Bioinformatics analysis included operational taxonomic units (OTU) annotation and metabolic pathway reconstruction using the KEGG and MetaCyc databases with the PICRUST2 package. Pathway activity was expressed as rel. units (0—1). Statistical processing was performed using Statistica v.6.1 (StatSoft, USA).

Normality of distribution was assessed using the Shapiro — Wilk test. The Student's t-test or Mann — Whitney U-test were used to compare groups. The correlation analysis was performed using the Pearson correlation coefficient ( $r$ ). The multivariate regression analysis was used to build predictive models. The differences were considered significant at  $p < 0.05$ .

## STUDY RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of the hormonal profile revealed significant changes in the HPA axis and thymus-dependent regulation (Fig. 1).

On day 1, cortisol levels were at baseline, but by day 7, they sharply increased by 4.5 times ( $p < 0.001$ ), reaching a peak of 666.72 ng/ml. This corresponds to an acute stress response to microflora colonization and primary antigenic stimulation. By day 14, cortisol concentrations had decreased by 58.0 % ( $p < 0.01$ ), and by

day 21, they had returned to baseline levels. Opposite dynamics was observed for thymulin. Thus, against the background of a cortisol peak (day 7), a decrease in thymulin concentrations was observed, whereas with cortisol normalization by day 14, an increase in thymulin concentrations occurred. By day 21, the thymulin level has decreased by 50.6 % from the maximum ( $p < 0.05$ ), which reflects the completion of the acute phase of thymic maturation.

The expression of cytokine profile genes demonstrated biphasic dynamics (Table 2). In the period from 1 to 7 days, a “hyperinflammatory phase” was observed: IL-1 $\beta$  expression increased from 0.037 to 0.672 rel. units (by 18 times,  $p < 0.001$ ), IFN- $\alpha$  — from 0.002 to 0.413 rel. units (by 172 times,  $p < 0.001$ ), indicating activation of innate antiviral immunity and systemic inflammatory response.

In the period from 14 to 21 days, an immunoregulatory phase occurred: the levels of proinflammatory cytokines decreased by 3—5 times, while TGF- $\beta$  expression increased from 0.004 to 0.057 rel. units (by 14 times,  $p < 0.01$ ), indicating the activation of tolerogenesis mechanisms.

In the intestinal mucosa, the dynamics of gene expression was exponential (Fig. 2). By day 21, an explosive increase in the expression of IFN- $\alpha$  genes was observed from 0.002 to 25.211 rel. units (by 12 600 times), IL-1 $\beta$  — from 0.00016 to 1.6245 rel. units (by 10000 times), IL-8 — from 0.00009 to 2.408 rel. units (by 12000 times). This indicates intensive colonization of microbiota and the formation of an intestinal immune barrier. IFN- $\gamma$  showed a sharp increase in the intestine (from 0.0005 to 0.004 rel. units), while IL-4 remained at a low level (0.0005—0.0015 rel. units), indicating insufficient differentiation of Th2 subpopulations and late maturation of the humoral link (Fig. 1).

Immunohistochemical studies revealed organ-specific maturation patterns (Table 3).

**Table 2**

*Dynamics of the cytokine profile in the blood of piglets (rel. units,  $M \pm m$ )*

| Age  | IL-1 $\beta$       | IFN- $\alpha$      | TGF- $\beta$       | TNF- $\alpha$      |
|------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 1 d  | 0.037 $\pm$ 0.005  | 0.002 $\pm$ 0.001  | 0.004 $\pm$ 0.001  | 0.015 $\pm$ 0.003  |
| 7 d  | 0.672 $\pm$ 0.089* | 0.413 $\pm$ 0.052* | 0.008 $\pm$ 0.002  | 0.089 $\pm$ 0.012* |
| 14 d | 0.156 $\pm$ 0.021* | 0.124 $\pm$ 0.018* | 0.031 $\pm$ 0.005* | 0.042 $\pm$ 0.006  |
| 21 d | 0.018 $\pm$ 0.003  | 0.089 $\pm$ 0.011  | 0.057 $\pm$ 0.008* | 0.028 $\pm$ 0.004  |

\*  $p < 0.05$ , compared to the previous point

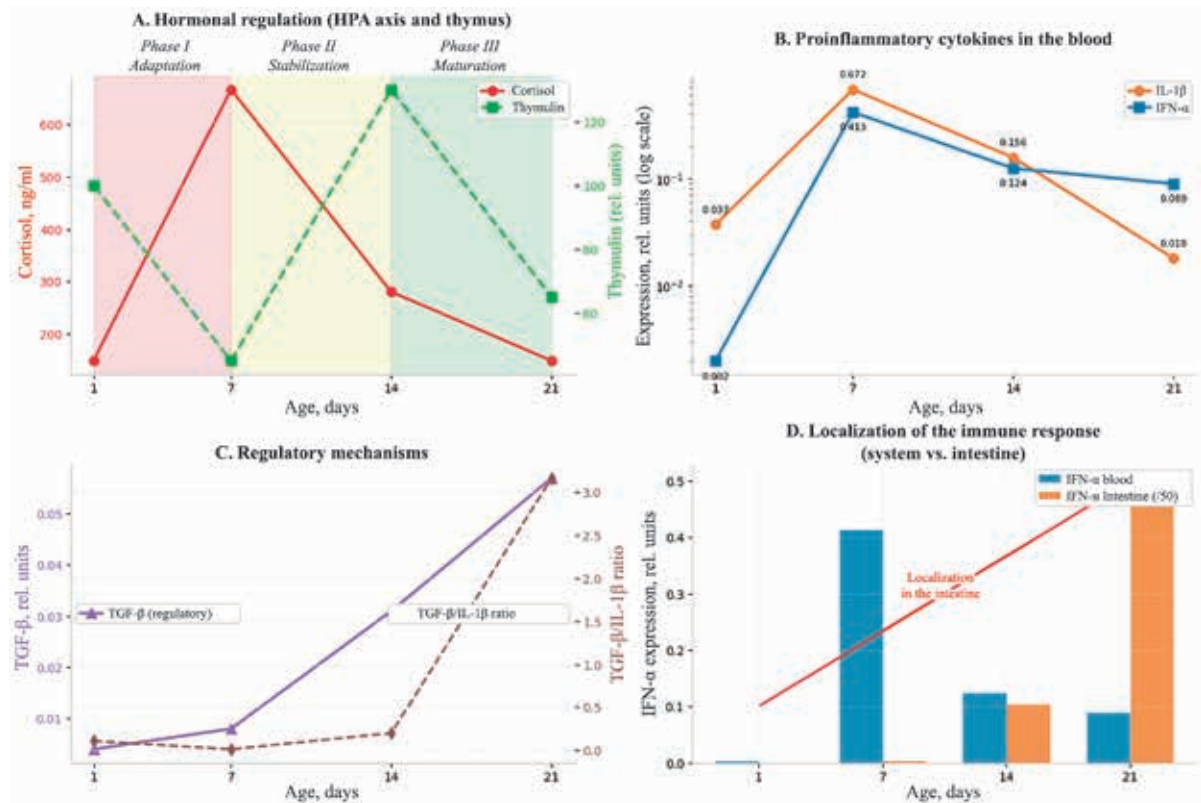


Fig. 1. Dynamics of hormonal status and systemic immunity in normotrophic piglets in the early postnatal period

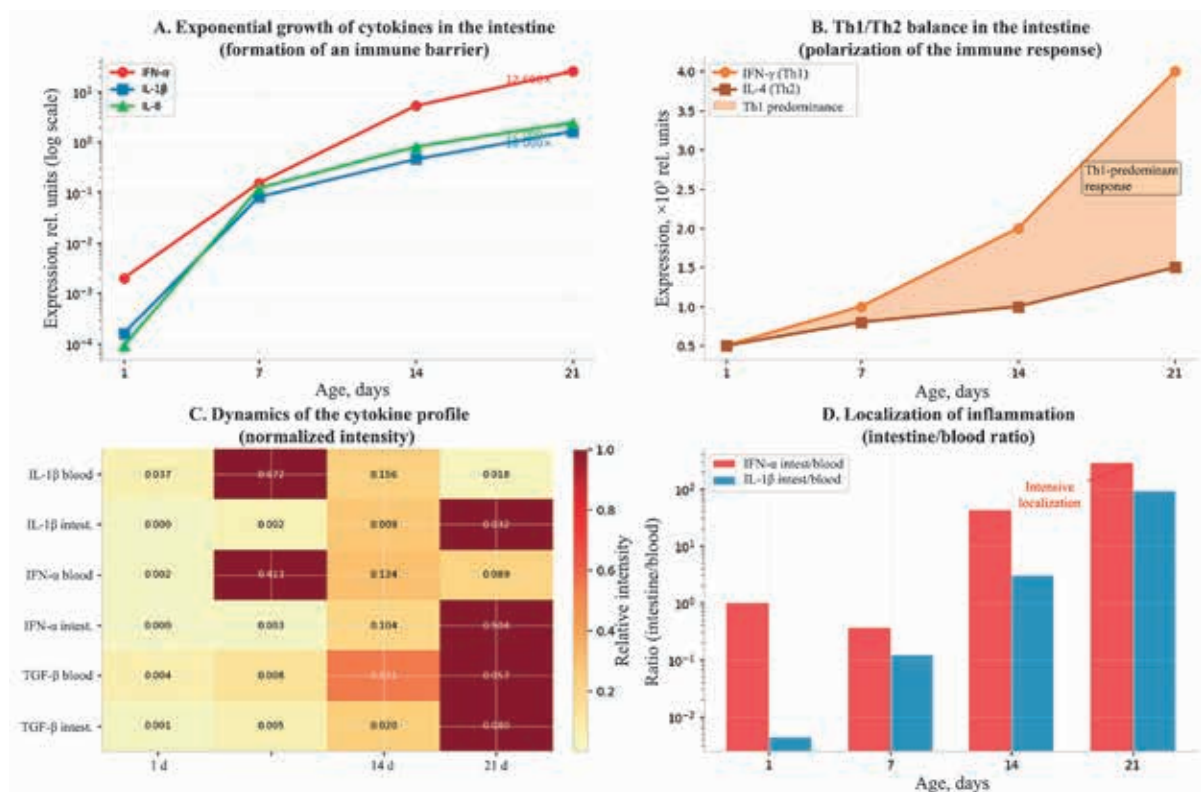


Fig. 2. Dynamics of the cytokine profile and localization of the immune response in the blood-intestine system in piglets in early postnatal ontogenesis

**Table 3***Dynamics of proliferation and differentiation markers in lymphoid organs (% of positive cells,  $M \pm m$ )*

| Organ/Marker           | 1 d             | 7 d              | 14 d             | 21 d             |
|------------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| Thymus                 |                 |                  |                  |                  |
| Ki-67                  | 91.3 $\pm$ 1.74 | 92.7 $\pm$ 0.82  | 93.8 $\pm$ 0.90  | 96.2 $\pm$ 0.46* |
| CD-3 <sup>+</sup>      | 95.6 $\pm$ 2.64 | 97.0 $\pm$ 0.54  | 94.7 $\pm$ 0.42* | 95.8 $\pm$ 0.38  |
| PAX-5                  | 2.44 $\pm$ 1.58 | 1.1 $\pm$ 0.60   | Not detected     | Not detected     |
| Spleen                 |                 |                  |                  |                  |
| Ki-67                  | 60.1 $\pm$ 2.71 | 59.7 $\pm$ 1.20  | 55.0 $\pm$ 0.83  | 64.3 $\pm$ 1.12* |
| CD-3 <sup>+</sup>      | 56.2 $\pm$ 1.33 | 43.6 $\pm$ 1.54* | 46.1 $\pm$ 0.79  | 52.2 $\pm$ 0.51* |
| PAX-5                  | 21.3 $\pm$ 1.41 | 15.3 $\pm$ 1.23  | 53.8 $\pm$ 0.72* | 49.2 $\pm$ 1.36  |
| Lymph nodes (inguinal) |                 |                  |                  |                  |
| Ki-67                  | 56.5 $\pm$ 1.83 | 56.3 $\pm$ 3.01  | 43.6 $\pm$ 0.83* | 50.3 $\pm$ 2.25  |
| CD-3 <sup>+</sup>      | 25.4 $\pm$ 0.76 | 31.3 $\pm$ 1.71  | 37.5 $\pm$ 1.18* | 50.9 $\pm$ 1.66* |
| PAX-5                  | 26.4 $\pm$ 6.27 | 27.2 $\pm$ 13.2  | 34.5 $\pm$ 1.66* | 40.3 $\pm$ 1.39  |

\*  $p < 0.05$ , compared to the previous age point

The thymus demonstrated consistently high proliferative activity (Ki-67 > 91.3 % at all stages) with T-cell dominance (CD-3<sup>+</sup> > 94.0 %). A biphasic dynamics was observed in the spleen: a decrease in T-cells was observed by day 7, followed by a recovery and a significant increase in B-cells (PAX-5) by day 14 (from 15.3 % to 53.8 %,  $p < 0.001$ ). In the lymph nodes, a gradual accumulation of T-cells (from 25.4 % to 50.9 %) and the formation of a B-zone were observed.

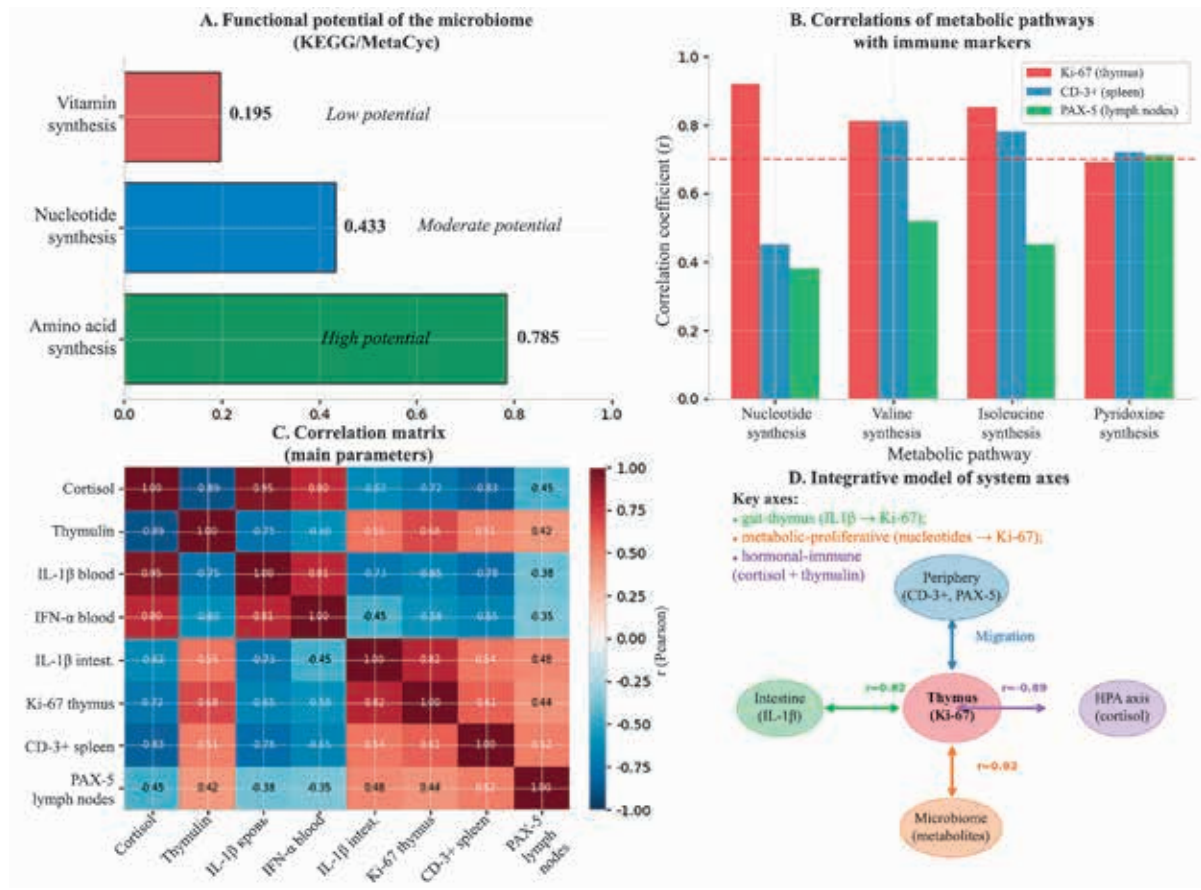
The analysis of the functional potential of the microbiome revealed three key metabolic functions (Fig. 3). The highest activity has been observed for amino acid synthesis (0.785), which is critical for a rapidly growing organism. Moderate activity was observed for the synthesis of nucleotides (0.433), necessary for lymphocyte proliferation. The lowest activity was observed for vitamin synthesis (0.195), indicating dependence on exogenous intake.

Correlation analysis revealed three key systemic axes (Table 4). An inverse correlation has been found between local (intestine) and systemic (blood) inflammation ( $r = -0.73$ ), suggesting an oral tolerance mechanism that prevents the generalization of the inflammatory response. The metabolic pathways for nucleotide and branched-chain amino acid (BCAA) synthesis demonstrated the strongest associations with proliferation in the thymus ( $r = 0.92$  and  $0.85$ , respectively).

A multivariate regression model predicting proliferative activity in the thymus included nucleotide synthesis ( $\beta = 0.47$ ,  $p < 0.001$ ), valine synthesis ( $\beta = 0.32$ ,  $p < 0.01$ ), and systemic IL-1 $\beta$  ( $\beta = 0.21$ ,  $p < 0.05$ ), with a total explained variance of  $R^2 = 0.894$  ( $p < 0.001$ ).

The obtained data indicate a three-phase model of the development of the piglet immune system in the early postnatal period, integrating hormonal, cytokine and metabolic regulation.

Phase I (days 1—7) is adaptation, characterized by an acute stress reaction with a peak in cortisol and a systemic hyperinflammatory response. This phase corresponds to the “window of susceptibility” described in the foreign literature [15, 16]. High levels of cortisol, correlating with systemic cytokines ( $r = 0.95$ ), perform an adaptive function by mobilizing the body’s resources, but suppress thymopoiesis, which is confirmed by the negative correlation of cortisol with thymulin ( $r = -0.89$ ). Our data are consistent with the works of Coutinho A. E. and Chapman K. E. [17], demonstrating the immunosuppressive effect of glucocorticoids on the thymus in the neonatal period. In addition, the use of interferon-containing drugs (Biferon-S) in the early neonatal period helps to increase natural resistance and prevent gastrointestinal diseases [28], which confirms the efficacy of cytokine correction in the critical “window” of days 1—3.



**Fig. 3.** Functional activity of the microbiome (KEGG/MetaCyc) and the formation of the gut-thymus, metabolic-proliferative and hormonal-immune axes in postnatal ontogenesis of piglets

**Table 4**

Key correlations between metabolic, immunological and hormonal parameters

| Parameter 1                  | Parameter 2              | <i>r</i> | <i>p</i> |
|------------------------------|--------------------------|----------|----------|
| Gut-thymus axis              |                          |          |          |
| IL-1β intestine              | Ki-67 thymus             | +0.82    | < 0.001  |
| IFN-α intestine              | Ki-67 thymus             | +0.74    | < 0.01   |
| Metabolic-proliferative axis |                          |          |          |
| Nucleotide synthesis         | Ki-67 thymus             | +0.92    | < 0.001  |
| Valine synthesis             | CD-3 <sup>+</sup> spleen | +0.81    | < 0.001  |
| Isoleucine synthesis         | Ki-67 thymus             | +0.85    | < 0.001  |
| Hormonal-immune axis         |                          |          |          |
| Cortisol                     | IL-1β blood              | +0.95    | < 0.001  |
| Cortisol                     | Thymulin                 | -0.89    | < 0.001  |
| Thymulin                     | CD-3 <sup>+</sup> spleen | +0.51    | < 0.05   |
| Anti-inflammatory regulation |                          |          |          |
| IL-1β intestine              | IL-1β blood              | -0.73    | < 0.01   |
| TGF-β blood                  | Ki-67 thymus             | -0.41    | < 0.05   |

Phase II (days 7—14) — stabilization: normalization of the HPA axis, a decrease in systemic inflammation and activation of regulatory mechanisms through TGF- $\beta$  [29] occur. This phase is critical for the prevention of autoimmune reactions and the formation of immunological tolerance to the commensal microbiota. Interestingly, against the background of a decrease in systemic inflammation in the blood, an increase in the cytokine response in the intestine occurs, which reflects the beginning of the formation of a local immune barrier.

Phase III (days 14—21) — maturation: the immune response is finally localized in the intestine, which is associated with intensive colonization of the microbiota and preparation for weaning. An exponential increase in intestinal cytokine expression (by 10 000—12 600 times) is accompanied by a second wave of proliferation in peripheral lymphoid organs and the formation of mature T- and B-cell populations. This dynamics correlates with the data [18] showing that the microbiota stimulates Th1 polarization through TLR activation and IFN- $\gamma$  production.

A key result is the identification of a metabolic-proliferative axis — a close link between the synthetic potential of the microbiome and the activity of lymphoid organs. The strongest correlation between nucleotide synthesis and proliferation in the thymus ( $r = 0.92$ ) underscores the role of the microbiota as a supplier of “building blocks” for DNA replication under conditions of intense clonal expansion of T-cells. This is consistent with the data [27] showing that hypotrophy is associated with low microbiome diversity and low innate immune reactivity, as well as with the concept of “immune metabolism” [19], according to which lymphocyte proliferation requires exogenous sources of nucleotides and amino acids. The relationship between valine synthesis and the T-cell pool in the spleen ( $r = 0.81$ ) reflects the metabolic dependence of peripheral lymphocytes on microbiota metabolites. BCAA (valine, leucine, isoleucine) are substrates for the synthesis of glutamine, which is critical for the energy supply of the immune response [20].

A comparison with the data obtained in similar studies on hypotrophic piglets [5, 22—24, 27] shows that in case of congenital hypotrophy, all the described processes are impaired: the cortisol peak on day 7 is absent, systemic inflammation is chronically elevated and local cytokine production in the intestine is reduced. This confirms the pathogenetic significance of the identified mechanisms and substantiates the need for pharmacological correction during critical periods (days 1—7 and 14—21).

## CONCLUSION

The development of the immune system in normotrophic piglets in the early postnatal period follows a three-phase model: adaptation (days 1—7) — acute stress and systemic inflammation; stabilization (days 7—14) — normalization of hormonal levels and activation of regulatory mechanisms; maturation (days 14—21) — localization of the immune response in the intestine and formation of peripheral lymphoid structures.

Three key systemic axes coordinating immune ontogenesis were identified: the gut-thymus axis (local inflammation stimulates thymopoiesis), the metabolic-proliferative axis (microbial metabolites promote lymphocyte proliferation) and the hormonal-immune axis (cortisol-thymulin balance). There was established the central role of functionally mature microbiota as a metabolic “partner” of the immune system through the provision of nucleotides and amino acids.

Critical periods for pharmacotherapy were determined: days 1—7 (stress correction and thymopoiesis support) and days 14—21 (modulation of the intestinal immune barrier before weaning). The practical significance of these results lies in the development of pathogenetically based approaches to the prevention of immunodeficiencies in newborn piglets, including the timing of the use of immunomodulators and metabolic correctors.

## REFERENCES

1. Butler J. E., Sinkora, M. The enigma of the lower gut-associated lymphoid tissue (GALT) // *Vet. Immunol. Immunopathol.* — 2013. — Vol. 152, No. 1—2. — P. 3—9. — DOI 10.1016/j.vetimm.2012.09.017
2. Mair K. H., [et al.]. The porcine innate immune system: An update // *Dev. Comp. Immunol.* — 2014. — Vol. 45, No. 2. — P. 321—343. — DOI 10.1016/j.dci.2014.03.010
3. Bandrick M., [et al.]. Maternal immunity enhances *Mycoplasma hyopneumoniae* vaccination induced cell-mediated immune responses in piglets // *BMC Vet. Res.* — 2014. — Vol. 10. — P. 124. — DOI 10.1186/1746—6148—10—124
4. Rooke J. A., [et al.]. The effect of feeding salmon oil to sows throughout pregnancy on pre-weaning mortality of piglets // *Anim. Sci.* — 2001. — Vol. 73, No. 3. — P. 489—500. — DOI 10.1017/S1357729800058701
5. Mikhaylov E. V., [et al.]. Effect of the drug “Prostimul” on the functional group of lymphocytes and the endocrine system of hypotrophic piglets in the neonatal period // *Problemy veterinarnoy sanitarii, gigieny i ekologii* (Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology). — 2024. — No. 4 (52). — P. 613—621. — DOI 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202404018
6. Stokes C. R., Bailey, M., Haverson, K. Development of the intestinal immune system in the pig // *Vet. Immunol.*

- Immunopathol. — 2004. — Vol. 87, No. 3—4. — P. 123—128. — DOI 10.1016/j.vetimm.2003.11.005
7. *Belkaid Y., Hand T. W.* Role of the microbiota in immunity and inflammation // *Cell*. — 2014. — Vol. 157, No. 1. — P. 121—141. — DOI 10.1016/j.cell.2014.03.011
8. *Thaiss C. A., [et al.]*. The microbiome and innate immunity // *Nature*. — 2016. — Vol. 535, No. 7610. — P. 65—74. — DOI 10.1038/nature18847
9. *Savino W., [et al.]*. The thymus is a common target organ in infectious diseases // *PLoS Pathog.* — 2015. — Vol. 11, No. 12. — e1004711. — DOI 10.1371/journal.ppat.1004711
10. *Bach J. F.* The thymus in immunodeficiency diseases // *N. Engl. J. Med.* — 2023. — Vol. 388, No. 5. — P. 456—467.
11. *McNab, F., [et al.]*. Type I interferons in infectious disease // *Nat. Rev. Immunol.* — 2015. — Vol. 15, No. 2. — P. 87—103. — DOI 10.1038/nri3787
12. *Li M. O., [et al.]*. Transforming growth factor- $\beta$  regulation of immune responses // *Annu. Rev. Immunol.* — 2006. — Vol. 24. — P. 99—146. — DOI 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737
13. *Kamada N., [et al.]*. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota // *Nat. Immunol.* — 2013. — Vol. 14, No. 7. — P. 685—690. — DOI 10.1038/ni.2608
14. *Zheng D., [et al.]*. Interaction between microbiota and immunity in health and disease // *Cell Res.* — 2020. — Vol. 30, No. 6. — P. 492—506. — DOI 10.1038/s41422-020-0332-7
15. *Butler J. E., [et al.]*. Antibody repertoire development in fetal and neonatal piglets // *Vet. Immunol. Immunopathol.* — 2005. — Vol. 87, No. 3—4. — P. 339—344.
16. *Sinkora M., Butler J. E.* The ontogeny of the porcine immune system // *Dev. Comp. Immunol.* — 2009. — Vol. 33, No. 3. — P. 273—283. — DOI 10.1016/j.dci.2008.05.003
17. *Coutinho A. E., Chapman K. E.* The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights // *Mol. Cell. Endocrinol.* — 2011. — Vol. 335, No. 1. — P. 2—13. — DOI 10.1016/j.mce.2010.04.005
18. *Ivanov I. I., [et al.]*. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria // *Cell*. — 2009. — Vol. 139, No. 3. — P. 485—498. — DOI 10.1016/j.cell.2009.09.033
19. *O'Neill L. A. J., [et al.]*. A guide to immunometabolism for immunologists // *Nat. Rev. Immunol.* — 2016. — Vol. 16, No. 9. — P. 553—565. — DOI 10.1038/nri.2016.70
20. *Carr E. L., [et al.]*. Glutamine uptake and metabolism are coordinately regulated by ERK/MAPK during T lymphocyte activation // *J. Immunol.* — 2010. — Vol. 185, No. 2. — P. 1037—1044. — DOI 10.4049/jimmunol.0903586
21. *Round J. L., Mazmanian S. K.* The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease // *Nat. Rev. Immunol.* — 2009. — Vol. 9, No. 5. — P. 313—323. — DOI 10.1038/nri2515
22. *Mikhaylov E. V., [et al.]*. Effect of the drug “Prostimul” on energy metabolism and the non-enzymatic link of the antioxidant system in piglets with congenital hypotrophy // *Uchenye zapiski UO VGAVM (Transactions of EE VSAMV)*. — 2024. — Vol. 60, issue 2. — P. 37—42. — DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-2-37-42
23. *Mikhaylov E. V., [et al.]*. Effect of the drug “Prostimul” on the elemental homeostasis of hypotrophic piglets of the early neonatal period // *Uchenye zapiski UO VGAVM (Transactions of EE VSAMV)*. — 2024. — Vol. 60, issue 3. — P. 34—39. — DOI 10.52368/2078-0109-2024-60-3-34-39
24. *Shakhov A. G., [et al.]*. Effect of interferon-containing drugs on the pro- and antioxidant status in newborn piglets // *Uchenye zapiski UO VGAVM (Transactions of EE VSAMV)*. — 2022. — Vol. 58, issue 1. — P. 109—113. — DOI 10.52368/2078-0109-58-1-109-113
25. *Shakhov A. G., [et al.]*. State of humoral immunity in lactating sows and suckling piglets // *BIO Web of Conferences*. — 2021. — Vol. 36. — 06018.
26. *Shakhov A. G., [et al.]*. State of cellular immunity in piglets in the early postnatal period // *Rossiyskaya selskokhozyaystvennaya nauka (Russian Agricultural Science)*. — 2020. — No. 3.
27. *Parshin P. A., [et al.]*. Role of intestinal microbiota in the development of the immune system of newborn piglets // *Selskokhozyaystvennaya biologiya (Agricultural Biology)*. — 2025. — Vol. 60. — P. 651—663.
28. *Shakhov A. G., [et al.]*. Effect of Biferon-S on the natural resistance and clinical status of piglets during immunomodulatory prevention of postpartum diseases in sows // *Uchenye zapiski UO VGAVM (Transactions of EE VSAMV)*. — 2020. — Vol. 56, issue 4. — P. 72—77.
29. *Shutikov V. A., [et al.]*. Dynamic characteristics of the relative expression level of the genes TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  in the jejunal tissue of piglets with perinatal hypotrophy against the background of its correction with the drug “Prostimul” // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2026. — No. 1 (34). — P. 64—77.
30. *Mikhaylov E. V., [et al.]*. Assessment of the effect of the drug Prostimul on the antioxidant protection system of piglets under technological stress // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2025. — No. 1 (30). — P. 112—126.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

**E. V. Mikhaylov** — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems.

The article was submitted 22.07.2026.

Научная статья

УДК:619:615.37:636.4

DOI: 10.65173/2541-8203.2026.30.99.013

## ОПТИМИЗАЦИЯ ГОМЕОСТАЗА ПОРОСЯТ «ПРОАУТОВАКОМ-С» ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ИХ ПРОТИВ КЛАССИЧЕСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Алексей Гаврилович Шахов<sup>✉</sup>, Лариса Юрьевна Сашнина,  
Владимир Николаевич Коцарев, Галина Анатольевна Востроилова,  
Ольга Алексеевна Манжурина, Дмитрий Игоревич Шабанов,  
Владимир Антонович Прокулевич

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии,  
фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, vnivipat@mail.ru<sup>✉</sup>*

**Аннотация.** Изучено влияние «Проаутовака-С» на биохимический статус поросят при иммунизации против классической чумы свиней, сопровождающейся развитием стресс-реакции. Установлено, что «Проаутовак-С» оказал выраженное оптимизирующее влияние на метаболический статус животных, проявляющееся активацией увеличением количества общего белка,  $\gamma$ -глобулинов, снижением показателей прооксидантного статуса и повышением антиоксидантной защиты, что обусловлено наличием в его составе ГМ-КСФ, регулирующего пролиферацию и дифференциацию клеток миелодного ряда,  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов, обеспечивающих регуляцию клеточного и гуморального иммунного ответа, и витаминов А, Е и С, обладающих антиоксидантными свойствами и играющих большую роль в регуляции окислительно-восстановительных процессов в организме.

**Ключевые слова:** поросята, вакцинация, КЧС, биохимический статус, «Проаутовак-С», ГМ-КСФ,  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерфероны, витамины А, Е и С

Применяемые в Российской Федерации живые вакцины против классической чумы свиней обеспечивают эпизоотическое благополучие промышленных свиноводческих хозяйств по заболеванию [1, 2].

При специфической профилактике инфекционных болезней взаимодействие макроорганизма и вакцинных антигенов проявляется не только изменениями со стороны иммунной системы, но и других органов и систем, принимающих участие в формировании иммунологической перестройки [3, 4].

Введение вакцин у животных сопровождается развитием стресс-реакции, что может негативно влиять на течение метаболических процессов, проявляющихся развитием интоксикации организма, ослаблением их резистентности и антиоксидантной системы защиты, а также снижением показателей продуктивности и сохранности поголовья [5—9].

Влияние иммунизации поросят против классической чумы свиней проявляется тенденцией к снижению интенсивности эритропоэза, активности сосудисто-тромбоцитарного механизма гемостаза, повышением функциональной нагрузки на печень и почки, интенсификацией процессов перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации [9]. Поддержание гомеостаза и реализация защитно-приспособительных реакций организма неразрывно связаны с балансом между интенсивностью перекисного окисления липидов и активностью антиоксидантной защиты [10]. Эндогенная интоксикация выступает катализатором окислительного стресса за счет стимуляции продукции активных форм кислорода. Показателями выраженности этого состояния служат уровень среднемолекулярных пептидов и индекс эндогенной интоксикации [11].

Ослабление антиоксидантной системы организма в условиях стресса и повышенной антигенной нагрузке сопровождается избыточным накоп-

© Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Коцарев В. Н., Востроилова Г. А., Манжурина О. А., Шабанов Д. И., Прокулевич В. А., 2026

лением продуктов перекисного окисления липидов, которые оказывают цитотоксическое действие, подавляя синтез нуклеиновых кислот и белков, дезактивируя ферментативные системы и нарушая целостность клеточных мембран. В совокупности эти процессы ведут к метаболическим расстройствам и супрессии клеточного и гуморального иммунитета [12, 13].

Ранее проведенными исследованиями установлено, что иммунизация сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов, что коррелирует со снижением активности каталазы и повышением уровня синтеза оксида азота [13].

Для оптимизации гомеостаза, снижения отрицательного влияния вакцинаций на макроорганизм рекомендованы пробиотики [14], биогенные стимуляторы [13], интерфероны [15, 16], интерлейкин-1 [17].

Цель исследования — изучение влияния «Проаутовака-С» на гомеостаз поросят при вакцинации против классической чумы свиней.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены в свиноводческом хозяйстве на 2 группах по 25—30 поросят. В 45-дневном возрасте животные были вакцинированы против классической чумы свиней культуральной вакциной (производство ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир). Поросятам первой группы служили контролем. Животным второй (опытной) группы одновременно с вакциной внутримышечно вводили «Проаутовак-С», содержащий в своем составе ГМ-

КСФ,  $\alpha$ - и  $\gamma$ - интерфероны свиньи рекомбинантные и витамины А, Е и С, по 1 мл/10 массы тела.

От поросят ( $n = 5$ ) до иммунизации и 5 животных из каждой группы спустя 13 дней после введения биопрепаратов были взяты пробы крови биохимических исследований.

Биохимические исследования сыворотки крови проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по применению биохимических методов исследований крови животных» [18]. Содержание малонового диальдегида (МДА), активность глутатионпероксидазы (ГПО) и каталазы определяли в соответствии с «Методическими положениями по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма» [19]. Индекс эндогенной интоксикации (ИЭИ) в сыворотке крови определяли по содержанию веществ низкой и средней молекулярной массы [20], концентрацию стабильных метаболитов азота в плазме крови — спектрофотометрическим методом [21].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica, версия 6.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

У поросят контрольной группы на 14 день после иммунизации отмечено увеличение содержания МДА на 32,5 %, среднемолекулярных пептидов — на 24,3 % и индекса эндогенной интоксикации — на 31,1 %, что свидетельствовало об активации процессов перекисидации липидов (табл. 1).

Таблица 1

Показатели специфического клеточного иммунитета у поросят

| Показатели                            | Фон              | Группы             |                     |
|---------------------------------------|------------------|--------------------|---------------------|
|                                       |                  | контрольная        | опытная             |
| МДА, мкМ/л                            | $1,63 \pm 0,04$  | $2,16 \pm 0,11^*$  | $1,58 \pm 0,13 +$   |
| Каталаза, мкМ $H_2O_2$ /л·мин· $10^3$ | $53,8 \pm 2,03$  | $53,6 \pm 1,28$    | $69,9 \pm 0,96^* +$ |
| ГПО, ВГ/л·мин· $10^3$                 | $13,4 \pm 0,55$  | $12,1 \pm 1,11$    | $16,2 \pm 0,67^* +$ |
| $NO^x$ , мкМ/л                        | $52,8 \pm 2,48$  | $54,3 \pm 3,55$    | $67,9 \pm 1,79^* +$ |
| СМП, у. е.                            | $0,74 \pm 0,033$ | $0,92 \pm 0,064^*$ | $0,82 \pm 0,055 +$  |
| ИЭИ, у. е.                            | $16,1 \pm 0,37$  | $21,1 \pm 0,49^*$  | $18,5 \pm 0,53^* +$ |

\*  $p < 0,05$  —  $P < 0,001$  — к фону

+  $P < 0,05$  —  $P < 0,001$  — к контролю

При этом активность ферментов антиоксидантной защиты каталазы и ГПО была снижена на 5,6 и 9,5 % соответственно, что обусловлено накоплением токсических продуктов перекисного окисления липидов, в частности, малонового диальдегида, и, как следствие, повышения уровня среднемолекулярных пептидов биохимического маркера эндогенной интоксикации.

Негативное влияние на гомеостаз животных вакцинации, проявляющееся усилением процессов перекисного окисления липидов и повышением уровня эндогенной интоксикации, оказывает иммуносупрессивное действие на факторы специфического иммунитета, инактивируя ферменты, изменяя структурно-функциональное состояние биомембран иммунокомпетентных клеток.

В тоже время иммунизация инициирует активацию системы врожденного и адаптивного иммунитета, в том числе провоспалительных цитокинов и противовоспалительных медиаторов, индуцирующих клеточный и гуморальный иммунитет. При этом локальный воспалительный процесс, обусловленный вакцинным антигеном, провоцирует деструкцию тканей, сопровождающуюся выходом внутриклеточных компонентов в межклеточное

пространство, что закономерно повышает концентрацию среднемолекулярных пептидов.

У животных опытной группы вакцинированных в сочетании с «Проаутовак-С» установлено повышение содержания среднемолекулярных пептидов — на 10,8 % и индекса эндогенной интоксикации — на 14,9 %. При этом их значения были меньше аналогичных показателей поросят контрольной группы на 10,9 и 12,3 % соответственно.

Наряду с этим у поросят опытной группы наблюдалось повышение активности каталазы на 29,9 % и ГПО — на 20,8 %, а также уровня стабильных метаболитов оксида азота — на 28,6 %, которые превышали аналогичные значения животных контрольной группы на 30,4 %, на 33,9 и 25,0 % соответственно, что свидетельствует об активации системы антиоксидантной защиты. При биохимическом исследовании крови (табл. 2) у поросят контрольной группы установлено повышение содержания  $\alpha$ -глобулинов, содержащих острофазные белки воспаления, на 8,3 % и  $\gamma$ -глобулинов, участвующих в формировании специфического иммунного ответа, на 34,8 %, при снижении количества альбуминов на 12,8 %, играющих значительную роль в детоксикации организма (табл. 2).

Таблица 2

Показатели специфического клеточного иммунитета у поросят

| Показатели             | Фон         | Группы       |                |
|------------------------|-------------|--------------|----------------|
|                        |             | контрольная  | опытная        |
| Общий белок, г/л       | 59,6 ± 0,32 | 60,1 ± 0,09  | 62,3 ± 0,45* + |
| Альбумины, %           | 47,6 ± 0,83 | 41,5 ± 0,54* | 44,1 ± 0,48*   |
| $\alpha$ -глобулины, % | 15,6 ± 0,41 | 16,9 ± 0,18  | 13,1 ± 0,41* + |
| $\beta$ -глобулины, %  | 21,3 ± 0,26 | 20,7 ± 0,34  | 19,3 ± 0,25* + |
| $\gamma$ -глобулины, % | 15,5 ± 0,57 | 20,9 ± 0,49* | 23,5 ± 0,31* + |

\*  $p < 0,05$  —  $P < 0,001$  — к фону

+  $P < 0,05$  —  $P < 0,001$  — к контролю

Известно, что вакцинация, сопровождающаяся повышенной антигенной нагрузкой, приводит к избыточному накоплению в организме активных форм кислорода, образующихся в процессе активации ПОЛ, способных окислять мембранные структуры, в т. ч. белковые компоненты и инактивировать мембранные ферменты. Повреждение мембран и нарушение работы мембраносвязанных систем, в том числе участвующих в транспорте аминокис-

лот косвенно влияет на белковый обмен. Кроме того, при окислительном стрессе могут повреждаться рибосомы или факторы трансляции, снижая эффективность синтеза белка, накапливаться повреждённые, нефункциональные белки и нарушаться работа систем, зависящих от белков (ферментативных, транспортных, регуляторных). При этом модифицированные белки считаются надежным маркером окислительного повреждения из-за

распространенности и стабильности продуктов их окисления [22].

В протеинограмме поросят опытной группы установлено уменьшение количества альбуминов 7,4 %, при этом их значение было больше, чем в контроле на 6,3 %. Содержание  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулинов снизилось на 16,0 и 9,4 % и было меньше аналогичных показателей контроля на 22,5 и 6,8 % соответственно.

При этом уровень  $\gamma$ -глобулинов, содержащих антитела, увеличился на 51,6 % и превышал показатель контроля на 11,2 %, что свидетельствует о более выраженной гуморальной защите.

Таким образом, применение «Проаутовака-С», содержащего в своем составе ГМ-КСФ,  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерфероны свиные рекомбинантные и витамины А, Е и С, одновременно с введением вакцины против КЧС положительно сказалось на метаболическом статусе животных, снижая поствакцинальный синдром.

Иммуномодулирующее действие интерферонов определяется индукцией системы эндогенного интерферона, активизацией клеточного и гуморального иммунитета. При этом  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерфероны свиные рекомбинантные оказывают противовоспалительное действие, воздействуют на клеточное звено иммунной системы, стимулируя литическую активность лимфоцитов, специфических цитотоксичных Т-лимфоцитов и макрофагов, повышая эффективность иммунного распознавания антигена, активизируют образование специфических антител В-лимфоцитами и способствуют оптимизации метаболических процессов в организме животных [23, 24].

Входящий в состав препарата ГМ-КСФ, являясь ключевым ростовым фактором, обеспечивает регуляцию пролиферации, дифференцировки и созревания миелоидных клеток-предшественников, модулирует функциональную активность зрелых нейтрофилов: активирует фагоцитоз, индуцирует синтез молекул адгезии и повышает уровень экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса (МНС—II). Кроме того, ГМ—CSF стимулирует синтез IL-12 и TNF- $\alpha$ , а также индуцирует высвобождение моноцитами хемотаксического белка MCP-1, выступающего в роли ключевого медиатора миграции нейтрофилов и моноцитов в очаг воспаления [25].

Витамины А, Е и С, входящие в состав «Проаутовака-С», являются активными антиоксидантами, играют важную роль в регуляции окислительно-восстановительных процессов, оказывают

положительное влияние на нормальное функционирование иммунной системы животных [26, 27].

Витамин А выступает в роли эффективного антиоксиданта, обеспечивая защиту липидов клеточных мембран от окислительного повреждения, вызванного синглетным кислородом. Благодаря наличию в молекулярной структуре системы сопряженных двойных связей, витамин А способен нейтрализовать свободные радикалы, тем самым ингибируя процессы перекисного окисления липидов [28].

Витамин Е выступает в роли мощного антиоксиданта, подавляющего перекисное окисление липидов на этапе инициации. Он блокирует цепные реакции окисления, предотвращает накопление гидропероксидов и нейтрализует различные активные формы кислорода, такие как синглетный кислород, а также пероксильные и алкоксильные радикалы. Кроме антиоксидантных свойств,  $\alpha$ -токоферол участвует в регуляции метаболизма фосфолипидов в клеточных мембранах, что при патологии способствует улучшению оксигенации тканей. Благодаря способности стабилизировать мембранные структуры и формировать комплексы с жирными кислотами, витамин Е значительно повышает устойчивость клеток к повреждающему воздействию свободных радикалов [19].

Будучи эффективным восстановителем, аскорбиновая кислота инактивирует активные формы кислорода (включая супероксидные и гидроксильные радикалы), что способствует росту антиоксидантного потенциала плазмы.

Витамин С также выполняет коферментные функции в ряде метаболических путей, стимулирует детоксикационную и белоксинтезирующую активность гепатоцитов, а также модулирует иммунный ответ [19].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено, что применение комплексного препарата «Проаутовак-С», содержащего в своем составе ГМ-КСФ,  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерфероны свиные рекомбинантные и витамины А, Е и С, одновременно с вакциной против классической чумы свиней способствовало существенной коррекции метаболических процессов у подопытных животных, проявляющейся в нормализации белкового обмена, активации антиоксидантной защиты и снижения интенсивности процессов перекисного окисления липидов и может быть рекомендован для специфической профилактики инфекционных болезней

Таким образом, результаты проведенных исследований дают основание рекомендовать применение «Проаутовака-С» одновременно с вакцинами для оптимизации биохимического статуса животных при специфической профилактике инфекционных болезней.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Сергеев В. А.* Вакцины и стратегическая вакцинация против классической чумы свиней / В. А. Сергеев, Б. Г. Орлянкин, К. П. Алексеев, А. Д. Забережный, Т. И. Алипер, Е. А. Непоклонов // *Ветеринария*. — 2018. — № 4. — С. 3—11.
2. *Шевцов А.* Классическая чума свиней: перспективы искоренения / А. Шевцов // *Животноводство России*. — 2021. — № 10. — С. 27—30.
3. *Шахов А. Г.* Влияние вакцинации поросят против цирковирусной инфекции на морфологические и биохимические показатели крови / А. Г. Шахов, В. Н. Коцарев, Л. Ю. Сашнина, В. Н., Ю. Ю. Владимирова, В. Ю. Боев // *Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины»*. — 2024. — Т. 60, № 2. — С. 58—62.
4. *Сашнина Л. Ю.*, Формирование специфического иммунитета у поросят при вакцинации против классической чумы / Л. Ю. Сашнина, А. Г. Шахов, О. А. Манжурина, Ю. Ю. Владимирова, И. В. Волкова, Г. В. Никоненко // *Ветеринарный фармакологический вестник*. — 2024. — № 2 (27). — С. 150—165
5. *Шляпникова З. Г.* Развитие эндотоксикоза в организме поросят при стресс-реакции / З. Г. Шляпникова, Р. Е. Киселева, Л. П. Тельцов, Е. Ю. Бояркина // *Морфологические ведомости*. — 2007. — № 3—4. — С. 216—219.
6. *Temple D.* Welfare Benefits of Intradermal Vaccination of Piglets / D. Temple, M. Jimenez, D. Escribano et al. // *Animals*. — 2020. — Vol. 10. — P. 1898—1910.
7. *Hudson R. E.* Immune Responses and Performance Are Influenced by Respiratory Vaccine Antigen Type and Stress in Beef Calves / R. E. Hudson, D. J. Tomczak, E. L. Kaufman et al. // *Animals*. — 2020. — Vol. 10. — P. 1119—1135.
8. *Scollo A.* Evaluation of pain and stress in three-week old piglets in relation to route of vaccine administration / A. Scollo, S. Minervini, M. Galli et al. // *Livestock Science*. — 2020. — Т. 233. — P. 103939—103944.
9. *Шахов А. Г.* Биохимический статус поросят при вакцинации против классической чумы и рожи свиней / А. Г. Шахов, В. Н. Коцарев, Л. Ю. Сашнина, О. А. Манжурина, Г. Г. Чусова // *Ветеринарный фармакологический вестник*. — 2024. — № 2 (27). — С. 137—149.
10. Молекулярно-биохимические механизмы стресса и адаптации / М. И. Рецкий [и др.] // *Эколого-адаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности животных в современных условиях*. — Воронеж: Воронежский государственный университет, 2001. — С. 29—85.
11. Показатели эндогенной интоксикации и оксида азота при воспалительных процессах в репродуктивных органах свиноматок / Ю. Н. Бригадиров [и др.] // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. — 2018. — № 7. — С. 6—11
12. *Бузлама В. С.* Роль стрессовых дезадаптации в возникновении и развитии патологии / В. С. Бузлама, М. И. Рецкий // *Концепция эколого-адаптационной теории возникновения, развития массовой патологии и защиты здоровья животных в сельскохозяйственном производстве* / Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии РАСХН. — Москва: Российский научно-исследовательский институт информации и технико-экономических исследований по инженерно-техническому обеспечению агропромышленного комплекса, 2000. — С. 24—31.
13. *Шахов А. Г.* Антиоксидантный статус вакцинированных белых крыс против сальмонеллеза при хроническом воздействии Т-2 токсина и его коррекция аминокислотами / А. Г. Шахов, С. В. Шабунин, Г. А. Востроилова, Г. А. Близначева, Л. Ю. Сашнина, Ю. А. Канторович и др. // *Российская сельскохозяйственная наука*. — 2017. — № 5. — С. 54—57.
14. *Никитина Е. А.* Пробиотики: настоящее и будущее / Е. А. Никитина, С. В. Орлова, А. А. Орлова // *Медицинский алфавит*. — 2021. — № 21. — С. 101—114.
15. *Прокулевич В. А.* Ветеринарные препараты на основе интерферона / В. А. Прокулевич, М. И. Потапович // *Вестник БГУ: Серия 2*. — 2011. — № 3. — С. 51—55.
16. *Аянот П. К.* Интерфероны в животноводстве / П. К. Аянот // *Ветеринария*. — 2025. — № 3. — С. 11—16.
17. *Симбирцев А. С.* Новые возможности применения рекомбинантных цитокинов в качестве адъювантов при вакцинации / А. С. Симбирцев, А. В. Петров, Н. В. Пигарева, А. Т. Николаев // *БИОпрепараты*. — 2011. — № 1. — С. 16—20.
18. Методические рекомендации по применению биохимических методов исследований крови животных / М. И. Рецкий, А. Г. Шахов, В. И. Шушлебин и др., Воронеж. — 2005. — 94 с.
19. Методические положения по изучению процессов свободнорадикального окисления и системы антиоксидантной защиты организма / М. И. Рецкий, С. В. Шабунин, Г. Н. Близначева и др. — Воронеж: Истоки, 2010. — 70 с.
20. *Гребнева О. Л.* Способ подсчета показателей веществ низкой и средней молекулярной массы плазмы крови / О. Л. Гребнева, Е. А. Ткачук, В. О. Чубейко // *Клиническая лабораторная диагностика*. — 2006. — № 2. — С. 17—18.

21. Близнецова Г. Н. Спектрофотометрический метод определения оксида азота / Г. Н. Близнецова, Н. В. Ермакова, З. Д. Мухаммед, М. И. Рецкий // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2002. — № 1. — С. 56—60.
22. Дубинина Е. Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е. Е. Дубинина, А. В. Пустыгина // Укр.біохімі. журн. — 2008. — Т. 80, № 6. — С. 5—18.
23. Зайцев В. В. Влияние альфа- и гамма-интерферонов рекомбинантных свиных на иммуногенность колибактериозных антигенов / В. В. Зайцев, М. О. Билецкий, О. Р. Билецкий, А. В. Зайцева // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины». — 2018. — Т. 54, вып. 1. — С. 9—13.
24. Шахов А. Г. Оптимизация метаболизма свиноматок Бифероном-С / А. Г. Шахов, С. В. Шабунин, Г. А. Востроилова, А. А. Гогун, П. А. Паршин, В. И. Моргунова, Г. Г. Чусова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. — 2018. — № 9. — С. 41—48.
25. Зурочка А. В. Иммунобиологические свойства гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и синтетических пептидов его активного центра / А. В. Зурочка, В. А. Зурочка, М. А. Добрынина, В. А. Гриценко // Медицинская иммунология. — 2021. — Т. 23, № 5. — С. 1031—1054.
26. Полосьяныч О. Б. Витамины- антиоксиданты в профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний // Русский медицинский журнал. — 2005. — Т. 13, № 11. — С. 780.
27. Кинаш М. И. Жирорастворимые витамины и иммунодефицитные состояния: механизмы влияния и возможности использования/М.И. Кинаш, О. Р. Боярчук// Вопросы питания. —2020 — Т. 89, № 3. — С. 22—32.
28. Шашкина М. Я. Роль каротиноидов в профилактике наиболее распространенных заболеваний/ М.Я Шашкина, А.В Сергеев//Российский биотерапевтический журнал. —2010. —№ 1, Т. 9. — С77—86.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

- А. Г. Шахов** — член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник;  
**Л. Ю. Сашнина** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;  
**В. Н. Коцарев** — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;  
**Г. А. Востроилова** — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник;  
**О. А. Манжурина** кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;  
**Д. И. Шабанов** — научный сотрудник;  
**В. А. Прокулевич** — доктор биологических наук, профессор.

Статья поступила в редакцию 04.08.2026.

## OPTIMIZATION OF PIGLET HOMEOSTASIS USING “PROAUTOVAK-S” DURING VACCINATION AGAINST CLASSICAL SWINE FEVER

Aleksey Gavrillovich Shakhov✉, Larisa Yuryevna Sashnina, Vladimir Nikolaevich Kotsarev,  
Galina Anatolyevna Vostroilova, Pavel Andreevich Parshin, Olga Alekseevna Manzhurina,  
Dmitriy Igorevich Shabanov, Vladimir Antonovich Prokulevich

*All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology  
and Therapy, Voronezh, Russia, vnivipat@mail.ru\**

**Abstract.** The study investigated the effect of “Proautovak-S” on the biochemical status of piglets during immunization against classical swine fever, a process accompanied by a stress response. It was found that “Proautovak-S” exerted a pronounced optimizing effect on the animal metabolic status. This was manifested by increased levels of total protein and  $\gamma$ -globulins, reduced pro-oxidant status indicators and enhanced antioxidant defense. These effects are attributed to the drug composition, which includes GM—CSF (regulating the proliferation and differentiation of myeloid cells), interferons  $-\alpha$  and  $-\gamma$  (regulating cellular and humoral immune responses), and vitamins A, E and C (possessing antioxidant properties and playing a key role in regulating redox processes in the body).

**Keywords:** piglets, vaccination, CSF, biochemical status, “Proautovak-S”, GM—CSF, interferons  $-\alpha$  and  $-\gamma$ , vitamins A, E and C

Live vaccines against classical swine fever (CSF) used in the Russian Federation ensure the epizootic safety of commercial pig breeding farms regarding this disease [1, 2].

In the specific prophylaxis of infectious diseases, the interaction between the host organism and vaccine antigens manifests not only through changes in the immune system but also in other organs and systems involved in the development of immunological restructuring [3, 4].

Vaccination in animals triggers a stress response that can adversely affect metabolic processes, manifesting as systemic intoxication, a weakening of physiological resistance and antioxidant defense system, and reduced productivity and herd survival rates [5—9].

Immunization of piglets against classical swine fever is associated with a tendency toward reduced erythropoiesis and vascular-platelet hemostasis activity, increased functional strain on the liver and kidneys, and an intensification of lipid peroxidation and endogenous intoxication processes [9].

The maintenance of homeostasis and the execution of the body’s protective and adaptive reactions are in-

extricably linked to the balance between the intensity of lipid peroxidation and the activity of the antioxidant defense system [10]. Endogenous intoxication acts as a catalyst for oxidative stress by stimulating the production of reactive oxygen species. The severity of this condition is indicated by the level of medium-molecular-weight peptides (MMWPs) and the index of endogenous intoxication (IEI) [11].

A weakening of the body’s antioxidant system under conditions of stress and increased antigenic load is accompanied by the excessive accumulation of lipid peroxidation products, which exert a cytotoxic effect by inhibiting nucleic acid and protein synthesis, deactivating enzyme systems, and disrupting the integrity of cell membranes. Collectively, these processes lead to metabolic disorders and the suppression of cellular and humoral immunity [12, 13].

Previous studies have established that immunization is accompanied by the activation of lipid peroxidation processes, which correlates with reduced catalase activity and increased nitric oxide synthesis [13].

To optimize homeostasis and mitigate the adverse effects of vaccination on the host organism, the use of

© Shakhov A. G., Sashnina L. Y., Kotsarev V. N., Vostroilova G. A., Parshin P. A., Manzhurina O. A., Shabanov D. I., Prokulevich V. A., 2026

probiotics [14], biogenic stimulators [13], interferons [15, 16] and interleukin-1 [17] has been recommended.

The research objective was to investigate the effect of “Proautovak-S” on the homeostasis of piglets during vaccination against classical swine fever.

## MATERIAL AND METHODS

The study was conducted at a pig breeding farm using two groups of 25—30 piglets each. At 45 days of age, the animals were vaccinated against classical swine fever using a cell-culture vaccine (manufactured by the Federal Center for Animal Health, Vladimir). The piglets in the first group served as the control. The animals in the second (experimental) group were given an intramuscular injection of “Proautovak-S”, containing GM—CSF, recombinant porcine interferons - $\alpha$  and - $\gamma$ , and vitamins A, E and C at a dosage of 1 ml per 10 kg of body weight, administered concurrently with the vaccine.

Blood samples for biochemical analysis were collected from the piglets ( $n = 5$ ) prior to immunization and from five animals in each group 13 days after the administration of the biological preparations.

Biochemical analysis of blood serum was performed in accordance with the Methodological

Recommendations on the Use of Biochemical Methods for Animal Blood Analysis [18].

Malondialdehyde (MDA) content and the activity of glutathione peroxidase (GPx) and catalase were determined in accordance with the Methodological Guidelines for Studying Free-Radical Oxidation Processes and the Body’s Antioxidant Defense System [19].

The index of endogenous intoxication in blood serum was determined based on the content of low- and medium-molecular-weight substances [20], while the concentration of stable nitrogen metabolites in blood plasma was measured using a spectrophotometric method [21].

Statistical analysis of the obtained results was performed using the Statistica software package (version 6.0).

## RESULTS AND DISCUSSION

In the piglets of the control group, 14 days after immunization, an increase was observed in the levels of MDA (by 32.5 %) and medium-molecular-weight peptides (by 24.3 %), as well as in the index of endogenous intoxication (by 31.1 %), indicating activation of lipid peroxidation processes (Table 1).

**Table 1**

*Indicators of specific cellular immunity in piglets*

| Indicators                                                                 | Baseline         | Groups             |                     |
|----------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------------|---------------------|
|                                                                            |                  | control            | experimental        |
| MDA, $\mu\text{M/L}$                                                       | $1.63 \pm 0.04$  | $2.16 \pm 0.11^*$  | $1.58 \pm 0.13 +$   |
| Catalase, $\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{L} \cdot \text{min} \cdot 10^3$ | $53.8 \pm 2.03$  | $53.6 \pm 1.28$    | $69.9 \pm 0.96^* +$ |
| GPO, $\text{IG/L} \cdot \text{min} \cdot 10^3$                             | $13.4 \pm 0.55$  | $12.1 \pm 1.11$    | $16.2 \pm 0.67^* +$ |
| $\text{NO}^x$ , $\mu\text{M/L}$                                            | $52.8 \pm 2.48$  | $54.3 \pm 3.55$    | $67.9 \pm 1.79^* +$ |
| MMWPs, c. u.                                                               | $0.74 \pm 0.033$ | $0.92 \pm 0.064^*$ | $0.82 \pm 0.055 +$  |
| IEI, c. u.                                                                 | $16.1 \pm 0.37$  | $21.1 \pm 0.49^*$  | $18.5 \pm 0.53^* +$ |

\*  $p < 0.05$  —  $P < 0.001$ , relative to the baseline

+  $P < 0.05$  —  $P < 0.001$ , relative to the control

At the same time, the activity of the catalase and GPx antioxidant defense enzymes were reduced by 5.6 and 9.5 % respectively. This was attributed to the accumulation of toxic lipid peroxidation products (specifically malondialdehyde) and the consequent rise in the level of medium-molecular-weight peptides, a biochemical marker of endogenous intoxication.

The negative effect of vaccination on animal homeostasis, manifested by intensified lipid peroxidation and increased endogenous intoxication, exerts an immunosuppressive effect on specific immunity factors by inactivating enzymes and altering the structural and functional state of the biomembranes of immunocompetent cells.

At the same time, immunization triggers the activation of innate and adaptive immune systems, including the release of pro-inflammatory cytokines and anti-inflammatory mediators, thereby inducing cellular and humoral immunity. The local inflammatory process caused by the vaccine antigen leads to tissue destruction and the release of intracellular components into the intercellular space, which inevitably raises the concentration of medium-molecular-weight peptides.

In the experimental group of animals vaccinated with the addition of “Proautovak-S,” an increase was observed in the levels of medium-molecular-weight peptides (by 10.8 %) and the index of endogenous intoxication (by 14.9 %). However, these values remained by 10.9 and 12.3 % lower respectively, than the corresponding figures for the control group of piglets.

In addition, the piglets in the experimental group exhibited a 29.9 % increase in catalase activity and a 20.8 % increase in glutathione peroxidase (GPO) activity, as well as a 28.6 % rise in stable nitric oxide metabolites.

These values exceeded those of the control group by 30.4, 33.9 and 25.0 %, respectively, indicating activation of the antioxidant defense system.

Biochemical blood analysis (Table 2) has revealed that the piglets in the control group have shown an 8.3 % increase in  $\alpha$ -globulins (which include acute-phase inflammatory proteins) and a 34.8 % increase in  $\gamma$ -globulins (involved in the specific immune response), alongside a 12.8 % decrease in albumins, which play a significant role in the body's detoxification processes (Table 2).

Table 2

*Indicators of specific cellular immunity in piglets*

| Indicators             | Baseline    | Groups       |                |
|------------------------|-------------|--------------|----------------|
|                        |             | control      | experimental   |
| Total protein, g/L     | 59.6 ± 0.32 | 60.1 ± 0.09  | 62.3 ± 0.45* + |
| Albumin, %             | 47.6 ± 0.83 | 41.5 ± 0.54* | 44.1 ± 0.48*   |
| $\alpha$ -globulins, % | 15.6 ± 0.41 | 16.9 ± 0.18  | 13.1 ± 0.41* + |
| $\beta$ -globulins, %  | 21.3 ± 0.26 | 20.7 ± 0.34  | 19.3 ± 0.25* + |
| $\gamma$ -globulins, % | 15.5 ± 0.57 | 20.9 ± 0.49* | 23.5 ± 0.31* + |

\*  $p < 0.05$  —  $P < 0.001$ , relative to the baseline

+  $P < 0.05$  —  $P < 0.001$  001, relative to the control

It is known that vaccination, accompanied by an increased antigenic load, leads to the excessive accumulation of reactive oxygen species in the body, generated during the activation of lipid peroxidation, which are capable of oxidizing membrane structures (including protein components) and inactivating membrane-bound enzymes. Damage to membranes and the disruption of membrane-bound systems, including those involved in amino acid transport, indirectly affect protein metabolism. Furthermore, oxidative stress can damage ribosomes or translation factors, thereby reducing protein synthesis efficacy. It can also lead to the accumulation of damaged, non-functional proteins and impair the functioning of protein-dependent systems (enzymatic, transport and regulatory). Modified proteins are considered reliable markers of oxidative damage due to the prevalence and stability of their oxidation products [22].

The analysis of the protein profile in the piglets from the experimental group revealed a 7.4 % decrease in albumin levels, although the absolute value remained by 6.3 % higher than that of the control group. The content of  $\alpha$ - and  $\beta$ -globulins decreased by 16.0 and 9.4 % respectively, falling 22.5 and 6.8 % below the corresponding control values. Conversely, the level of  $\gamma$ -globulins, which contain antibodies, increased by 51.6 % and exceeded the control value by 11.2 %, indicating a more pronounced humoral immune response. Thus, the use of “Proautovak-S”, which contains GM—CSF, recombinant porcine interferons  $\alpha$  and  $\gamma$ , and vitamins A, E and C, concomitantly with the administration of the vaccine against CSF had a positive effect on the animals' metabolic status, thereby mitigating post-vaccination syndrome.

The immunomodulatory action of interferons is mediated by the induction of the endogenous interfer-

on system and the activation of cellular and humoral immunity. Specifically, recombinant porcine interferons  $\alpha$  and  $\gamma$  exert an anti-inflammatory effect and act on the cellular component of the immune system by stimulating the lytic activity of lymphocytes, specific cytotoxic T-lymphocytes, and macrophages, enhancing the efficacy of immune antigen recognition, stimulate the production of specific antibodies by B-lymphocytes and help optimize metabolic processes within the animals' bodies [23, 24]. GM—CSF, a component of the drug, acts as a key growth factor that regulates the proliferation, differentiation and maturation of myeloid progenitor cells, and modulates the functional activity of mature neutrophils. It activates phagocytosis, induces the synthesis of adhesion molecules and upregulates the expression of MHC class II antigens. Furthermore, GM—CSF stimulates the synthesis of IL-12 and TNF- $\alpha$ , and induces the release of the chemotactic protein MCP-1 by monocytes. MCP-1 serves as a key mediator of neutrophil and monocyte migration to the site of inflammation [25].

Vitamins A, E and C, which are components of “Proautovak-S”, act as potent antioxidants, play a vital role in regulating redox processes and positively affect the normal functioning of the animals' immune systems [26, 27].

Vitamin A acts as an effective antioxidant, protecting cell membrane lipids from oxidative damage caused by singlet oxygen. Due to the presence of a system of conjugated double bonds in its molecular structure, vitamin A can neutralize free radicals, thereby inhibiting lipid peroxidation processes [28].

Vitamin E functions as a potent antioxidant that suppresses lipid peroxidation at the initiation stage. It blocks oxidative chain reactions, prevents the accumulation of hydroperoxides and neutralizes various reactive oxygen species, such as singlet oxygen as well as peroxy and alkoxy radicals. In addition to its antioxidant properties,  $\alpha$ -tocopherol participates in regulating phospholipid metabolism within cell membranes, which helps improve tissue oxygenation in case of pathological conditions. By stabilizing membrane structures and forming complexes with fatty acids, vitamin E significantly enhances cellular resistance to the damaging effects of free radicals [19].

As an effective reducing agent, ascorbic acid inactivates reactive oxygen species (including superoxide and hydroxyl radicals), thereby enhancing the plasma antioxidant capacity. Vitamin C also functions as a coenzyme in various metabolic pathways, stimulates the detoxification and protein-synthesizing activity of hepatocytes, and modulates the immune response [19].

## CONCLUSION

The studies have demonstrated that the use of the complex drug “Proautovak-S”, containing GM—CSF, recombinant porcine interferons  $\alpha$  and  $\gamma$ , and vitamins A, E and C concomitantly with the vaccination against CSF facilitated a significant correction of metabolic processes in the experimental animals. This was evidenced by the normalization of protein metabolism, activation of antioxidant defenses and a reduction in the intensity of lipid peroxidation. The drug can be recommended for the specific prevention of infectious diseases.

Thus, the results of the studies conducted provide grounds for recommending the use of “Proautovak-S” concurrently with vaccines to optimize the biochemical status of animals during the specific prophylaxis of infectious diseases.

## REFERENCES

1. *Sergeev V. A.* Vaccines and strategic vaccination against classical swine fever / V. A. Sergeev, B. G. Orlyankin, K. P. Alekseev, A. D. Zaberezhnyy, T. I. Aliper, E. A. Nepoklonov // *Veterinariya (Veterinary Science)*. — 2018. — No. 4. — P. 3—11.
2. *Shevtsov A.* Classical swine fever: prospects for eradication / A. Shevtsov // *Zhivotnovodstvo Rossii (Cattle breeding in Russia)*. — 2021. — No. 10. — P. 27—30.
3. *Shakhov A. G.* Effect of vaccination of piglets against circovirus infection on blood morphological and biochemical indicators / A. G. Shakhov, V. N. Kotsarev, L. Yu. Sashnina, Yu. Yu. Vladimirova, V. Yu. Boev // *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya “Vitebskaya ordena ‘Znak pocheta’ gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny” (Transactions of the Educational Establishment “Vitebsk Order of ‘the Badge of Honor’ State Academy of Veterinary Medicine”)*. — 2024. — Vol. 60, No. 2. — P. 58—62.
4. *Sashnina L. Yu.* Formation of specific immunity in piglets during vaccination against classical swine fever / L. Yu. Sashnina, A. G. Shakhov, O. A. Manzhurina, Yu. Yu. Vladimirova, I. V. Volkova, G. V. Nikonenko // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2024. — No. 2 (27). — P. 150—165.
5. *Shlyapnikova Z. G.* Development of endotoxemia in the bodies of piglets during a stress reaction / Z. G. Shlyapnikova, R. E. Kiseleva, L. P. Teltsov, E. Yu. Boyarkina // *Morfologicheskie vedomosti (Bulletin of Morphology)*. — 2007. — No. 3—4. — P. 216—219.
6. *Temple D.* Welfare Benefits of Intradermal Vaccination of Piglets / D. Temple, M. Jimenez, D. Escibano et al. // *Animals*. — 2020. — Vol. 10. — P. 1898—1910.
7. *Hudson R. E.* Immune Responses and Performance Are Influenced by Respiratory Vaccine Antigen Type and Stress in Beef Calves / R. E. Hudson, D. J. Tomczak, E. L. Kaufman et al. // *Animals*. — 2020. — Vol. 10. — P. 1119—1135.

8. *Scollo A.* Evaluation of pain and stress in three-week old piglets in relation to route of vaccine administration / A. Scollo, S. Minervini, M. Galli et al. // *Livestock Science*. — 2020. — Vol. 233. — P. 103939—103944.
9. *Shakhov A. G.* Biochemical status of piglets during vaccination against classical swine fever and swine erysipelas / A. G. Shakhov, V. N. Kotsarev, L. Yu. Sashnina, O. A. Manzhurina, G. G. Chusova // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2024. — No. 2 (27). — P. 137—149.
10. Molecular and biochemical mechanisms of stress and adaptation / M. I. Retskiy [et al.] // *Ecological-adaptive strategy for protecting animal health and productivity under modern conditions*. — Voronezh: Voronezh State University, 2001. — P. 29—85.
11. Indicators of endogenous intoxication and nitric oxide during inflammatory processes in the reproductive organs of sows / Yu. N. Brigadirov [et al.] // *Veterinary, animal science and biotechnology (Veterinary Medicine, Zootechnics and Biotechnology)*. — 2018. — No. 7. — P. 6—11.
12. *Buzlama V. S.* The role of stress-induced maladaptation in the onset and development of pathology / V. S. Buzlama, M. I. Retskiy // *Concept of the ecological and adaptive theory regarding the onset and development of mass pathology and animal health protection in agricultural production / All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS*. — Moscow: Russian Research Institute of Information and Technical and Economic Research on Engineering and Technical Support of the Agroindustrial Complex, 2000. — P. 24—31.
13. *Shakhov A. G.* Antioxidant status of white rats vaccinated against salmonellosis under chronic exposure to T-2 toxin and its correction with Aminoseleton / A. G. Shakhov, S. V. Shabunin, G. A. Vostroilova, G. A. Bliznetsova, L. Yu. Sashnina, Yu. A. Kantorovich et al. // *Rossiyskaya selskokhozyaystvennaya nauka (Russian Agricultural Science)*. — 2017. — No. 5. — P. 54—57.
14. *Nikitina E. A.* Probiotics: present and future / E. A. Nikitina, S. V. Orlova, A. A. Orlova // *Meditinskiy alfavit (Medical Alphabet)*. — 2021. — No. 21. — P. 101—114.
15. *Prokulevich V. A.* Interferon-based veterinary preparations / V. A. Prokulevich, M. I. Potapovich // *Vestnik BGU (Bulletin of BSU): Series 2*. — 2011. — No. 3. — P. 51—55.
16. *Ayanot P. K.* Interferons in animal husbandry / P. K. Ayanot // *Veterinariya (Veterinary Science)*. — 2025. — No. 3. — P. 11—16.
17. *Simbirtsev A. S.* New possibilities for the use of recombinant cytokines as vaccine adjuvants / A. S. Simbirtsev, A. V. Petrov, N. V. Pigareva, A. T. Nikolaev // *BIO-preparaty (Biopreparations)*. — 2011. — No. 1. — P. 16—20.
18. Methodological recommendations on the use of biochemical methods for animal blood analysis / M. I. Retskiy, A. G. Shakhov, V. I. Shushlebin et al., Voronezh. — 2005. — 94 p.
19. Methodological guidelines for studying free-radical oxidation processes and the body's antioxidant defense system / M. I. Retskiy, S. V. Shabunin, G. N. Bliznetsova et al. — Voronezh: Istoki, 2010. — 70 p.
20. *Grebneva O. L.* Method for calculating indicators of low- and medium-molecular-weight substances in blood plasma / O. L. Grebneva, E. A. Tkachuk, V. O. Chubeyko // *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Clinical Laboratory Diagnostics)*. — 2006. — No. 2. — P. 17—18.
21. *Bliznetsova G. N.* Spectrophotometric method for determining nitric oxide / G. N. Bliznetsova, N. V. Ermakova, Z. D. Mukhammed, M. I. Retskiy // *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya. (Bulletin of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy)*. — 2002. — No. 1. — P. 56—60.
22. *Dubinina E. E.* Oxidative modification of proteins and its role in pathological conditions / E. E. Dubinina, A. V. Pustygina // *Ukrainskiy biokhimicheskiy zhurnal (Ukrainian Biochemical Journal)*. — 2008. — Vol. 80, No. 6. — P. 5—18.
23. *Zaytsev V. V.* Effect of recombinant porcine interferons -alpha and -gamma on the immunogenicity of colibacillosis antigens / V. V. Zaytsev, M. O. Biletskiy, O. R. Biletskiy, A. V. Zaytseva // *Uchenye zapiski uchrezhdeniya obrazovaniya "Vitebskaya ordena 'Znak pocheta' gosudarstvennaya akademiya veterinarnoy meditsiny" (Transactions of the Educational Establishment "Vitebsk Order of 'the Badge of Honor' State Academy of Veterinary Medicine")*. — 2018. — Vol. 54, Iss. 1. — P. 9—13.
24. *Shakhov A. G.* Optimization of sow metabolism using Biferon-S / A. G. Shakhov, S. V. Shabunin, G. A. Vostroilova, A. A. Gogun, P. A. Parshin, V. I. Morgunova, G. G. Chusova // *Veterinary, animal science and biotechnology (Veterinary Medicine, Zootechnics and Biotechnology)*. — 2018. — No. 9. — P. 41—48.
25. *Zurochka A. V.* Immunobiological properties of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and synthetic peptides of its active site / A. V. Zurochka, V. A. Zurochka, M. A. Dobrynina, V. A. Gritsenko // *Meditinskaya immunologiya. (Medical Immunology)*. — 2021. — Vol. 23, No. 5. — P. 1031—1054.
26. *Polosyants O. B.* Antioxidant vitamins in the prevention and treatment of cardiovascular diseases // *Russkiy meditsinskiy zhurnal (Russian Medical Journal)*. — 2005. — Vol. 13, No. 11. — P. 780.
27. *Kinash M. I.* Fat-soluble vitamins and immunodeficiency states: mechanisms of action and potential applications / M. I. Kinash, O. R. Boyarchuk // *Voprosy pitaniya (Problems of Nutrition)*. — 2020. — Vol. 89, No. 3. — P. 22—32.
28. *Shashkina M. Ya.* Role of carotenoids in the prevention of the most common diseases / M. Ya. Shashkina, A. V. Sergeev // *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal (Russian Biotherapeutic Journal)*. — 2010. — Vol. 9, No. 1. — P. 77—86.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**A. G. Shakhov** — Corresponding Member of the RAS, Chief Scientific Associate;  
**L. Yu. Sashnina** — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate;  
**V. N. Kotsarev** — Doctor of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;  
**G. A. Vostroilova** — Doctor of Biological Sciences, Chief Scientific Associate;  
**P. A. Parshin** — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Director;  
**O. A. Manzhurina** — Candidate of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;  
**D. I. Shabanov** — Scientific Associate;  
**V. A. Prokulevich** — Doctor of Biological Sciences, Professor.

The article was submitted 04.08.2026.

## УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ И ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

### УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Редакция журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии приглашает научных сотрудников, преподавателей вузов, соискателей ученых степеней и практикующих специалистов для публикации результатов экспериментальных исследований, теоретических и обзорных статей, касающихся актуальных вопросов ветеринарной фармакологии.

Цель журнала «Ветеринарный фармакологический вестник» — представление основных направлений развития ветеринарной фармакологии, привлечение внимания научных работников и специалистов к актуальным проблемам, продвижение инновационных разработок.

Основные тематические направления журнала:

1. Экспериментальная фармакология.
2. Клиническая фармакология.
3. Биохимическая и молекулярная фармакология.
4. Фармация.
5. Новые лекарственные средства и препараты для терапии и профилактики болезней.
6. Средства зоогигиены, дезинфекции, дезинсекции и дератизации.
7. Лечебные премиксы и кормовые добавки.
8. Патофизиология, патобиохимия и экспериментальная терапия.

Тематическое содержание журнала может меняться в зависимости от текущих задач науки и практики.

### УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ

Авторам необходимо предоставить в редакцию следующие материалы:

1. Статью, оформленную в соответствии с требованиями, на почту [vetfarm.journal@yandex.ru](mailto:vetfarm.journal@yandex.ru) («В редакцию журнала «Ветеринарный фармакологический вестник»).

Материал, предлагаемый для публикации, должен быть тщательно **отредактирован и подписан всеми авторами**.

Статьи, направляемые в редакцию, проходят рецензирование и выносятся на рассмотрение редколлегии. При необходимости редакция связывается с авторами по телефону или электронной почте. По результатам обсуждения принимается решение о возможности включения статьи в журнал, об отказе или доработке.

Статья, направленная автору на доработку, должна быть возвращена в исправленном виде в максимально короткие сроки. К рукописи необходимо приложить письмо от авторов, содержащие ответы на все замечания. Статья, требующая повторной доработки, рассматривается как вновь поступившая. При этом датой поступления считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи.

Плата с авторов за публикацию не взимается.

Авторское вознаграждение за размещение статей в печатной и электронной версии журнала авторам статей не выплачивается.

Материалы, поступившие в редакцию, авторам не возвращаются.

2. Сведения об авторах:

Фамилия, имя, отчество

Ученая степень

Ученое звание

Должность

Полное название организации

Адрес, телефон, e-mail

Отдельно необходимо указать лицо и его контактные данные, с которым редакция будет вести переговоры и переписку.

3. Направление от учреждения, в котором выполнена работа по форме:

В редакцию журнала  
«Ветеринарный фармакологический вестник»

Прошу (просим) опубликовать в открытой печати мою (нашу) статью «\_\_\_\_\_».

Материалы статьи частично или полностью не были ранее опубликованы\*.

Авторы подтверждают достоверность и оригинальность материалов, изложенных в статье; дают согласие на сбор, обработку и распространение своих персональных данных в соответствии с требованиями Федерального закона № 152-ФЗ от 27 июля 2006 года «О персональных данных»; гарантируют, что не нарушают ничьих авторских прав; не включают материалы, не подлежащие к публикации в открытой печати в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.

Вместе со статьей автор передает редакции на неограниченный срок следующие права: право на размещение, воспроизведение и распространение статьи любым способом; право на переработку статьи и внесение изменений в статью; право на публичное использование материалов статьи и демонстрацию их в информационных, рекламных и прочих целях.

Также авторы подтверждают, что согласны с правилами редакции по подготовке рукописи к изданию. После публикации ее цитирование возможно только со ссылкой на журнал «Ветеринарный фармакологический вестник».

\_\_\_\_\_  
подпись (подписи) автора (авторов)

\_\_\_\_\_  
фамилия, имя, отчество

Подпись (подписи) \_\_\_\_\_ заверяю.

\_\_\_\_\_  
подпись и ФИО лица, заверившего подписи

М.П. организации

«\_\_» \_\_\_\_\_ г.

\* Если были опубликованы частично, то указать название издания, год выпуска, номер, страницы.

Для ускорения публикации статьи в редакцию необходимо предоставить рецензию доктора наук, заверенную в отделе кадров по месту работы.

## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

Текст статьи объемом до 15 страниц предоставляется в программе Microsoft Word: шрифт — Times New Roman, кегль — 14 пт, межстрочный интервал — 1,5, абзацный отступ — 1,25, без переносов. Формат страницы — А4; поля: левое — 3 см, верхнее, правое и нижнее — 2 см.

Элементами издательского оформления статей являются:

- сведения об издании, в котором опубликована статья;
- название рубрики или раздела издания;
- тип статьи (научная статья, обзорная статья, редакционная статья, дискуссионная статья, персоналии, редакторская заметка, рецензия на книгу, рецензия на статью, спектакль и т. п., краткое сообщение);
- индекс Универсальной десятичной классификации (УДК);
- цифровой идентификатор объекта (Digital Object Identifier — DOI); его приводят по ГОСТ Р ИСО 26324 и располагают после индекса УДК отдельной строкой слева. В конце DOI точку не ставят;
- заглавие статьи;
- подзаголовочные данные статьи;
- сведения об авторе (авторах);

- аннотация (резюме);
- ключевые слова (словосочетания);
- благодарности;
- знак охраны авторского права;
- перечень затекстовых библиографических ссылок;
- сведения о продолжении или окончании статьи;
- приложение (приложения);
- примечания;
- дата поступления рукописи в редакцию издания, дата одобрения после рецензирования, дата принятия статьи к опубликованию.

Дополнительно могут быть приведены:

- библиографическая запись на статью для дальнейшего цитирования;
- сведения о вкладе каждого автора, если статья имеет несколько авторов;
- указание об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализация такого конфликта в случае его наличия.

Слова и словосочетания в элементах издательского оформления статьи не сокращают, кроме сведений об ученой степени и звании автора, слов и словосочетаний в библиографических ссылках и списках по ГОСТ 7.11, ГОСТ Р 7.0.12.

Основной текст статьи может быть структурирован и состоять из следующих частей:

- введение;
- текст статьи (с выделением разделов «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение» и др.);
- заключение.

Допускается деление основного текста статьи на тематические рубрики и подрубрики.

Надписи и подписи к иллюстративному материалу приводят на языке текста статьи и, как правило, повторяют на английском языке. Основной текст статьи в издании может быть только на одном языке. Смешивать в одной статье текст на двух языках не допускается.

До основного текста статьи приводят на языке текста статьи и затем повторяют на английском языке следующие элементы издательского оформления: сведения об издании, в котором опубликована статья, название рубрики или раздела, тип статьи, ее заглавие и подзаголовочные данные, основные сведения об авторе (авторах), аннотацию, ключевые слова, благодарности, библиографическую запись для цитирования. Имена приводят в транслитерированной форме на латинице по ГОСТ 7.79 или в той форме, в какой ее установил автор или редакция издания.

После основного текста статьи приводят на языке текста статьи и затем повторяют на английском языке следующие элементы издательского оформления: дополнительные сведения об авторе (авторах), сведения о вкладе каждого автора, указание об отсутствии или наличии конфликта интересов и детализация такого конфликта в случае его наличия, а также даты поступления рукописи в редакцию, одобрения после рецензирования, принятия статьи к опубликованию.

Основные сведения об авторе содержат:

- имя, отчество, фамилию автора (полностью);
- наименование организации (учреждения), ее подразделения, где работает или учится автор (без обозначения организационно-правовой формы юридического лица: ФГБУН, ФГБОУ ВО, ПАО, АО и т. п.);
- адрес организации (учреждения), ее подразделения, где работает или учится автор (город и страна);
- электронный адрес автора (e-mail);
- открытый идентификатор ученого (Open Researcher and Contributor ID — ORCID) (при наличии). Адрес организации (учреждения), где работает или учится автор, может быть указан в полной форме. Электронный адрес автора приводят без слова «e-mail», после электронного адреса точку не ставят. ORCID приводят в форме электронного адреса в сети Интернет. В конце ORCID точку не ставят. Наименование организации (учреждения), ее адрес, электронный адрес и ORCID автора отделяют друг от друга запятыми.

В случае, когда автор работает (учится) в нескольких организациях (учреждениях), сведения о каждом месте работы (учебы), указывают после имени автора на разных строках и связывают с именем с помощью надстрочных цифровых обозначений.

Если у статьи несколько авторов, то сведения о них приводят с учетом нижеследующих правил. Имена авторов приводят в принятой ими последовательности.

Автор, ответственный за переписку, и его электронный адрес могут быть обозначены условным изображением конверта, в электронных изданиях — также и другими средствами, реализуемыми программным обеспечением публикации издания.

Возможно приведение электронного адреса только одного автора, с которым планируется переписка, или отдельное указание автора для корреспонденции по форме: «Автор, ответственный за переписку:» («Corresponding author:»).

Дополнительные сведения об авторе (авторах) могут содержать:

— полные имена, отчества и фамилии, электронные адреса и ORCID авторов, если они не указаны на первой полосе статьи;

— ученые звания;

— ученые степени;

— другие, кроме ORCID, международные идентификационные номера авторов. Дополнительные сведения об авторе (авторах) приводят с предшествующими словами «Информация об авторе (авторах)» («Information about the author (authors)») и указывают в конце статьи после «Списка источников».

Сведения о месте работы (учебы), электронные адреса, ORCID авторов указывают после имен авторов на разных строках и связывают с именами с помощью надстрочных цифровых обозначений Индекс УДК располагается в левом верхнем углу без абзацного отступа.

Далее без абзацного отступа располагается название статьи — заглавными буквами, полужирным шрифтом, выравнивание по центру.

Фамилия, имя, отчество автора — без абзацного отступа, по центру, строчными буквами, полужирным шрифтом.

Аннотацию формируют по ГОСТ Р 7.0.99. Объем аннотации не превышает 250 слов. Перед аннотацией приводят слово «Аннотация» («Abstract»).

Ключевые слова (словосочетания) должны соответствовать теме статьи и отражать ее предметную, терминологическую область. Не используют обобщенные и многозначные слова, а также словосочетания, содержащие причастные обороты.

Количество ключевых слов (словосочетаний) не должно быть меньше 3 и больше 15 слов (словосочетаний). Их приводят, предваряя словами «Ключевые слова:» («Keywords:»), и отделяют друг от друга запятыми. После ключевых слов точку не ставят.

После ключевых слов приводят слова благодарности организациям (учреждениям), научным руководителям и другим лицам, оказавшим помощь в подготовке статьи, сведения о грантах, финансировании подготовки и публикации статьи, проектах, научно-исследовательских работах, в рамках или по результатам которых опубликована статья.

Эти сведения приводят с предшествующим словом «Благодарности:». На английском языке слова благодарности приводят после ключевых слов на английском языке с предшествующим словом «Acknowledgments:».

Текст статьи должен включать введение (без указания названия раздела), материалы и методы, результаты исследований, обсуждение и выводы (заключение).

Библиографическую запись для пристатейного библиографического списка составляют по ГОСТ 7.80, ГОСТ Р 7.0.100.. Ссылки на источники даются по тексту цифрой в квадратных скобках и указываются в порядке цитирования. В списке литературы желательно наличие как минимум 20 % иностранных источников и включение в список современных авторов.

Таблицы должны быть выполнены в Microsoft Word и содержать статистически обработанный материал. Каждая таблица должна иметь номер, тематический заголовок и ссылку в тексте.

Графики, диаграммы, рисунки и фотографии необходимо предоставлять в формате jpeg, tif или gif (с разрешением не менее 300 точек) с соответствующими подписями и пронумерованными.

Сокращения терминов, отличные от нормированных, должны приводиться только после упоминания в тексте их полного значения.

Единицы измерений даются в соответствии с Международной системой СИ по ГОСТ 8.417—2002 «Единицы величин».

ДЛЯ ЗАМЕТОК