

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), 4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки)	с 01.02.2022
		1.5.4. Биохимия (ветеринарные науки), 1.5.5. Физиология человека и животных (ветеринарные науки), 3.1.22. Инфекционные болезни (ветеринарные науки), 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (ветеринарные науки), 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (биологические науки), 4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность (ветеринарные науки), 4.2.2. Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность (биологические науки), 4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (сельскохозяйственные науки), 4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (биологические науки), 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных (сельскохозяйственные науки), 4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных (биологические науки), 4.2.6. Рыбное хозяйство, аквакультура и промышленное рыболовство (сельскохозяйственные науки), 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.

Адрес редакции: 394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 1146

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 RANS, 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), 4.2.3. Infectious diseases and animal immunology (Veterinary Sciences)	Since February 01, 2022
		1.5.4. Biochemistry (Veterinary Sciences), 1.5.5. Physiology of humans and animals (Veterinary Sciences), 3.1.22. Infectious diseases (Veterinary Sciences), 4.2.1. Animal pathology, morphology, physiology, pharmacology and toxicology (Veterinary Sciences), 4.2.1. Animal pathology, morphology, physiology, pharmacology and toxicology (Biological Sciences), 4.2.2. Sanitation, hygiene, ecology, veterinary and sanitary examination and biosafety (Veterinary Sciences), 4.2.2. Sanitation, hygiene, ecology, veterinary and sanitary examination and biosafety (Biological Sciences), 4.2.4. Special zootechnics, feeding, technologies for preparing feeds and producing livestock products (Agricultural Sciences), 4.2.4. Special zootechnics, feeding, technologies for preparing feeds and producing livestock products (Biological Sciences), 4.2.5. Animal breeding, selection, genetics and biotechnology (Agricultural Sciences), 4.2.5. Animal breeding, selection, genetics and biotechnology (Biological Sciences), 4.2.6. Fish breeding, aquaculture and industrial fishing (Agricultural Sciences), 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 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

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.

№ 4 (33) • 2025

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Изучение актопротекторных свойств препарата рутацирин на лабораторных животных

Пархоменко С. А., Кузьмина Е. В., Семенов М. П., Кузьминов И. Д. 8

Динамика изменения содержания микроэлементов препарата гемовит-плюс в органах и тканях лабораторных крыс

Пчельников Д. В., Семенов М. П., Железнякова К. А. 17

Фармакокинетика иммуномодулятора АНАНДИН® 10 % для сохранения здоровья сельскохозяйственных животных и получения безопасной продукции

Комаров А. А., Гончарова Е. Н., Енгашев С. В., Енгашева Е. С. 31

Оценка аллергенных свойств липосомальной формы гентамицина сульфата в рамках доклинических исследований

Григорьева Н. А., Хохлова Н. А., Корчагина А. А., Чаплыгина Ю. А.,
Некрасов А. В., Ермакова Т. И., Близнецова Г. Н. 44

Адьюванты для сельскохозяйственных животных: текущее состояние

Хрипко О. П., Коновалов Д. И., Глуценко А. В., Алексеев А. Ю., Шестопалов М. А. . . . 54

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Эффективность средства Эковет-а в профилактике маститов у коров

Абдулхажиева А. Ш., Кузьмина Е. В., Железнякова К. А. 77

Влияние кормовой добавки сиолакт на продуктивность и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров

Ратников А. Р., Семенов М. П., Кузьмина Е. В. 87

Влияние мелатонина на рост фолликулов и стероидогенез в яичниках у крупного рогатого скота

Лозовой Н. М. 97

Потенциал азитромицина в комплексной терапии цитозооноза у кошек

Шичанина С. Р., Козлов Ю. В., Хуторная И. А. 110

Особенности диагностики заворота большой ободочной кишки у лошадей

Погорелов М. А., Стекольников А. А. 118

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

Распространение мастита у коров в Донецкой Народной Республике

Павленко О. Б., Фенич О. В., Зимников В. И., Тюрина Е. В. 127

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Оценка влияния кормовой добавки «Лозекорм» на пролиферативную активность лимфоцитов кур-несушек

Семенов М. П., Онищук А. А., Железнякова К. А., Чернорыж Я. Ю.,
Лагунина Н. А. 138

Изменения морфологического состава крови у крупного рогатого скота при патологиях печени

Кузнецова Е. О., Белоусов А. И., Опарина О. Ю., Красноперов А. С.,
Черницкий А. Е. 147

Электронномикроскопические и микроскопические исследования сперматид на различных этапах спермиогенеза

Ульянов А. Г., Котарев В. И., Ульянов И. А., Торгун П. М. 164

Условия публикации и правила оформления статей 182

**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. 4 (33) • 2025

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

**Study of the actoprotective properties of the drug rutacirin
on laboratory animals**

Parkhomenko S. A., Kuzminova E. V., Semenenko M. P., Kuzminov I. D. 13

**Dynamics of changes in the content of microelements of the
drug hemovit-plus in organs and tissues of laboratory rats**

Pchel'nikov D. V., Semenenko M. P., Zheleznyakova K. A. 24

**Pharmacokinetics of the immunomodulator ANANDIN®
10 % for preserving the health of farm animals and
obtaining safe products**

Komarov A. A., Goncharova E. N., Engashev S. V., Engasheva E. S. 38

**Assessment of allergenic properties of the liposomal
formulation of gentamycin sulfate in the framework
of pre-clinical studies**

*Grigoryeva N. A., Khokhlova N. A., Korchagina A. A.,
Chaplygina Yu. A., Nekrasov A. V., Ermakova T. I., Bliznetsova G. N. 49*

Adjuvants for farm animals: current status

*Khripko O. P., Konovalov D. I., Glushchenko A. V., Alekseev A. Yu.,
Shestopalov M. A. 66*

CLINICAL PHARMACOLOGY

Efficacy of Ecovet-A in the prevention of bovine mastitis

Abdulkhazhieva A. S., Kuzminova E. V., Zheleznyakova K. A. 82

**Effect of the feed additive siolact on the productivity
and biochemical blood indicators of broiler chickens**

Ratnikov A. R., Semenenko M. P., Kuzminova E. V. 92

**Effect of melatonin on follicle growth and steroidogenesis
in bovine ovaries**

Lozovoy N. M. 104

**Potential of azithromycin in the complex therapy of feline
cytauxzoonosis**

Shichanina S. R., Kozlov Yu. V., Khutornaya I. A. 114

Features of diagnosis of equine large intestinal volvulus

Pogorelov M. A., Stekolnikov A. A. 123

**AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION,
DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION**

**Distribution of bovine mastitis in The Donetsk People's
Republic**

Pavlenko O. B., Fenich O. V., Zimnikov V. I., Tyurina E. V. 133

**PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY
AND EXPERIMENTAL THERAPY**

**Assessment of the effect of the feed additive Lozekorm
on the proliferative activity of lymphocytes in laying hens**

*Semenenko M. P., Onishchuk A. A., Zheleznyakova K. A.,
Chernoryzh Ya. Yu., Lagunina N. A. 143*

**Changes in the morphological composition of the blood
in cattle with liver pathologies**

*Kuznetsova E. O., Belousov A. I., Oparina O. Yu., Krasnoperov A. S.,
Chernitskiy A. E. 156*

**Electron microscopic and microscopic studies of spermatids
at various stages of spermiogenesis**

Ulyanov A. G., Kotarev V. I., Ulyanov I. A., Torgun P. M. 173

Publishing terms and article formatting requirements 182

ИЗУЧЕНИЕ АКТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА РУТАЦИРИН НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Сергей Александрович Пархоменко[✉], Елена Васильевна Кузьмина,
Марина Петровна Семенович, Иван Дмитриевич Кузьминов

Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, parhomenko@aspect-ag.com[✉]

Аннотация. В статье приведены результаты по оценке актопротекторных свойств препарата рутацирин на лабораторных животных. Для эксперимента из половозрелых нелинейных самцов крыс сформировали 2 группы (опытную и контрольную) по 10 грызунов в каждой. Крысам опытной группы течение 7 дней (1 раз в сутки) внутривенно вводили препарат рутацирин из расчета 1,2 г/кг массы тела в форме 30%-ной суспензии. В контрольной группе животные получали эквивалентное количество дистиллированной воды. Через неделю от начала введения препарата определяли общую физическую выносливость грызунов с помощью теста «вынужденное плавание с грузом». Сразу после тестирования у 5 животных из каждой группы отбирали кровь для лабораторных исследований. В результате установлено, что у лабораторных крыс опытной группы продолжительность плавания с грузом при дополнительной гипертермической нагрузке была больше контрольных значений на 19,78 % ($p \leq 0,05$). Биохимические исследования крови крыс подтвердили адаптивное действие препарата, что проявилось улучшением маркеров энергетического обмена, состояния печени и окислительного стресса.

Ключевые слова: препарат рутацирин; доклинические исследования; актопротекторные свойства; лабораторные крысы; биохимические показатели крови

Усиленная антропогенная активность, наблюдающаяся в последние десятилетия, непосредственно сказывается на функционировании различных экосистем. В этом аспекте рыбы, особенно в аквакультуре, все чаще подвергаются воздействию множественных стрессоров, как биотического, так и абиотического характера. На рыб оказывает негативное воздействие изменения температуры окружающей среды, часто встречаемые условия кислородного голодания, наличие различных ксенобиотиков в воде, неудовлетворительное качество кормов и др. Манипуляции в рыбоводных хозяйствах определяют техногенный стресс, связанный с плотностью посадки, проведением бонитировочных работ, транспортировкой, шумом и вибрацией и др. [1—4].

При чем рыба часто подвергается воздействию нескольких стрессоров одновременно, что приводит к различным типам взаимодействия между стрессорами. Например, повышение температу-

ры может усилить негативное воздействие загрязняющих веществ, поскольку способно увеличить скорость метаболизма и усвоение ксенобиотиков в организме рыб. Кроме того, тепловой стресс может нарушить способность рыб вырабатывать адекватную реакцию на стресс, тем самым ухудшая их возможность ограничивать негативное воздействие токсикантов. И наоборот, метаболические затраты на воздействие загрязняющих веществ могут нарушить молекулярные и физиологические процессы, участвующие в тепловой акклиматизации. В этих случаях можно ожидать синергизма между стрессорами. Как следствие, при множественных стрессогенных условиях по сравнению с воздействием одиночных стресс-факторов в организме могут развиваться более серьезные негативные эффекты на клеточном и системном уровнях [5—7].

В последние годы значительный интерес вызывает относительно новый фармакологический класс соединений, известный как актопротекторы (лат.

actus — движение, *protectio* — прикрытие), которые повышают и сохраняют физическую работоспособность организма в неблагоприятных условиях. Актопротекторные вещества обладают уникальными свойствами и в соответствии с современными представлениями для них характерна способность к повышению переносимости нагрузок и увеличению резистентности организма в ходе приспособления к неблагоприятным факторам — жаре, холоду, жажде, голоду, инфекциям и т. п. Например в гипертермических условиях влияние актопротекторов на организм проявляется в нормализации энергетического обмена, стабилизации окислительного фосфорилирования, торможении перекисного и микросомального окисления, защите биологических мембран клеток [8—10].

Эти фармакологические свойства делают актопротекторы перспективным направлением в ветеринарной фармакологии, где они могут эффективно использоваться для улучшения функциональных возможностей организма животных, в том числе в условиях воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды.

В доклинических исследованиях актопротекторные свойства препаратов наиболее часто оцениваются с помощью поведенческого теста «вынужденное плавание» впервые предложенного Р. Полсолтом в 1977 году.

Суть метода заключается в том, что животные помещаются в замкнутое пространство — прозрачную емкость с водой, из которой они не могут выбраться. Для изучения выносливости лабораторных животных применяется вариация поведенческого теста — «вынужденное плавание с грузом», что является более жестким комбинированным стрессом [11, 12].

В рамках создания препарата для повышения устойчивости организма рыб в аквакультуре при тепловом стрессе в отделе фармакологии Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института — обособленного структурного подразделения ФГБНУ КНЦЗВ проведена фармацевтическая разработка лекарственного препарата для ветеринарного применения — рутацирина.

Действующие вещества, входящие в состав препарата рутацирин представлены аминокислотами, флавоноидами и антиоксидантами. Препарат находится в стадии доклинических исследований.

Целью настоящей работы явилось определение актопротекторных свойств препарата рутацирин на лабораторных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эксперимент проведен на 20 нелинейных половозрелых крысах (самцах) с массой тела от 280 до 300 г, которых распределили на 2 группы (опытная и контрольная) — по 10 грызунов в каждой.

Исследования проведены в соответствии с требованиями, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и научных целях (ETS № 123, Страсбург, 18.03.1986), а также были согласованы и одобрены комиссией по вопросам биоэтики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии».

Крысам опытной группы течение 7 дней (1 раз в сутки) внутривенно вводили препарат рутацирин из расчета 1,2 г/кг массы тела в форме 30%-ной суспензии. В контрольной группе животные получали эквивалентное количество дистиллированной воды.

Через 7 суток от начала введения препарата рутацирин определяли общую физическую выносливость грызунов с помощью теста — «вынужденное плавание с грузом». В рамках настоящего исследования использована методика оценки физической выносливости мелких лабораторных животных в модификации В. Н. Каркищенко с соавт. [13].

Дополнительным стрессирующим воздействием на крыс при изучении актопротекторных свойств препарата рутацирин стало повышение температуры воды за границы оптимального диапазона, который для этого вида животных составляет 22—27 °С. С учетом этого создавали условия гипертермии, когда температура воды была в диапазоне 36—38 °С.

Крысам перед тестированием к корню хвоста прикрепляли груз, пропорциональный весу животного — 10 % от массы тела. Крысу аккуратно погружали в воду и при начале плавательных движений начинали отсчет времени, регистрируемым параметром являлось время плавания в секундах. Окончанием теста считали отказ животного от плавания — его полное погружение под водное зеркало бассейна на 10 секунд. После чего крысу быстро извлекали из воды и обсушивали сухим полотенцем, далее у 5 животных из каждой группы проводили взятие крови для лабораторных исследований — путем сердечной пункции (прижизненно).

Биохимические исследования крови с оценкой концентрации общего белка, глюкозы, триглицеридов и аланинаминотрансферазы (АлАТ) про-

водили при помощи автоматизированного анализатора Vitalab Flexor. В крови определяли маркер оксидативного стресса — малоновый диальдегид (МДА) в соответствии с методическими рекомендациями ВНИВИПФиТ (2010) на спектрофотометре Escofen. Полученные цифровые данные были обработаны методами вариационной статистики с определением достоверности значений по t-критерию Стьюдента и считали их достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований установлено, что у лабораторных крыс, получавших

в течение недели препарат рутацирин в дозе 1,2 г/кг массы тела продолжительность плавания с грузом при дополнительной гипертермической нагрузке составила $146,5 \pm 3,17$ секунд против $122,3 \pm 2,48$ секунд в контроле.

Достоверная разница ($p \leq 0,05$) между группами составляет 19,78 %. Результаты этих исследований отражены на рисунке 1.

Проведенными лабораторными исследованиями крови (результаты представлены на рисунке 2) установлено, что у крыс после вынужденного плавания крыс с грузом на фоне внешней гипертермии зарегистрирована следующая разница между группами в значениях биохимических показателей.

В группе с применением препарата рутацирин были выше концентрации общего белка — на 5,51 % и глюкозы — на 9,98 % ($p \leq 0,05$). Активность гепатоиндикаторного фермента АлАТ, наоборот, была ниже на 3,87 %. Содержание триглицеридов, как показателя липидного обмена, в сыворотке крови крыс опытной группы было сопоставимо с контрольными значениями.

Наряду с этим установлено, что превентивное введение препарата рутацирин стабилизирует интенсивность процессов перекисного окисления липидов, индукция которых отмечается при выраженных стрессогенных условиях. Как видно из данных, приведенных на рисунке 3, у животных опытной группы относительно контрольных аналогов зарегистрировано статистически значимое

($p \leq 0,05$) снижение уровня малонового диальдегида — на 18,18 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что превентивное применение в течение недели препарата рутацирин в дозе 1,2 г/кг массы тела лабораторным крысам увеличивает продолжительность плавания животных с грузом на фоне дополнительной гипертермической нагрузки. Биохимические исследования крови крыс подтвердили адаптивное действие препарата, что проявилось улучшением маркеров энергетического обмена, состояния печени и окислительного стресса. Следовательно, рутацирин обладает выраженным актопротекторным действием.

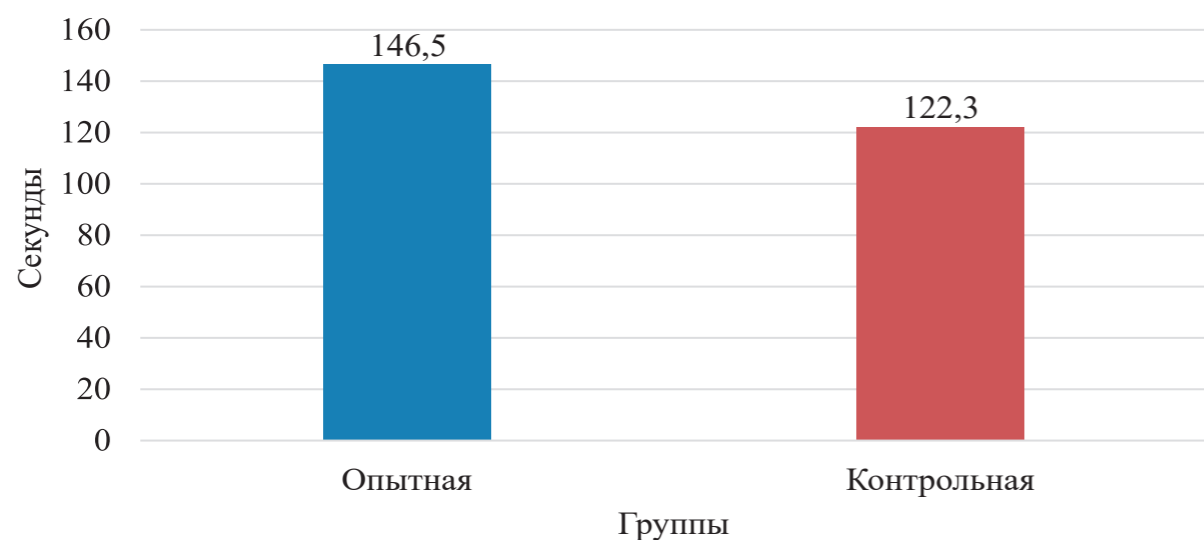


Рис. 1. Влияние препарата рутацирин на время вынужденного плавания крыс с грузом ($n = 10$)

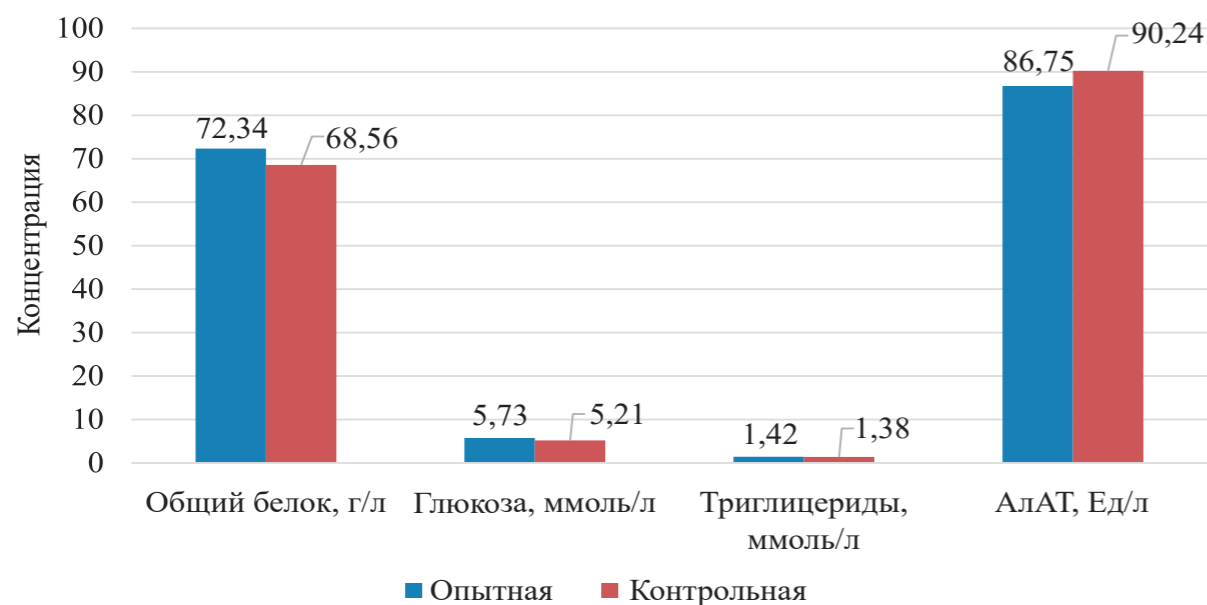


Рис. 2. Влияние препарата рутацирин на биохимические показатели крови крыс после теста «вынужденное плавание с грузом» ($n = 5$)

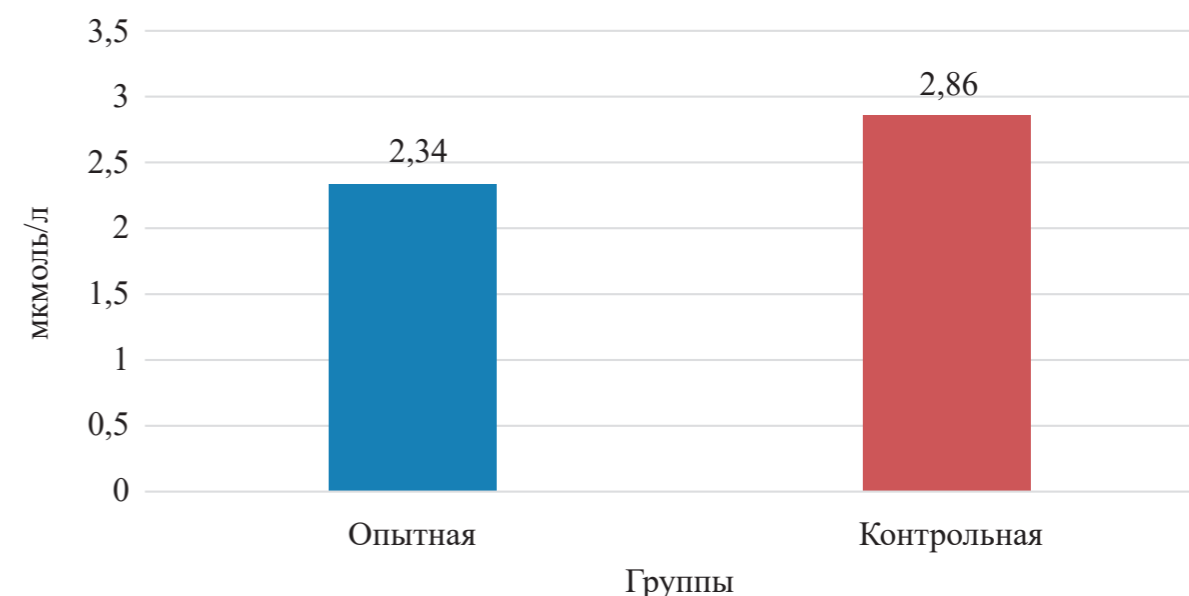


Рис. 3. Влияние препарата рутацирин на концентрацию МДА в крови крыс после теста «вынужденное плавание с грузом» ($n = 5$)

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Виноградов Е. В. Изменение биохимических параметров слизи и крови у рыб, устойчивых к стрессу / Е. В. Виноградов, В. М. Симонов // Вестник рыбохозяйственной науки. — 2018. — Т. 5, № 2 (18). — С. 24—32.
2. Лавникова А. В. Физиологические аспекты стресса у рыб: кортизол, экологическое значение в естественной среде и аквакультуре / А. В. Лавникова, Я. К. Ермолаева, С. А. Бирицкая [и др.] // Байкальский зоологический журнал. — 2024. — № 1 (36). — С. 33—39.
3. Petitjean Q. Stress responses in fish: From molecular to evolutionary processes / Q. Petitjean, S. Jean, A. Gandar, et al. // Sci Total Environ. — 2019. — Vol. 684. — P. 371—380. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.357
4. Shahjahan M. Blood biomarkers as diagnostic tools: An overview of climate-driven stress responses in fish. / M. Shahjahan, M. J. Islam, M.T., et al. // Sci Total Environ. — 2022. — Vol. 843. — P. 156910. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156910
5. Виноградов Е. В. Изменение биохимических параметров слизи и крови у рыб, устойчивых к стрессу / Е. В. Виноградов, В. М. Симонов // Вестник рыбохозяйственной науки. — 2018. — Т. 5, № 2 (18). — С. 24—32.
6. Sadoul B. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes / B. Sadoul, B. Geffroy // J. Fish Biol. — 2019. — Vol. 94 (4). — P. 540—555. doi: 10.1111/jfb.13904
7. Ritchie D. J. Invited review: Thermal effects on oxidative stress in vertebrate ectotherms / D. J. Ritchie, C. R. Friesen // Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. — 2022. — Vol. 263. — P. 111082. doi: 10.1016/j.cbpa.2021.111082

8. Шабанов П. Д. Создатель концепции антигипоксантов и актопротекторов (к 100-летию профессора В. М. Виноградова) / П. Д. Шабанов // Психофармакология и биологическая наркология. — 2024. — Т. 15 (1). — С. 79—90. doi: 10.17816/phbn625959

9. Шустов Е. Б. Батарея тестов для изучения адаптогенного действия биологически активных веществ в доклинических исследованиях / Е. Б. Шустов, С. В. Оковитый, В. Ц. Болотова, А. Е. Ким // Формулы Фармации. — 2021. — Т. 3 (2). — С. 10—25. doi: 10.17816/phf65230

10. Jędrejko K. Cytoflavin and succinic acid derivatives as antihypoxic, anti-ischemic metabolic modulators, and ergogenic aids in athletes and consideration of their potential as performance enhancing drugs / К. Jędrejko, О. Catlin, Т. Stewart, et al. // Drug Test Anal. — 2024. — Vol. 16 (12). — P. 1436—1467. doi: 10.1002/dta.3655

11. Porsolt R. D. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment / R. D. Porsolt, G. Anton, N. Blavet, et al. // Eur. J. Pharmacol. — 1978. — Vol. 47. — P. 379—391.

12. Каркищенко Н. Н. Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность: Методические рекомендации / Н. Н. Каркищенко, В. Н. Каркищенко, Е. Б. Шустов [и др.]. — Москва: Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства, 2017. — 133 с.

13. Каркищенко В. Н. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов / В. Н. Каркищенко, Г. Д. Капанадзе, С. Е. Деньгина, Н. В. Станкова // БИОМЕДИЦИНА. — 2011. — № 1 (1). — С. 72—74.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

С. А. Пархоменко — аспирант;

Е. В. Кузьминова — доктор ветеринарных наук главный научный сотрудник;

М. П. Семенов — доктор ветеринарных наук, доцент, заведующая отделом;

И. Д. Кузьминов — студент.

Статья поступила в редакцию 11.09.2025.

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

Original article

UDC 619:615.4/615.076.9

STUDY OF THE ACTOPROTECTIVE PROPERTIES OF THE DRUG RUTACIRIN ON LABORATORY ANIMALS

Sergey Aleksandrovich Parkhomenko[✉], Elena Vasilyevna Kuzminova, Marina Petrovna Semenenko, Ivan Dmitrievich Kuzminov

*Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russia, parhomenko@aspect-ag.com[✉]

Abstract. The article presents the results of assessing the actoprotective properties of rutacirin on laboratory animals. For the experiment, sexually mature nonlinear male rats were divided into two groups (experimental and control), each consisting of 10 rodents. The rats in the experimental group were administered rutacirin intragastrically for 7 days (once daily) at a dose of 1.2 g/kg of body weight in the form of a 30 % suspension. The animals in the control group received an equal volume of distilled water. One week after the start of drug administration, the general physical endurance of the rodents was determined using the forced swim test with a load. Blood was collected from 5 animals from each group for laboratory studies immediately after the test. It was found that the duration of swimming with a load under additional hyperthermic load in the laboratory rats of the experimental group was by 19.78 % longer than the control values ($p \leq 0.05$). Biochemical blood studies of rats confirmed the drug adaptive effect, as evidenced by improved markers of energy metabolism, liver function and oxidative stress.

Keywords: rutacirin, preclinical studies, actoprotective properties, laboratory rats, blood biochemistry

Increased anthropogenic activity observed in recent decades has a direct effect on the functioning of various ecosystems. In this regard, fish, particularly in aquaculture, are increasingly exposed to multiple stressors, both biotic and abiotic. Fish are negatively affected by changes in ambient temperature, frequently occurring conditions of oxygen starvation, the presence of various xenobiotics in the water, poor feed quality and other factors. Manipulations on fish farms determine technogenic stress associated with stocking density, grading, transportation, noise and vibration, and other factors [1—4].

Fish are often exposed to multiple stressors simultaneously, leading to various types of interactions between stressors. For example, rising temperatures can increase the negative effect of pollutants, as they can increase the metabolic rate and absorption of xenobiotics in fish. Furthermore, heat stress can impair the ability of fish to develop an adequate stress response, thereby reducing their ability to limit the negative effect of toxicants. Conversely, the metabolic costs of exposure to pollutants can disrupt the molecular and physiological processes involved in heat acclimation.

In these cases, synergism between stressors can be expected. Consequently, multiple stressors can lead to more severe negative effects at the cellular and systemic levels than single stressors [5—7].

In recent years, a relatively new pharmacological class of compounds known as actoprotectors (Latin *actus* — movement, *protectio* — protection) has attracted considerable interest. These compounds enhance and maintain physical performance under adverse conditions. Actoprotectors possess unique properties and according to modern concepts are characterized by the ability to increase exercise tolerance and enhance the body's resistance during adaptation to adverse factors such as heat, cold, thirst, hunger, infections, etc. For example, under hyperthermic conditions, the effect of actoprotectors on the body is manifested in the normalization of energy metabolism, stabilization of oxidative phosphorylation, inhibition of peroxidation and microsomal oxidation, and protection of biological cell membranes [8—10].

These pharmacological properties make actoprotectors a promising area of veterinary pharmacology, where they can be effectively used to improve the func-

tional capacity of animals, including under the effect of adverse environmental factors.

In preclinical studies, the actoprotective properties of drugs are most often assessed using the forced swim test, first proposed by R. Porsolt in 1977. The method involves placing animals in a confined space (a transparent container of water), from which they cannot escape. To study the endurance of laboratory animals, a variation of the behavioral test (forced swim with a load) is used, which represents a more severe combined stress [11, 12].

As part of the drug design to improve the resistance of aquaculture fish to heat stress, the Pharmacology Department of Krasnodar Veterinary Research Institute — a separate structural division of Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, conducted the pharmaceutical design of the veterinary drug rutacirin. The active ingredients in rutacirin include amino acids, flavonoids and antioxidants. The drug is currently in preclinical trials.

The research objective was to determine the actoprotective properties of rutacirin on laboratory animals.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was conducted on 20 nonlinear, sexually mature male rats weighing between 280 and 300 grams. The rats were divided into two groups (experimental and control) of 10 rodents each.

The studies were conducted in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Scientific Purposes (ETS No. 123, Strasbourg, March 18, 1986) and were also agreed upon and approved by the Bioethics Committee of Krasnodar

Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine. The rats in the experimental group were administered rutacirin intragastrically for 7 days (once daily) at a dose of 1.2 g/kg of body weight as a 30 % suspension. The animals in the control group received an equal volume of distilled water.

Seven days after the start of rutacirin administration, the rodents' overall physical endurance was determined using the forced swim test with a load. This study utilized a method for assessing the physical endurance of small laboratory animals modified by V. N. Karkishchenko et al. [13].

An additional stressor applied to the rats during the study of rutacirin actoprotective properties was an increase in water temperature beyond the optimal range, which for this species is 22–27 °C. Considering this, hyperthermia conditions were created, with the water temperature in the range of 36–38 °C.

Before testing, a weight proportional to the animal's body weight (10 % of a body weight) was attached to the base of the rat's tail. The rat was gently immersed into the water, and a time marking was started as soon as it began swimming, recording the swimming time in seconds. The test was completed when the animal stopped swimming, i. e., completely immersed into the water for 10 seconds. Afterward, the rat was quickly removed from the water and dried with a dry towel. Blood samples were collected from five animals from each group for laboratory testing via cardiac puncture (in vivo).

The biochemistry blood tests, including assessment of total protein, glucose, triglyceride and alanine aminotransferase (ALT) concentrations, were performed using a Vitalab Flexor automated analyzer.

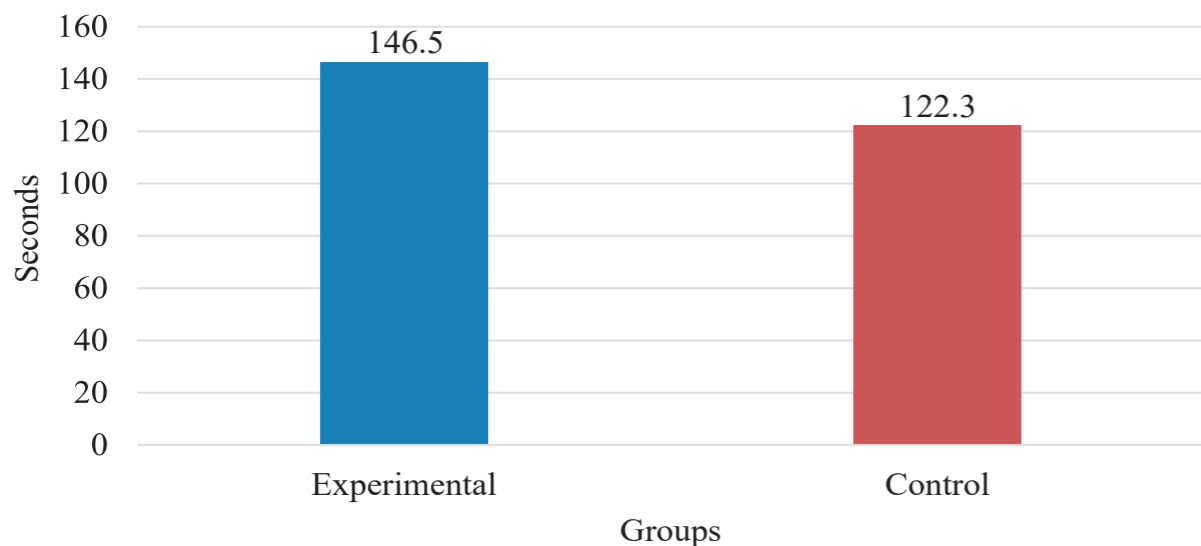


Fig. 1. Effect of the drug rutacirin on the time of the forced swim test with a load (n = 10)

Malondialdehyde (MDA), a marker of oxidative stress, was measured in the blood using an Ecovien spectrophotometer in accordance with the guidelines of ARVRIPP&T (2010).

The resulting digital data were processed using variation statistics, with the significance of the values determined using the Student's t-test. The data were considered significant at a significance level of $p \leq 0.05$.

STUDY RESULTS

These studies revealed that laboratory rats given rutacirin at a dose of 1.2 g/kg of body weight for a week had a swimming time of 146.5 ± 3.17 seconds under additional hyperthermic load, compared to 122.3 ± 2.48

seconds in the control group. The significant difference ($p \leq 0.05$) between the groups was 19.78 %. The results of these studies are shown in Fig. 1.

Laboratory blood tests (the results are presented in Fig. 2) showed that after forced swimming with a load against the background of external hyperthermia, the following difference between the groups in the values of biochemical indicators was recorded in rats.

In the rutacirin group, total protein concentrations were higher by 5.51 % and glucose — by 9.98 % ($p \leq 0.05$). Conversely, the ALT (a hepatic indicator enzyme) activity was lower by 3.87 %. Serum triglyceride levels, as an indicator of lipid metabolism, were comparable to control values in the experimental group.

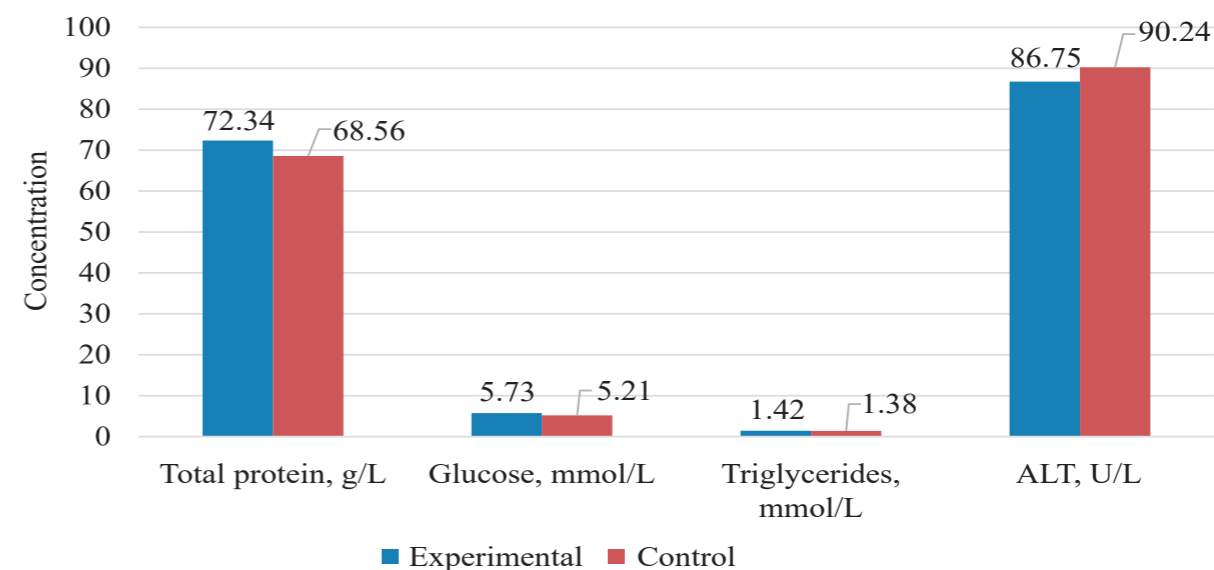


Fig. 2. Effect of the drug rutacirin on the biochemical blood indicators of rats after the forced swim test with a load (n = 5)

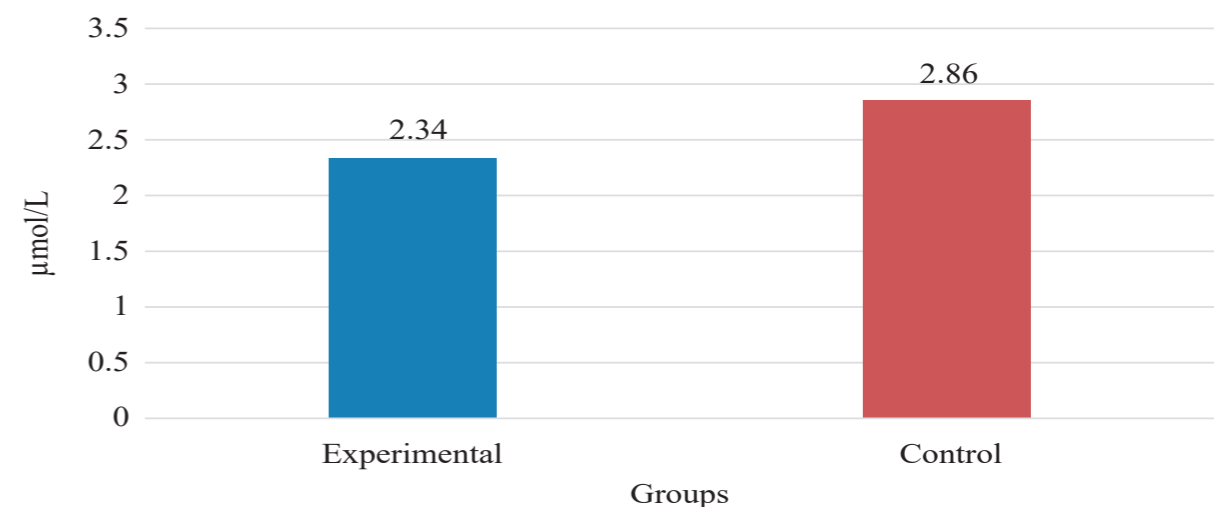


Fig. 3. Effect of the drug rutacirin on the blood concentration of MDA in rats after the forced swim test with a load (n = 5)

Furthermore, preventive administration of rutacirin was found to stabilize the intensity of lipid peroxidation processes, which are induced under severe stress conditions. As shown in Fig. 3, the animals of the experimental group, relative to their control analogues, showed a statistically significant ($p \leq 0.05$) reduction in malondialdehyde levels by 18.18 %.

CONCLUSION

Thus, the obtained study results indicate that preventive weekly administration of rutacirin at a dose of 1.2 g/kg of body weight to laboratory rats increases the duration of swimming with a load against the background of additional hyperthermic load. The biochemical blood studies of the rats confirmed the adaptive effect of the drug, as evidenced by improved markers of energy metabolism, liver function and oxidative stress. Consequently, rutacirin has a pronounced actoprotective effect.

REFERENCES

1. Vinogradov E. V. Changes in biochemical indicators of mucus and blood in stress-resistant fish / E. V. Vinogradov, V. M. Simonov // Vestnik rybnokhozyaystvennoy nauki (Bulletin of fisheries science). — 2018. — Vol. 5, No. 2 (18). — P. 24—32.
2. Lavnikova A. V. Physiological aspects of stress in fish: cortisol, ecological significance in the natural environment and aquaculture / A. V. Lavnikova, Ya.K. Ermolaeva, S. A. Biritskaya [et al.] // Baykalskiy zoologicheskiy zhurnal (Baikal zoological journal). — 2024. — No. 1 (36). — P. 33—39.
3. Petitjean Q. Stress responses in fish: From molecular to evolutionary processes / Q. Petitjean, S. Jean, A. Gandar, et al. // Sci Total Environ. — 2019. — Vol. 684. — P. 371—380. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.357
4. Shahjahan M. Blood biomarkers as diagnostic tools: An overview of climate-driven stress responses in fish. / M. Shahjahan, M. J. Islam, M.T., et al. // Sci Total Environ. — 2022. — Vol. 843. — P. 156910. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.156910
5. Vinogradov E. V. Changes in biochemical parameters of mucus and blood in stress-resistant fish / E. V. Vinogradov, V. M. Simonov // Vestnik rybnokhozyaystvennoy nauki

(Bulletin of fisheries science). — 2018. — Vol. 5, No. 2 (18). — P. 24—32.

6. Sadoul B. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes / B. Sadoul, B. Geffroy // J. Fish Biol. — 2019. — Vol. 94 (4). — P. 540—555. doi: 10.1111/jfb.13904

7. Ritchie D. J. Invited review: Thermal effects on oxidative stress in vertebrate ectotherms / D. J. Ritchie, C. R. Friesen // Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. — 2022. — Vol. 263. — P. 111082. doi: 10.1016/j.cbpa.2021.111082

8. Shabanov P. D. Creator of the concept of antihypoxants and actoprotectors (on the occasion of the 100th anniversary since the birth of Professor V. M. Vinogradov) / P. D. Shabanov // Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya (Psychopharmacology and biological narcology). — 2024. — Vol. 15 (1). — P. 79—90. doi: 10.17816/phbn625959

9. Shustov E. B. Battery of tests for studying the adaptogenic effect of biologically active substances in preclinical studies / E. B. Shustov, S. V. Okovityy, V. Ts. Bolotova, A. E. Kim // Formuly Farmatsii (Pharmacy Formulas). — 2021. — Vol. 3 (2). — P. 10—25. doi: 10.17816/phf65230

10. Jędrejko K. Cytoflavin and succinic acid derivatives as antihypoxic, anti-ischemic metabolic modulators, and ergogenic aids in athletes and consideration of their potential as performance enhancing drugs / K. Jędrejko, O. Catlin, T. Stewart, et al. // Drug Test Anal. — 2024. — Vol. 16 (12). — P. 1436—1467. doi: 10.1002/dta.3655

11. Porsolt R. D. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment / R. D. Porsolt, G. Anton, N. Blavet, et al. // Europ. J. Pharmacol. — 1978. — Vol. 47. — P. 379—391.

12. Karkishchenko N. N. Biomedical (preclinical) study of drugs affecting physical performance: Methodological recommendations / N. N. Karkishchenko, V. N. Karkishchenko, E. B. Shustov [et al.]. — Moscow: Nauchnyy tsentr biomeditsinskikh tekhnologiy Federalnogo mediko-biologicheskogo agentstva (Research Center for Biomedical Technologies of the Federal Medical and Biological Agency), 2017. — 133 p.

13. Karkishchenko V. N. Development of a methodology for assessing the physical endurance of small laboratory animals to study the adaptogenic activity of some drugs / V. N. Karkishchenko, G. D. Kapanadze, S. E. Dengina, N. V. Stankova // BIOMEDITsINA (BIOMEDICINE). — 2011. — No. 1 (1). — P. 72—74.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

S. A. Parkhomenko — Postgraduate Student;

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

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

I. D. Kuzminov — Student.

The article was submitted 11.09.2025.

Научная статья

УДК 615.03

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.002

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ ПРЕПАРАТА ГЕЛОВИТ-ПЛЮС В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС

Дмитрий Владимирович Пчельников*, Марина Петровна Семеновко**,
Ксения Андреевна Железнякова***

*ПТК «АйБиЭс», Люберцы, Россия, pchelnicov@ibsagro.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0303-5893>

**Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>

***Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, Краснодар, Россия,
ksenia.andreevna0708@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9407-0768>

Аннотация. Целью настоящего исследования явилась оценка фармакокинетического профиля препарата гемовит-плюс, представляющего собой комплекс органического соединения производного этилендиаминдигидратной кислоты с биологически активными микроэлементами (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). Для эксперимента было отобрано 13 групп крыс по 3 животных в каждой (12 опытных и одна контрольная). Крысам опытных групп препарат гемовит-плюс вводили внутривенно в дозе 13 мг / 1 кг массы тела животного. Далее через каждые два часа в течение суток проводили гуманную эвтаназию грызунов для отслеживания динамики изменения содержания микроэлементов в органах и тканях их организма. У крыс для исследования брали кровь, сердце, лёгкие, печень, почки, скелетную мускулатуру, толстый и тонкий отделы кишечника. Результаты эксперимента показали, что входящие в гемовит-плюс микроэлементы характеризуются высокой степенью биодоступности, достигая максимальных значений к 6—8 часу после введения, что доказывает высокий уровень усвоения хелатной формы препарата.

Ключевые слова: гемовит-плюс, микроэлементы, фармакокинетика, лабораторные крысы, органы и ткани, кровь

Живой организм — сложная динамическая система, для функционирования которой необходимо поддержание множества обменных процессов, представляющих собой сложные биохимические реакции всех биологически активных и питательных веществ. Однако здоровье и продуктивность животных зависят не только от кормления по рационам с достаточным количеством протеина, жира и углеводов, но и от обеспеченности их минеральными веществами, значение которых для организма огромно [1, 2].

Функции минеральных элементов в организме чрезвычайно многообразны и неразрывно связаны с их формой и состоянием [3]. Они входят в состав жизненно важных соединений, участвуют в процессах синтеза и распада, всасывания и выведения веществ, оказывают непосредственное влияние на активность ферментов, гормонов и витаминов, поддерживают определенное осмотическое

давление в жидкостях организма. Недостаток или избыток микро- и макроэлементов может не только влиять на продуктивность животных, но и вызывать ряд заболеваний алиментарного характера [4—7]. Патологии, обусловленные дефицитом эссенциальных микроэлементов, а также дисбалансом макро- и микроэлементов, получили объединяющее название — микроэлементозы.

Поиск эффективных, профилактирующих микроэлементную недостаточность средств, продолжается постоянно. Особый интерес вызывают комплексные соединения ионов металлов с различными органическими веществами, содержащими циклические группировки органических молекул, так называемые хелатные или биокоординационные соединения. Применение хелатных соединений микроэлементов обеспечивает лучшую ассимиляцию металла, чем при введении их в рацион в неорганической форме. Такие соединения могут

© Пчельников Д. В., Семеновко М. П., Железнякова К. А., 2025

применяться внутрь или парентерально, они способны преодолевать плацентарный барьер и оказывать положительное влияние на плод, процессы кроветворения, нормализацию обменных процессов [8—11].

Однако многие вопросы действия хелатных соединений на организм животного, его органы и системы изучены недостаточно и требуют дальнейших исследований. При этом важным этапом при их разработке является изучение основных путей метаболизма входящих в состав хелатов биометаллов и их последующую биотрансформацию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явился препарат гемовит-плюс — комплекс органического соединения производного этилендиаминдиантарной кислоты (ЭДДЯК) с биологически активными микроэлементами (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I).

Оценка фармакокинетического профиля гемовита-плюс проводилась на белых лабораторных половозрелых крысах в условиях вивария кафедры «Основы ветеринарии, акушерства и зооигиены» ФГБОУ ВО «Тверская государственная сельскохозяйственная академия».

Для эксперимента было отобрано 13 групп крыс по 3 животных в каждой (12 опытных и одна контрольная). Крысам опытных групп препарат гемовит-плюс вводился внутривенно в дозе 13 мг / 1 кг массы тела животного.

Далее через каждые два часа в течение суток грызунов последовательно подвергали эвтаназии для отслеживания динамики изменения содержания микроэлементов (железо, марганец, йод, цинк, кобальт, медь, селен) в органах и тканях организма. Крыс контрольной группы умерщвляли вместе с 12 опытной группой.

У взятых в эксперимент животных для исследования отбирали следующие органы и ткани: кровь, печень, почки, сердце, лёгкие, толстый и тонкий отделы кишечника, скелетную мускулатуру. Изучение всех биологических проб проводили на атомно-абсорбционном спектрофотометре (железо, марганец, цинк, кобальт, медь) и вольтамперометрическом анализаторе (селен, йод — методом «Экотест-ВА»).

Необходимо отметить, что лиганд препарата гемовит-плюс состоит из двух составляющих: этилендиаминтетрауксусной кислоты и аспарагиновой кислоты. Этилендиаминтетрауксусная кислота, также называемая кислотой ЭДТА по названию собственной аббревиатуры, представляет со-

бой аминополикарбоновую кислоту с формулой $[CH_2N(CH_2CO_2H)_2]_2$. Это белое, нерастворимое в воде твердое вещество, широко используемое для связывания ионов железа (Fe^{2+}/Fe^{3+}) и кальция (Ca^{2+}), образующее растворимые в воде комплексы даже при нейтральном pH.

Второй составляющей лиганда является аспарагиновая аминокислота или аминоянтарная кислота — алифатическая заменимая аминокислота, одна из 20 протеиногенных аминокислот организма. Встречается во всех организмах в свободном виде и в составе белков, выполняет роль нейромедиатора в центральной нервной системе. Аспарагиновая кислота во время синтеза лиганда превращается в янтарную кислоту, которая является промежуточным продуктом обмена веществ, образующимся в процессе окисления и взаимопревращения белков, жиров и углеводов в живой клетке. В клетках янтарная кислота играет роль энергетического субстрата, участвуя в различных биохимических реакциях [12, 13—15].

Поэтому при проведении данного эксперимента нам было важно выяснить возможное влияние ЭДДЯК (сложный лиганд, образованный соединением этилендиаминтетрауксусной и янтарной кислотами) на степень усвоения микроэлементов в организме животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенного исследования усредненный фармакокинетический профиль кривых каждого из микроэлементов, входящих в препарат гемовит-плюс после его однократного внутривенного введения крысам в дозе 13 мг/кг, представленный на рисунках 1—7, отражает смоделированные кривые «концентрация — время».

Анализируя полученный материал, можно отметить следующую динамику изменений: содержание микроэлементов в исследуемых органах и тканях крыс уже через 2 часа после введения препарата гемовит-плюс увеличивалось в крови, печени и тонком отделе кишечника, достигая максимальных значений к 6—8 часу, после чего стабильно высоко держалось на одном уровне до 12 часов после введения. Этот период можно обозначить как фазу повышенной концентрации лекарственного вещества. При этом медианы времени достижения максимальной концентрации для всех исследуемых микроэлементов практически совпадали. Исключение составил тонкий отдел кишечника, где их содержание снижалось уже через 6 часов от начала введения гемовита-плюс.

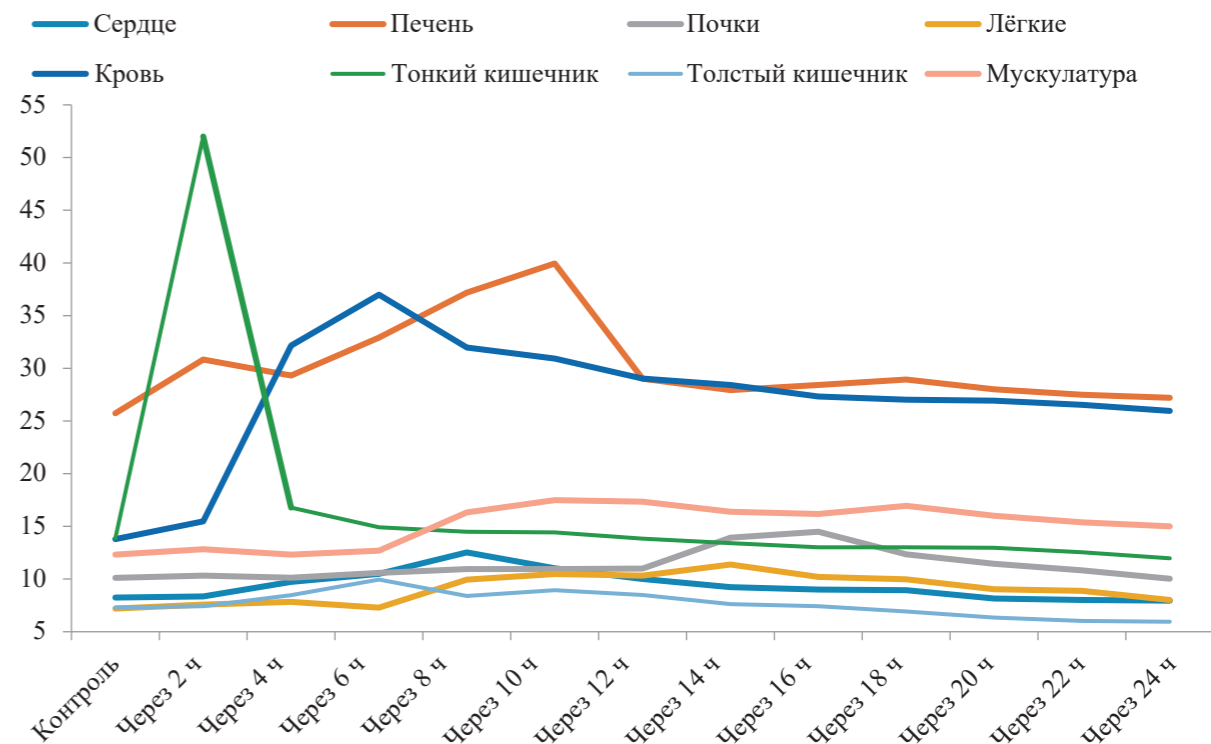


Рис. 1. Содержание железа в органах и тканях крыс в течение суток после введения препарата гемовит-плюс, мкг%

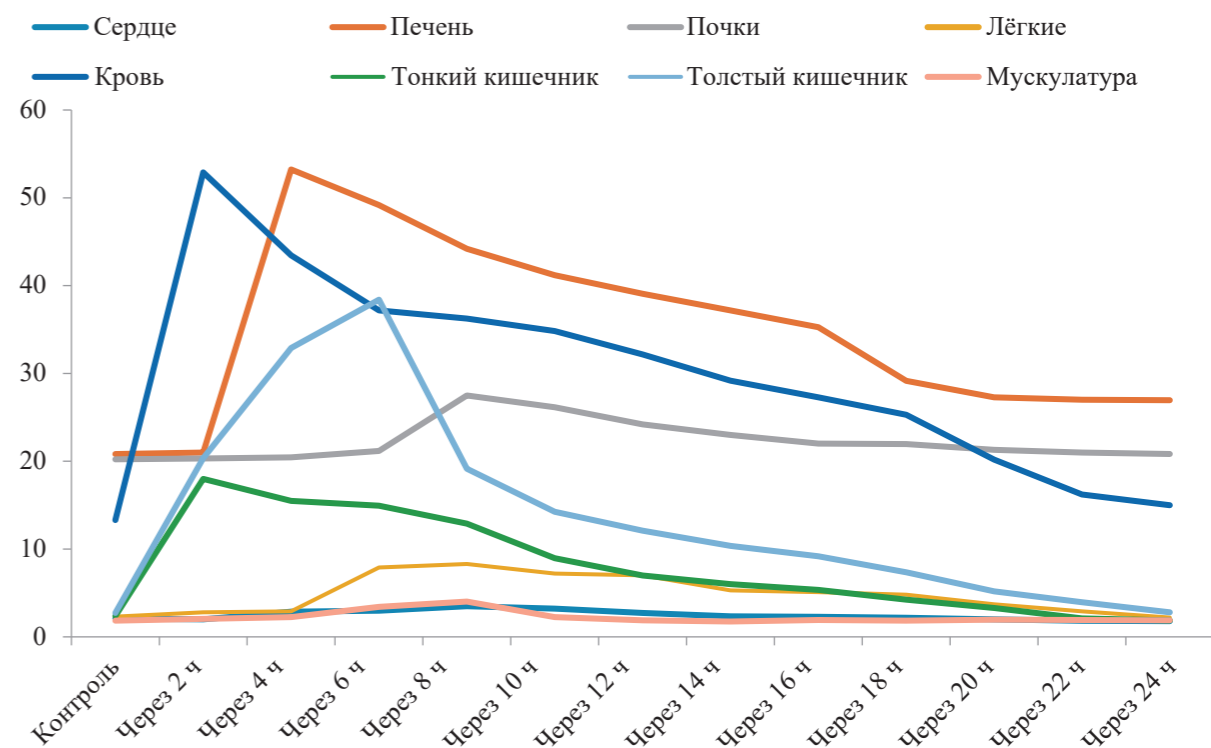


Рис. 2. Содержание марганца в органах и тканях крыс в течение суток после введения препарата гемовит-плюс, мкг%

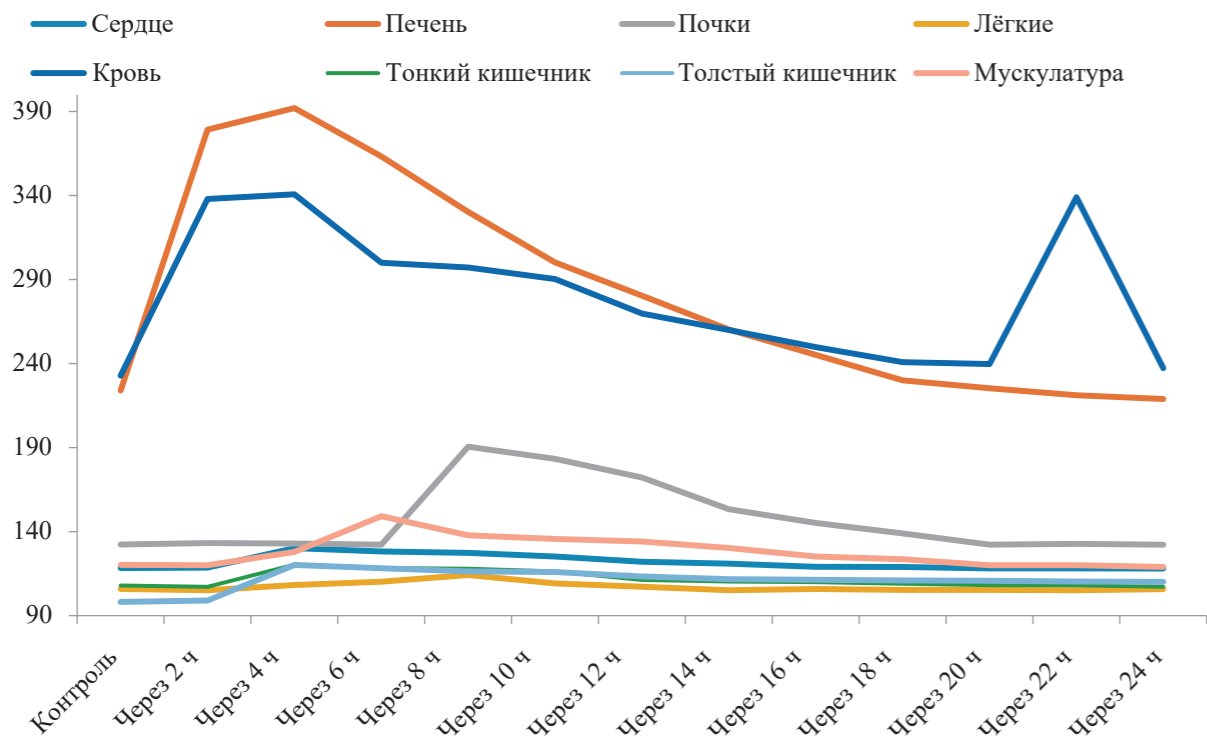


Рис. 3. Содержание цинка в органах и тканях крыс в течение суток после введения препарата гемовит-плюс, мкг%

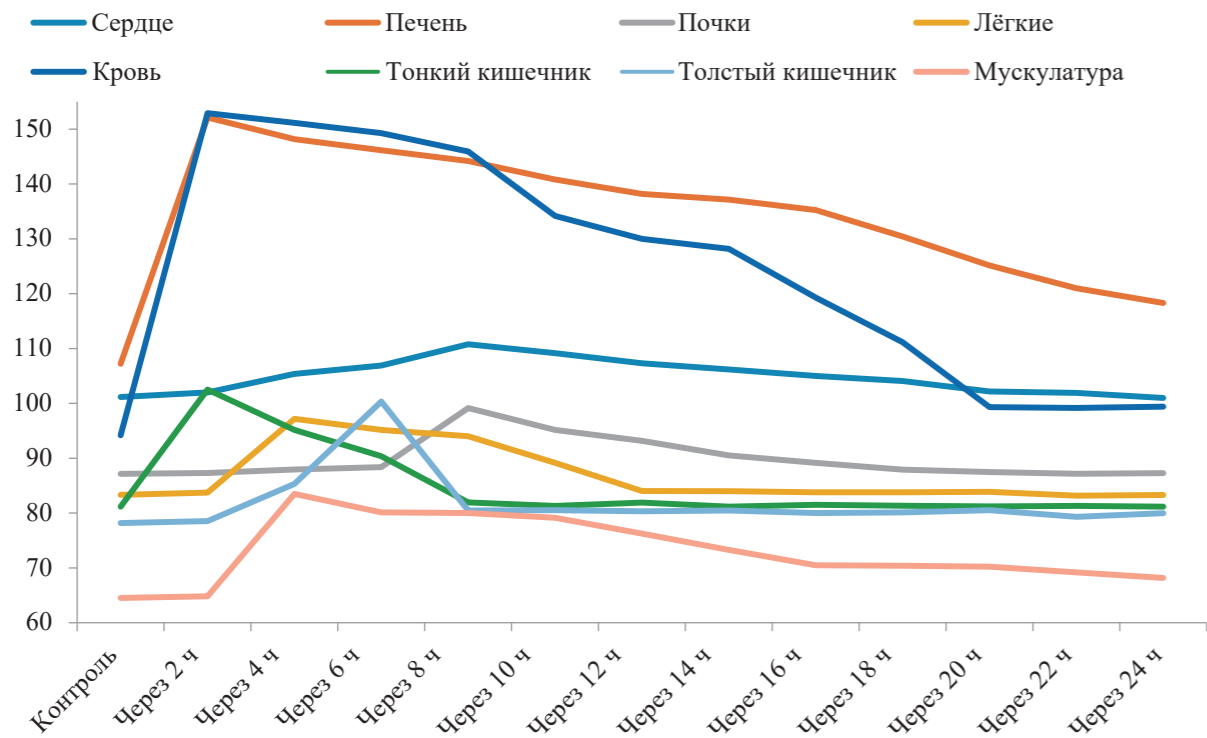


Рис. 4. Содержание меди в органах и тканях крыс в течение суток после введения препарата гемовит-плюс, мкг%

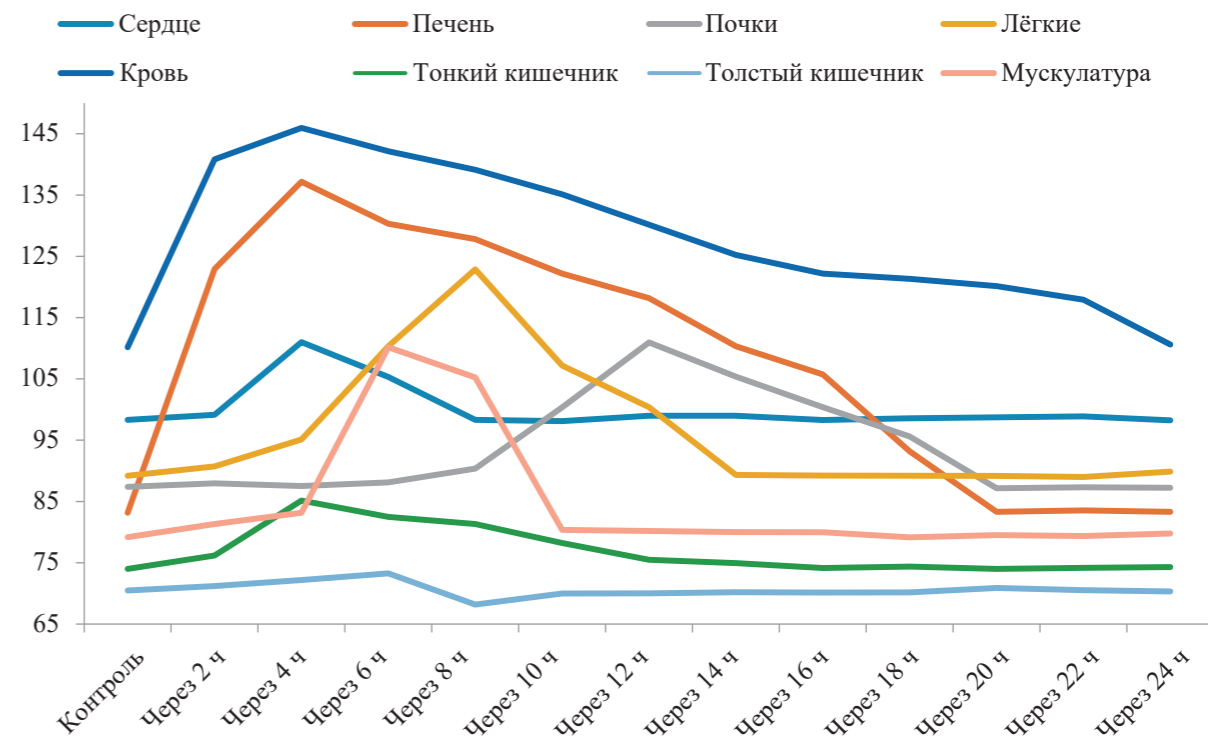


Рис. 5. Содержание кобальта в органах и тканях крыс в течение суток после введения препарата гемовит-плюс, мкг%

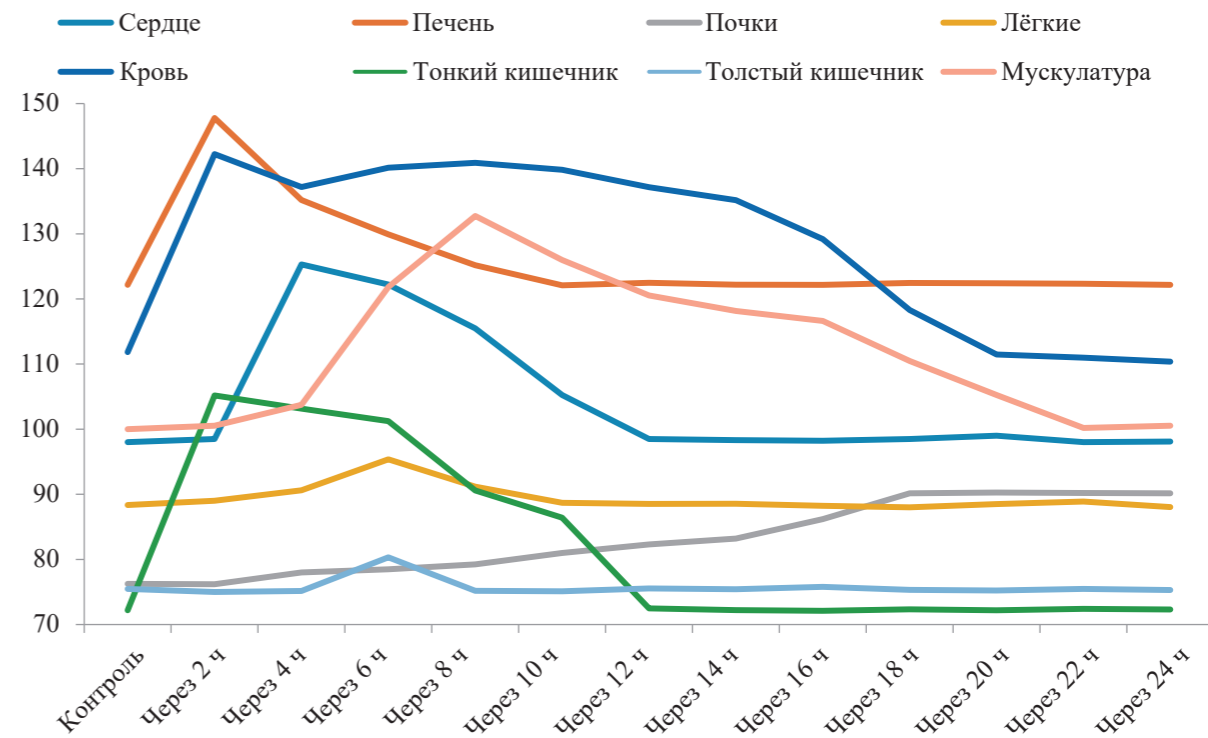


Рис. 6. Содержание селена в органах и тканях крыс в течение суток после введения препарата гемовит-плюс, мкг%

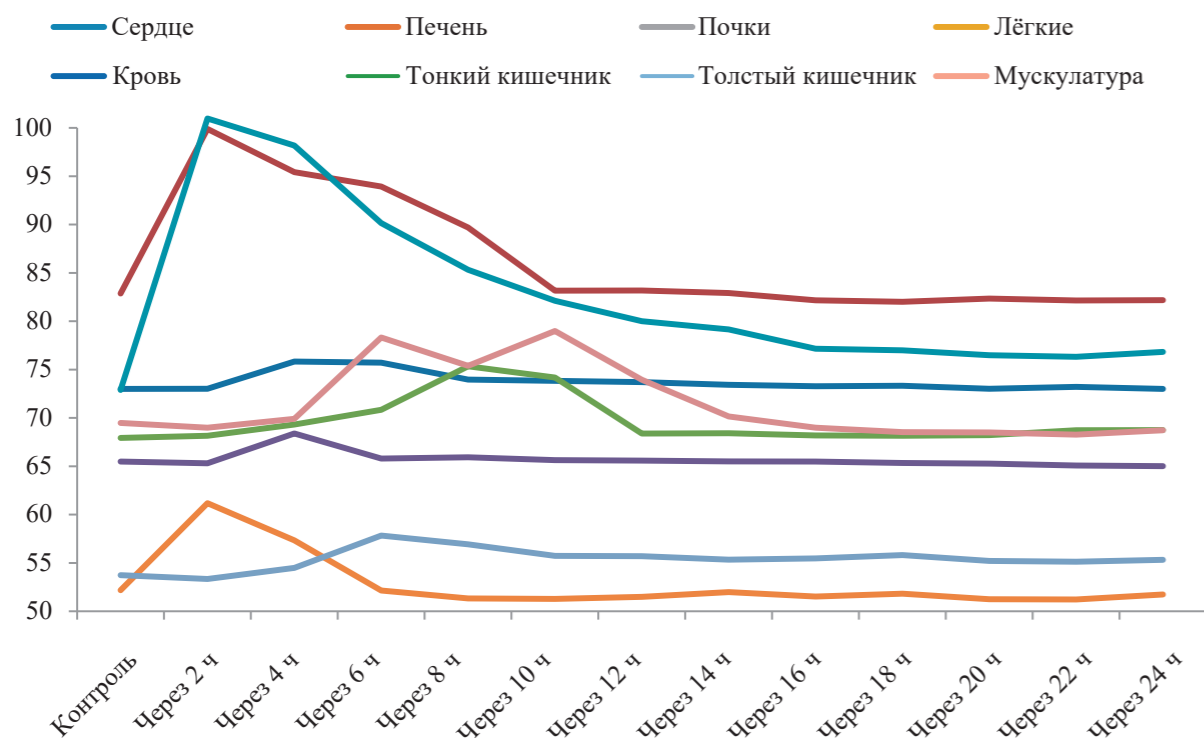


Рис. 7. Содержание йода в органах и тканях крыс в течение суток после введения препарата гемовит-плюс, мкг%

Далее следовала фаза поддержания концентрации минеральной составляющей препарата, обуславливающая относительную степень всасывания микроэлементов в подавляющем количестве органов, кроме почек, в которых спустя 12 часов происходило их увеличение. При этом максимальные значения всех минералов сохранялись в период с 12 до 16 часов, после чего их концентрация, продолжая поддерживаться в значимо высоких границах, медленно динамично снижалась.

Исключение составило изменение таких микроэлементов, как селен и йод, содержание которых в почках оставалось стабильно высоким даже к завершению эксперимента.

Данная фаза закончилась примерно к 20 часам после введения гемовита-плюс, после чего наступала фаза снижения концентрации, при которой содержание микроэлементов в органах и тканях опытных крыс практически достигало исходного уровня.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно констатировать, что входящие в препарат гемовит-плюс микроэлементы обладают сходством фармакокинетических параметров. Усредненные профили их фармакокинетических кривых имеют

совпадающие формы, характеризующаясь близкими значениями относительной биодоступности, что, в свою очередь, подтверждает высокий уровень биоэквивалентности и усвояемости хелатной формы препарата.

При этом сложный лиганд, образованный соединением этилендиаминтетрауксусной и янтарной кислотами, входящий в состав препарата гемовит-плюс, не оказывает негативного влияния на степень усвоения микроэлементов в организме животных.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Болезни минеральной недостаточности у сельскохозяйственных животных: лечение и профилактика: Методические рекомендации* / М. П. Семенов, Е. В. Кузьмина, А. Н. Трошин, А. Х. Шантыз // Краснодар, 2016. — 44 с.

2. *Пчельников Д. В.* Влияние биокоординационных соединений на продуктивность поросят-отъемышей / Д. В. Пчельников, В. И. Дорожкин // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. — 2017. — № 1. — С. 69—73.

3. *Сапего В. Н.* Профилактика нарушения обмена веществ у телят микроэлементами / В. Н. Сапего, С. Н. Плященко, Е. В. Берник [и др.] // Ветеринария. — 2005. — № 3. — С. 46—48.

4. *Бабич В. А.* Микроэлементы в звероводстве / В. А. Бабич // Мягкое золото. — 2002. — № 5. — С. 5—7.

5. *Ахметова И. Н.* Влияние органического селена на переваримость питательных веществ рациона бычков / И. Н. Ахметова // Зоотехния. — 2008. — № 7. — С. 10—13.

6. *Сидорова А. Л.* Биологически активная кормовая добавка для цыплят / А. Л. Сидорова // Зоотехния. — 2009. — № 10. — С. 30—31.

7. *Мусаева М. Н.* Методы коррекции обмена веществ у крупного рогатого скота / М. Н. Мусаева, Г. А. Алиев, А. М. Мусаев // Аграрная наука. — 2020. — № 7—8. — С. 69—72.

8. *Использование хелатных форм микроэлементов в рационах сельскохозяйственных животных* / Е. Н. Будникова, Е. А. Иванова, А. В. Кофанова, Н. А. Чепенёв // Актуальные вопросы инновационного развития агропромышленного комплекса: материалы Международной научно-практической конференции (Курск, 28—29 января 2016 г.). Курск: Курская ГСХА им. И. И. Иванова., 2016. — С. 23—28.

9. *Зуев О. Е.* Использование хелатов для повышения усвоения минеральных веществ в организме свиней / О. Е. Зуев // Зоотехния. — 2009. — № 3. — С. 17—18.

10. *Крюков В.* Новые органические соединения микроэлементов: возможности, проблемы, перспективы использования в кормлении и про-

филактике болезней обмена веществ у животных и птицы / В. Крюков, С. Зиновьев, В. Галецкий [и др.] // Перспективы развития ветеринарной науки и ее роль в обеспечении пищевой безопасности. — 2022. — № 2. — С. 168—175.

11. *Хелатные соединения и их использование для коррекции микроэлементов сельскохозяйственных животных* / А. Г. Коцаев, Н. Е. Горковенко, А. В. Косых [и др.] // Ветеринария сегодня. — 2024. — № 13 (2). — С. 136—142.

12. *Блягоз А. Н.* Участие янтарной кислоты в метаболизме живых организмов / А. Н. Блягоз, Д. А. Бисецева // Международный студенческий научный вестник. — 2015. — № 3. — Ч. 3. — С. 181.

13. *Victor A. I.* Antianemic activities of succinic acid and hexamethylcyclotrisiloxane in Wistar rats with alloxan-induced diabetes / A. I. Victor, I. S. Chidi, C. Ch. Ogbonna, E. Opara // Advances in Biomedical and Health Sciences 4(1): p 33—38, Jan–Mar 2025. DOI: 10.4103/abhs.abhs_44_24

14. *Guarnieri M. T.* Metabolic Engineering of Actinobacillus succinogenes Provides Insights into Succinic Acid Biosynthesis / M. T. Guarnieri, Y. Chou, D. Salvachúa [et al] // Appl Environ Microbiol, 2017. 83: e00996—17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00996-17>

15. *Smirnov A. V.* Succinic acid and its application in medicine. Part I. Succinic acid: metabolite and regulator of metabolism of the human body / A. V. Smirnov, O. B. Nesterova, R. V. Golubev // Nephrology (Saint-Petersburg). 2014;18(2):33—41.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Д. В. Пчельников — кандидат биологических наук, руководитель научного отдела;

М. П. Семенов — доктор ветеринарных наук, доцент, заведующая отделом;

К. А. Железнякова — кандидат экономических наук, старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 09.09.2025.

DYNAMICS OF CHANGES IN THE CONTENT OF MICROELEMENTS OF THE DRUG HEMOVIT-PLUS IN ORGANS AND TISSUES OF LABORATORY RATS

Dmitriy Vladimirovich Pchelnikov*, **Marina Petrovna Semenenko****,
Kseniya Andreevna Zheleznyakova***

*PTC IBS LLC, Lyubertsy, Russia, pchelnikov@ibsagro.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0303-5893>

**Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>

***Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, ksenia.andreevna0708@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9407-0768>

Abstract. The research objective was to assess the pharmacokinetic profile of the drug hemovit-plus, a complex of an organic compound derived from ethylenediaminedisuccinic acid with biologically active microelements (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I). Thirteen groups of rats, 3 animals each (12 experimental and 1 control), were selected for the experiment. The rats in the experimental groups were administered hemovit-plus intragastrically at a dose of 13 mg/L per kg of body weight. Then, every two hours for 24 hours, the rodents were humanely euthanized to monitor the dynamics of changes in the content of microelements in their organs and tissues. Blood, heart, lungs, liver, kidneys, skeletal muscles, and large and small intestines were collected from the rats for the study. The experimental results have shown that the microelements contained in hemovit-plus are highly bioavailable, reaching peak values 6—8 hours after administration, demonstrating the high level of absorption of the chelated form of the drug.

Keywords: hemovit-plus, microelements, pharmacokinetics, laboratory rats, organs and tissues, blood

A living organism is a complex dynamic system, whose functioning requires the maintenance of numerous metabolic processes, which represent complex biochemical reactions of all biologically active substances and nutrients. However, the health and productivity of animals depend not only on feeding the rations with sufficient protein, fat and carbohydrates, but also on their supply of minerals, the importance of which for the body is enormous [1, 2].

The functions of mineral elements in the body are extremely diverse and inextricably linked to their form and state [3]. They are part of vital compounds, participate in the processes of synthesis and breakdown, absorption and excretion of substances, directly affect the activity of enzymes, hormones and vitamins, and maintain a certain osmotic pressure in body fluids. A deficiency or excess of micro- and macroelements can not only affect animal productivity but also cause a number of nutritional diseases [4—7].

Pathologies caused by a deficiency of essential microelements, as well as an imbalance of macro- and

microelements, are collectively known as microelementoses.

The search for effective preventive measures against microelement deficiencies is ongoing. Of particular interest are complex compounds of metal ions with various organic substances containing cyclic groups of organic molecules, so-called chelate or bio-coordination compounds. The use of chelated microelement compounds ensures better metal assimilation than when they are introduced into the diet in inorganic form. Such compounds can be administered orally or parenterally. They are able to cross the placental barrier and have a positive effect on the fetus, hematopoiesis and normalization of metabolic processes [8—11].

However, many aspects of the effects of chelated compounds on the animal body, its organs and systems have been insufficiently studied and require further research. An important step in their design is the study of the primary metabolic pathways of the biometals included in the chelates and their subsequent biotransformation.

MATERIAL AND METHODS

The study object was hemovit-plus, a complex of an organic compound derived from ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) with biologically active microelements (Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Se, I).

The pharmacokinetic profile of hemovit-plus was assessed using adult white laboratory rats in the vivarium of the Department of Fundamentals of Veterinary Medicine, Obstetrics and Zoohygiene at FSBEI HE “Tver State Agricultural Academy”.

Thirteen groups of rats, three animals each (12 experimental and one control), were selected for the experiment. The rats in the experimental groups were administered hemovit-plus intragastrically at a dose of 13 mg/kg of body weight. The rodents were then sequentially euthanized every two hours for 24 hours to monitor changes in microelement content (iron, manganese, iodine, zinc, cobalt, copper and selenium) in their organs and tissues. The rats in the control group were devitalized along with the 12 experimental group.

The following organs and tissues were collected from the experimental animals: blood, liver, kidneys, heart, lungs, large and small intestines, and skeletal muscles. All biological samples were studied using an atomic absorption spectrophotometer (iron, manganese, zinc, cobalt, copper) and a voltammetric analyzer (selenium, iodine — using the Ecotest-VA method).

It should be noted that the ligand of the drug hemovit-plus consists of two components: ethylenediaminetetraacetic acid and aspartic acid. Ethylenediaminetetraacetic acid, also known as EDTA by its acronym, is an aminopolycarboxylic acid with the formula $[\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2]_2$. It is a white, water-insoluble solid widely used to bind iron ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) and calcium (Ca^{2+}) ions, forming water-soluble complexes even at neutral pH. The second component of the ligand is aspartic amino acid or aminosuccinic acid, an aliphatic, nonessential amino acid and one of the 20 proteinogenic amino acids in the body. It is found in all organisms in free form and as part of proteins, and functions as a neurotransmitter in the central nervous system. During ligand synthesis, aspartic acid is converted to succinic acid, which is an intermediate metabolic product formed during the oxidation and interconversion of proteins, fats, and carbohydrates in living cells. In cells, succinic acid acts as an energy substrate, participating in various biochemical reactions [12, 13—15]. Therefore, in conducting this experiment, it was important for us to determine the possible effect of EDDS (a complex ligand formed by combining ethylenediaminetetraacetic and succinic acids) on the absorption of microelements in the animals' bodies.

STUDY RESULTS

As a result of the study, the average pharmacokinetic profile curves for each of the microelements included in the drug hemovit-plus after a single intragastric administration to rats at a dose of 13 mg/kg, presented in Fig. 1—7, reflect the simulated concentration-time curves.

Analyzing the data obtained, the following dynamics of changes can be noted. Microelement content in the rats' studied organs and tissues increased in 2 hours after administration of hemovit-plus in the blood, liver and small intestine, reaching maximum values by 6—8 hours, after which they remained consistently high for up to 12 hours after administration. This period can be defined as the phase of increased drug concentration. The median times to reach maximum concentration for all studied microelements were virtually identical. The exception was the small intestine, where their content decreased within 6 hours from the administration of hemovit-plus.

This was followed by a phase of maintaining the concentration of the mineral component of the drug, which determined the relative degree of absorption of microelements in the vast majority of organs, with the exception of the kidneys, where they increased in 12 hours.

Moreover, the maximum values for all minerals were maintained between 12 and 16 hours, after which their concentrations, while still significantly high, slowly and dynamically declined. The exception was changes in the microelements such as selenium and iodine, the content of which in the kidneys remained consistently high even at the end of the experiment.

This phase ended approximately 20 hours after hemovit-plus administration, followed by a phase of concentration decline, during which microelement content in the organs and tissues of the experimental rats almost reached the baseline level.

CONCLUSION

Based on the data obtained, it can be concluded that the microelements contained in hemovit-plus have similar pharmacokinetic parameters. The average pharmacokinetic curve profiles have similar shapes, characterized by similar relative bioavailability values, which, in turn, confirms the high level of bioequivalence and digestibility of the chelated form of the drug. Furthermore, the complex ligand formed by a compound of ethylenediaminetetraacetic and succinic acids, which is part of the drug hemovit-plus, does not negatively affect the absorption of microelements in the animals.

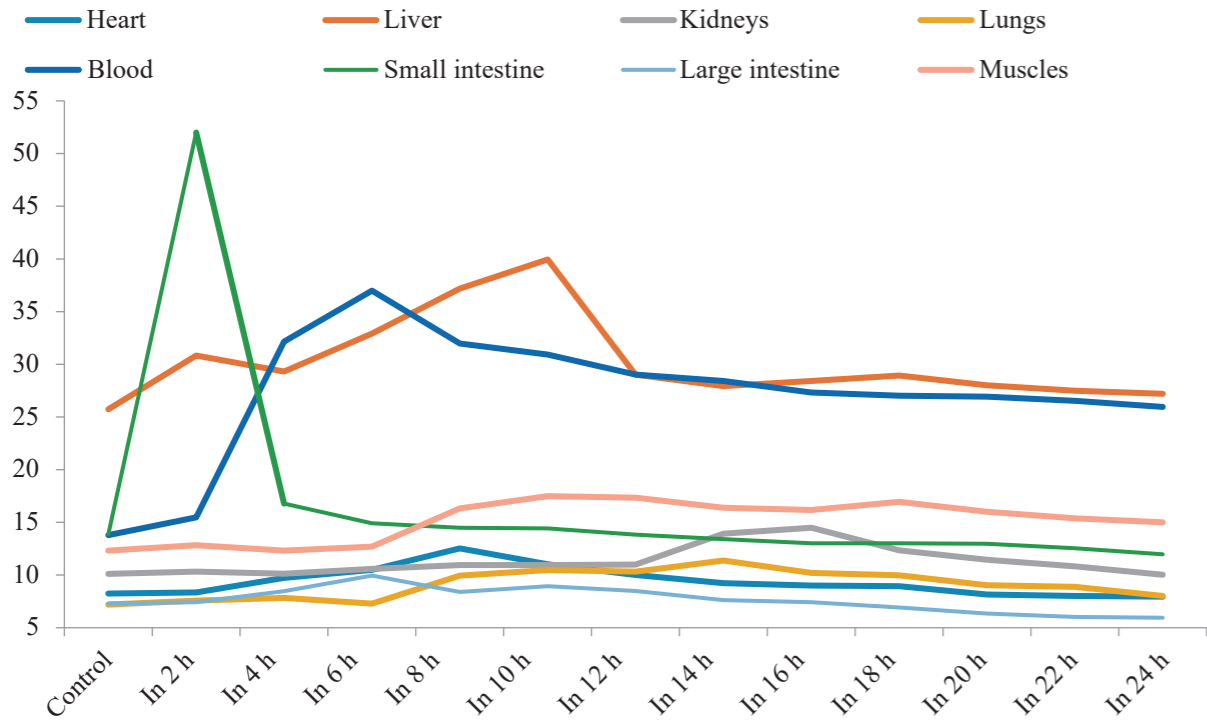


Fig. 1. Iron content in organs and tissues of rats within 24 hours after administration of the drug hemovit-plus, µg%

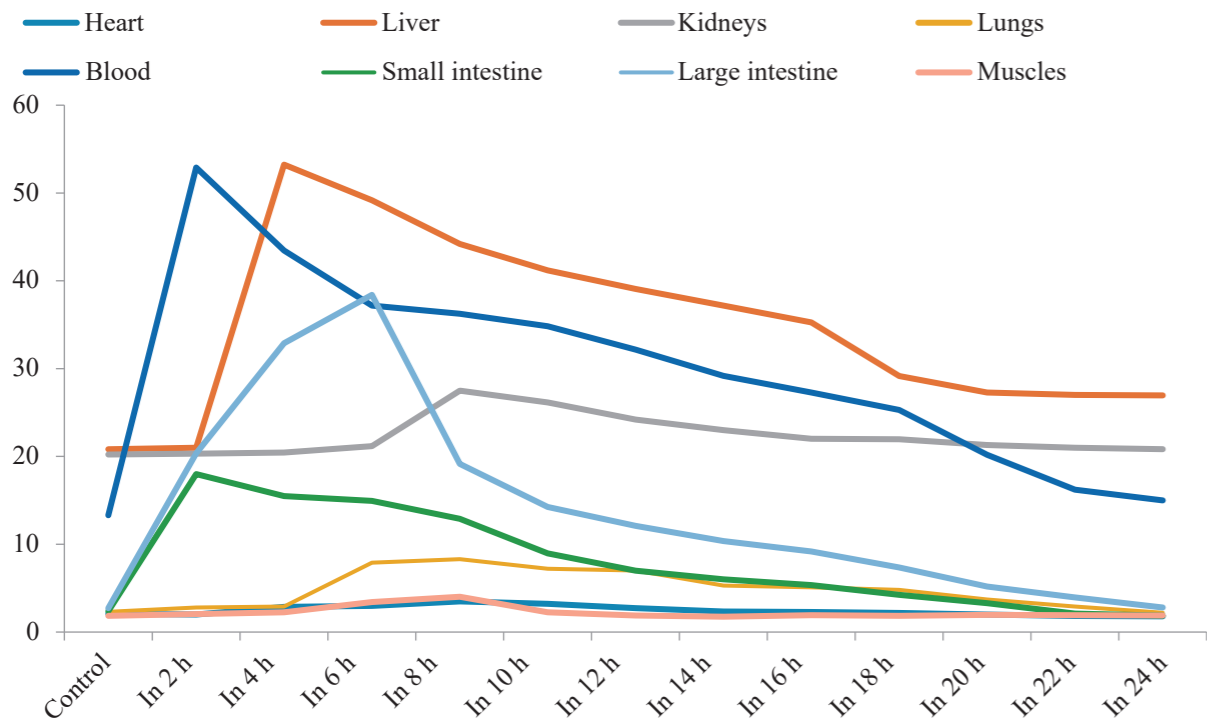


Fig. 2. Manganese content in organs and tissues of rats within 24 hours after administration of the drug hemovit-plus, µg%

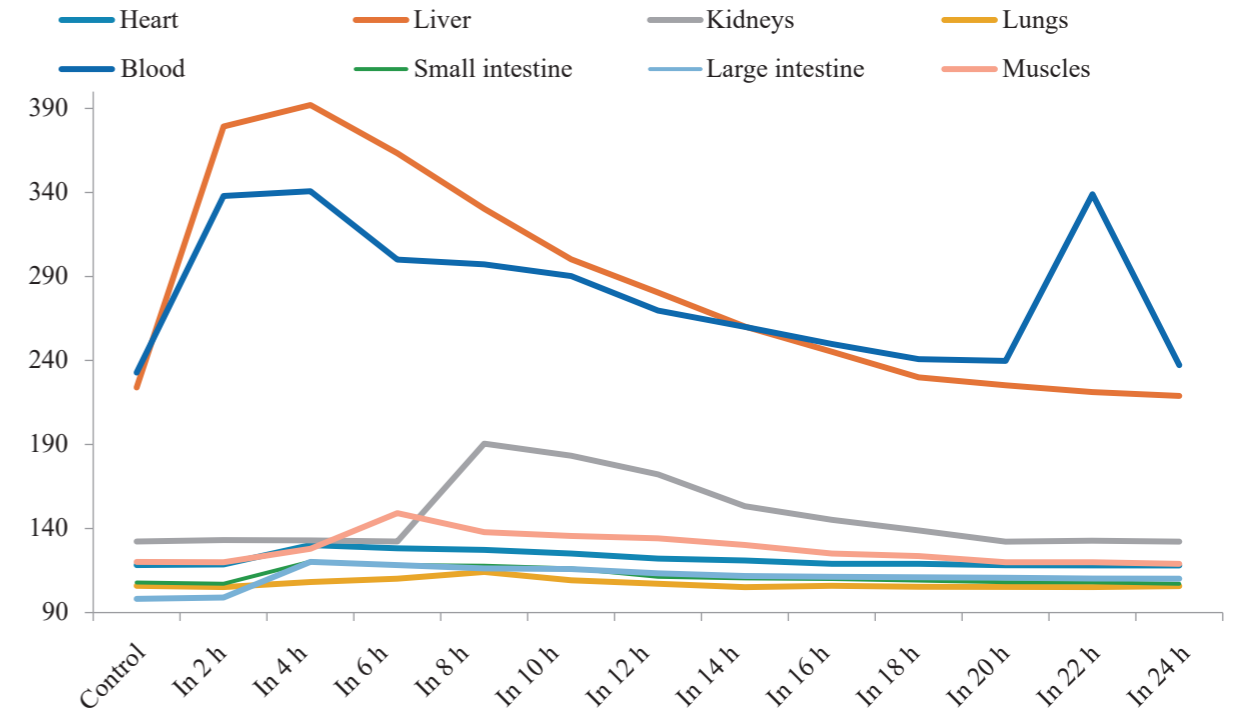


Fig. 3. Zinc content in organs and tissues of rats within 24 hours after administration of the drug hemovit-plus, µg%

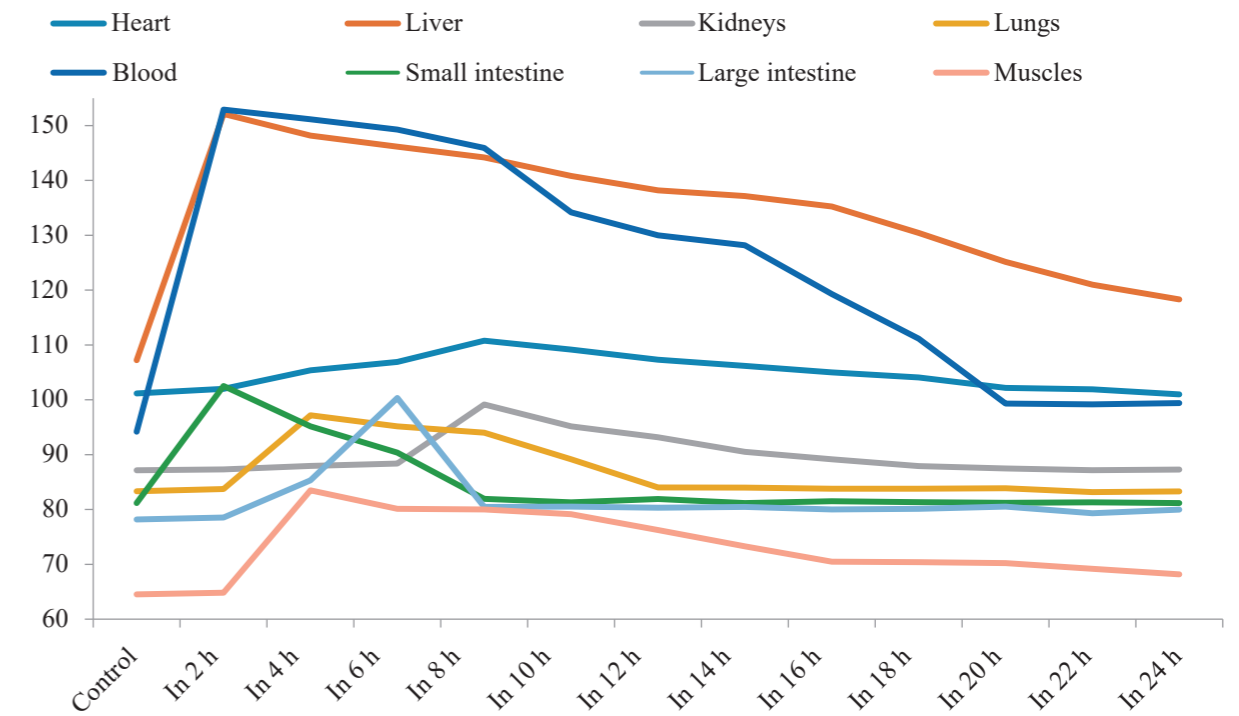


Fig. 4. Copper content in organs and tissues of rats within 24 hours after administration of the drug hemovit-plus, µg%

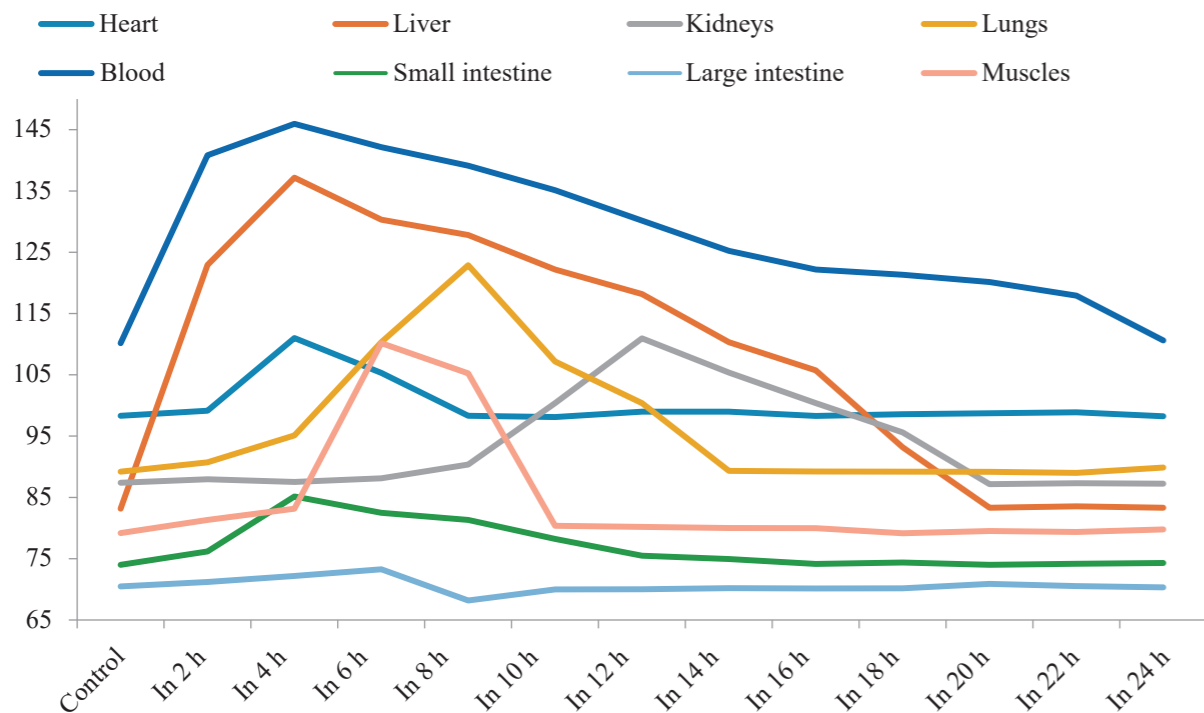


Fig. 5. Cobalt content in organs and tissues of rats within 24 hours after administration of the drug hemovit-plus, µg%

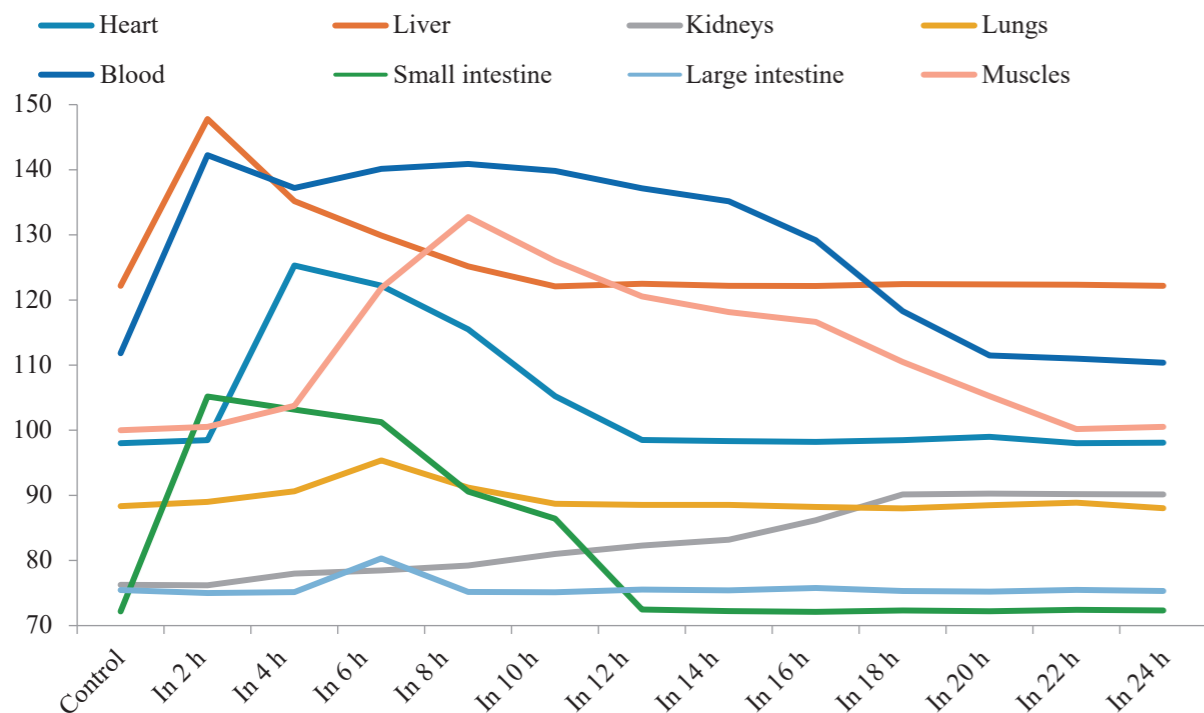


Fig. 6. Selenium content in organs and tissues of rats within 24 hours after administration of the drug hemovit-plus, µg%

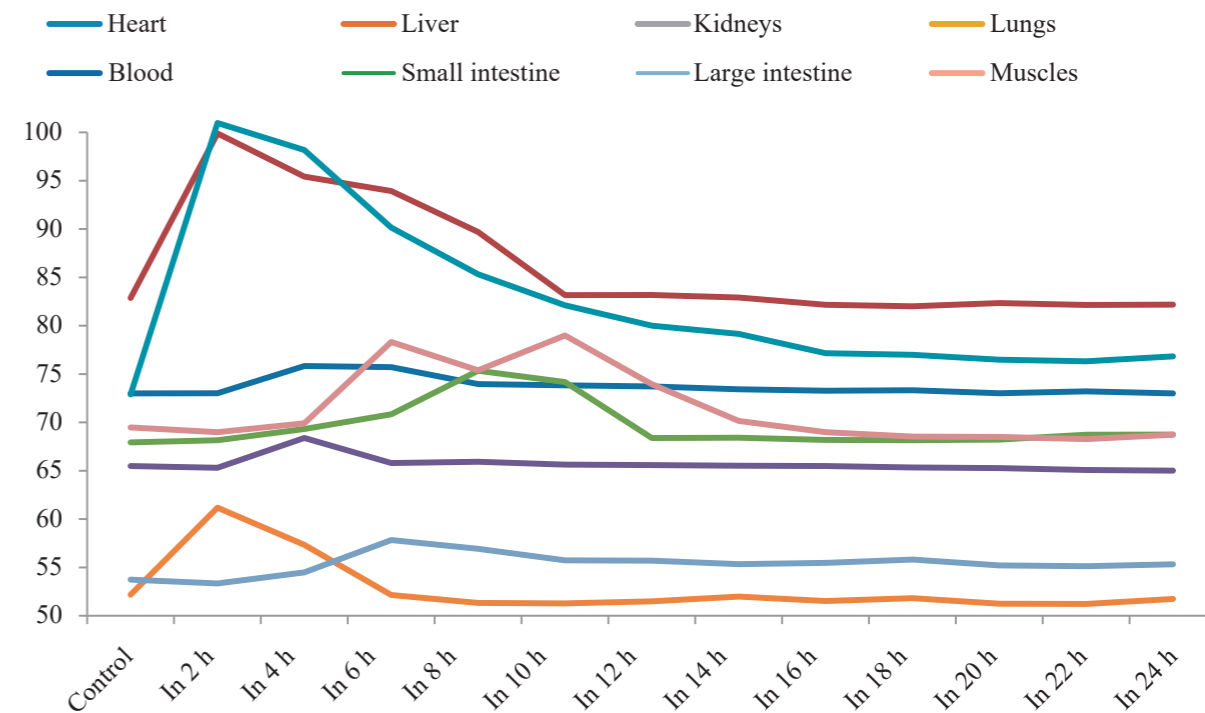


Fig. 7. Iodine content in organs and tissues of rats within 24 hours after administration of the drug hemovit-plus, µg%

REFERENCES

1. Mineral deficiency diseases in farm animals: treatment and prevention: Methodological recommendations / M. P. Semenenko, E. V. Kuzminova, A. N. Troshin, A. Kh. Shantyz // Krasnodar, 2016. — 44 p.
2. Pchel'nikov D. V. Effect of biocoordination compounds on the productivity of weaned piglets / D. V. Pchel'nikov, V. I. Dorozhkin // Problemy veterinarnoy sanitarii, gigeny i ekologii (Problems of veterinary sanitation, hygiene and ecology). — 2017. — No. 1. — P. 69—73.
3. Sapego V. N. Prevention of calf metabolic disorders with microelements / V. N. Sapego, S. N. Plyashchenko, E. V. Bernik [et al.] // Veterinariya (Veterinary science). — 2005. — No. 3. — P. 46—48.
4. Babich V. A. Microelements in fur farming / V. A. Babich // Myagkoe zoloto (Soft gold). — 2002. — No. 5. — P. 5—7.
5. Akhmetova I. N. Effect of organic selenium on the digestibility of nutrients in the diet of bulls / I. N. Akhmetova // Zootekhnika (Zootechnics). — 2008. — No. 7. — P. 10—13.
6. Sidorova A. L. Biologically active feed additive for chickens / A. L. Sidorova // Zootekhnika (Zootechnics). — 2009. — No. 10. — P. 30—31.
7. Musaeva M. N. Methods for correcting metabolism in cattle / M. N. Musaeva, G. A. Aliev, A. M. Musaev // Agrarnaya nauka (Agrarian Science). — 2020. — No. 7—8. — P. 69—72.
8. Use of chelated forms of microelements in the diets of farm animals / E. N. Budnikova, E. A. Ivanova, A. V. Kofanova, N. A. Chepenev // Current issues of innovative development of the agroindustrial complex: material of the International Scientific and Practical Conference (Kursk, January 28—29, 2016). Kursk: Kursk State Agricultural Academy named after I. I. Ivanov., 2016. — P. 23—28.
9. Zuev, O. E. Use of chelates to enhance mineral absorption in pigs. / O. E. Zuev // Zootekhnika (Zootechnics). — 2009. — No. 3. — P. 17—18.
10. Kryukov, V. New organic compounds of microelements: possibilities, problems, prospects for use in feeding and prevention of metabolic diseases in animals and poultry. / V. Kryukov, S. Zinovyev, V. Galetskiy [et al.] // Prospects for the development of veterinary science and its role in ensuring food safety. — 2022. — No. 2. — P. 168—175.
11. Chelate compounds and their use to correct microelements in farm animals. / A. G. Koshchayev, N. E. Gorkovenko, A. V. Kosykh [et al.] // Veterinariya segodnya (Veterinary science today). — 2024. — No. 13 (2). — P. 136—142.
12. Blyagoz A. N. Participation of succinic acid in the metabolism of living organisms / A. N. Blyagoz, D. A. Bissetseva // Mezhdunarodnyy studencheskiy nauchnyy vestnik (International Student Research Bulletin). — 2015. — No. 3. — Part 3. — P. 181.
13. Victor A. I. Antianemic activities of succinic acid and hexamethylcyclotrisiloxane in Wistar rats with alloxan-induced diabetes / A. I. Victor, I. S. Chidi, C. Ch. Ogbonna, E. Opara // Advances in Biomedical and Health Sciences 4(1): p 33—38, Jan—Mar 2025. DOI: 10.4103/abhs.abhs_44_24

14. *Guarnieri M. T. Metabolic Engineering of Actinobacillus succinogenes Provides Insights into Succinic Acid Biosynthesis / M. T. Guarnieri, Y. Chou, D. Salvachua [et al] // Appl Environ Microbiol, 2017. 83: e00996—17. <https://doi.org/10.1128/AEM.00996-17>*

15. *Smirnov A. V. Succinic acid and its application in medicine. Part I. Succinic acid: metabolite and regulator of metabolism of the human body / A. V. Smirnov, O. B. Nesterova, R. V. Golubev // Nephrology (Saint-Petersburg). 2014;18(2):33—41.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

D. V. Pchel'nikov — Candidate of Biological Sciences, Head of the Research Department;

M. P. Semenenko — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department;

K. A. Zheleznyakova — Candidate of Economic Sciences, Senior Scientific Associate.

The article was submitted 09.09.2025.

Научная статья

УДК 619:615.015.4

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.003

ФАРМАКОКИНЕТИКА ИММУНОМОДУЛЯТОРА АНАНДИН® 10 % ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПОЛУЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОЙ ПРОДУКЦИИ

Александр Анатольевич Комаров*, **Елизавета Николаевна Гончарова**✉**,
Сергей Владимирович Енгашев***, **Екатерина Сергеевна Енгашева******

**Российский биотехнологический университет, Москва, Россия*

***Научно-внедренческий центр Агроветзащита, Москва, Россия, goncharova.e@vetmag.ru*

****Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии –МВА имени К. И. Скрябина, Москва, Россия*

*****Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии — филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, Москва, Россия*

Аннотация. Действующее вещество препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» — глюкаминопропилкарбакридон, являющееся комплексным соединением, состоящим из N-акридонуксусной кислоты (АУК) и диметиламинопропилглюкофуранозы (ДМАПГФ). При исследовании фармакокинетики определяли оба компонента. По результатам экспериментов установлено, что АУК и ДМАПГФ активно проникают в системный кровоток КРС и свиней после внутримышечного введения в терапевтической дозе 0,02 мл/кг массы тела, распределяясь по всему организму. Для обоих компонентов отмечена быстрая абсорбция из места инъекции и циркуляция в организме свиней в течение 6 ч и 12 ч у КРС. Предлагаемая дозировка и внутримышечный способ введения препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» обеспечивают хорошую абсорбцию и распределение компонентов действующего вещества в организме КРС и свиней.

По результатам анализа проб органов и тканей КРС и свиней на остаточное содержание АУК и ДМАПГФ установлено, что для получения безопасных продуктов питания убой КРС и свиней следует осуществлять через 1 сутки после курсового внутримышечного применения препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций».

Ключевые слова: диметиламинопропилглюкофураноза, N-акридонуксусная кислота, свиньи, крупный рогатый скот, фармакокинетика, остаточные количества, АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций

Препарат «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» в качестве действующего вещества содержит глюкаминопропилкарбакридон — 100 мг/мл. Глюкаминопропилкарбакридон является низкомолекулярным индуктором противовоспалительных цитокинов и эндогенных интерферонов, которые на внутриклеточном уровне подавляют репродукцию вирусов, препятствуя развитию инфекционных процессов. Препарат обладает противовоспалительным и иммуномодулирующим действием, повышая функциональную активность Т-лимфоцитов и макрофагов, активизирует фагоцитоз, что в первую очередь необходимо для лечения вирусных инфекций и осложнений после перенесенных за-

болеваний за счет усиления иммунной защиты организма [1].

Глюкаминопропилкарбакридон является комплексным соединением, состоящим из 2 компонентов: N-акридонуксусной кислоты (АУК) и 3-О(N, N-диметиламино-н-пропил)-1,2:5,6-ди-О-изопротилиден-αD-глюкофуранозы (диметиламинопропилглюкофуранозы, ДМАПГФ). Структурные формулы компонентов представлены на рис. 1.

АНАНДИН® относится к наиболее перспективным и безопасным низкомолекулярным иммуномодуляторам, так как они, как правило, не вызывают аллергических побочных реакций. Он обладает

направленным противовирусным, иммуномодулирующим и противовоспалительным действием, благодаря стимуляции выработки организмом животного эндогенных интерферонов, противовоспалительных цитокинов, активации Т и В лимфоцитов, макрофагов, NK-клеток [2]. В научной литературе сообщается о влиянии АНАНДИНА® на некоторые показатели, характеризующие клеточные и гуморальные факторы врожденного и адаптивного иммунитета у свиноматок в различные периоды супоросности и лактации [3]. Было выявлено его позитивное влияние на клеточные факторы врожденного (активности кислородзависимых и кислороднезависимых бактерицидных систем нейтрофилов в лизосомально-катионном тесте и тесте восстановления нитросинего тетразолия) и адаптивного иммунитета (продукция лимфокинов в реакции торможения миграции лейкоцитов) телят [4]. Применение АНАНДИНА® поросятам способствовало улучшению у них морфологических и биохимических показателей крови: количество эритроцитов, лейкоцитов, СОЭ, гемоглобина, общего белка, билирубина и натрия [5] и показателей, характеризующих клеточные факторы адаптивного и врожденного иммунитета [6]. Доказана высокая его эффективность при профилактике респираторных и желудочно-кишечных заболеваний телят и поросят в критические периоды жизни, когда существует угроза вспышки инфекции [7, 8]. Показано, что применение АНАНДИНА® телятам перед первичной или повторной вакцинацией приводило к повышению качества вакцинации, стимуляции иммунного ответа и выработке более высо-

ких титров антител к вирусам инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи и парагриппа даже у ослабленных животных [9]. В настоящее время в медицине применяются индукторы эндогенных интерферонов, содержащие в качестве действующих веществ различные соли акридонуксусной кислоты такие, как: НЕОВИР®, ЦИКЛОФЕРОН®. Однако уникальность АНАНДИНА® заключается в том, что благодаря входящим в его состав соли акридонуксусной кислоты с монозамещенными эфирами моносахаридов удалось добиться высокой стабильности, уникальной способности растворяться как в гидрофильных, так и гидрофобных средах и высокой биодоступности. Соли акридонуксусных кислот с монозамещенными эфирами моносахаридов являются солями, образованными слабыми кислотами и слабыми основаниями, очень мало диссоциированными в водных растворах и образующими устойчивые ионные пары в спиртах и малополярных растворителях. Между катионом и анионом происходит дополнительное образование водородных связей, что стабилизирует молекулу соединения, а электростатические заряды данных веществ в значительной степени экранированы гидрофобными группами [10].

Несмотря на многочисленные исследования терапевтической эффективности АНАНДИНА®, мы не нашли в доступной литературе информации по изучению фармакокинетики и сроков выведения из организма сельскохозяйственных животных N-акридонуксусной кислоты и диметиламинопропилглюкофуранозы, входящих в состав препарата, что несомненно является актуальной задачей.

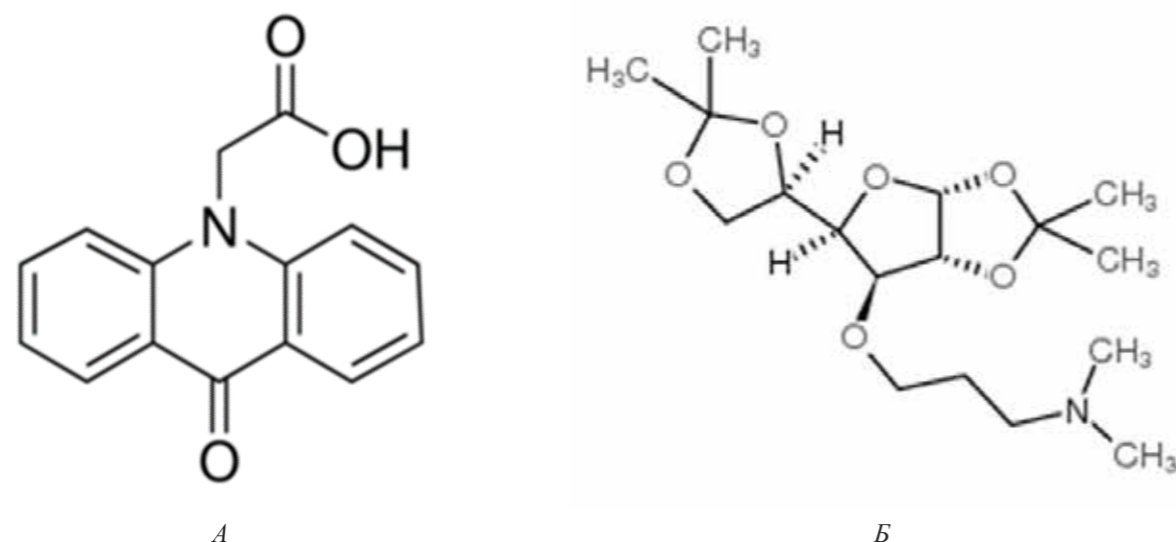


Рис. 1. Структура молекулы акридонуксусной кислоты (А) и диметиламинопропилглюкофуранозы (Б) [1]

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. В исследовании использовали 6 телят 2—3 месячного возраста холмогорской породы массой 70—90 кг для изучения фармакокинетики и 10 телят — динамики выведения остаточных количеств действующих веществ препарата из органов и тканей животных. Для кормления (утром и вечером) применяли рацион, составленный с учетом возраста и включающий: сено разнотравное — по 1,0 кг, комбикорм — по 0,2 кг, заменитель цельного молока — по 3,0 л.

Доступ к воде не ограничивали. Температура в помещении находилась в промежутке 16—27 °С, относительная влажность воздуха составляла 45—70 %. Для изучения фармакокинетики у свиней использовали 6 поросят 2—3 месячного возраста массой 22—35 кг породы ландрас/дюрок и 10 поросят — динамики выведения остаточных количеств действующих веществ препарата из органов и тканей животных.

Для кормления применяли рацион, составленный с учетом возраста и включающий комбикорм для свиней СПК-5. В помещении использовалось искусственное освещение. Доступ к воде не ограничивали. Температура в помещении находилась в промежутке 16—27 °С, относительная влажность воздуха — 45—70 %.

Дизайн исследования. Для изучения фармакокинетики у КРС и свиней вводили препарат однократно внутримышечно в дозе 2 мг глюкаминопропилкарбакридонна на кг массы животного. Точки отбора крови у животных были до введения препарата и через 15; 30; 45 мин; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 12; 24; 48; 72 ч после введения. Из отобранной крови получали плазму.

Для исследования динамики выведения остаточных количеств действующего вещества у КРС и свиней препарат вводили курсово: двукратно внутримышечно с интервалом 48 ч в дозе 2 мг глюкаминопропилкарбакридонна на кг массы тела животного. Отбирали мышечную и жировую ткань, печень и почки до введения препарата и через 12 и 24 ч после последнего введения.

Отобранные образцы гомогенизировали, замораживали при –20°С и хранили в замороженном виде до проведения анализа.

Стандартные образцы. Для исследования использовали стандартные образцы диметиламинопропилглюкофуранозы с содержанием основного вещества 99,6 % (СКТБ Технолог, Россия) и 9-оксо-10(9Н)-акридонуксусной кислоты с содержанием основного вещества не менее 98 % (TRC,

Канада). Стандартные образцы растворяли в метаноле до концентрации 1 мг/мл.

Методика определения. В исследовании использовали матричные градуировочные образцы плазмы крови, печени, почек, жировой и мышечной тканей свиней и КРС. Диапазон линейности определения АУК в плазме крови составил от 5 до 500 нг/мл, а для ДМАПГФ — от 5 до 200 нг/мл, в органах и тканях для обоих анализов диапазон линейности составил от 10 до 500 нг/г.

При определении анализов в плазме крови животных проводили экстракцию охлажденным ацетонитрилом (ч. д. а.), послученный экстракт разбавляли 0,5 % муравьиной кислотой (ч. д. а.) в воде и проводили очистку с помощью картриджей с сорбентом С18 (200 мг, Biosomma, Китай), предварительно подготовленные метанолом (HPLC grade) и 0,5 % муравьиной кислотой. После нанесения экстракта картриджи промывали 0,5 % муравьиной кислотой в воде и элюировали аналиты 0,5 % муравьиной кислотой в метаноле. С помощью упаривания элюат концентрировали и фильтровали в виалу через мембранный PTFE фильтр.

При определении АУК в органах и тканях животных экстракцию проводили 6М соляной кислотой (х. ч.) на водяной бане при 95 ° в течение 1,5 ч. Полученный экстракт чистили гексаном (х. ч.). После этого проводили жидкость-жидкостную двойную экстракцию метилтретбутиловым эфиром (х. ч.), полученные экстракты упаривали досуха, а полученный остаток перерастворяли в 0,1М соляной кислоте.

Далее повторно чистили экстракт гексаном. Полученный экстракт использовали для твердофазной экстракции (ТФЭ) на картриджах с сорбентом МСХ (60 мг, Biosomma, Китай), предварительно кондиционированных метанолом и 0,1М раствором соляной кислоты.

После нанесения экстракта картридж промывали 0,1М соляной кислотой и элюировали аналиты 0,5 % аммиаком (ч. д. а.) в метаноле. Элюат сушили в токе азота досуха, перерастворяли в деионизованной воде и фильтровали в виалу через мембранный шприцевой фильтр.

При определении ДМАПГФ в органах и тканях проводили экстракцию ацетонитрилом, после чего отбирали аликвоту экстракта, разбавляли водой и использовали для очистки с помощью ТФЭ на картриджах с сорбентом С18 (200 мг), предварительно кондиционированных метанолом и водой. После нанесения экстракта картриджи промывали водой и элюировали аналит 0,5 % муравьиной кис-

лотой в метаноле. Элюат фильтровали в виалу через шприцевой мембранный фильтр.

Полученные экстракты анализировали с помощью ВЭЖХ—МС/МС (Shimadzu LC—MS8050, Япония). Температура колонки была 30°C, скорость потока составляла 0,25 мл/мин. Хроматографическое определение проводили с использованием колонки ZORBAX Eclipse Plus 2×100 мм, 5 мкм (Agilent, США). В качестве подвижных фаз были выбраны 0,5 % муравьиная кислота в воде и в метаноле. MRM переходы для АУК: 195 > 100, а для ДМАПГФ: 346 > 288.

Аналитическая методика была валидирована в соответствии с международными нормативами [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фармакокинетика. По результатам исследования было выявлено, что после внутримышечного введения лекарственного препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» КРС и свиньям АУК быстро попадает в системный кровоток, время достижения максимальной концентрации — 15 мин, максимальная концентрация составила, в среднем, 876 ± 235 нг/мл у КРС и 1347 ± 380 нг/мл — у свиней. Усредненные графики фармакокинетических кривых представлены на рис. 2. После вну-

тримышечного введения лекарственного препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» КРС и свиньям ДМАПГФ медленнее, чем АУК попадает в системный кровоток, время достижения максимальной концентрации — 15—30 мин, а максимальная концентрация составила, в среднем, 381 ± 85 нг/мл у КРС и 448 ± 94 нг/мл — у свиней. Фармакокинетические параметры представлены в таблице 1.

Для оценки фармакокинетики АУК у КРС и свиней при внутримышечном введении применили 2-комpartmentную фармакокинетическую модель. Успешное применение 2-комpartmentной модели для АУК может быть объяснено высокой липофильностью этого вещества, что обуславливает его быстрое поступление как в органы с высоким уровнем кровоснабжения, так и в жировую и мышечную ткани.

Для оценки фармакокинетики ДМАПГФ у КРС и свиней при внутримышечном введении использовали 1-комpartmentную фармакокинетическую модель.

Успешное применение 1-комpartmentной модели для ДМАПГФ может быть объяснено тем, что это вещество имеет углеводную основу, менее липофильно и менее интенсивно проникает в жировую и мышечную ткани.

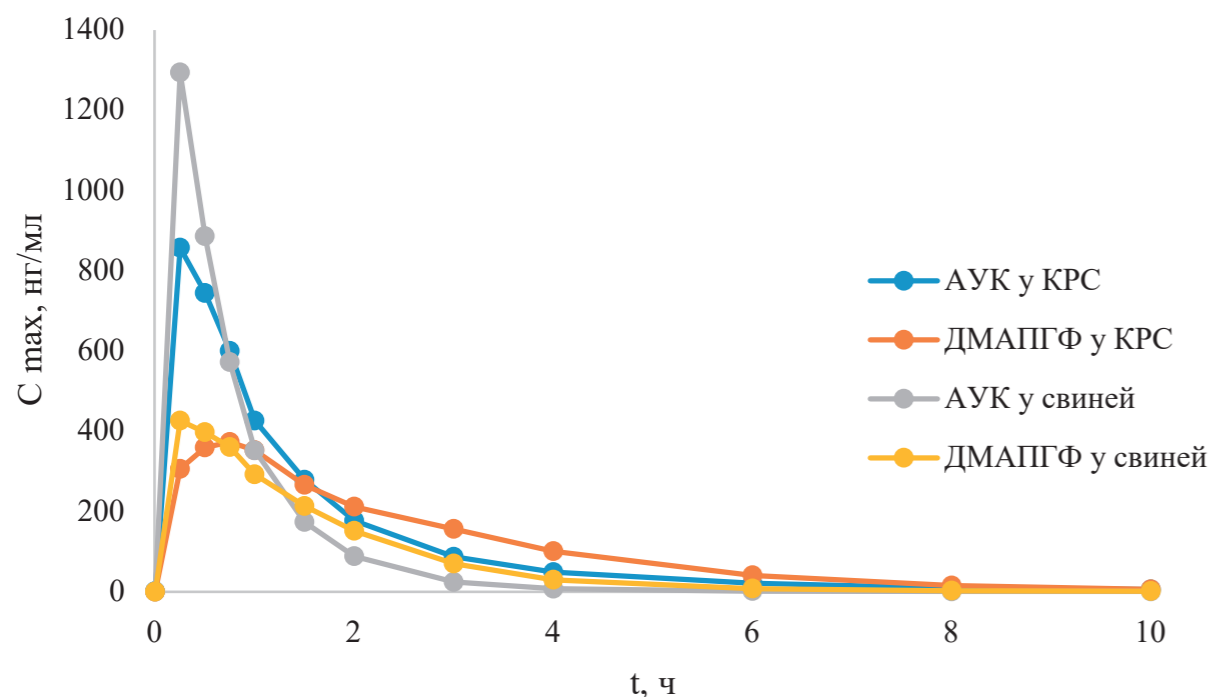


Рис. 2. Фармакокинетические кривые АУК и ДМАПГФ у КРС после однократного внутримышечного введения препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» в дозе 2 мг глюкоаминопропилкарбакидона на кг массы животного

Таблица 1

Фармакокинетические параметры АУК и ДМАПГФ у КРС и свиней после внутримышечного однократного введения препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» в дозе 2 мг глюкоаминопропилкарбакидона на кг массы животного.

Параметр	Ед.изм.	ДМАПГФ у КРС	АУК у КРС	ДМАПГФ у свиней	АУК у свиней
T _{max}	ч	0,61	0,28	0,32	0,20
C _{max}	нг/мл	381,4	876,3	448,1	1347,2
AUC _{0-t}	нг/мл*ч	1099	1217	758	1085
AUC _{0-∞}	нг/мл*ч	1119	1223	780	1106
AUC _{0-t} / AUC _{0-∞}	—	0,98	1,00	0,97	0,98
AUMC _{0-∞}	нг/мл*ч ²	2845	1797	1201	958
t _{1/2β}	ч	1,6	1,3	1,0	0,7
MRT _{0-∞}	ч	2,5	1,5	1,5	0,9

Среднее значение периода полувыведения АУК у КРС составило 1,3 ± 0,5 ч, а среднее время удержания (MRT) — 1,5 ± 0,3 ч. Среднее значение периода полувыведения ДМАПГФ — 1,6 ± 0,2 ч, а MRT — 2,5 ± 0,3 ч у КРС. Таким образом, для АУК и ДМАПГФ характерна кратковременная циркуляция в организме КРС. Среднее значение периода полувыведения АУК у свиней составило 0,7 ± 0,3 ч, а среднее MRT — 0,9 ± 0,3 ч. Таким образом, у свиней отмечена более быстрая по сравнению с КРС абсорбция и элиминация АУК. Среднее значение периода полувыведения у свиней ДМАПГФ составило 1,0 ± 0,2 ч, а среднее время удержания — 1,5 ± 0,2 ч. Для ДМАПГФ так же, как и для АУК характерна кратковременная циркуляция в организме. У свиней отмечена более быстрая по сравнению с КРС элиминация ДМАПГФ.

Выведение остаточных количеств. МДУ действующего вещества препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» — глюкоаминопропилкарбакидона, как и его компонентов (АУК и ДМАПГФ) не установлены в Государственных нормативных актах Российской Федерации [12], технических регламентах и нормативных актах Таможенного союза [13—15]. Поэтому в качестве срока ожидания для получения безопасных продуктов питания следует рассматривать период, за который АУК и ДМАПГФ полностью выводятся из органов и тканей животных.

Анализ тканей КРС показал, что АУК не сохраняется в тканях КРС спустя 12 и 24 ч после курс-

са введения. ДМАПГФ выявляли через 12 ч после курса во всех пробах почек КРС и в 3 пробах печени (табл. 2). Однако уже через 24 ч после введения препарата анализ на обнаруживался во всех отобранных образцах.

Анализ тканей свиней показал, что АУК сохраняется в печени и почках свиней КРС спустя 12 ч после курса введения.

В пробах других тканей спустя 12 ч после курса АУК не выявляли. ДМАПГФ была выявлена только в почках свиней через 12 ч после введения препарата (табл. 2).

Из полученных данных видно, что выведение АУК и ДМАПГФ из организма КРС и свиней происходит в течение 1 суток и основной путь выведения — почечная и печеночная экскреция. Данные согласуются с результатами исследования фармакокинетики, где показана быстрая элиминация компонентов действующего вещества из системного кровотока животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Компоненты действующего вещества препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» активно попадают в системный кровоток КРС и свиней при внутримышечном введении в терапевтической дозе 0,02 мл/кг массы тела. Для обоих компонентов отмечена быстрая абсорбция из места инъекции, равно как и непродолжительная циркуляция в организме, которая не превышала 12 ч у КРС и 6 ч у свиней.

Таблица 2

Концентрация АУК и ДМАПГФ в печени и почках КРС и свиней через 12 и 24 ч после последнего введения препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций» в дозе 0,02 мл/кг

Срок убоя	С АУК у свиней, мкг/кг		С ДМАПГФ у свиней, мкг/кг	С АУК у КРС мкг/кг	С ДМАПГФ у КРС, мкг/кг	
	Печень	Почки	Почки	Печень, почки	Печень	Почки
Контроль	< НПКО	< НПКО	< НПКО	< НПКО	< НПКО	< НПКО
12 ч (4 животных)	< НПКО	< НПКО	11,4	< НПКО	18,6	57,9
	13,0	18,8	10,8		< НПКО	22,1
	< НПКО	12,3	19,7		12,9	47,0
	10,5	18,3	< НПКО		13,5	38,0
24 ч (4 животных)	< НПКО	< НПКО	< НПКО	< НПКО	< НПКО	< НПКО

Для получения безопасных продуктов питания убой КРС и свиней следует осуществлять не раньше, чем через 1 сутки после последнего введения препарата «АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций».

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Патент на изобретение № RU2118 532 С1. Противовирусное, противовоспалительное и противоопухолевое лекарственное средство. Заявитель: *Травкин О. В., Яковлева Е. В.* Опубликовано 10.09.1998 г.
2. Инструкция по ветеринарному применению лекарственного препарата АНАНДИН® 10 % раствор для инъекций. Номер регистрационного удостоверения 78—3—15.13—1489/ПВР-3—13/01222.
3. *Хоменко Р. М., Крячко О. В., Лукьянова Л. А.* Влияние препарата «АНАНДИН®» на некоторые иммунологические показатели у свиноматок в период супоросности и лактации // *Междун. Вест. Вет.* 2018. № 3. СС. 58.
4. *Гронский К. А.* Ветеринарно-гигиеническая оценка применения анандина при выращивании телят // Дисс. На соиск. Уч. степени кандидата вет. наук, 2002, г. Санкт-Петербург.
5. *Хоменко Р. М., Кузнецов А. Ф.* Влияние препарата «АНАНДИН®» на морфологические и биохимические показатели крови у поросят // *Фармакол., токс., фармац.* 2017. № 4. СС. 40—44.
6. *Крячко О. В., Хоменко Р. М.* Реакция клеточных факторов врожденного и адаптивного иммунитета поросят на введение препарата «АНАНДИН®» // *Рос. Иммунол. Ж.* 2019. Т. 13. № 2. СС. 822—824.
7. *Енгашиев С. В., Енгашева Е. С., Новак М. Д., Новак А. И., Никанорова А. М., Филимонов Д. Н.* Эффек-

тивность лекарственного препарата «АНАНДИН®» 10 % раствор для инъекций при респираторных и желудочно-кишечных заболеваниях свиней // *Ветеринария, зоотехнология и биотехнология.* 2025. № 3. СС. 59—69.

8. *Енгашиев С. В., Новак М. Д., Енгашева Е. С., Евдокимова О. В., Новак А. И.* Гематологические и биохимические показатели при респираторных и желудочно-кишечных заболеваниях телят после применения иммуномодулятора «АНАДИН®» 10 % // *Ветеринария, зоотехнология и биотехнология.* 2023. № 7. СС. 14—24.

9. *Енгашиев С. В., Новак М. Д., Евдокимова О. В., Новак А. И., Енгашева Е. С.* Влияние анандина® 10 % на иммунологические показатели телят при респираторных и желудочно-кишечных заболеваниях // *Ветеринария.* 2023. № 9. СС. 50—54.

10. Патент на изобретение № RU2 197 248 С2. Лекарственный препарат, обладающий иммуномоделирующим, иммунокорректирующим, противопаразитарным, противовосклеротическим, противовирусным, противобактериальным, противогрибковым, противовоспалительным и противовирусным действием, и способ его приготовления. Заявитель: *Травкин О. В., Яковлева Е. В.* Опубликовано 27.01.2003 г.

11. EMA/CVMP/VICH/463202/2009 Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP) VICH topic GL49: Studies to evaluate the metabolism and residues kinetics of veterinary drugs in human food-producing animals: validation of analytical methods used in residue depletion studies.

12. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.1078—01.

13. ТР ТС 034/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности мяса и мясной продукции».

14. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) (с изменениями на 21 мая 2019 года), утв. Решением Комиссии таможенного союза от 28 мая 2010 года N299, раздел 15.

15. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. № 28 «О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств (фармакологически активных веществ), которые могут содержаться в переработанной пищевой продукции животного происхождения, в том числе в сырье, и методиках их определения».

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. А. Комаров — кандидат биологических наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук, профессор кафедры ветеринарной медицины;

Е. Н. Гончарова — кандидат химических наук, заведующая лабораторией;

С. В. Енгашиев — кандидат ветеринарных наук, профессор, академик Российской академии наук, профессор кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы;

Е. С. Енгашева — кандидат биологических наук, профессор кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы, старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 02.09.2025.

Original article
UDC 619:615.015.4

PHARMACOKINETICS OF THE IMMUNOMODULATOR ANANDIN® 10 % FOR PRESERVING THE HEALTH OF FARM ANIMALS AND OBTAINING SAFE PRODUCTS

Aleksandr Anatolyevich Komarov*, Elizaveta Nikolaevna Goncharova**✉, Sergey Vladimirovich Engashev***, Ekaterina Sergeevna Engasheva****,*****

*Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

**Agrovetzashchita Research and Implementation Center, Moscow, Russia, goncharova.e@vetmag.ru✉

***Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology —

MVA named after K. I. Skryabin, Moscow, Russia,

****All-Russian Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and

Ecology — branch of FSBSI FRC VIEV of the RAS, Moscow, Russia,

Abstract. The active ingredient of ANANDIN® 10 % injection solution is glucaminopropylcarbacidone, a complex compound consisting of N-acridoneacetic acid (AUC) and dimethylaminopropylglucofuranose (DMAPGF). Both components were determined in a pharmacokinetic study. The experimental results have shown that AUC and DMAPGF actively penetrate the systemic circulation of cattle and pigs after intramuscular administration at a therapeutic dose of 0.02 ml/kg of body weight, distributing throughout the body. Both components were rapidly absorbed from the injection site and circulated in the body of pigs for 6 hours and 12 hours in cattle. The proposed dosage and intramuscular route of administration of ANANDIN® 10 % injection solution ensure good absorption and distribution of the active ingredient components in the body of cattle and pigs.

Based on the results of the analysis of samples of organs and tissues of cattle and pigs for residual content of AUC and DMAPGF, it has been established that in order to obtain safe food products, slaughter of cattle and pigs should be carried out 1 day after a course of intramuscular administration of the drug ANANDIN® 10 % injection solution.

Keywords: dimethylaminopropylglucofuranose, N-acridoneacetic acid, pigs, cattle, pharmacokinetics, residues, ANANDIN® 10 % injection solution

The drug ANANDIN® 10 % injection solution contains glucaminopropylcarbacidone as the active ingredient — 100 mg/ml. Glucaminopropylcarbacidone is a low-molecular-weight inducer of anti-inflammatory cytokines and endogenous interferons, which suppress viral reproduction at the intracellular level, preventing the infectious processes development. The drug has anti-inflammatory and immunomodulatory effects, increasing the functional activity of T-lymphocytes and macrophages and activating phagocytosis, which is primarily necessary for the treatment of viral infections and complications after illnesses by strengthening the body's immune defenses [1].

Glucaminopropylcarbacidone is a complex compound consisting of two components: N-acridoneacetic acid (AUC) and 3-O(N, N-dimethylamino-n-propyl)-1,2:5,6-di-O-isopropylidene- α -D-glucofuranose (dimethylaminopropylglucofuranose, DMAPGF).

The structural formulas of the components are shown in Fig. 1.

The drug ANANDIN® is one of the most promising and safe low-molecular immunomodulators, as it generally does not cause allergic side effects. It exhibits targeted antiviral, immunomodulatory and anti-inflammatory effects by stimulating the production of endogenous interferons and anti-inflammatory cytokines, as well as activating T and B lymphocytes, macrophages and NK cells [2]. The research literature reports the effect of the drug ANANDIN® on some indicators characterizing cellular and humoral factors of innate and adaptive immunity in sows during various periods of gestation and lactation [3]. Its positive effect on cellular factors of innate (activity of oxygen-dependent and oxygen-independent bactericidal systems of neutrophils in the lysosomal cation test and the nitroblue tetrazolium reduction test) and adaptive immunity (pro-

duction of lymphokines in the leukocyte migration inhibition reaction) of calves was revealed [4]. The use of ANANDIN® in piglets contributed to the improvement of their morphological and biochemical blood indicators: the erythrocyte (RBC) count, leukocyte (WBC) count, ESR, hemoglobin, total protein, bilirubin and sodium, [5] and indicators characterizing cellular factors of adaptive and innate immunity [6]. Its high efficacy in the prevention of respiratory and gastrointestinal diseases in calves and piglets during critical periods of life when there is a risk of infection outbreak has been proven [7, 8]. It has been shown that the use of the drug ANANDIN® in calves before primary vaccination or revaccination led to an improvement in the quality of vaccination, stimulation of the immune response and the production of higher titers of antibodies to the viruses of infectious rhinotracheitis, viral diarrhea and parainfluenza, even in weakened animals [9].

Currently, endogenous interferon inducers containing various salts of acridonacetic acid as active ingredients, such as NEOVIR® and CYCLOFERON®, are used in medicine. However, the uniqueness of ANANDIN® lies in the fact that, thanks to the salts of acridonacetic acid with monosubstituted esters of monosaccharides included in its composition, it was possible to achieve high stability, a unique ability to dissolve in both hydrophilic and hydrophobic environments, and high bioavailability. Salts of acridonacetic acids with monosubstituted esters of monosaccharides are salts formed by weak acids and weak bases, very little dissociated in aqueous solutions and forming stable ion pairs in alcohols and low-polarity solvents. Additional hydrogen bonds are formed between the cation and anion, which stabilizes the compound molecule, and the electrostatic charges of these substances are largely shielded by hydrophobic groups [10].

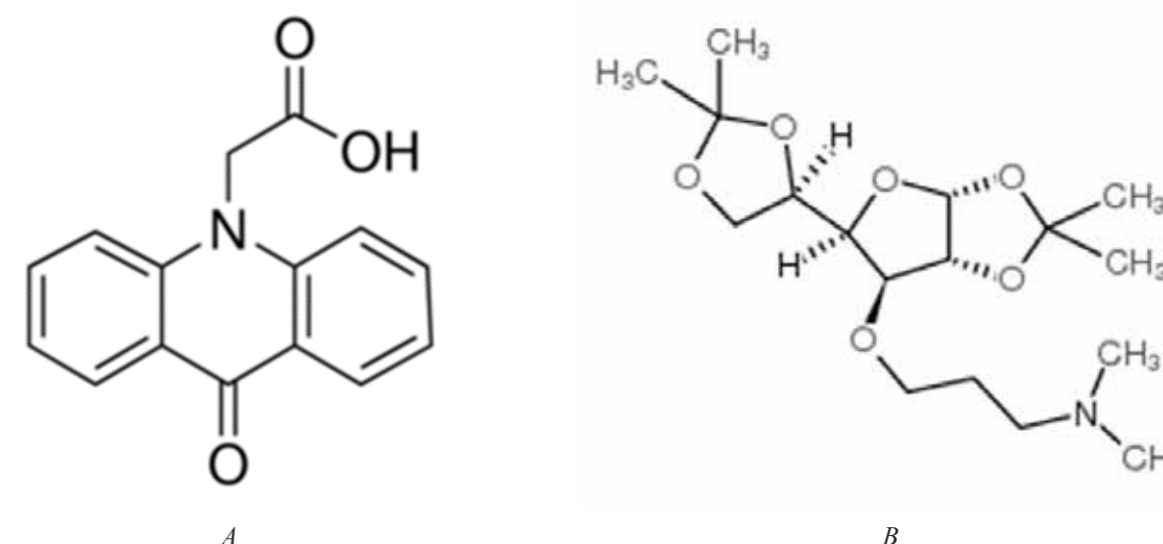


Fig. 1. Molecular structure of acridonacetic acid (A) and dimethylaminopropylglucofuranose (B) [1]

Despite numerous studies of the therapeutic efficacy of the drug ANANDIN®, we have found no information in the available literature on the pharmacokinetics and elimination times of N-acridonacetic acid and dimethylaminopropylglucofuranose, which are part of the drug, in farm animals, which is undoubtedly a pressing issue.

MATERIAL AND METHODS

Animals. The study included six 2—3-month-old Kholmogory calves weighing 70—90 kg to study pharmacokinetics, and ten calves to study the dynamics of excretion/elimination of residual active ingredients from the animals' organs and tissues. The animals

were fed (morning and evening) on an age-appropriate diet consisting of 1.0 kg of mixed grass hay, 0.2 kg of compound feed and 3.0 L of whole milk replacer. The access to water was unrestricted. The room temperature was 16—27 °C and the relative humidity was 45—70 %. To study the pharmacokinetics in pigs, six Landrace/Duroc piglets aged 2—3 months weighing 22—35 kg and ten piglets were used to study the dynamics of the elimination of residual amounts of the active ingredients of the drug from the organs and tissues of the animals. The animals were fed a diet appropriate for their age and including compound feed for SPK-5 pigs. The artificial lighting was used in the room. The access to water was unrestricted. The room

temperature was between 16–27 °C, and the relative humidity was 45–70 %.

Study design. To study the pharmacokinetics in cattle and pigs, the drug was administered intramuscularly once at a dose of 2 mg of glucaminopropylcarbacidone per kg of animal weight. Blood samples were taken from the animals before drug administration and in 15, 30, 45 min; 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72 h after administration. Plasma was obtained from the collected blood.

To study the elimination dynamics of residual active substance in cattle and pigs, the drug was administered twice intramuscularly, with the interval of 48 hours, at a dose of 2 mg of glucaminopropylcarbacidone per kg of body weight. Muscle and adipose tissue, liver and kidney samples were collected before the administration and 12 and 24 h after the final administration.

The samples were homogenized, frozen at –20 °C and stored frozen until analysis.

Standard samples. Standard samples of dimethylaminopropyl glucofuranose with a 99.6 % assay content (SKTB Technolog, Russia) and 9-oxo-10(9H)-acridoneacetic acid with a minimum assay content of 98 % (TRC, Canada) were used for the study. Standard samples were dissolved in methanol to a concentration of 1 mg/ml.

Determination methodology. Matrix calibration samples of blood plasma, liver, kidneys, adipose tissue and muscle tissue from pigs and cattle were used in the study. The linearity range for the AUC determination in blood plasma was 5 to 500 ng/mL, and for the DMAPGF — 5 to 200 ng/ml. For organs and tissues, the linearity range for both analytes was 10 to 500 ng/g.

To determine the analytes in animal blood plasma, extraction was performed with chilled acetonitrile (analytical grade). The resulting extract was diluted with 0.5 % formic acid (analytical grade) in water and purified using C18 sorbent cartridges (200 mg, Biocomma, China), pre-treated with methanol (HPLC grade) and 0.5 % formic acid.

After applying the extract, the cartridges were rinsed with 0.5 % formic acid in water, and the analytes were eluted with 0.5 % formic acid in methanol. The eluate was concentrated by evaporation and filtered into a vial through a PTFE membrane filter.

When determining AUC in animal organs and tissues, extraction was performed with 6 M hydrochloric acid (r. g.) in a water bath at 95 °C for 1.5 h. The resulting extract was purified with hexane (r. g.).

This was followed by dual liquid-liquid extraction with methyl tert-butyl ether (r. g.), the resulting extracts

were evaporated to dryness, and the resulting residue was redissolved in 0.1 M hydrochloric acid.

The extract was then purified again with hexane. The resulting extract was used for solid-phase extraction (SPE) on cartridges with MCX sorbent (60 mg, Biocomma, China), pre-conditioned with methanol and 0.1 M hydrochloric acid solution.

After applying the extract, the cartridge was washed with 0.1 M hydrochloric acid, and the analytes were eluted with 0.5 % ammonia (analytical grade) in methanol.

The eluate was dried to dryness under a stream of nitrogen, redissolved in deionized water and filtered into a vial through a membrane syringe filter.

To determine DMAPGF in organs and tissues, extraction was performed with acetonitrile. An aliquot of the extract was then collected, diluted with water, and used for SPE purification using C18 sorbent cartridges (200 mg), pre-conditioned with methanol and water. After applying the extract, the cartridges were rinsed with water, and the analyte was eluted with 0.5 % formic acid in methanol. The eluate was filtered into a vial through a syringe membrane filter.

The resulting extracts were analyzed by HPLC—MS/MS (Shimadzu LC—MS8050, Japan). The column temperature was 30 °C, and the flow rate was 0.25 ml/min. Chromatographic determination was performed using a ZORBAX Eclipse Plus 2×100 mm, 5 µm column (Agilent, USA). 0.5 % formic acid in water and methanol were chosen as mobile phases. MRM transitions for AUC — 195 > 100, and for DMAPGF — 346 > 288.

The analytical method was validated in accordance with international standards [11].

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Pharmacokinetics. The study revealed that after intramuscular administration of the drug ANANDIN® 10 % injection solution to cattle and pigs, AUC rapidly enters the systemic circulation. The time to reach maximum concentration was 15 minutes. The maximum concentration averaged 876 ± 235 ng/ml in cattle and 1347 ± 380 ng/ml in pigs.

The average pharmacokinetic curves are presented in Fig. 2. Following intramuscular administration of the drug ANANDIN® 10 % injection solution to cattle and pigs, DMAPGF enters the systemic circulation more slowly than AUC, with the time to reach maximum concentration being 15–30 min. The average maximum concentration was 381 ± 85 ng/ml in cattle and 448 ± 94 ng/ml in pigs. Pharmacokinetic parameters are presented in Table 1.

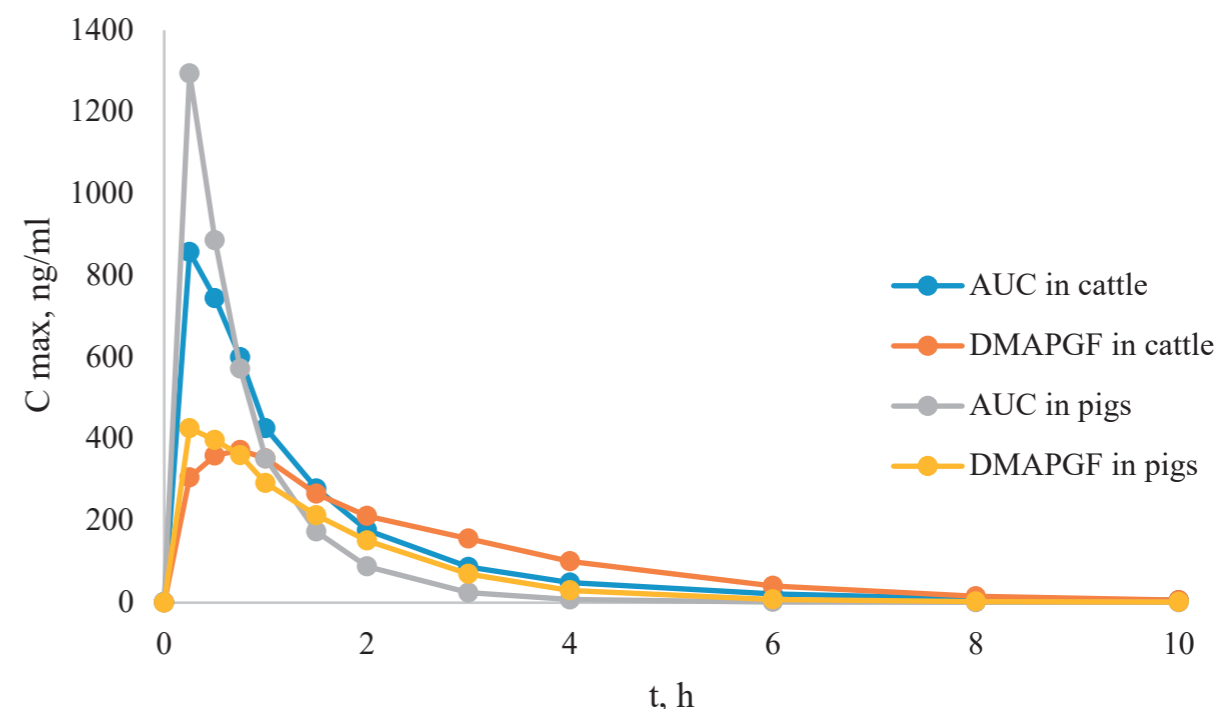


Fig. 2. AUC and DMAPGF pharmacokinetic curves in cattle after a single intramuscular administration of the drug ANANDIN® 10 % injection solution at a dose of 2 mg of glucaminopropylcarbacidone/kg of animal body weight

Table 1
AUC and DMAPGF pharmacokinetic parameters in cattle and pigs after a single intramuscular administration of the drug ANANDIN® 10 % injection solution at a dose of 2 mg of glucaminopropylcarbacidone/kg of animal body weight

Parameter	U of m.	DMAPGF in cattle	AUC in cattle	DMAPGF in pigs	AUC in pigs
T _{max}	h	0.61	0.28	0.32	0.20
C _{max}	ng/ml	381.4	876.3	448.1	1347.2
AUC _{0-t}	ng/ml·h	1099	1217	758	1085
AUC _{0-∞}	ng/ml·h	1119	1223	780	1106
AUC _{0-t} / AUC _{0-∞}	—	0.98	1.00	0.97	0.98
AUMC _{0-∞}	ng/ml·h ²	2845	1797	1201	958
t _{1/2β}	h	1.6	1.3	1.0	0.7
MRT _{0-∞}	h	2.5	1.5	1.5	0.9

A two-compartment pharmacokinetic model was used to assess the pharmacokinetics of AUC in cattle and pigs following intramuscular administration. The successful application of the two-compartment model for AUC can be explained by the high lipophilicity of this substance, which results in its rapid uptake

into both highly perfused organs and adipose and muscle tissue.

A single-compartment pharmacokinetic model was used to assess the pharmacokinetics of DMAPGF in cattle and pigs following intramuscular administration. The successful application of the single-com-

partment model for DMAPGF can be explained by the fact that this substance has a carbohydrate base, is less lipophilic, and penetrates adipose and muscle tissue less intensively.

The mean AUC half-life in cattle was 1.3 ± 0.5 h, and the mean residence time (MRT) was 1.5 ± 0.3 h. The mean DMAPGF half-life was 1.6 ± 0.2 h, and the MRT was 2.5 ± 0.3 h in cattle. Thus, AUC and DMAPGF are characterized by short-term circulation in the body of cattle.

The mean AUC half-life in pigs was 0.7 ± 0.3 h, and the mean MRT was 0.9 ± 0.3 h. Thus, pigs showed faster absorption and elimination of AUC, compared to cattle.

The mean half-life of DMAPGF in pigs was 1.0 ± 0.2 h, and the mean residence time was 1.5 ± 0.2 h. DMAPGF, like AUC, is characterized by short-term circulation in the body. Pigs have been shown to eliminate DMAPGF more rapidly than cattle.

Excretion/elimination of residue quantities. MRLs for the active ingredient of the drug ANANDIN®

10 % Injection Solution, glucaminopropylcarbacidone, as well as its components (AUC and DMAPGF), are not established in state regulations of the Russian Federation [12], technical regulations or regulations of the Customs Union [13—15]. Therefore, the waiting period for obtaining safe food products should be considered the period during which AUC and DMAPGF are completely eliminated from animal organs and tissues.

The analysis of cattle tissues showed that AUC was not retained in cattle tissues 12 and 24 h after administration. DMAPGF was detected 12 h after administration in all cattle kidney samples and in three liver samples (Table 2). However, 24 h after administration, the analyte was no longer detectable in any of the samples.

The analysis of pig tissues showed that AUC was retained in the liver and kidneys of cattle and pigs 12 h after administration. No AUC was detected in other tissue samples 12 h after administration. DMAPGF was detected only in pig kidneys 12 h after administration (Table 2).

Table 2

Concentration of AUC and DMAPGF in the liver and kidneys of cattle and pigs 12 and 24 h after the last administration of the drug ANANDIN® 10 % injection solution at a dose of 0.02 ml/kg

Slaughter period	AUC in pigs, µg/kg		DMAPGF in pigs, µg/kg	AUC in cattle, µg/kg	DMAPGF in cattle, µg/kg	
	Liver	Kidneys	Kidneys	Liver, kidneys	Liver	Kidneys
Control	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ
12 h (4 animals)	< LLQ	< LLQ	11.4	< LLQ	18.6	57.9
	13.0	18.8	10.8		< LLQ	22.1
	< LLQ	12.3	19.7		12.9	47.0
	10.5	18.3	< LLQ		13.5	38.0
24 h (4 animals)	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ

The data obtained demonstrate that AUC and DMAPGF are eliminated from cattle and pigs within 24 hours, with renal and hepatic excretion being the primary routes of elimination. These data are consistent with the results of a pharmacokinetic study, which demonstrated rapid elimination of the active substance components from the animals' systemic circulation.

CONCLUSION

The active substance components of the drug ANANDIN® 10 % injection solution readily enter

the systemic circulation of cattle and pigs when administered intramuscularly at a therapeutic dose of 0.02 ml/kg of body weight.

Both components were rapidly absorbed from the injection site, as well as had short circulation in the body, not exceeding 12 h in cattle and 6 h in pigs.

To obtain safe food products, slaughter of cattle and pigs should be carried out no earlier than 1 day after the last administration of the drug ANANDIN® 10 % injection solution.

REFERENCES

1. Patent for Invention No. RU2118 532 C1. Anti-infective, anti-inflammatory and anti-tumor drug. Applicant: O. V. Travkin, E. V. Yakovleva. Published on September 10, 1998.
2. Instructions for veterinary use of the drug ANANDIN® 10 % injection solution. Registration certificate number 78—3—15.13—1489/PVR-3—13/01222.
3. Khomenko R. M., Kryachko O. V., Lukyanova L. A. Effect of the drug ANANDIN® on some immunological indicators in sows during gestation and lactation // Int. Vest. Vet. 2018. No. 3. P. 58.
4. Gronskiy K. A. Veterinary and hygienic assessment of the use of anandin when rearing calves. Thesis for the degree of Candidate of Veterinary Sciences, 2002, St. Petersburg.
5. Khomenko R. M., Kuznetsov A. F. Effect of the drug "ANANDIN"® on morphological and biochemical blood indicators in piglets // Pharmacol., tox., pharm. 2017. No. 4. P. 40—44.
6. Kryachko O. V., Khomenko R. M. Reaction of cellular factors of innate and adaptive immunity of piglets to the administration of the drug "ANANDIN" // Ros. Immun. J. 2019. Vol. 13. No. 2. P. 822—824.
7. Engashev S. V., Engasheva E. S., Novak M. D., Novak A. I., Nikanorova A. M., Filimonov D. N. Efficacy of the drug "ANANDIN"® 10 % injection solution for respiratory and gastrointestinal diseases of pigs // Veterinariya, zootekhnologiya i biotekhnologiya (Veterinary science, zootechnology and biotechnology). 2025. No. 3. P. 59—69.
8. Engashev S. V., Novak M. D., Engasheva E. S., Evdokimova O. V., Novak A. I. Hematological and biochemical indicators in case of respiratory and gastrointestinal diseases of calves after the use of the immunomodulator "ANANDIN"® 10 % // Veterinariya, zootekhnologiya i biotekhnologiya (Veterinary science, zootechnology and biotechnology). 2023. No. 7. P. 14—24.

nologiya (Veterinary science, zootechnology and biotechnology). 2023. No. 7. P. 14—24.

9. Engashev S. V., Novak M. D., Evdokimova O. V., Novak A. I., Engasheva E. S. Effect of Anandin® 10 % on immunological indicators of calves with respiratory and gastrointestinal diseases // Veterinariya (Veterinary Science). 2023. No. 9. P. 50—54.

10. Patent for invention No. RU2 197 248 C2. A medicinal product with immunomodulatory, immunocorrective, antiparasitic, antisclerotic, antiviral, antibacterial, antifungal, anti-inflammatory and antiviral effects, and a method for its preparation. Applicant: Travki O. V., Yakovleva E. V. Published 27.01.2003.

11. EMA/CVMP/VICH/463202/2009 Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP) VICH topic GL49: Studies to evaluate the metabolism and residues kinetics of veterinary drugs in human food-producing animals: validation of analytical methods used in residue depletion studies.

12. Hygienic requirements for the safety and nutritional value of food products. Sanitary and epidemiological rules and regulations SanPiN 2.3.2.1078—01.

13. TR CU034/2013 Technical Regulations of the Customs Union On the Safety of Meat and Meat Products.

14. Uniform sanitary-epidemiological and hygienic requirements for products (goods) subject to sanitary and epidemiological supervision (control) (as amended on May 21, 2019), approved by the Decision of the Customs Union Commission dtd. May 28, 2010 No. 299, Section 15.

15. Decision of the Board of the Eurasian Economic Commission dtd. February 13, 2018 No. 28 On the Maximum Permissible Levels of Residues of Veterinary Drugs (Pharmacologically Active Substances) that may be Contained in Unprocessed Food Products of Animal Origin, Including Raw Materials and Methods for their Determination.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. A. Komarov — Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS, Professor of the Department of Veterinary Medicine;

E. N. Goncharova — Candidate of Chemical Sciences, Head of the Laboratory;

S. V. Engashev — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS, Professor of the Department of Parasitology and Veterinary-Sanitary Expertise;

E. S. Engasheva — Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Parasitology and Veterinary-Sanitary Expertise.

The article was submitted 02.09.2025.

Научная статья

УДК 636:028[615.099.097:615.33]:619

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.004

ОЦЕНКА АЛЛЕРГЕННЫХ СВОЙСТВ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ФОРМЫ ГЕНТАМИЦИНА СУЛЬФАТА В РАМКАХ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наталья Александровна Григорьева[✉], Нина Алексеевна Хохлова, Анастасия Андреевна Корчагина, Юлия Алексеевна Чаплыгина, Артем Валерьевич Некрасов, Татьяна Игоревна Ермакова, Галина Николаевна Близнецова

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, gna_91@bk.ru[✉]

Аннотация. В статье представлены результаты исследования аллергенных свойств липосомальной формы гентамицина сульфата на лабораторных животных. В качестве тест-моделей для постановки конъюнктивальной пробы и реакции активной кожной анафилаксии были выбраны морские свинки, для реакции гиперчувствительности замедленного типа — белые мыши. Установлено отсутствие негативных эффектов на конъюнктиву глаз животных при использовании нативного препарата. Анафилактического эффекта не выявлено при sensibilization низкими дозами (71,3 мг/кг). При этом аллергизирующие свойства проявлялись при введении препарата в дозе 712,7 мг/кг, на что указывает статистически значимое увеличение эозинофилов крови у животных опытной группы в сравнении с контролем ($19,0 \pm 2,0$ и $5,0 \pm 1,0$ при $p < 0,004$), а так же разница индекса реакций при постановке ГЗТ ($7,3 \pm 1,5$ и $3,2 \pm 0,4$ % при $p < 0,0001$). Такие показатели могут свидетельствовать о возможности возникновения аллергической реакции при использовании высоких доз препарата и возможности развития гиперчувствительности IV типа, что необходимо учитывать в клинической практике.

Ключевые слова: липосомы, гентамицин, аллергизирующее действие, лабораторные мыши, морские свинки.

Благодарность: исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2024-550 от 24.04.2024 г.

Цель исследований: изучить возможность проявления аллергизирующего эффекта при применении липосомальной формы гентамицина сульфата на лабораторных животных.

Актуальным направлением в фармакологии является поиск средств и методов таргетной доставки лекарств. В настоящее время одним из самых перспективных приёмов является использование липосом [1].

Наноносители впервые описаны в 1960-х годах Бенгамом и представляют собой липидные везикулы, состоящие из одного или нескольких бислоев, образующихся в результате эмульгирования природных или синтетических липидов в водной среде [2]. Структурная универсальность, коллоидная стабильность липосом делает их максимально подходящими переносчиками для лекарств и био-

активных молекул [3]. Наночастицы могут избирательно доставлять необходимые вещества в поражённый участок с помощью пассивного или активного транспорта, тем самым снижая системные побочные эффекты, повышая максимально переносимую дозу и улучшая терапевтический эффект [4]. Образуя резервуар, они обеспечивают пролонгированное высвобождение лекарственного средства по мере естественного разрушения мембраны везикулы-переносчика [5]. Неоспоримым преимуществом липосом является иммунологическая нейтральность, что позволяет повысить профиль безопасности таких препаратов [2]. Липосомальные лекарственные средства довольно успешно применяются в клинической практике для лечения целого ряда заболеваний, как в гуманитарной медицине, так и в ветеринарии [6].

© Григорьева Н. А., Хохлова Н. А., Корчагина А. А., Чаплыгина Ю. А., Некрасов А. В., Ермакова Т. И., Близнецова Г. Н., 2025

Любые вновь разработанные препараты нуждаются в максимально полной оценке не только их эффективности, но и безопасности. Изучение аллергизирующего действия является обязательным этапом доклинического исследования и позволяют предельно снизить число осложнений лекарственной этиологии при клиническом использовании. Под аллергенностью понимают способность веществ вызывать состояние повышенной чувствительности, в основе которого лежат иммунопатологические механизмы различного типа: анафилактический, цитотоксический; аллергические реакции, связанные с образованием иммунных комплексов и активацией комплемента; клеточный тип (реакция sensibilized лимфоцитов). Аллергические реакции, развивающиеся, как по «немедленному», так и по «замедленному» типу, и являются отягощающим фактором лекарственной терапии, негативно сказываются на здоровье пациента [7, 8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследовательская работа была выполнена в условиях вивария ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» на морских свинках и конвенциональных нелинейных белых лабораторных мышах, содержащихся в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами лабораторной практики, применяемыми на территории Российской Федерации (ETS123, Strasbourg, 1986; Директива 2010/63/EU от 22.09.2010 г; ГОСТ 33216—2014, ГОСТ 33215—2014). Организация экспериментальной работы соответствовала требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях и была одобрена биоэтической комиссией института.

Изучение возможного аллергизирующего действия проведено в три этапа. Первый этап включал изучение аллергизирующего действия препарата на конъюнктиву (конъюнктивальная проба — КП). В качестве животных-моделей использовали 9 морских свинок ($n = 3$) массой 600—800 г, которых sensibilized введением липосомальной формы гентамицина сульфата: 1-й день подкожно, 2 и 3-й — внутримышечно в дозе 1/10 ЛД₅₀ (712,7 мг/кг) и 1/100 ЛД₅₀ (71,3 мг/кг) опытными группами 1 и 2, соответственно. Группа контроля препарат не получала. Для контроля реакции при постановке КП через 20 дней после последней инъекции липосомальной формы гентамицина сульфата под верх-

нее веко левого глаза вводили 1 каплю препарата, а правого глаза — 1 каплю воды. Эффект учитывали через 15 минут (быстрая реакция) и через 24 и 48 часов (гиперчувствительность замедленного типа), при этом оценивали кровенаполнение конъюнктивы, наличие выделений, состояние роговицы и век в баллах [9, 10].

Второй этап включал постановку реакции активной кожной анафилаксии (АКА) с подсчетом эозинофилов в цельной крови на 9 морских свинках ($n = 3$) массой 700—900 г, sensibilization животных проводили аналогично с первым этапом исследования [10, 11]. Для учёта реакции АКА в качестве тест-концентрации липосомальной формы гентамицина сульфата выбран нативный препарат, так как его применение не вызывало негативной ответной реакции при предварительном изучении. На 21-й день у животных из полостей сердца отбирали пробы крови в пробирки с гепарином (IMPROVACUTER®, Китай), для подсчета эозинофилов. Мазок крови готовили по стандартной методике, используя краситель азур-эозин по Романовскому — Гимзе. Процедуру дифференцировки лейкоцитов осуществляли в выборке из 100 клеток с помощью микроскопа (Микромед 3U3, Китай) с камерой (Tourcam U3ISPM, Китай) и регистрировалась счетчиком лейкоцитарной формулы [12]. В последующем проводили внутривенные инъекции препарата (правый бок) по 0,05 мл. Левый бок (контроль реактивности кожи) — внутривенно по 0,05 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. Через 20 минут после внутривенной инъекции морским свинкам вводили внутривенно по 1 мл свежеприготовленного 1 % раствора синего Эванса [13]. Разрешающие инъекции препарата и раствора Эванса применяли и животным контрольной группы. Спустя 30 минут морских свинок выводили из опыта, используя СО₂-камеру, отделяли лоскут кожи для измерения диаметра окрашенных областей в двух перпендикулярных направлениях.

Третий этап включал постановку реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на 18 белых конвенциональных нелинейных белых лабораторных мышах обоего пола ($n = 6$) 24—26 г. Всех мышей однократно иммунизировали внутривенным введением 2 % суспензии эритроцитов барана (ЭБ) на физиологическом растворе по 0,5 мл. Сразу после этого мышам 1 группы проводили внутримышечные инъекции изучаемого препарата в дозе 1/10 от ЛД₅₀ (712,7 мг/кг), а 2 группе — в дозе 1/100 от ЛД₅₀ (71,3 мг/кг). Мыши 3 груп-

пы служили контролем, и препарат не получали. Через 96 ч после сенсibilизации, в подушечку правой задней лапы (под подошвенный апоневроз) вводили разрешающую дозу антигена — 0,05 мл 4 % суспензии ЭБ. В контрольную левую лапу — физиологический раствор. Формирование реакции ГЗТ оценивали через 24 часа после разрешающей инъекции по степени изменения массы лапы (правой) по сравнению с позитивно-контрольной (левой) задней лапой того же животного. Животных выводили из опыта в CO₂-камере, отделяли лапы выше пяточного сустава и взвешивали на микроаналитических весах (Acculab ALC-210d4, США). Индекс реакции подсчитывали в процентах прироста массы лапы, в которую вводили препарат (Mo), по отношению к массе контрольной лапы (Mк) по формуле [(Mo – Mк) / Mк]*100 [9, 10].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерного пакета программ Statistica, версия v10. Рассчитывали сред-

нюю арифметическую (M) и стандартное отклонение (SD), достоверность различия между выборками (p) оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ

Данные визуальной оценки возможного аллергизирующего действия липосомальной формы гентамицина сульфата при постановке КП на морских свинках приведены в таблице 1. Установлено отсутствие негативных эффектов на конъюнктиву глаз животных. Изучение анафилактогенного эффекта исследуемого средства в реакции АКА на морских свинках не указывает на развитие аллергии, что подтверждается отсутствием статистически значимых отличий, как между группами, так и между диаметрами пятен у животных одной группы при внутривенной инъекции липосомальной формы гентамицина сульфата и стерильного изотонического раствора натрия хлорида (табл. 2).

Таблица 1

Влияние липосомальной формы гентамицина сульфата на конъюнктиву глаз морских свинок при постановке КП, балл

Наименование группы	Средний балл выраженности изменений конъюнктивы и роговицы		
	Через 15 мин	Через 24 ч	Через 48 ч
Группа 1	0	0	0
Группа 2	0	0	0
Группа 3	0	0	0

Таблица 2

Проявление аллергической реакции при постановке АКА на морских свинках

Наименование группы	Диаметр пятен при наличии реакции, см	
	Исследуемый препарат	0,9 % раствор NaCl
Группа 1	1,0 ± 1,0	1,33 ± 0,58
Группа 2	1,0 ± 0,0	1,33 ± 0,58
Группа 3	1,0 ± 0,71	1,33 ± 0,5

При анализе морфологических данных не выявлено статистически достоверного изменения показателей количественного содержания эозинофилов в крови у животных контрольной группы и груп-

пы 2, данные укладываются в физиологические нормы для морских свинок¹ (рис. 1). У подопытных животных, получавших самую высокую дозу препарата, установлено статистически значимое

¹ Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Под редакцией: Макарова В. Г., Макаровой М. Н. СПб.: Изд-во «ЛЕМА», 2013. — 116 с.

повышение эозинофилов в сравнении с контролем ($p < 0,004$), несмотря на отсутствие проявлений в реакции АКА в данной группе [12]. Результаты изучения аллергизирующего эффекта в реакции ГЗТ на мышях указывают на отсутствие негативного проявления при использовании изучаемого вещества в дозе 1/100 ЛД₅₀, так как разница индексов реакции (ИР) между опытной и контрольной группой составила $4,0 \pm 1,4$ и $3,2 \pm 0,4$ %, соответственно (табл. 3). При этом ИР у животных, которым применяли липосомальную форму гентамицина сульфата

в дозе 1/10 ЛД₅₀ выше с достоверностью $p < 0,0001$ и составляет $7,3 \pm 1,5$ %. Такой показатель может свидетельствовать о возможности возникновения аллергической реакции при использовании высоких доз препарата и возможности развития гиперчувствительности IV типа, что необходимо учитывать в клинической практике. Предыдущие исследования аллергизирующих свойств препаратов, в состав которых входит гентамицина сульфат, подтверждают полученные данные, особенно при тестировании высоких доз [14, 15].

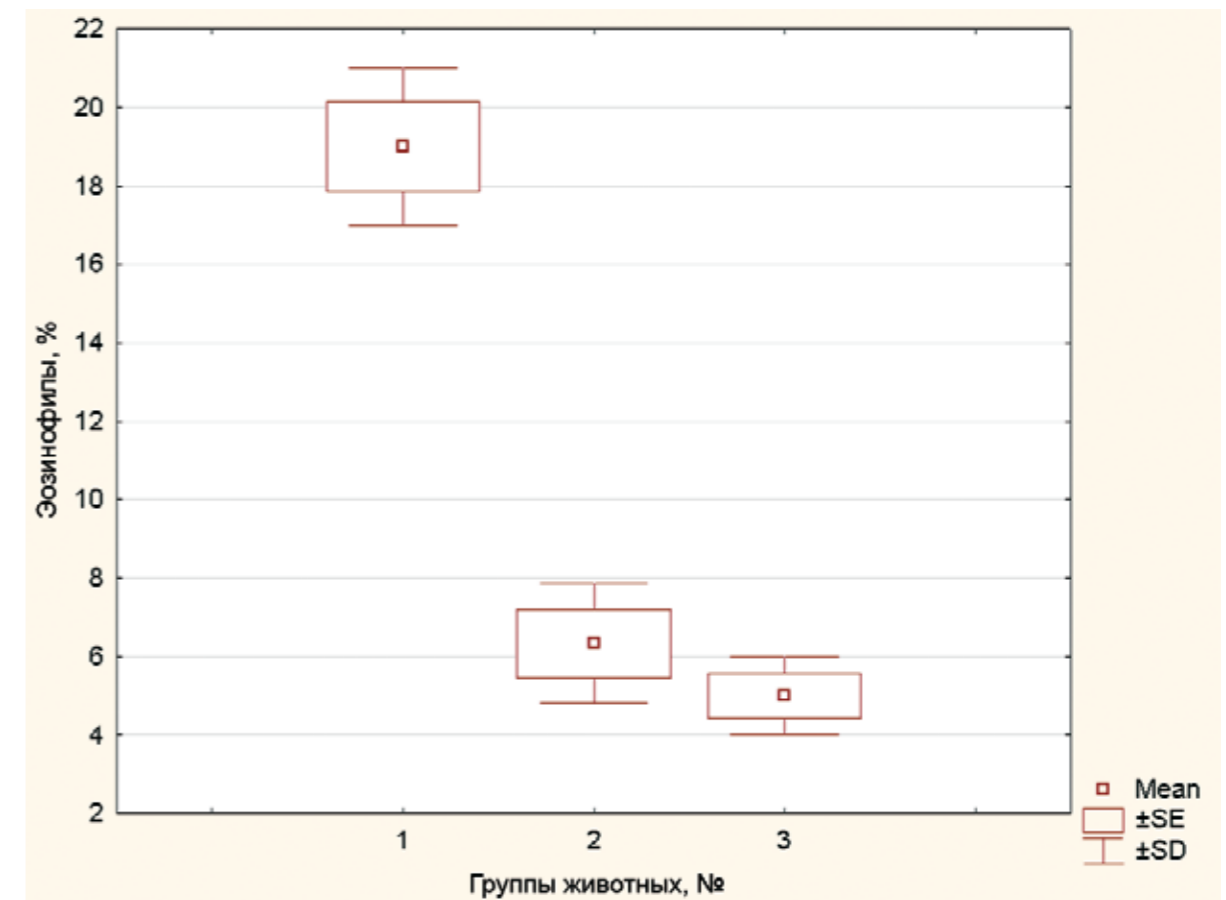


Рис. 1. Количество эозинофилов в крови морских свинок после сенсibilизации липосомальной формой гентамицина сульфата

Таблица 3

Масса лап и индекс реакции ГЗТ у мышей при введении липосомальной формы гентамицина сульфата

Наименование группы	Масса левой лапы, г	Масса правой лапы, г	Индекс реакции, %
Группа 1	0,1562 ± 0,0133	0,1675 ± 0,014	7,3 ± 1,5*
Группа 2	0,1613 ± 0,0044	0,1677 ± 0,0058	4,0 ± 1,4
Группа 3	0,1511 ± 0,0123	0,1561 ± 0,0127	3,2 ± 0,4

* $p < 0,0001$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из полученных данных, можно заключить, что липосомальная форма гентамицина сульфата в низких дозах не обладает выраженными аллергизирующими свойствами при однократном и многократном применении. При этом высокие дозы изучаемого препарата могут оказывать сенсибилизирующий эффект и приводить к развитию аллергической реакции.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Горбик В. С. Липосомы как система таргетной доставки лекарственных средств (обзор) / В. С. Горбик, З. С. Шпрах, Ж. М. Козлова, В. Г. Салова // Российский биотерапевтический журнал. — 2021. — 20(1). С. 33—41. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-1-33-41>
2. Nsairat H. Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications / H. Nsairat, D. Khater, U. Sayed, F. Odeh, A. A. Bawab, W. Alshaer // Heliyon. — 2022. — 8(5): e09394. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09394>
3. De Leo V. Recent advancements in polymer/liposome assembly for drug delivery: from surface modifications to hybrid vesicles / V. De Leo, F. Milano, A. Agostiano, L. Caticci // Polymers. — 2021. — 13(7):1027. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym13071027>
4. Liu P. A review of liposomes as a drug delivery system: current status of approved products, regulatory environments, and future perspectives / P. Liu, G. Chen, J. Zhang // Molecules. — 2022. — 27(4):1372. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27041372>
5. Ifeld B. M. Clinical effectiveness of liposomal bupivacaine administered by infiltration or peripheral nerve block to treat postoperative pain / B. M. Ifeld, J. C. Eisenach, R. A. Gabriel // Anesthesiology. — 2021. — 134(2):283—344. DOI: <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000003630>
6. Бурдаев Н. И. Липосомы как носители лекарственных средств: классификация, методы получения и применение. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения / Н. И. Бурдаев, Л. Л. Николаева, В. В. Косенко, З. С. Шпрах, Н. Д. Бунятян // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. — 2023. — 13(2—1). С. 316—332. DOI: <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-508>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

- Н. А. Григорьева — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
Н. А. Хохлова — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
А. А. Корчагина — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
Ю. А. Чаплыгина — младший научный сотрудник;
А. В. Некрасов — младший научный сотрудник;
Т. И. Ермакова — кандидат биологических наук;
Г. Н. Близнцова — доктор биологических наук, заведующая лабораторией.

Статья поступила в редакцию 21.08.2025.

Original article

UDC 636:028[615.099.097:615.33]:619

ASSESSMENT OF ALLERGENIC PROPERTIES OF THE LIPOSOMAL FORMULATION OF GENTAMYCIN SULFATE IN THE FRAMEWORK OF PRE-CLINICAL STUDIES

Natalya Aleksandrovna Grigoryeva[✉], Nina Alekseevna Khokhlova, Anastasiya Andreevna Korchagina, Yuliya Alekseevna Chaplygina, Artem Valeryevich Nekrasov, Tatyana Igorevna Ermakova, Galina Nikolaevna Bliznetsova

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia, gna_91@bk.ru

Abstract. This article presents the results of a study of allergenic properties of the liposomal formulation of gentamicin sulfate in laboratory animals. Guinea pigs were used as test models for the conjunctival allergen provocation test and active cutaneous anaphylaxis reaction, and white mice were used for the delayed-type hypersensitivity reaction. No adverse effects on the conjunctiva of the animals' eyes were observed with the native formulation. No anaphylactogenic effect was observed with low doses (71.3 mg/kg). Allergenic properties were observed at a dose of 712.7 mg/kg, as indicated by a statistically significant increase in blood eosinophils in the animals in the experimental group, compared to the control group (19.0 ± 2.0 vs. 5.0 ± 1.0 at $p < 0.004$), as well as a difference in the reaction index when administering HRT (7.3 ± 1.5 % vs. 3.2 ± 0.4 % at $p < 0.0001$). These values may indicate the potential for an allergic reaction with high doses of the drug and the development of type IV hypersensitivity, which should be considered in clinical practice.

Keywords: liposomes, gentamicin, allergenic effect, laboratory mice, guinea pigs.

Acknowledgment: the study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, agreement No. 075-15-2024-550 dtd. April 24, 2024

Research objective was to study the potential for an allergic reaction with liposomal gentamicin sulfate on laboratory animals.

A current trend in pharmacology is the search for targeted drug delivery methods. Currently, one of the most promising approaches is the use of liposomes [1].

Nanocarriers have been first described by Benham in the 1960s, and they are lipid vesicles consisting of one or more bilayers formed by emulsification of natural or synthetic lipids in an aqueous medium [2]. The structural versatility and colloidal stability of liposomes make them ideal carriers for drugs and bioactive molecules [3]. Nanoparticles can selectively deliver the necessary substances to the affected area via passive or active transport, thereby reducing systemic side effects, increasing the maximum tolerable dose, and improving the therapeutic effect [4]. By forming a reservoir, they provide prolonged release of the drug as the carrier vesicle membrane naturally degrades [5]. An undeniable advantage of liposomes is their immu-

nological neutrality, which helps improve the safety profile of such drugs [2]. Liposomal drugs are successfully used in clinical practice to treat a wide range of diseases, both in human and veterinary medicine [6].

All newly designed drugs require the most comprehensive assessment possible, not only of their efficacy but also of their safety. Studying the allergenic effect is a mandatory step in preclinical research and helps minimize the incidence of drug-related complications during clinical use. Allergenicity is defined as the ability of substances to induce a hypersensitivity state, which is based on various types of immunopathological mechanisms: anaphylactic and cytotoxic; allergic reactions associated with the formation of immune complexes and complement activation; and cellular reactions (the reaction of sensitized lymphocytes). Allergic reactions, developing in both immediate and delayed types, are an aggravating factor in drug therapy and negatively affect the patient's health [7, 8].

© Grigoryeva N. A., Khokhlova N. A., Korchagina A. A., Chaplygina Yu. A., Nekrasov A. V., Ermakova T. I., Bliznetsova G. N., 2025

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted at the vivarium of the FSBSI “ARVRIPP&T” using guinea pigs and conventional nonlinear white laboratory mice kept under standard vivarium conditions in accordance with the rules of laboratory practice applied in the territory of the Russian Federation (ETS123, Strasbourg, 1986; Directive 2010/63/EU dtd. September 22, 2010; GOST 33216—2014, GOST 33215—2014). The experimental design complied with the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union dtd. September 22, 2010, on the protection of animals used for scientific purposes and was approved by the Bioethics Committee of the Institute.

The study of a possible allergenic effect was conducted in three stages. The first stage included a study of the allergenic effect of the drug on the conjunctiva (conjunctival allergen provocation test — CAPT). Nine guinea pigs (*n* = 3) weighing 600—800 g were used as animal models. They were sensitized by the administration of a liposomal form of gentamicin sulfate: subcutaneously on day 1, intramuscularly on days 2 and 3 at a dose of 1/10 LD₅₀ (712.7 mg/kg) and 1/100 LD₅₀ (71.3 mg/kg) to experimental groups 1 and 2, respectively. The control group did not receive the drug. To monitor the reaction when setting the CAPT, 20 days after the last injection of the liposomal form of gentamicin sulfate, 1 drop of the drug was administered under the upper eyelid of the left eye, and 1 drop of water in the right eye. The effect was assessed in 15 minutes (rapid reaction) and in 24 and 48 hours (delayed hypersensitivity), with conjunctival perfusion, discharge, and corneal and eyelid condition assessed using a scoring system [9, 10].

The second stage involved conducting an active cutaneous anaphylaxis (ACA) test with whole blood eosinophil counts in nine guinea pigs (*n* = 3) weighing 700—900 g. The animals were sensitized in the same manner as in the first stage of the study [10, 11]. To assess the ACA reaction, the native liposomal gentamicin sulfate formulation was selected as the test concentration, as its use did not cause an adverse reaction in a preliminary study. On day 21, blood samples were collected from the animals’ hearts into heparin-containing tubes (IMPROVACUTER®, China) to count eosinophils. A blood smear was prepared according to the standard method using the azure-eosin dye according to Romanowsky — Giemsa. The leukocyte differentiation procedure was performed in a sample of 100 cells using a microscope (Micromed 3U3, China) with a camera (Toupcam U3ISPM, China) and recorded with a leukocyte differential counter [12]. Subsequently, intrader-

mal injections of the drug (right side) of 0.05 ml were performed. The left side (skin reactivity control) — intradermally 0.05 ml of sterile isotonic sodium chloride solution. Twenty (20) minutes after the intradermal injection, guinea pigs were injected intraperitoneally with 1 ml of freshly prepared 1 % Evans blue solution [13]. Permissive injections of the drug and Evans solution were also used in the animals of the control group. In 30 minutes, the guinea pigs were removed from the experiment using a CO₂ chamber, and a skin flap was removed to measure the diameter of the stained areas in two perpendicular directions.

The third stage included the development of a delayed-type hypersensitivity (DTH) reaction in 18 white conventional nonlinear white laboratory mice of both sexes (*n* = 6) aged 24—26 g. All mice were immunized once by intraperitoneal administration of a 2 % suspension of sheep erythrocytes (SE) in physiological saline at 0.5 ml. Immediately after this, the mice of group 1 were given intramuscular injections of the study drug at a dose of 1/10 of LD₅₀ (712.7 mg/kg), and those of group 2 — at a dose of 1/100 of LD₅₀ (71.3 mg/kg). The mice of group 3 served as a control and did not receive the drug. Ninety-six (96) hours after sensitization, a resolving dose of the antigen (0.05 ml of 4 % SE suspension) was administered into the pad of the right hind paw (under the plantar aponeurosis). The control left paw was injected with saline. The development of the DTH response was assessed 24 hours after the challenge injection based on the change in (right) paw weight, compared to the positive control (left) hind paw of the same animal. The animals were removed from the experiment in a CO₂ chamber, their paws were removed above the heel joint and weighed on a microanalytical balance (Acculab ALC-210d4, USA). The response index was calculated as a percentage increase in the weight of the paw injected with the drug (Wex) relative to the weight of the control paw (Wc) using the formula [(Wex — Wc) / Wc] * 100 [9, 10].

Statistical processing of the obtained data was performed using the Statistica software package, version v10. The arithmetic mean (M) and standard deviation (SD) were calculated, and the significance of differences between samples (*p*) was assessed using the Student’s t-test.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Visual assessment of the data on the potential allergenic effect of the liposomal formulation of gentamicin sulfate administered to guinea pigs during the CAPT administration are presented in Table 1. No adverse effects on the conjunctiva of the animals’ eyes were found.

Table 1

Effect of the liposomal formulation of gentamicin sulfate on the conjunctiva of guinea pigs during the CAPT administration, points

Group name	Average severity score of changes in the conjunctiva and cornea		
	In 15 min	In 24 h	In 48 h
Group 1	0	0	0
Group 2	0	0	0
Group 3	0	0	0

The study of the anaphylactogenic effect of the test drug in the ACA test in guinea pigs did not indicate the development of an allergic reaction, as evidenced by the absence of statistically significant differences between groups or between spot diameters in the animals within the same group after intradermal injection of liposomal gentamicin sul-

fate and sterile isotonic sodium chloride solution (Table 2).

The analysis of morphological data has revealed no statistically significant changes in the quantitative content of eosinophils in the blood of the animals in the control group and group 2, the data are within physiological norms for guinea pigs¹ (Fig. 1).

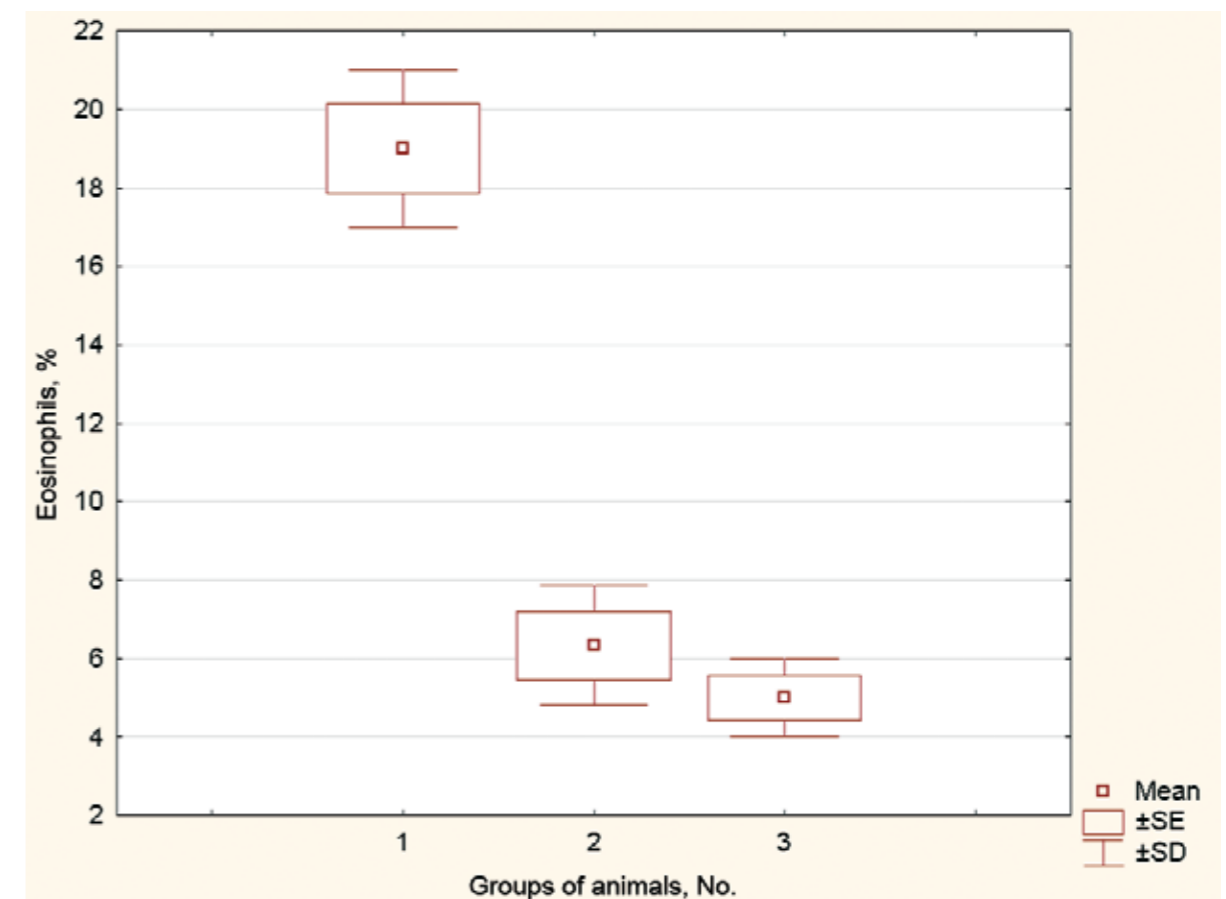


Fig. 1. Number of eosinophils in the blood of guinea pigs after sensitization with the liposomal formulation of gentamicin sulfate

¹ Handbook. Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm in experimental animals / Edited by Makarov V. G., Makarova M. N. St. Petersburg: LEMA Publishing House, 2013. — 116 p.

Table 2

Allergic reaction during the ACA test in guinea pigs

Group name	Diameter of spots in the presence of a reaction, cm	
	The study drug	0.9 % NaCl solution
Group 1	1.0 ± 1.0	1.33 ± 0.58
Group 2	1.0 ± 0.0	1.33 ± 0.58
Group 3	1.0 ± 0.71	1.33 ± 0.5

Table 3

Paw weight and the DTH response index in the mice administered the liposomal formulation of gentamicin sulfate

Group name	Weight of the left paw, g	Weight of the right paw, g	Reaction index, %
Group 1	0.1562 ± 0.0133	0.1675 ± 0.014	7.3 ± 1.5*
Group 2	0.1613 ± 0.0044	0.1677 ± 0.0058	4.0 ± 1.4
Group 3	0.1511 ± 0.0123	0.1561 ± 0.0127	3.2 ± 0.4

* $p < 0.0001$

In the experimental animals receiving the highest dose of the drug, a statistically significant increase in eosinophils was observed, compared to the control ($p < 0.004$), despite the absence of manifestations in the ACA reaction in this group [12].

The results of the study of the allergenic effect in the DTH reaction in mice indicate the absence of negative manifestations when using the studied substance at a dose of $1/100 \text{ LD}_{50}$, since the difference in the reaction indices (RI) between the experimental and control groups was 4.0 ± 1.4 and 3.2 ± 0.4 %, respectively (Table 3). At the same time, the RI in the animals that were administered the liposomal formulation of gentamicin sulfate at a dose of $1/10 \text{ LD}_{50}$ is higher with a reliability of $p < 0.0001$ and is 7.3 ± 1.5 %. This indicator may indicate the possibility of an allergic reaction when using high doses of the drug and the possibility of the type IV hypersensitivity development, which must be taken into account in clinical practice. Previous studies of the allergenic properties of drugs containing gentamicin sulfate confirm the data obtained, especially when testing high doses [14, 15].

CONCLUSION

Based on the data obtained, it can be concluded that low-dose liposomal formulation of gentamicin sulfate does not exhibit significant allergenic properties after single or repeated administration. However, high doses of the drug under study may have a sensibilizing effect and lead to the development of an allergic reaction.

REFERENCES

1. Gorbik V. S. Liposomes as a system for targeted drug delivery (review) / V. S. Gorbik, Z. S. Shprakh, Zh.M. Kozlova, V. G. Salova // Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal (Russian Journal of Biotherapeutics). — 2021. — 20 (1). P. 33—41. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2021-20-1-33-41>
2. Nsairat H. Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications / H. Nsairat, D. Khater, U. Sayed, F. Odeh, A. A. Bawab, W. Alshaer // Heliyon. — 2022. — 8(5): e09394. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09394>
3. De Leo V. Recent advancements in polymer/liposome assembly for drug delivery: from surface modifications to hybrid vesicles / V. De Leo, F. Milano, A. Agostiano, L. Cautucci // Polymers. — 2021. — 13(7):1027. DOI: <https://doi.org/10.3390/polym13071027>
4. Liu P. A review of liposomes as a drug delivery system: current status of approved products, regulatory environments, and future perspectives / P. Liu, G. Chen, J. Zhang // Molecules. — 2022. — 27(4):1372. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27041372>
5. Ilfeld B. M. Clinical effectiveness of liposomal bupivacaine administered by infiltration or peripheral nerve block to treat postoperative pain / B.M. Ilfeld, J. C. Eisenach, R. A. Gabriel // Anesthesiology. — 2021. — 134(2):283—344. DOI: <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000003630>
6. Burdaev N. I. Liposomes as drug carriers: classification, methods of production and application. Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeniya (Bulletin of the Research Center for Expertise of Medical Products) / N. I. Burdaev, L. L. Nikolaeva, V. V. Kosenko, Z. S. Shprakh, N. D. Bunyatyan // Regula-

tory studies and expertise of drugs (Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv). — 2023. — 13 (2—1). P. 316—332. DOI: <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-508>

7. Complete reference book (all about allergies). Ed. by Morozova N. V. M. “Eksmo”. — 2010. — P. 454—471.

8. Schrijvers R. Pathogenesis and diagnosis of delayed-type drug hypersensitivity reactions, from bedside to bench and back / R. Schrijvers, L. Gilissen, A. M. Chiriac et al. // Clin Transl Allergy. — 2015. — 5 (31). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13601-015-0073-8>

9. Guidelines for the Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Substances / edited by the Corresponding Member of the RAMS, Professor R. U. Khabriev. Moscow: Meditsina (Medicine), 2005. 832 p.

10. Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Drugs. Part One / Ed. by A. N. Mironov. Moscow: Grif i K Publishing House, 2012.

11. Gayday E. A. Basic Requirements and Features of the Vascular Permeability Model Methodology / E. A. Gayday, D. S. Gayday, K. L. Kryshen, N. M. Makarova // Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy (Laboratory Animals for Research). — 2018. — No. 3. — P. 61—71. DOI: [10.29296/2618723X-2-18-03-06](https://doi.org/10.29296/2618723X-2-18-03-06)

12. Miroshnikov M. V. Variability of hematological blood indicators and establishment of reference intervals in

preclinical studies. Report 1: rodents and rabbits / M. V. Miroshnikov, M. A. Kovaleva, K. T. Sultanova, M. N. Makarova // Laboratornye zhivotnye dlya nauchnykh issledovaniy (Laboratory Animals for Research). — 2024. — 4. — P. 35—58. DOI: <https://doi.org/10.57034/2618723X-20240404>

13. Linpeng Yao. Evans Blue Dye: A Revisit of Its Applications in Biomedicine / Linpeng Yao, Xing Xue, Peipei Yu, Yicheng Ni, Feng Chen // Contrast Media Mol Imaging. — 2018, Apr 22. — 7628037. DOI: [10.1155/2018/7628037](https://doi.org/10.1155/2018/7628037)

14. Gritsyuk V. A. Assessment of the anaphylactogenic activity of the drugs based on recombinant interferons in case of active cutaneous anaphylaxis / V. A. Gritsyuk, N. A. Grigoryeva, I. V. Bryukhova, A. A. Korchagina // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2021. — No. 2 (15). — P. 8—19. DOI: <https://doi.org/10.17238/issn2541-8203.2021.2.8>

15. Grigoryeva N. A. Study of the irritating and allergenic effect of Gentabiferon-S with single and repeated use / N. A. Grigoryeva, M. S. Zhukov, I. V. Bryukhova // Uchenye zapiski UO Vitebskaya ordena Znak pocheta gosudarstvennoy akademii veterinarnoy meditsiny (Transactions of the EE “Vitebsk Order of the ‘Badge of Honor’ State Academy of Veterinary Medicine”). — 2022. — No. 1, V. 58. — P. 81—84. DOI: <https://doi.org/10.52368/2078-0109-58-1-81-84>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

N. A. Grigoryeva — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
N. A. Khokhlova — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
A. A. Korchagina — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
Yu. A. Chaplygina — Junior Scientific Associate;
A. V. Nekrasov — Junior Scientific Associate;
T. I. Ermakova — Candidate of Biological Sciences;
G. N. Bliznetsova — Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory.

The article was submitted 21.08.2025.

Обзорная статья
УДК 619:615.371
DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.005

АДЬЮВАНТЫ ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ: ТЕКУЩЕЕ СОСТОЯНИЕ

Ольга Павловна Хрипко*, Дмитрий Игоревич Коновалов*,
Александра Владимировна Глущенко**, Александр Юрьевич Алексеев**,
Михаил Александрович Шестопалов*,**✉

* Институт неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН, Новосибирск, Россия

**Федеральный исследовательский центр фундаментальной
и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия, shtopy@niic.nsc.ru✉

Аннотация. Адьюванты являются критическим компонентом большинства ветеринарных вакцин, обеспечивая усиление иммунного ответа организма на вакцинный антиген. Приблизительно 87 % коммерческих инактивированных вакцин для животных содержат в своем составе один тип адьюванта, наиболее распространёнными из которых являются минеральные соли алюминия (48 %), масляные эмульсии (20 %) и сапонины. В настоящей работе систематизирован современный опыт применения пяти основных классов адьювантов: неорганических минеральных соединений, органических масляных композиций, растительных сапонинов, бактериальных производных и наноструктурированных материалов. Каждый класс обладает специфическими механизмами действия, влияющими на формирование гуморального и клеточного иммунитета у различных видов сельскохозяйственных животных. Однако применение адьювантов требует соблюдения баланса между иммуногенностью и реактогенностью. Традиционные адьюванты могут вызывать локальные реакции (гранулёмы, абсцессы) и системные эффекты (лихорадку, снижение продуктивности) особенно у чувствительных видов. Перспективные направления включают разработку био-разлагаемых наносистем, синтетических аналогов растительных сапонинов и комбинированных адьювантных систем, обеспечивающих повышенную специфичность к различным видам животных. Будущие адьюванты должны обеспечивать целенаправленную активацию требуемых компонентов иммунитета при минимизации побочных эффектов, что откроет новые возможности для профилактики и эрадикации опасных инфекционных заболеваний в животноводстве и снижению риска передачи зоонозов человеку.

Ключевые слова: адьюванты, вакцины, сельскохозяйственные животные, иммунитет, наночастицы, безопасность.

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 25-16-20088) и Правительства Новосибирской области. Авторы благодарят Министерство Науки и Высшего Образования Российской Федерации

Инфекционные заболевания животных могут наносить большой экономический ущерб промышленному животноводству и птицеводству [1]. Промышленное разведение сельскохозяйственных животных, обеспечивающее глобальную продовольственную безопасность, неразрывно связано с высокими рисками возникновения и распространения эпизоотий, способных нанести колоссальный экономический ущерб и дестабилизировать продовольственные рынки. Вакцинация является одним из наиболее эффективных методов профилактики инфекционных заболеваний в животноводстве, предотвращая массовые вспышки и снижая

потенциальный экономический ущерб. Прямые затраты на вакцинацию, включающие стоимость препарата и трудозатраты, должны окупаться предотвращением значительных потерь от болезней. Как следствие, со стороны производителей существует постоянный запрос на создание вакцин, которые были бы не только эффективными, но и экономически выгодными. Помимо прямого экономического эффекта, вакцинация вносит существенный вклад в решение глобальных проблем здравоохранения. Контроль зоонозных заболеваний у животных, таких как бруцеллез, лептоспироз или бешенство, напрямую снижает риск их передачи че-

ловеку. Кроме того, широкое применение вакцин позволяет сократить использование антимикробных препаратов для лечения и профилактики бактериальных инфекций в ветеринарии, что является краеугольным камнем в глобальной стратегии по борьбе с антимикробной резистентностью. Таким образом, экономическая и эпидемиологическая целесообразность вакцинации является мощным стимулом для развития новых эффективных вакцин, в целом, и их компонентов, в частности [1].

Одними из самых эффективных вакцин являются вакцины на основе живого аттенуированного возбудителя, которые способны вызывать как образование нейтрализующих антител, так и клеточный иммунный ответ [2]. Существенным недостатком таких вакцин является возможность ревертирования вакцинного штамма к дикому патогенному типу. Более безопасными, но менее иммуногенными являются субъединичные и инактивированные вакцины. Таким образом возникает задача по повышению иммуногенности инактивированных вакцин. Адьюванты — одни из важнейших компонентов большинства вакцин для сельскохозяйственных животных, играют ключевую роль в решении этой задачи, поскольку позволяют снизить себестоимость вакцины за счет уменьшения необходимой дозы антигена и сократить операционные расходы благодаря уменьшению кратности введений [3]. Адьюванты позволяют уменьшить дозу антигена или кратность иммунизации, а также обеспечить более длительную и напряжённую иммунную защиту. В вакцинах с инактивированными вирусами для животных адьюванты используются чрезвычайно широко: ~87 % коммерческих вакцин для животных содержат один адьювант, а оставшиеся 13 % — комбинацию адьювантов. Наиболее распространены минеральные соли алюминия (в ~48 % ветеринарных вакцин), масляные эмульсии (~20 %). Третьими по распространённости являются адьюванты на основе сапонинов [2].

Роль адьювантов тесно связана с особенностями иммунной системы различных видов животных. Известны случаи видовой чувствительности к отдельным адьювантам: например, адьюванты на основе алюминия являются эффективными и безопасными для крупного рогатого скота (КРС) и свиней, но хроническое введение алюмосодержащих вакцин кошкам и овцам, часто ассоциировано с риском развития сарком в месте инъекции или больших гранулём [4]. Напротив, минеральные масляные адьюванты, допустимые в ветеринарии, слишком реактогенны для применения у че-

ловека [2]. Более того, существуют видовые различия в системе врождённого иммунитета (например, в рецепторах TLR), из-за которых адьювант, эффективный у одного вида, может не работать у другого [3]. Поэтому при разработке вакцин для сельскохозяйственных животных важно учитывать специфику иммунной системы каждого вида.

Классификация адьювантов, применяемых в вакцинах

для сельскохозяйственных животных

Адьюванты, используемые в ветеринарных вакцинах, представляют собой группу веществ, которые можно классифицировать по их химической природе. Исторически развитие адьювантов прошло путь от случайных наблюдений до целенаправленного конструирования молекул с заданными иммуностимулирующими свойствами [1]. Современная тенденция исследований заключается в создании комбинированных адьювантных систем, сочетающих свойства нескольких классов для достижения синергетического эффекта [5]. Например, комбинация адьюванта-носителя (создающего депо и обеспечивающего доставку) с иммуностимулятором (активирующим специфические рецепторы врожденного иммунитета) позволяет получить более мощный и сбалансированный иммунный ответ, чем каждый компонент по отдельности.

Адьюванты по своему происхождению и механизму действия делятся на несколько основных групп: неорганические минеральные соединения [6], органические масляные композиции [7], сапонины растительного происхождения [8], бактериальные производные [9] и новые наноструктурированные материалы. Каждая из этих групп имеет свои особенности, преимущества и недостатки применения у различных видов сельскохозяйственных животных, которые рассмотрены ниже.

1. Минеральные адьюванты (соединения алюминия)

Основные представители и использование. К минеральным адьювантам относятся прежде всего соли алюминия — гидроксид алюминия ($Al(OH)_3$), фосфат алюминия ($Al(OH)_x(PO_4)_y$), алюминий калиевые квасцы — $KAl(SO_4)_2 \cdot 12(H_2O)$, известные также под общим названием «алюм» [6]. Алюмосодержащие адьюванты являются одними из самых хорошо изученных и разрешены к применению как в ветеринарных вакцинах, так и в вакцинах для человека [6]. В ветеринарии соли алюминия присутствуют практически в половине коммерче-

ских вакцин [6], что обусловлено их дешевизной, относительной эффективностью и хорошим профилем безопасности. Такие адьюванты хорошо адсорбируют белковые и полисахаридные антигены на своей поверхности, образуя мелкодисперсный осадок, который вводится животному в виде суспензии. Они входят в состав инактивированных вакцин против некоторых вирусных и бактериальных инфекций у КРС, свиней и мелких жвачных.

Механизм действия. Алюмосодержащие адьюванты действуют преимущественно за счёт формирования «депо» антигена в месте инъекции и активации врождённого иммунитета через воспалительные пути [10]. После введения частицы гидроксида или фосфата алюминия осаждаются в тканях, медленно высвобождая адсорбированные антигены, что обеспечивает длительное (на протяжении дней и недель) поступление антигена к антиген-презентирующим клеткам [6, 11]. Кроме того, частицы солей алюминия инициируют локальную воспалительную реакцию: повреждение клеток в месте инъекции приводит к высвобождению внутриклеточных молекул, которые вызывают (DAMPs) активацию комплемента и привлечение фагоцитов, и возникновению неинфекционного воспалительного ответа. Показано, что частицы солей алюминия могут активировать инфламасому NLRP3 в антиген-презентирующих клетках, что ведёт к продукции провоспалительных цитокинов (таких как ИЛ-1 β) и усилению Th2 иммунного ответа [6, 12]. В результате вакцина на основе солей алюминия вызывает мощный гуморальный иммунитет — выработку нейтрализующих антител.

Преимущества. Минеральные адьюванты имеют длительную историю безопасного применения [10]. Они недороги в производстве, эффективно усиливают образование нейтрализующих антител и формирование иммунологической памяти [6, 10]. Адьюванты на основе алюминия особенно хорошо зарекомендовали себя против внеклеточных патогенов, где решающее значение имеет гуморальный иммунитет. Благодаря депо-эффекту достигается пролонгированное действие вакцины и более высокий титр антител после иммунизации [10].

Недостатки. Основной недостаток солей алюминия — их ограниченная способность индуцировать клеточный иммунитет [10]. Такие адьюванты практически не стимулируют Th1 иммунный ответ и образование цитотоксических Т-лимфоцитов, поэтому малоэффективны в вакцинах против внутриклеточных инфекций [6, 10, 11]. Другим существенным недостатком является необходимость ревакци-

нации: для полноценной защиты часто требуются несколько доз вакцины на алюминиевом адьюванте, так как антителный ответ формируется медленнее, чем при использовании более мощных адьювантов. Несмотря на то, что в целом адьюванты на основе алюминия безопасны, они могут вызывать локальные реакции — болезненность, отёк, образование гранулём в месте инъекции. У ряда животных (например, кошек) хроническое раздражение тканей алюминием в месте инъекции связано с риском развития постинъекционных сарком [4]. Также суспензии с алюминием нельзя замораживать и лиофилизировать — это приводит к потере адьювантной активности [6, 11], что затрудняет хранение и транспортировку.

2. Масляные адьюванты (эмульсии)

Основные представители и использование.

Масляные адьюванты представляют собой эмульсии воды и масла, часто с добавлением эмульгаторов. Масляные эмульсии — ещё один широко распространённый в ветеринарии класс адьювантов, ценимый за высокую иммуногенность и низкую стоимость [7]. Различают эмульсии типа вода-в-масле (W/O) и масло-в-воде (O/W), а также двойные эмульсии вода-в-масле-в-воде (W/O/W). Классическим примером масляного адьюванта является неполный адьювант Фрейнда — эмульсия минерального (парафинового) масла с водой (типа W/O), стабилизированная эмульгатором (ланолином или маннитолом) [13]. Неполный адьювант Фрейнда исторически применялся для усиления иммунного ответа у животных, однако из-за высокой реактогенности (выраженных воспалительных реакций, абсцессов) он сейчас не используется в промышленных ветеринарных вакцинах, а остался лишь средством экспериментальной иммунологии [14]. В коммерческих вакцинах ему на смену пришли более очищенные масляные адьюванты — например, линейка Montanide ISA (разработки фирмы Seppic), представляющая ряд готовых масляных адьювантов для ветеринарии. Примеры включают Montanide ISA 25, ISA 50, ISA 206 и др., которые отличаются составом масла (минеральное или метаболизируемое растительное, например скваленовое) и типом эмульсии. Так, Montanide ISA 206 — распространённый адьювант типа W/O/W, дающий пролонгированный эффект и применяемый в вакцинах против ящура у КРС [15]. Масляные адьюванты особенно широко используются в инактивированных вакцинах для крупного рогатого скота и свиней (например, против ящура, Ауэски,

цирковируса и пр.), где требуется мощный долговременный иммунитет [16]. У птиц масляные адьюванты применяются главным образом в инактивированных вакцинах для племенного стада (например, против вируса Ньюкасла или гриппа птиц), поскольку для бройлеров индивидуальные инъекции затруднены и экономически невыгодны.

Механизм действия. Эмульсии формируют в месте инъекции капсулы из капель масла, внутри которых «консервируется» антиген. Как и адьюванты на основе солей алюминия, масляный адьювант служит депо для антигена, однако с более длительным эффектом: частицы инактивированного антигена высвобождаются из масляных капель медленно, вызывая продолжительную стимуляцию иммунной системы, что приводит к формированию сильного и продолжительного иммунитета [7, 14]. Одновременно масла индуцируют локальное асептическое воспаление: гидрофобные молекулы повреждают клеточные мембраны, активируют комплемент и вызывают выброс провоспалительных цитокинов (например, ИЛ-6, ФНО- α) макрофагами [17]. В результате эмульсия привлекает иммунные клетки (нейтрофилы, моноциты) к месту инъекции. Масляные адьюванты, как правило, стимулируют преимущественно Th2-тип иммунного ответа — интенсивную выработку антител, поскольку способствуют презентации антигена В-лимфоцитам и CD4+-хелперным Т-клеткам [17]. Клеточный Th1-ответ (продукция ИФН- γ , активация цитотоксических лимфоцитов) выражен слабее, однако может усиливаться при добавлении в эмульсию иммуномодуляторов [18]. Важным свойством масляных адьювантов является способность индуцировать длительный иммунитет: за счёт депо-эффекта и сильной воспалительной стимуляции титры антител сохраняются на высоком уровне многие месяцы после вакцинации. Также отмечено, что масляные вакцины меньше подвержены воздействию материнских антител у новорождённых животных, обеспечивая активный иммунитет даже в присутствии пассивного [19].

Преимущества. Масляные эмульсии считаются одними из наиболее мощных адьювантов [1]. Они обеспечивают высокий уровень антител (в т. ч. нейтрализующих) и долгосрочную защиту, превосходя по эффективности алюмосодержащие вакцины [7]. Например, инактивированные вакцины против ящура на масляном адьюванте вызывают более быстрый и сильный иммунный ответ, чем традиционные вакцины на основе солей алюминия с сапонином [20]. Масляные вакцины также лучше пре-

одолевают влияние колостральных антител и могут обеспечивать раннюю защиту животных в случае эпизоотии [21]. Стоимость масляных адьювантов невысока, рецептуры относительно просты [7], они универсальны для различных типов антигенов (вирусных, бактериальных) и применимы у разных видов млекопитающих.

Недостатки. Главный недостаток — высокая реактогенность масляных адьювантов. В месте инъекции часто развивается болезненное воспаление, возможно образование плотных гранулём или кист, которые сохраняются длительное время [7, 22]. У крупного рогатого скота масляные вакцины могут приводить к повреждению тканей (некрозу) и рубцеванию шкур (что снижает их товарную ценность) [16]. В экспериментах на свиньях сравнение нескольких адьювантов показало, что именно масляные вызывали наиболее выраженные тканевые реакции — обширные пиогранулёмы в мышцах [23]. Кроме того, системные поствакцинальные симптомы (лихорадка, ослабление набора массы) более характерны для масляных вакцин [24]. Например, у дойных коров после вакцинации инактивированной вакциной против ящура наблюдалось повышение температуры на 1—1,5 °С в течение ~48 часов и временное снижение удоя на ~2 кг в день [24]. Поэтому применение масляных вакцин может сопровождаться кратковременным снижением продуктивности. Ещё одна проблема — при случайном самопадании масляного адьюванта человеку (укол вакциной) развивается тяжёлое локальное воспаление, тяжело поддающееся лечению [7]. По этой причине минеральные масла не используются в вакцинах для людей и в ветеринарии требуют осторожного обращения (на этикетках таких вакцин обязательно указывают предупреждения о риске при самоинъекции ветеринаром). Наконец, минеральные масла биологически не разлагаются и могут содержать следы вредных примесей (например, ароматических углеводородов), хотя современные препараты проходят очистку. В последние годы для снижения токсичности исследуются легко метаболизируемые масла — например, сквален (из печени акулы) и растительные скваланы, используемые в эмульсиях MF59, AS03 и др. [25]. Такие масла полностью рассасываются в организме и намного менее реактогенны, хотя и уступают по иммуногенности минеральным аналогам [26].

3. Сапониновые адьюванты

Основные представители и использование.

Сапонины — это природные гликозиды, выделяе-

мые из растений (реже из морских организмов), обладающие выраженными иммуностимулирующими свойствами [27]. Классическим примером служит сапониновый препарат Quil A, получаемый из коры дерева *Quillaja saponaria* (мыльное дерево) [19]. Quil A представляет собой смесь из более чем 20 тритерпеноидных сапонинов и исторически широко применяется как адьювант в ветеринарии [28]. В частности, вакцины против ящура для крупного рогатого скота с 1970-х годов содержали комбинацию гидроксида алюминия и сапонины Quil A — эта формула была стандартом во многих странах [19]. Сапонины входят и в состав некоторых современных коммерческих адьювантов: так, ветеринарный препарат VetSap® представляет очищенный квиллайский сапонин, а Matrix-M™ — матрица на основе наночастиц из квиллайских сапонинов (разработана для человеческих вакцин, например, против малярии и COVID-19) [29]. Другая важная фракция — QS-21, отдельный сапонин, выделенный из Quil A; он менее токсичен и поэтому используется в клинических исследованиях и некоторых вакцинах для человека (включён в адьюванты AS01, AS02) [30]. В ветеринарии QS-21 пока не получил широкого применения из-за высокой стоимости очистки [31], однако изучается как более безопасная замена Quil A [32]. Сапониновые адьюванты особенно эффективны для вакцин против вирусных инфекций, требующих как гуморального, так и клеточного иммунитета [8]. Их применяют, например, в инактивированных вакцинах против ящура, вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней (PPCC) и в экспериментальных вакцинах против других вирусов (в т. ч. в адьюванте AS01 для малярии и опоясывающего лишая у человека) [33].

Механизм действия. Сапонины обладают комплексным действием на иммунную систему. Они амфифильны, то есть могут взаимодействовать как с мембранами клеток, так и с растворимыми молекулами [34]. Quil A способен формировать особые наноструктуры — иммунные стимуляторные комплексы (ISCOMs) — при смешивании с холестерином и фосфолипидами [35]. ISCOMs размером ~40 нм эффективно захватывают антиген-презентирующими клетками и одновременно доставляют связанный антиген и стимулируют рецепторы (например, NLRP3-инфламмасому и, возможно, некоторые Toll-подобные рецепторы) [36]. Сапонины индуцируют как сильный антительный ответ (Th2), так и выраженный клеточный иммунитет (Th1) [34]. Они уникальны своей способностью усиливать цитотоксический ответ: Quil A и его

фракции (например, QS-21) стимулируют образование цитотоксических Т-лимфоцитов, вероятно, за счёт активации кросс-презентации антигена через МНС I путь в дендритных клетках [36]. Кроме того, сапонины усиливают выработку цитокинов: отмечено повышение уровней интерлейкинов (ИЛ-2, ИЛ-12) и интерферонов (ИФН-γ), что смещает ответ в сторону Th1 и активирует клеточный иммунитет [32]. Таким образом, адьюванты на основе сапонинов способны вызывать сбалансированный иммунный ответ, сочетающий нейтрализующие антитела и клеточную противовирусную защиту.

Преимущества. Сапониновые адьюванты обладают высокой эффективностью. Они заметно усиливают иммуногенность вакцин, позволяя добиться как гуморального, так и клеточного иммунитета [36]. В экспериментах добавление Quil A к вакцинам показывало рост титров антител IgG, в т. ч. класса IgG2, а также увеличение популяции ИФН-γ-продуцирующих Т-лимфоцитов [8]. Так, включение Quil A в вакцину против ящура существенно повышало иммунный ответ у крупного рогатого скота [19]. В опытах на поросятах сапонин Quil A, добавленный к живой вакцине против PPCC, усиливал генную экспрессию интерферонов I и II типов и провоспалительных цитокинов, улучшая защиту от гетерологичного штамма вируса [3]. То есть сапонины могут повышать эффективность даже живых вакцин [8]. К преимуществам относится и то, что многие сапонины растительного происхождения доступны из природного сырья или биотехнологически (например, за счёт выращивания *Quillaja* на плантациях) [37]. В ветеринарии Quil A успешно применяется уже несколько десятилетий.

Недостатки. Главный недостаток — потенциальная токсичность сапонинов. Они обладают гемолитической активностью (разрушают эритроциты при контакте), поэтому должны применяться в ограниченных дозах [31]. Quil A и подобные ему сырьевые экстракты могут вызывать у животных местное раздражение, боль при инъекции и формирование гранулём [38]. Также описаны случаи некрозов в месте введения при высоких дозах [8]. В чистом виде Quil A слишком токсичен для применения у людей (помимо местных реакций, может вызывать лихорадку и системные эффекты) [32]. По этой причине для медицины выделили менее токсичные фракции (QS-21 и др.) или используют инкапсулированные формы сапонинов — например, ISCOM-матрицы, где сапонин встроен в липидную наночастицу, что снижает его прямой контакт с клетками и болезненность введения [39]. В ве-

теринарии Quil A считается приемлемым, однако требуются меры предосторожности: строгий контроль дозы, пути введения (только внутримышечно, так как подкожно риск реакций выше), и сочетание с другими адьювантами для снижения токсичности [40]. Ещё одним ограничением является низкая стабильность сапонинов в водных растворах и при хранении [31]: вакцины с ними труднее стабилизировать при длительном хранении, хотя современные формулы (например, сухие наноматрицы с сапонином) частично решают эту проблему [39]. Добавим, что эффективность сапонинов может сильно варьировать между видами: у млекопитающих (птиц, рыб) сапониновые адьюванты оказались значительно менее действенными, чем у млекопитающих, вероятно из-за отличий в иммунной системе [41]. Поэтому для птицы и рыб Quil A применяется редко или в комбинации с другими типами адьювантов [42].

4. Бактериальные производные (липополисахариды, CpG-олигонуклеотиды и др.)

Основные представители и использование.

К этой группе относятся компоненты бактериальных клеток или их синтетические аналоги, которые распознаются рецепторами врождённого иммунитета и тем самым усиливают иммунный ответ [43, 44]. К классическим иммуностимуляторам такого рода относится липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий — мощный активатор иммунных клеток через Toll-подобный рецептор 4 (TLR4) [45]. Из-за высокой токсичности полноценный ЛПС (эндотоксин) не может применяться напрямую, но создан его аттенуированный вариант — монофосфориллипид А (MPLA), представляющий липидный фрагмент ЛПС с пониженной токсичностью [9]. MPLA включён в состав некоторых адьювантов, например, AS04 (смесь MPLA с гидроксидом алюминия) — этот адьювант используется в ряде вакцин (против вируса папилломы у человека и др.) [46]. В ветеринарии MPLA пока применяется редко, главным образом в исследовательских вакцинах. Другим типом бактериальных адьювантов являются иммуностимулирующие ДНК-последовательности, прежде всего CpG-олигодезоксинуклеотиды (CpG-ОДН). Это короткие синтетические фрагменты ДНК, обогащённые метилированными мотивами CpG, которые характерны для бактериального генома [43]. CpG-ОДН распознаются TLR9, экспрессированным в В-клетках и плазматоидных дендрит-

ных клетках млекопитающих, вызывая их активацию [44]. CpG-адьюванты исследованы на различных животных — от мышей до КРС — и показали способность сдвигать иммунный ответ в сторону Th1 (усиление выработки ИФН-α, ИФН-γ) [47]. Некоторые синтетические CpG (например, CpG 1018) уже применяются в коммерческих вакцинах для человека (вакцина против гепатита В, одобренная FDA NEPLISAV-B®), а в ветеринарии данные соединения пока находятся на стадии испытаний. Кроме ЛПС и CpG, к бактериальным иммуномодуляторам можно отнести токсоиды (инактивированные бактериальные экзотоксины, которые сами обладают адьювантной активностью), компоненты клеточной стенки микобактерий (сильные Th1-стимуляторы, использовались в полном адьюванте Фрейнда), флагеллин (стимулятор TLR5) и др. [48]. Однако наиболее перспективными и изученными остаются MPLA и CpG [5].

Механизм действия. Бактериальные адьюванты запускают каскад врождённого иммунитета через активацию паттерн-распознающих рецепторов. Липид А (компонент ЛПС) связывается с TLR4 в комплексе с рецептором MD-2 на клетках иммунной системы, что приводит к секреции провоспалительных цитокинов (ФНО, ИЛ-1, ИЛ-6) и сильному созреванию дендритных клеток [45]. Вакцины с MPLA вызывают выраженный Th1-ответ и усиливают продукцию антител IgG2 за счёт этой воспалительной активации [9]. CpG-ОДН имитируют бактериальную ДНК и распознаются внутриклеточным рецептором TLR9 у млекопитающих и TLR21 у птиц [49]. CpG-ОДН взаимодействуют с TLR9 в эндосомах плазматоидных дендритных клеток и В-лимфоцитов, что стимулирует выработку ИФН-α и других цитокинов включая ИЛ-12, что делает CpG-ОДН одними из самых эффективных индукторов Th1-ответа, а также прямо активирует В-клетки к пролиферации и продукции антител [50]. Итог — мощная индукция клеточного иммунитета (увеличение численности Th1-клеток, НК-клеток, цитотоксических лимфоцитов) и одновременная адьювантность для гуморального ответа [47]. Эти олигонуклеотиды активно исследуются в качестве адьювантов для ветеринарных вакцин, где требуется сильный клеточный иммунитет [51]. Например, добавление CpG в вакцины у крупного рогатого скота показало усиление выработки ИФН-γ и повышения титров защитных антител одновременно [52]. Бактериальные адьюванты также эффективны при мукозальной иммунизации: и ЛПС, и CpG могут усиливать секреторный им-

мунитет при нанесении на слизистые (их включают в экспериментальные назальные и оральные вакцины) [52]. Следует отметить, что многие TLR-лиганды действуют видоспецифично — например, разные виды животных имеют TLR9 с разной чувствительностью к данному CpG-мотиву. Новые синтетические CpG стараются делать «панспецифичными», активными для широкого круга видов. Так, один из вариантов CpG (называемый CpG 55.2) оказался активен как у мышей, так и у хомяков, хорьков, приматов и ряда сельскохозяйственных животных [53]. В целом бактериальные молекулы запускают врождённый иммунитет, который «настраивает» последующую адаптивную реакцию организма на вакцинный антиген.

Преимущества. Бактериальные производные — одни из самых мощных иммунных активаторов. Они особенно ценны для усиления клеточного иммунитета, которого недостаёт другим адьювантам [54]. Добавление CpG, например, может превратить преимущественно антительную вакцину в комбинированную, вызывающую также Т-клеточный ответ [47]. В экспериментах на крупном рогатом скоте комбинация инактивированной вакцины с CpG-ОДН приводила к существенному росту концентрации ИНФ- γ в сыворотке и активации клеток клеточного иммунитета по сравнению с вакциной без адьюванта [52]. Бактериальные адьюванты также часто эффективны при введении низких доз, что позволяет снизить стоимость [55]. Их синтетические версии (например, CpG) химически стабильны, не требуют условий холодной цепи и просты в производстве [56]. Кроме того, комбинация таких адьювантов с другими даёт выраженный синергизм [57].

Недостатки. Проблемой использования бактериальных производных является высокая реактогенность адьювантов и их видоспецифичность. Мощный воспалительный ответ, вызываемый ЛПС или его аналогами, чреват побочными реакциями — лихорадкой, снижением активности животного, иногда аллергоподобными явлениями (например, артрит и увеит, отмеченные для некоторых бактериальных адьювантов) [58]. Поэтому в вакцинах применяют не полный ЛПС, а ослабленный MPLA в ограниченных количествах. CpG-олигонуклеотиды в высоких дозах способны индуцировать синдром высвобождения цитокинов («цитокиновый шторм»), что также опасно [59]. Ещё одна сложность — специфичность к виду: адьювант, разработанный на мышинной модели, может не работать у крупного рогатого скота из-за различий

в рецепторах. Например, некоторые CpG, эффективные у грызунов, оказались низко эффективными у крупных приматов и свиней [49]. Такие адьюванты требуют подбор последовательности с учётом вида вакцинируемого животного. Тем не менее создание «универсальных» молекул, активных на многих животных (как упомянутый CpG 55.2), вселяет оптимизм. Также следует учитывать вопросы нормативного регулирования: новые синтетические адьюванты требуют тщательной оценки безопасности перед лицензированием, что удлинит их путь до коммерческого применения.

5. Наноматериалы и композитные системы (наночастицы, липосомы и др.)

Основные представители и использование. Современное направление разработки адьювантов связано с нанотехнологиями. Наноматериалы представляют собой один из наиболее перспективных классов адьювантов, поскольку они сочетают в себе функции как системы доставки, так и иммуностимулятора. Их размер, сопоставим с размером вирусов (обычно 20—200 нм), и способствует их эффективному поглощению антигенпрезентирующими клетками. К таким адьювантам относятся: биodeградируемые полимерные микрочастицы (например, из полилактида-ко-гликолида, PLGA) [60], липосомы [61], наногели [62], вирусоподобные частицы [63], эмульсии нового поколения (на основе метаболизируемых масел) [64], а также иммунные стимулирующие комплексы (ISCOM) из сапонинов [65]. Полимерные микрочастицы (PLGA, поликапролактон и др.) используются для капсулирования антигенов: антиген внутри таких частиц защищён от разрушения и выделяется постепенно, обеспечивая его контролируемое, пролонгированное высвобождение, имитируя тем самым хроническую антигенную стимуляцию [66]. В ветеринарной вакцинологии исследуются вакцины на основе PLGA-наночастиц против паразитарных заболеваний, наночастицы для пероральных вакцин, липосомальные вакцины против вирусов и т. д. [60]. Липосомы — сферические везикулы из фосфолипидного бислоя — способны включать в себя антигены (как растворимые, так и мембранные) и доставлять их к антиген-презентирующим клеткам [67]. Липосомальные адьюванты (например, CAF01 — катионная липосома с трегалозо-диамикололатом) показывают мощную активацию как гуморального, так и клеточного иммунитета, исследуются в моделях микобактериальных ин-

фекций и у жвачных животных [68]. В целом, наноструктурированные адьюванты пока ещё не получили массового внедрения в коммерческие ветеринарные вакцины, но считаются перспективными.

Механизм действия. Наночастицы сочетают механизмы «депо» и таргетированной доставки антигена. После инъекции биodeградируемые частицы (например, PLGA) образуют в мышечной ткани микрорезервуары, постепенно разрушающиеся и высвобождающие антиген, что приводит к пролонгированной стимуляции иммунной системы, аналогично масляному депо [11]. Одновременно размер и состав наночастиц подбирают так, чтобы они эффективно фагоцитировались дендритными клетками и макрофагами — то есть происходит прицельная доставка антигена прямо в антиген-презентирующие клетки. Некоторые наноматериалы обладают внутренней адьювантной активностью: так, частицы из липополисахарида (например, липидные нанодиски с MPLA) или из полисахаридов бактериального происхождения могут сами активировать рецепторы врождённого иммунитета [69]. Пример — адьювант Advax на основе частиц δ -инулина. Инулин — это полисахарид из растений, его кристаллическая форма усиливает захват антигена дендритными клетками через рецептор DC-SIGN и активирует систему комплемента [11, 69]. Advax не требует адсорбции антигена (антиген смешивается с частицами), рекрутирует нейтрофилы и макрофаги к месту инъекции и стимулирует одновременно гуморальный и клеточный ответ без значимого воспаления [69]. Липосомальные частицы, особенно катионные, тоже могут сами по себе выступать иммунным адьювантом: они взаимодействуют с мембранами клеток, могут переносить сопутствующие «опасные» сигналы (например, бактериальные липиды) и облегчают доставку антигена в цитозоль, что важно для презентации по MHC I и активации цитотоксических лимфоцитов [11]. Таким образом, наноматериалы часто совмещают свойства носителя, депо и иммунопотенциатора.

Преимущества. Наночастицы и липосомы отличаются гибкостью в дизайне и, как ожидается, более низкой реактогенностью. Контролируемое высвобождение антигена позволяет создать вакцины однократного введения (single-shot), что крайне актуально в ветеринарии для снижения стрессов и затрат на повторную вакцинацию. Кроме того, многие наноразмерные носители биоразлагаемы и нетоксичны: полимеры PLGA, инулин, хитозан полностью метаболизируются в организме до есте-

ственных соединений (молочная кислота, фруктоза и пр.). Это означает отсутствие длительно сохраняющихся веществ и, соответственно, минимальные местные реакции. Например, по данным испытаний, адьювант Advax не вызывает болезненного воспаления или повреждения тканей у животных, даже при больших дозах, и не приводит к образованию гранулём или язв [69]. Наночастицы также позволяют включать в вакцину быстро деградирующих в организме компоненты такие как, например, ДНК, мРНК или пептидные антигены [70]. Липосомальные системы могут быть использованы для мукозальной вакцинации (назальной, оральной), защищая антиген от разрушения и доставляя его через слизистую оболочку к иммунным клеткам [71]. К тому же наночастицы легко комбинировать с другими иммуномодуляторами: в них можно инкапсулировать тот же сапонин или CpG, создав многокомпонентный адьювант, что многократно усиливает эффективность иммунизации по сравнению с простым смешиванием компонентов [72]. Все эти качества делают наноматериалы очень привлекательными для разработки «следующего поколения» ветеринарных вакцин.

Недостатки. К настоящему времени, адьюванты на основе наночастиц недостаточно хорошо изучены и стандартизованы. Их воспроизводимое промышленное производство — технологический вызов, требующий контроля размера, дисперсности, поверхностного заряда и других параметров частиц. Малейшие изменения в способе получения могут повлиять на иммуногенность, поэтому необходимы детальные регламенты, что усложняет регистрацию таких адьювантов. Также существуют проблемы стабильности при их хранении: например, липосомы могут со временем сливаться или окисляться, полимерные частицы — агломерироваться, что ухудшает их эффективность, в результате чего необходимо определять и обеспечивать оптимальные условия их хранения (в замороженном или сухом виде) [73]. Стоимость некоторых наноразмерных препаратов пока выше традиционных адьювантов, что важно для ветеринарных вакцин. И наконец, требуется тщательное исследование безопасности: хоть многие наноматериалы по отдельности биосовместимы, их взаимодействие с иммунной системой может иметь неожиданные эффекты (например, избыточная стимуляция определённых цитокинов или аутоиммунные реакции). Тем не менее, текущие исследования демонстрируют, что при правильном подходе к получению наноразмерные адьюванты могут обеспечить высо-

кую иммуногенность при минимальных побочных реакциях. Ожидается, что по мере развития технологий эти недостатки будут преодолены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Адьюванты играют критически важную роль в эффективности вакцин для сельскохозяйственных животных. Они позволяют инактивированным и субъединичным вакцинам вызывать полноценный иммунный ответ — сопоставимый или даже превосходящий таковой при натуральной инфекции. С применением адьювантов стало возможным контролировать многие опасные болезни (ящур, бешенство, лептоспироз, кокцидиоз и др.) без использования живых возбудителей. Основные типы адьювантов — минеральные соли алюминия, масляные эмульсии, сапонины, бактериальные компоненты, наночастицы — различаются по механизмам действия, что отражается на характере формируемого иммунитета. Минеральные адьюванты эффективны для усиления гуморального (антительного) ответа, масляные — создают сильный и продолжительный иммунитет, сапонины и TLR-лиганды — стимулируют клеточный иммунитет (Th1, CTL). Комбинируя их, можно добиться оптимальной иммуногенности. Однако применение адьювантов требует соблюдения мер безопасности. Слишком сильные адьюванты могут вызывать локальные повреждения (абсцессы, гранулёмы), системные реакции (лихорадку, воспаление), что способствует снижению продуктивности животных и качества продукции. Поэтому на практике подбирают такие дозы и формы введения, которые дают максимум пользы при минимуме вреда.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. O'Hagan D. T., van der Most R., Lodaya R. N. [et al]. «World in motion» — emulsion adjuvants rising to meet the pandemic challenges // NPJ Vaccines. — 2021. — Т. 6, № 1. — С. 158. doi: 10.1038/s41541-021-00418-0
2. Zhang Q., Cheng J., Hou J. [et al]. Synthetic biology-inspired development of live attenuated influenza vaccines // NPJ Vaccines. — 2025. — Т. 10, № 1. — С. 204. doi: 10.1038/s41541-025-01255-1
3. Yao Y., Zhang Z., Yang Z. The combination of vaccines and adjuvants to prevent the occurrence of high incidence of infectious diseases in bovine // Front Vet Sci. — 2023. — Т. 10. — С. 1243835. doi: 10.3389/fvets.2023.1243835
4. Trambas I. A., Coughlan M. T., Tan S. M. Therapeutic Potential of Targeting Complement C5a Receptors in Diabetic Kidney Disease // Int J Mol Sci. — 2023. — Т. 24, № 10. doi: 10.3390/ijms24108758

5. Zhao T., Cai Y., Jiang Y. [et al]. Vaccine adjuvants: mechanisms and platforms // Signal Transduct Target Ther. — 2023. — Т. 8, № 1. — С. 283. doi: 10.1038/s41392-023-01557-7
6. Varela-Martinez E., Abendano N. [et al]. Molecular Signature of Aluminum Hydroxide Adjuvant in Ovine PB-MCs by Integrated mRNA and microRNA Transcriptome Sequencing // Front Immunol. — 2018. — Т. 9. — С. 2406. doi: 10.3389/fimmu.2018.02406
7. Brewer K. D., Weir G. M., Dude I. [et al]. Unique depot formed by an oil based vaccine facilitates active antigen uptake and provides effective tumour control // J Biomed Sci. — 2018. — Т. 25, № 1. — С. 7. doi: 10.1186/s12929-018-0413-9
8. Chen K., Wang N., Zhang X. [et al]. Potentials of saponins-based adjuvants for nasal vaccines // Front Immunol. — 2023. — Т. 14. — С. 1153042. doi: 10.3389/fimmu.2023.1153042
9. Mata-Haro V., Cekic C., Martin M. [et al]. C. The vaccine adjuvant monophosphoryl lipid A as a TRIF-biased agonist of TLR4 // Science. — 2007. — Т. 316, № 5831. — С. 1628—32. doi: 10.1126/science.1138963
10. HogenEsch H., O'Hagan D. T., Fox C. B. Optimizing the utilization of aluminum adjuvants in vaccines: you might just get what you want // NPJ Vaccines. — 2018. — Т. 3. — С. 51. doi: 10.1038/s41541-018-0089-x
11. Nooraei S., Sarkar Lotfabadi A., Akbarzadehmoallemkolaei M. [et al]. Immunogenicity of Different Types of Adjuvants and Nano-Adjuvants in Veterinary Vaccines: A Comprehensive Review // Vaccines (Basel). — 2023. — Т. 11, № 2. doi: 10.3390/vaccines11020453
12. HogenEsch H. Mechanism of Immunopotential and Safety of Aluminum Adjuvants // Frontiers in Immunology. — 2013. — Т. Volume 3—2012. doi: 10.3389/fimmu.2012.00406
13. Jensen F. C., Savary J. R., Diveley J. P. [et al]. Adjuvant activity of incomplete Freund's adjuvant // Adv Drug Deliv Rev. — 1998. — Т. 32, № 3. — С. 173—186. doi: 10.1016/s0169-409x(98)00009-x
14. Huang Z., Gong H., Sun Q. [et al]. Research progress on emulsion vaccine adjuvants // Heliyon. — 2024. — Т. 10, № 3. — С. e24662. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e24662
15. Heegaard P. M., Dedieu L., Johnson N. [et al]. Adjuvants and delivery systems in veterinary vaccinology: current state and future developments // Arch Virol. — 2011. — Т. 156, № 2. — С. 183—202. doi: 10.1007/s00705-010-0863-1
16. Antipov A., Petrovsky N. One Health adjuvant selection for vaccines against zoonotic infections // Explor Med. — 2025. — Т. 6. doi: 10.37349/emed.2025.1001316
17. Vono M., Taccone M., Caccin P. [et al]. The adjuvant MF59 induces ATP release from muscle that potentiates response to vaccination // Proc Natl Acad Sci U S A. — 2013. — Т. 110, № 52. — С. 21095—100. doi: 10.1073/pnas.1319784110

18. Ko E. J., Kang S. M. Immunology and efficacy of MF59-adjuvanted vaccines // Hum Vaccin Immunother. — 2018. — Т. 14, № 12. — С. 3041—3045. doi: 10.1080/21645515.2018.1495301
19. Dalgaard K., Jensen M. H., Sorensen K. J. Saponin adjuvants. IV. Evaluation of the adjuvant quil A in the vaccination of cattle against foot-and-mouth disease // Acta Vet Scand. — 1977. — Т. 18, № 3. — С. 349—60. doi: 10.1186/BF03548432
20. Ayele G., Getachew B., Bari F. D. [et al]. Combined Adjuvant Formulations Enhanced an Immune Response of Trivalent Foot and Mouth Disease Vaccine in Cattle // Vet Med (Auckl). — 2023. — Т. 14. — С. 47—62. doi: 10.2147/vmrr.S397590
21. Cokcaliskan C., Turkoglu T., Uzunlu E. [et al]. Influence of vaccine potency and booster administration of foot-and-mouth disease vaccines on the antibody response in calves with maternal antibodies // J Vet Sci. — 2017. — Т. 18, № S1. — С. 315—322. doi: 10.4142/jvs.2017.18.S1.315
22. Petrovsky N. Comparative Safety of Vaccine Adjuvants: A Summary of Current Evidence and Future Needs // Drug Saf. — 2015. — Т. 38, № 11. — С. 1059—74. doi: 10.1007/s40264-015-0350-4
23. Asin J., Molin J., Perez M. [et al]. Granulomas Following Subcutaneous Injection With Aluminum Adjuvant-Containing Products in Sheep // Vet Pathol. — 2019. — Т. 56, № 3. — С. 418—428. doi: 10.1177/0300985818809142
24. Yeruham I., Yadin H., Haymovich M. [et al]. Adverse reactions to FMD vaccine // Vet Dermatol. — 2001. — Т. 12, № 4. — С. 197—201. doi: 10.1046/j.0959-4493.2001.00221.x
25. Fox C. B. Squalene emulsions for parenteral vaccine and drug delivery // Molecules. — 2009. — Т. 14, № 9. — С. 3286—312. doi: 10.3390/molecules14093286
26. Filipic B., Pantelic I., Nikolic I. [et al]. Nanoparticle-Based Adjuvants and Delivery Systems for Modern Vaccines // Vaccines (Basel). — 2023. — Т. 11, № 7. doi: 10.3390/vaccines11071172
27. Sparg S. G., Light M. E., van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins // J Ethnopharmacol. — 2004. — Т. 94, № 2—3. — С. 219—43. doi: 10.1016/j.jep.2004.05.016
28. Kensil C. R., Patel U., Lennick M., Marciani D. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from Quillaja saponaria Molina cortex // J Immunol. — 1991. — Т. 146, № 2. — С. 431—7. doi: 10.1073/pnas.1319784110
29. Stertman L., Palm A. E., Zarnegar B. [et al]. The Matrix-M adjuvant: A critical component of vaccines for the 21(st) century // Hum Vaccin Immunother. — 2023. — Т. 19, № 1. — С. 2189885. doi: 10.1080/21645515.2023.2189885
30. Morais V. S. N., Silveira F. Methods of saponin purification from Quillaja sp. for vaccine adjuvant production // Front. Nat. Produc. — 2025. — Т. 3. — С. 1524624. doi: 10.3389/fntpr.2024.1524624

31. Ho N. I., Huis In 't Veld L. G. M., Raaijmakers T. K. [et al]. Adjuvants Enhancing Cross-Presentation by Dendritic Cells: The Key to More Effective Vaccines? // Front Immunol. — 2018. — Т. 9. — С. 2874. doi: 10.3389/fimmu.2018.02874
32. Rajput Z. I., Hu S. H., Xiao C. W. [et al]. Adjuvant effects of saponins on animal immune responses // J Zhejiang Univ Sci B. — 2007. — Т. 8, № 3. — С. 153—61. doi: 10.1631/jzus.2007.B0153
33. Xiao C., Rajput Z. I., Hu S. Improvement of a commercial foot-and-mouth disease vaccine by supplement of Quil A // Vaccine. — 2007. — Т. 25, № 25. — С. 4795—800. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.04.027
34. Wang P. Natural and Synthetic Saponins as Vaccine Adjuvants // Vaccines (Basel). — 2021. — Т. 9, № 3. doi: 10.3390/vaccines9030222
35. Bottger S., Melzig M. F. The influence of saponins on cell membrane cholesterol // Bioorg Med Chem. — 2013. — Т. 21, № 22. — С. 7118—24. doi: 10.1016/j.bmc.2013.09.008
36. Huis In 't Veld L. G., Cornelissen L. A., van den Boogaard L. [et al]. Saponin-based adjuvant uptake and induction of antigen cross-presentation by CD11b+ dendritic cells and macrophages // NPJ Vaccines. — 2025. — Т. 10, № 1. — С. 15. doi: 10.1038/s41541-024-01056-y
37. Morais V., Suarez N., Cibulski S. [et al]. Leaf Saponins of Quillaja brasiliensis as Powerful Vaccine Adjuvants // Pharmaceutics. — 2025. — Т. 17, № 8. doi: 10.3390/pharmaceutics17080966
38. Bigaeva E., Doorn E., Liu H. [et al]. Meta-Analysis on Randomized Controlled Trials of Vaccines with QS-21 or ISCOMATRIX Adjuvant: Safety and Tolerability // PLoS One. — 2016. — Т. 11, № 5. — С. e0154757. doi: 10.1371/journal.pone.0154757
39. Martin L. B. B., Kikuchi S., Rejzek M. [et al]. Complete biosynthesis of the potent vaccine adjuvant QS-21 // Nature Chemical Biology. — 2024. — Т. 20, № 4. — С. 493—502. doi: 10.1038/s41589-023-01538-5
40. Vinay T. N., Park C. S., Kim H. Y. [et al]. Toxicity and dose determination of quillaja saponin, aluminum hydroxide and squalene in olive flounder (Paralichthys olivaceus) // Vet Immunol Immunopathol. — 2014. — Т. 158, № 1—2. — С. 73—85. doi: 10.1016/j.vetimm.2013.03.007
41. Vassilieva E. V., Li S., Korniyuchuk H. [et al]. cGAMP/Saponin Adjuvant Combination Improves Protective Response to Influenza Vaccination by Microneedle Patch in an Aged Mouse Model // Front Immunol. — 2020. — Т. 11. — С. 583251. doi: 10.3389/fimmu.2020.583251
42. He Y., Wang J., Chi L. [et al]. Combination Adjuvants Enhance Recombinant H5 Hemagglutinin Vaccine Protection Against High-Dose Viral Challenge in Chickens // Vaccines (Basel). — 2024. — Т. 12, № 12. doi: 10.3390/vaccines12121448
43. Krieg A. M., Yi A. K., Matson S. [et al]. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation // Na-

- ture. — 1995. — Т. 374, № 6522. — С. 546—9. doi: 10.1038/374546a0
44. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T. [et al]. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA // *Nature*. — 2000. — Т. 408, № 6813. — С. 740—5. doi: 10.1038/35047123
45. Poltorak A., He X., Smirnova I. [et al]. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene // *Science*. — 1998. — Т. 282, № 5396. — С. 2085—8. doi: 10.1126/science.282.5396.2085
46. Garçon N., Vaughn D. W., Didierlaurent A. M. Development and evaluation of AS03, an Adjuvant System containing alpha-tocopherol and squalene in an oil-in-water emulsion // *Expert Rev Vaccines*. — 2012. — Т. 11, № 3. — С. 349—66. doi: 10.1586/erv.11.192
47. Chu R. S., Targoni O. S., Krieg A. M. [et al]. CpG oligodeoxynucleotides act as adjuvants that switch on T helper 1 (Th1) immunity // *J Exp Med*. — 1997. — Т. 186, № 10. — С. 1623—31. doi: 10.1084/jem.186.10.1623
48. Lycke N. From toxin to adjuvant: the rational design of a vaccine adjuvant vector, CTA1-DD/ISCOM // *Cell Microbiol*. — 2004. — Т. 6, № 1. — С. 23—32. doi: 10.1046/j.1462-5822.2003.00338.x
49. Yeh D. W., Lai C. Y., Liu Y. L. [et al]. CpG-oligodeoxynucleotides developed for grouper toll-like receptor (TLR) 21s effectively activate mouse and human TLR9s mediated immune responses // *Sci Rep*. — 2017. — Т. 7, № 1. — С. 17297. doi: 10.1038/s41598-017-17609-2
50. Fearon K., Marshall J. D., Abbate C. [et al]. A minimal human immunostimulatory CpG motif that potently induces IFN-gamma and IFN-alpha production // *Eur J Immunol*. — 2003. — Т. 33, № 8. — С. 2114—22. doi: 10.1002/eji.200323948
51. Ko E. J., Lee Y. T., Kim K. H. [et al]. Effects of MF59 Adjuvant on Induction of Isotype-Switched IgG Antibodies and Protection after Immunization with T-Dependent Influenza Virus Vaccine in the Absence of CD4+ T Cells // *J Virol*. — 2016. — Т. 90, № 15. — С. 6976—6988. doi: 10.1128/jvi.00339-16
52. Rankin R., Pontarollo R., Gomis S. [et al]. CpG-containing oligodeoxynucleotides augment and switch the immune responses of cattle to bovine herpesvirus-1 glycoprotein D // *Vaccine*. — 2002. — Т. 20, № 23—24. — С. 3014—22. doi: 10.1016/s0264-410x(02)00216-5
53. Tabarsi P., Anjidani N., Shahpari R. [et al]. Evaluating the efficacy and safety of SpikoGen(R), an Advax-CpG55.2-adjuvanted severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 spike protein vaccine: a phase 3 randomized placebo-controlled trial // *Clin Microbiol Infect*. — 2023. — Т. 29, № 2. — С. 215—220. doi: 10.1016/j.cmi.2022.09.001
54. Klinman D. M., Klaschik S., Sato T. [et al]. CpG oligonucleotides as adjuvants for vaccines targeting infectious diseases // *Adv Drug Deliv Rev*. — 2009. — Т. 61, № 3. — С. 248—55. doi: 10.1016/j.addr.2008.12.012
55. Milley B., Kiwan R., Ott G. S. [et al]. Optimization, Production, and Characterization of a CpG-Oligonucleotide-Ficoll Conjugate Nanoparticle Adjuvant for Enhanced Immunogenicity of Anthrax Protective Antigen // *Bioconjug Chem*. — 2016. — Т. 27, № 5. — С. 1293—304. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00107
56. Kayraklioglu N., Horuluoglu B., Klinman D. M. CpG Oligonucleotides as Vaccine Adjuvants // *Methods Mol Biol*. — 2021. — Т. 2197. — С. 51—85. doi: 10.1007/978-1-0716-0872-2_4
57. Nigar S., Shimosato T. Cooperation of Oligodeoxynucleotides and Synthetic Molecules as Enhanced Immune Modulators // *Front Nutr*. — 2019. — Т. 6. — С. 140. doi: 10.3389/fnut.2019.00140
58. Plessers E., Wyns H., Watteyn A. [et al]. Characterization of an intravenous lipopolysaccharide inflammation model in calves with respect to the acute-phase response // *Vet Immunol Immunopathol*. — 2015. — Т. 163, № 1—2. — С. 46—56. doi: 10.1016/j.vetimm.2014.11.005
59. Scheiermann J., Klinman D. M. Clinical evaluation of CpG oligonucleotides as adjuvants for vaccines targeting infectious diseases and cancer // *Vaccine*. — 2014. — Т. 32, № 48. — С. 6377—89. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.06.065
60. Silva A. L., Soema P. C., Slutter B. [et al]. PLGA particulate delivery systems for subunit vaccines: Linking particle properties to immunogenicity // *Hum Vaccin Immunother*. — 2016. — Т. 12, № 4. — С. 1056—69. doi: 10.1080/21645515.2015.1117714
61. Agger E. M., Rosenkrands I., Hansen J. [et al]. Cationic liposomes formulated with synthetic mycobacterial cordfactor (CAF01): a versatile adjuvant for vaccines with different immunological requirements // *PLoS One*. — 2008. — Т. 3, № 9. — С. e3116. doi: 10.1371/journal.pone.0003116
62. Nochi T., Yuki Y., Takahashi H. [et al]. Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines // *Nat Mater*. — 2010. — Т. 9, № 7. — С. 572—8. doi: 10.1038/nmat2784
63. Quan F. S., Huang C., Compans R. W. [et al]. Virus-like particle vaccine induces protective immunity against homologous and heterologous strains of influenza virus // *J Virol*. — 2007. — Т. 81, № 7. — С. 3514—24. doi: 10.1128/JVI.02052-06
64. Seubert A., Calabro S., Santini L. [et al]. Adjuvanticity of the oil-in-water emulsion MF59 is independent of Nlrp3 inflammasome but requires the adaptor protein MyD88 // *Proc Natl Acad Sci U S A*. — 2011. — Т. 108, № 27. — С. 11169—74. doi: 10.1073/pnas.1107941108
65. Sun H. X., Xie Y., Ye Y. P. ISCOMs and ISCOMATRIX // *Vaccine*. — 2009. — Т. 27, № 33. — С. 4388—401. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.05.032
66. Turley J. L., Lavelle E. C. Resolving adjuvant mode of action to enhance vaccine efficacy // *Curr Opin Immunol*. — 2022. — Т. 77. — С. 102229. doi: 10.1016/j.coi.2022.102229
67. Maji M., Ghosh S., Didwania N. [et al]. Differentially Charged Liposomes Stimulate Dendritic Cells with Varying Effects on Uptake and Processing When Used Alone or in Combination with an Adjuvant // *ACS Omega*. — 2024. — Т. 9, № 27. — С. 29175—29185. doi: 10.1021/acsomega.3c07814
68. Kathaperumal K., Kumanan V., McDonough S. [et al]. Evaluation of immune responses and protective efficacy in a goat model following immunization with a cocktail of recombinant antigens and a polyprotein of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* // *Vaccine*. — 2009. — Т. 27, № 1. — С. 123—35. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.10.019
69. Hayashi M., Aoshi T., Haseda Y. [et al]. Advax, a Delta Inulin Microparticle, Potentiates In-built Adjuvant Property of Co-administered Vaccines // *EBioMedicine*. — 2017. — Т. 15. — С. 127—136. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.11.015
70. Hou X., Zaks T., Langer R. [et al]. Lipid nanoparticles for mRNA delivery // *Nat Rev Mater*. — 2021. — Т. 6, № 12. — С. 1078—1094. doi: 10.1038/s41578-021-00358-0
71. Zhao K., Rong G., Hao Y. [et al]. IgA response and protection following nasal vaccination of chickens with Newcastle disease virus DNA vaccine nanoencapsulated with Ag@SiO2 hollow nanoparticles // *Sci Rep*. — 2016. — Т. 6. — С. 25720. doi: 10.1038/srep25720
72. Wilson-Welder J. H., Torres M. P., Kipper M. J. [et al]. Vaccine adjuvants: current challenges and future approaches // *J Pharm Sci*. — 2009. — Т. 98, № 4. — С. 1278—316. doi: 10.1002/jps.21523
73. Watkinson A. C., Kearney M. C., Quinn H. L. [et al]. Future of the transdermal drug delivery market — have we barely touched the surface? // *Expert Opin Drug Deliv*. — 2016. — Т. 13, № 4. — С. 523—32. doi: 10.1517/17425247.2016.1130034

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

- О. П. Хрипко** — кандидат биологических наук, научный сотрудник;
Д. М. Коновалов — кандидат химических наук, научный сотрудник;
А. В. Глуценко — кандидат биологических наук, младший научный сотрудник;
А. Ю. Алексеев — кандидат биологических наук, доцент, руководитель лаборатории и старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной биологии патогенных микроорганизмов НИИ вирусологии;
М. А. Шестопалов — доктор химических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией биоактивных неорганических соединений Института неорганической химии им. А. В. Николаева СО РАН (ИНХ СО РАН), главный научный сотрудник с исполнением обязанностей руководителя лаборатории.

Статья поступила в редакцию 17.11.2025.

Review article
UDC 619:615.371

ADJUVANTS FOR FARM ANIMALS: CURRENT STATUS

Olga Pavlovna Khripko*, Dmitriy Igorevich Kononov*,
Aleksandra Vladimirovna Glushchenko**, Aleksandr Yuryevich Alekseev**,
Mikhail Aleksandrovich Shestopalov*,***

*Nikolaev Institute of Inorganic Chemistry, Siberian Branch of the
Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

**Federal Research Center of Fundamental and Translational
Medicine, Novosibirsk, Russia, shtopy@niic.nsc.ru*

Abstract. Adjuvants are a critical component of most veterinary vaccines, enhancing the body's immune response to the vaccine antigen. Approximately 87 % of commercial inactivated animal vaccines contain one type of adjuvant, the most common of which are mineral aluminum salts (48 %), oil emulsions (20 %), and saponins. This paper systematizes current experience with the use of five main classes of adjuvants: inorganic mineral compounds, organic oil compositions, plant saponins, bacterial derivatives and nanostructured materials. Each class has specific mechanisms of action that affect the development of humoral and cellular immunity in various species of farm animals. However, the use of adjuvants requires maintaining a balance between immunogenicity and reactogenicity. Traditional adjuvants can cause local reactions (granulomas, abscesses) and systemic effects (fever, decreased productivity), especially in sensitive species. Promising areas include the design of biodegradable nanosystems, synthetic analogs of plant saponins and combined adjuvant systems that provide increased species-specificity. Future adjuvants should ensure targeted activation of desired immune components while minimizing side effects, opening up new opportunities for the prevention and eradication of dangerous infectious diseases in cattle breeding and reducing the risk of zoonotic disease transmission to humans.

Keywords: adjuvants, vaccines, farm animals, immunity, nanoparticles, safety.

Acknowledgments: this work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 25-16-20088) and the Government of Novosibirsk region. The authors thank the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation

Infectious animal diseases can cause significant economic losses to industrial livestock and poultry farming [1]. Industrial cattle breeding, which ensures global food security, is inextricably linked to the high risk of the emergence and spread of epizootics, which can cause colossal economic losses and destabilize food markets. Vaccination is one of the most effective methods of preventing infectious diseases in livestock farming, preventing mass outbreaks and reducing potential economic losses. Direct vaccination costs, including the cost of the vaccine and labor, must be offset by the prevention of significant losses from disease. Consequently, there is a constant demand from producers for vaccines that are not only effective but also cost-effective. In addition to the direct economic impact, vaccination makes a significant contribution to solving global health problems.

Controlling zoonotic diseases in animals, such as brucellosis, leptospirosis, and rabies, directly reduces

the risk of their transmission to humans. Furthermore, the widespread use of vaccines reduces the reliance on antimicrobials for the treatment and prevention of bacterial infections in veterinary medicine, which is a cornerstone of the global strategy to combat antimicrobial resistance. Thus, the economic and epidemiological feasibility of vaccination is a powerful incentive for the design of new effective vaccines in general and their components in particular [1].

Some of the most effective vaccines are those based on live attenuated pathogens, which are capable of inducing both neutralizing antibodies and a cellular immune response [2]. A significant drawback of such vaccines is the possibility of reversion of the vaccine strain to the wild-type pathogen. Subunit and inactivated vaccines are safer but less immunogenic. Therefore, the challenge arises of increasing the immunogenicity of inactivated vaccines. Adjuvants are among the most important components of most vaccines for farm an-

imals and play a key role in solving this problem, as they allow for a reduction in the cost of the vaccine by decreasing the required antigen dose and cutting operating costs by reducing the frequency of administrations [3]. Adjuvants allow for a reduction in the antigen dose or the frequency of immunization, as well as for providing longer-lasting and more intense immune protection. Adjuvants are used extremely widely in vaccines with inactivated viruses for animals: ~87 % of commercial animal vaccines contain a single adjuvant, and the remaining 13 % contain a combination of adjuvants. The most common are aluminum mineral salts (in ~48 % of veterinary vaccines), followed by oil emulsions (~20 %). The third most common adjuvants are saponin-based adjuvants [2].

The role of adjuvants is closely linked to the characteristics of the immune system of different animal species. Species-specific sensitivity to individual adjuvants is known. For example, aluminum-based adjuvants are effective and safe for cattle and pigs, but chronic administration of aluminum-containing vaccines to cats and sheep is often associated with the risk of developing sarcomas at the injection site or large granulomas [4]. Conversely, mineral oil adjuvants, while acceptable in veterinary medicine, are too reactogenic for use in humans [2]. Moreover, there are species-specific differences in the innate immune system (e. g., in TLR receptors), which means that an adjuvant effective in one species may not work in another [3]. Therefore, when designing vaccines for farm animals, it is important to consider the specific immune system of each species.

Classification of Adjuvants Used in Vaccines for Farm Animals

Adjuvants used in veterinary vaccines are a group of substances that can be classified by their chemical nature. Historically, the design of adjuvants has evolved from chance observations to the targeted design of molecules with specific immunostimulatory properties [1]. The current research trend is toward designing combined adjuvant systems that combine the properties of several classes to achieve a synergistic effect [5]. For example, combining an adjuvant carrier (designing a depot and ensuring delivery) with an immunostimulant (activating specific receptors of the innate immune system) produces a more powerful and balanced immune response than either component alone.

Adjuvants are divided into several main groups based on their origin and mechanism of action: inorganic mineral compounds [6], organic oil composi-

tions [7], plant-based saponins [8], bacterial derivatives [9] and new nanostructured materials. Each of these groups has its own characteristics, advantages and disadvantages for use in different types of farm animals, which are discussed below.

1. Mineral adjuvants (aluminum compounds)

Main representatives and use. Mineral adjuvants primarily include aluminum salts: aluminum hydroxide ($\text{Al}(\text{OH})_3$), aluminum phosphate ($\text{Al}(\text{OH})_x(\text{PO}_4)_y$) and aluminum potassium alum ($\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12(\text{H}_2\text{O})$), also known under the common name alum [6]. Aluminum-containing adjuvants are among the most well-studied and are approved for use in both veterinary and human vaccines [6]. In veterinary medicine, aluminum salts are present in almost half of commercial vaccines [6], due to their low cost, relative efficacy and good safety profile. These adjuvants readily adsorb protein and polysaccharide antigens onto their surface, forming a finely dispersed precipitate that is administered to the animal as a suspension. They are included in inactivated vaccines against certain viral and bacterial infections in cattle, pigs and small ruminants.

Mechanism of action. Aluminum-containing adjuvants act primarily by forming an antigen depot at the injection site and activating innate immunity through inflammatory pathways [10]. After administration, aluminum hydroxide or phosphate particles are deposited in tissues, slowly releasing adsorbed antigens, which ensures prolonged (over days and weeks) delivery of antigen to antigen-presenting cells [6, 11]. In addition, aluminum salt particles initiate a local inflammatory response: cell damage at the injection site leads to the release of intracellular molecules (DAMPs) that cause complement activation and phagocyte attraction, and the emergence of a non-infectious inflammatory response. It has been shown that aluminum salt particles can activate the NLRP3 inflammasome in antigen-presenting cells, which leads to the production of proinflammatory cytokines (such as IL-1 β) and an enhancement of the Th2 immune response [6, 12]. As a result, the aluminum-based vaccine induces powerful humoral immunity — the production of neutralizing antibodies.

Advantages. Mineral adjuvants have a long history of safe use [10]. They are inexpensive to produce and effectively enhance the production of neutralizing antibodies and the development of immunological memory [6, 10]. Aluminum-based adjuvants have proven particularly effective against extracellular pathogens, where humoral immunity is crucial. The depot effect

results in prolonged vaccine action and higher antibody titers after immunization [10].

Disadvantages. The main disadvantage of aluminum salts is their limited ability to induce cellular immunity [10]. Such adjuvants practically do not stimulate the Th1 immune response and the formation of cytotoxic T lymphocytes, therefore they are ineffective in vaccines against intracellular infections [6, 10, 11]. Another significant disadvantage is the need for revaccination: several doses of an aluminum adjuvant vaccine are often required for full protection, since the antibody response develops more slowly than with more potent adjuvants. Although aluminum-based adjuvants are generally safe, they can cause local reactions such as pain, swelling and granuloma formation at the injection site. In some animals (e. g., cats), chronic tissue irritation by aluminum at the injection site is associated with the risk of post-injection sarcomas development [4]. Aluminum-containing suspensions also cannot be frozen or lyophilized, as this leads to a loss of adjuvant activity [6, 11], complicating storage and transportation.

2. Oil Adjuvants (Emulsions)

Main Types and Use. Oil adjuvants are emulsions of water and oil, often with the addition of emulsifiers. Oil emulsions are another widely used class of adjuvants in veterinary medicine, valued for their high immunogenicity and low cost [7]. A distinction is made between water-in-oil (W/O) and oil-in-water (O/W) emulsions, as well as water-in-oil-in-water (W/O/W) double emulsions. A classic example of an oil adjuvant is Freund's incomplete adjuvant — an emulsion of mineral (paraffin) oil with water (W/O type), stabilized by an emulsifier (lanolin or mannitol) [13]. Freund's incomplete adjuvant has historically been used to enhance the immune response in animals. However, due to its high reactogenicity (pronounced inflammatory reactions, abscesses), it is no longer used in industrial veterinary vaccines, and remains only a tool in experimental immunology [14]. In commercial vaccines, it has been replaced by more purified oil adjuvants — for example, the Montanide ISA line (designed by Seppic), which represents a range of ready-made oil adjuvants for veterinary medicine. Examples include Montanide ISA 25, ISA 50, ISA 206, etc., which differ in the oil composition (mineral or metabolizable vegetable, such as squalene) and the type of emulsion. For example, Montanide ISA 206 is a common W/O/W adjuvant that provides a prolonged effect and is used in vaccines against foot-and-mouth disease in cattle [15]. Oil adjuvants are particularly widely

used in inactivated vaccines for cattle and pigs (e. g., against foot-and-mouth disease, Aujeszky's disease, circovirus, etc.), where strong long-term immunity is required [16]. In poultry, oil adjuvants are used mainly in inactivated vaccines for breeding stock (e. g., against Newcastle virus or avian influenza), since individual injections for broilers are difficult and economically unviable.

Mechanism of action. Emulsions form capsules of oil droplets at the injection site, preserving the antigen within them. Like aluminum salt-based adjuvants, the oil adjuvant serves as a depot for the antigen, but with a more prolonged effect: inactivated antigen particles are released from the oil droplets slowly, causing prolonged stimulation of the immune system, which leads to the development of strong and long-lasting immunity [7, 14]. At the same time, the oils induce local aseptic inflammation: hydrophobic molecules damage cell membranes, activate complement and cause the release of proinflammatory cytokines (e. g., IL-6, TNF- α) by macrophages [17]. As a result, the emulsion attracts immune cells (neutrophils, monocytes) to the injection site. Oil adjuvants typically stimulate a predominantly Th2 immune response (intense antibody production) by promoting antigen presentation to B lymphocytes and CD4+ helper T cells [17]. The Th1 cellular response (IFN- γ production, cytotoxic lymphocyte activation) is weaker but can be enhanced by adding immunomodulators to the emulsion [18]. An important property of oil adjuvants is their ability to induce long-lasting immunity: due to the depot effect and strong inflammatory stimulation, antibody titers remain high for many months after vaccination. It has also been noted that oil-based vaccines are less susceptible to the effects of maternal antibodies in newborn animals, providing active immunity even in the presence of passive immunity [19].

Advantages. Oil emulsions are considered among the most potent adjuvants [1]. They provide high levels of antibodies (including neutralizing ones) and long-term protection, surpassing aluminum-containing vaccines in efficacy [7]. For example, inactivated foot-and-mouth disease vaccines with oil adjuvants induce a faster and stronger immune response than traditional vaccines based on aluminum salts with saponin [20]. Oil vaccines also better overcome the effect of colostral antibodies and can provide early protection for animals in case of an epizooty [21]. The cost of oil adjuvants is low, the formulations are relatively simple [7], they are universal for various types of antigens (viral, bacterial) and are applicable to different mammalian species.

Disadvantages. The main disadvantage is the high reactogenicity of oil adjuvants. Painful inflammation often develops at the injection site, and dense granulomas or cysts, which persist for a long time, may form [7, 22]. In cattle, oil-based vaccines can cause tissue damage (necrosis) and scarring of the skin (which reduces their commercial value) [16]. In experiments on pigs, a comparison of several adjuvants showed that oil-based adjuvants caused the most pronounced tissue reactions — extensive pyogranulomas in the muscles [23]. In addition, systemic post-vaccination symptoms (fever, decreased weight gain) are more characteristic of oil-based vaccines [24]. For example, in dairy cows, after vaccination with an inactivated foot-and-mouth disease vaccine, an increase in temperature of 1—1.5 °C was observed for ~48 hours and a temporary decrease in milk yield of ~2 kg per day [24]. Therefore, the use of oil-based vaccines may be accompanied by a short-term decrease in productivity. Another problem is that accidental self-injection of an oil adjuvant into a human (vaccine injection) can cause severe local inflammation, which is difficult to treat [7]. For this reason, mineral oils are not used in human vaccines and require careful handling in veterinary medicine (labels for such vaccines always include warnings about the risk of self-injection by a veterinarian). Finally, mineral oils are not biodegradable and may contain traces of harmful impurities (for example, aromatic hydrocarbons), although modern preparations are purified. In recent years, easily metabolized oils have been studied to reduce toxicity. For example, squalene (from shark liver) and plant squalenes used in emulsions MF59, AS03, etc. [25]. Such oils are completely absorbed in the body and are much less reactogenic, although they are inferior in immunogenicity to mineral analogues [26].

3. Saponin Adjuvants

Main Representatives and Use. Saponins are natural glycosides isolated from plants (less commonly from marine organisms) that possess pronounced immunostimulatory properties [27]. A classic example is the saponin preparation Quil A, obtained from the bark of the *Quillaja saponaria* (soapberry) tree [19]. Quil A is a mixture of more than 20 triterpenoid saponins and has historically been widely used as an adjuvant in veterinary medicine [28]. In particular, foot-and-mouth disease vaccines for cattle since the 1970s have contained a combination of aluminum hydroxide and Quil A saponin. This formula was the standard in many countries [19]. Saponins are also included in some modern commercial adjuvants. For example, the

veterinary drug VetSap® is a purified Quillaja saponin, and Matrix-M™ is a nanoparticle matrix of Quillaja saponins (designed for human vaccines, for example, against malaria and COVID-19) [29]. Another important fraction is QS-21, a single saponin isolated from Quil A. It is less toxic and is therefore used in clinical trials and some human vaccines (included in adjuvants AS01, AS02) [30]. In veterinary medicine, QS-21 has not yet found wide use due to the high cost of purification [31], but is being studied as a safer replacement for Quil A [32]. Saponin adjuvants are particularly effective for vaccines against viral infections that require both humoral and cellular immunity [8]. They are used, for example, in inactivated vaccines against foot-and-mouth disease, porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS), and in experimental vaccines against other viruses (including the AS01 adjuvant for malaria and herpes zoster in humans) [33].

Mechanism of action. Saponins have a complex effect on the immune system. They are amphiphilic, meaning they can interact with both cell membranes and soluble molecules [34]. Quil A is capable of forming special nanostructures (immune stimulatory complexes (ISCOMs)) when mixed with cholesterol and phospholipids [35]. ISCOMs, ~40 nm in size, are efficiently captured by antigen-presenting cells and simultaneously deliver bound antigen and stimulate receptors (e. g., NLRP3 inflammasome and possibly some Toll-like receptors) [36]. Saponins induce both a strong antibody response (Th2) and pronounced cellular immunity (Th1) [34]. They are unique in their ability to enhance the cytotoxic response: Quil A and its fractions (e. g., QS-21) stimulate the formation of cytotoxic T lymphocytes, likely by activating antigen cross-presentation via the MHC I pathway in dendritic cells [36]. Furthermore, saponins enhance cytokine production: increased levels of interleukins (IL-2, IL-12) and interferons (IFN- γ) have been observed, shifting the response toward Th1 and activating cellular immunity [32]. Thus, saponin-based adjuvants are capable of eliciting a balanced immune response combining neutralizing antibodies and cellular antiviral protection.

Advantages. Saponin adjuvants are highly effective. They significantly enhance the immunogenicity of vaccines, enabling both humoral and cellular immunity to be achieved [36]. In experiments, the addition of Quil A to vaccines showed an increase in IgG antibody titers, including IgG2, and an increase in the population of IFN- γ -producing T lymphocytes [8]. Thus, the inclusion of Quil A in the foot-and-mouth disease vaccine significantly increased the immune response in cattle [19]. In experiments on piglets, Quil A sapo-

nin added to a live PRRS vaccine increased the gene expression of type I and II interferons and proinflammatory cytokines, improving protection against a heterologous virus strain [3]. So, saponins can increase the efficacy of even live vaccines [8]. Another advantage is that many plant-based saponins are available from natural sources or biotechnologically (for example, by growing *Quillaja* on plantations) [37]. Quil A has been successfully used in veterinary medicine for several decades.

Disadvantages. The main disadvantage is the potential toxicity of saponins. They have hemolytic activity (destroy red blood cells in case of contact), so they should be used in limited doses [31]. Quil A and similar raw extracts can cause local irritation, pain during injection and granuloma formation in animals [38]. Cases of necrosis at the injection site have also been described at high doses [8]. In its pure form, Quil A is too toxic for use in humans (in addition to local reactions, it can cause fever and systemic effects) [32]. For this reason, less toxic fractions (QS-21 and others) have been isolated for medical use, or encapsulated forms of saponins are used, for example, ISCOM matrices, where saponin is embedded in a lipid nanoparticle, which reduces its direct contact with cells and the pain of administration [39]. In veterinary medicine, Quil A is considered acceptable. However, precautions are required: strict control of the dose, route of administration (only intramuscularly, since the risk of reactions is higher subcutaneously), and combination with other adjuvants to reduce toxicity [40]. Another limitation is the low stability of saponins in aqueous solutions and during storage [31]. Vaccines containing them are more difficult to stabilize during long-term storage, although modern formulas (e. g., dry nanomatrices with saponin) partially solve this problem [39]. We should add that the efficacy of saponins can vary greatly between species: in non-mammals (birds, fish), saponin adjuvants turned out to be significantly less effective than in mammals, probably due to differences in the immune system [41]. Therefore, Quil A is rarely used for poultry and fish or in combination with other types of adjuvants [42].

4. Bacterial derivatives (lipopolysaccharides, CpG oligonucleotides, etc.)

Main representatives and use. This group includes bacterial cell components or their synthetic analogues that are recognized by innate immune receptors, thereby enhancing the immune response [43, 44]. Classic immunostimulants of this type include lipo-

polysaccharide (LPS) from gram-negative bacteria, a potent activator of immune cells via Toll-like receptor 4 (TLR4) [45]. Due to its high toxicity, full-fledged LPS (endotoxin) cannot be used directly, but an attenuated version, monophosphoryl lipid A (MPLA), has been designed, representing a lipid fragment of LPS with reduced toxicity [9]. MPLA is included in the composition of some adjuvants, for example, AS04 (a mixture of MPLA with aluminum hydroxide). This adjuvant is used in a number of vaccines (against human papillomavirus, etc.) [46]. In veterinary medicine, MPLA is still rarely used, mainly in study vaccines. Another type of bacterial adjuvants are immunostimulatory DNA sequences, primarily CpG oligodeoxynucleotides (CpG ODN). These are short synthetic DNA fragments enriched in unmethylated CpG motifs, which are characteristic of the bacterial genome [43]. CpG ODN are recognized by TLR9 expressed in B cells and mammalian plasmacytoid dendritic cells, causing their activation [44]. CpG adjuvants have been studied in various animals, from mice to cattle, and have shown the ability to shift the immune response towards Th1 (increased production of IFN- α , IFN- γ) [47]. Some synthetic CpG (for example, CpG 1018) are already used in commercial vaccines for humans (the FDA-approved hepatitis B vaccine HEPLISAV-B[®]), while in veterinary medicine, these compounds are still in the testing stage. In addition to LPS and CpG, bacterial immunomodulators include toxoids (inactivated bacterial exotoxins that themselves have adjuvant activity), components of the mycobacterial cell wall (strong Th1 stimulators, used in Freund's complete adjuvant), flagellin (a TLR5 stimulator), etc. [48]. However, MPLA and CpG remain the most promising and studied [5].

Mechanism of action. Bacterial adjuvants trigger the innate immune cascade through activation of pattern recognition receptors. Lipid A (a component of LPS) binds to TLR4 in complex with the MD-2 receptor on immune cells, leading to the secretion of proinflammatory cytokines (TNF, IL-1, IL-6) and strong maturation of dendritic cells [45]. Vaccines containing MPLA induce a pronounced Th1 response and enhance IgG2 antibody production due to this inflammatory activation [9]. CpG ODN mimic bacterial DNA and are recognized by the intracellular receptor TLR9 in mammals and TLR21 in birds [49]. CpG ODNs interact with TLR9 in the endosomes of plasmacytoid dendritic cells and B lymphocytes, which stimulates the production of IFN- α and other cytokines, including IL-12, making CpG ODN one of the most effective inducers of the Th1 response and directly activating B cells to proliferation and antibody production [50].

The result is a powerful induction of cellular immunity (an increase in the number of Th1 cells, NK cells and cytotoxic lymphocytes) and simultaneous adjuvant action for the humoral response [47]. These oligonucleotides are being actively studied as adjuvants for veterinary vaccines where strong cellular immunity is required [51]. For example, the addition of CpG to vaccines in cattle has shown an increase in IFN- γ production and an increase in protective antibody titers simultaneously [52]. Bacterial adjuvants are also effective in mucosal immunization: both LPS and CpG can enhance secretory immunity when applied to mucosal surfaces (they are included in experimental nasal and oral vaccines) [52]. It should be noted that many TLR ligands act species-specifically. For example, different animal species have TLR9 with varying sensitivity to a given CpG motif. New synthetic CpGs are being designed to be panspecific, active across a wide range of species. Thus, one CpG variant (called CpG 55.2) was found to be active in mice, hamsters, ferrets, primates and a number of farm animals [53]. Overall, bacterial molecules trigger innate immunity, which tunes the body's subsequent adaptive response to the vaccine antigen.

Advantages. Bacterial derivatives are among the most potent immune activators. They are particularly valuable for enhancing cellular immunity, which is lack in other adjuvants [54]. The addition of CpG, for example, can transform a predominantly antibody vaccine into a combination vaccine that also induces a T-cell response [47]. In experiments on cattle, the combination of an inactivated vaccine with CpG ODN resulted in a significant increase in serum IFN- γ concentrations and activation of cellular immune cells, compared to the vaccine without adjuvant [52]. Bacterial adjuvants are also often effective at low doses, which reduces costs [55]. Their synthetic versions (e. g., CpG) are chemically stable, do not require cold chain conditions, and are easy to manufacture [56]. Furthermore, the combination of such adjuvants with others provides pronounced synergism [57].

Disadvantages. The problem with using bacterial derivatives is the high reactogenicity of adjuvants and their species specificity. A strong inflammatory response induced by LPS or its analogues is fraught with adverse reactions, such as fever, decreased activity of the animal, sometimes allergic-like phenomena (for example, arthritis and uveitis, noted for some bacterial adjuvants) [58]. Therefore, not full LPS, but attenuated MPLA in limited quantities is used in vaccines. CpG oligonucleotides in high doses can induce cytokine release syndrome (cytokine storm), which is

also dangerous [59]. Another difficulty is species specificity: an adjuvant designed for a mouse model may not work in cattle due to differences in receptors. For example, some CpGs, effective in rodents, turned out to be low in efficacy in large primates and pigs [49]. Such adjuvants require sequence selection tailored to the animal species being vaccinated. However, the design of universal molecules active in many animals (such as the aforementioned CpG 55.2) is encouraging. Regulatory issues should also be considered: new synthetic adjuvants require thorough safety assessments before licensing, which prolongs their path to commercialization.

5. Nanomaterials and Composite Systems (Nanoparticles, Liposomes, etc.)

Main Representatives and Use. The current trend in adjuvant design is related to nanotechnology. Nanomaterials represent one of the most promising classes of adjuvants, as they combine the functions of both a delivery system and an immunostimulant. Their size, comparable to that of viruses (usually 20–200 nm), facilitates their efficient uptake by antigen-presenting cells. Such adjuvants include biodegradable polymer microparticles (e. g., polylactide-co-glycolide, PLGA) [60], liposomes [61], nanogels [62], virus-like particles [63], new generation emulsions (based on metabolizable oils) [64], and immune stimulating complexes (ISCOMs) made from saponins [65]. Polymer microparticles (PLGA, polycaprolactone, etc.) are used to encapsulate antigens: the antigen inside such particles is protected from destruction and is released gradually, ensuring its controlled, prolonged release, thereby simulating chronic antigenic stimulation [66]. In veterinary vaccinology, vaccines based on PLGA nanoparticles against parasitic diseases, nanoparticles for oral vaccines, liposomal vaccines against viruses, etc. are being studied [60]. Liposomes (spherical vesicles made of a phospholipid bilayer) are capable of incorporating antigens (both soluble and membrane-bound) and delivering them to antigen-presenting cells [67]. Liposomal adjuvants (e. g., CAF01, a cationic liposome with trehalose dimycolate) exhibit potent activation of both humoral and cellular immunity and are being studied in models of mycobacterial infections and in ruminants [68]. In general, nanostructured adjuvants have not yet been widely implemented in commercial veterinary vaccines, but are considered promising.

Mechanism of action. Nanoparticles combine the mechanisms of depot and targeted antigen delivery. After injection, biodegradable particles (e. g., PLGA)

form microreservoirs in muscle tissue that gradually degrade and release the antigen, resulting in prolonged stimulation of the immune system, similar to an oil depot [11]. At the same time, the size and composition of the nanoparticles are selected so that they are effectively phagocytized by dendritic cells and macrophages. So, targeted delivery of the antigen directly to antigen-presenting cells occurs. Some nanomaterials have intrinsic adjuvant activity. For example, particles made of lipopolysaccharide (e. g., lipid nanodiscs with MPLA) or polysaccharides of bacterial origin can activate innate immune receptors [69]. An example is the Advax adjuvant based on δ -inulin particles. Inulin is a plant polysaccharide. Its crystalline form enhances antigen uptake by dendritic cells via the DC-SIGN receptor and activates the complement system [11, 69]. Advax does not require antigen adsorption (the antigen is mixed with the particles), recruits neutrophils and macrophages to the injection site, and stimulates both humoral and cellular responses without significant inflammation [69]. Liposomal particles, particularly cationic ones, can also act as immune adjuvants. They interact with cell membranes, can transport associated dangerous signals (e. g., bacterial lipids), and facilitate antigen delivery into the cytosol, which is important for MHC class presentation and activation of cytotoxic lymphocytes [11]. Thus, nanomaterials often combine the properties of a carrier, depot and immunopotentiator.

Advantages. Nanoparticles and liposomes offer design flexibility and are expected to have lower reactivity. Controlled release of antigen allows the design of single-shot vaccines, which is extremely important in veterinary medicine to reduce the stress and costs of revaccination. In addition, many nanosized carriers are biodegradable and non-toxic: PLGA polymers, inulin and chitosan are completely metabolized in the body to natural compounds (lactic acid, fructose, etc.). This means the absence of long-lasting substances and, accordingly, minimal local reactions. For example, according to test data, the Advax adjuvant does not cause painful inflammation or tissue damage in animals, even at high doses, and does not lead to the formation of granulomas or ulcers [69]. Nanoparticles also make it possible to include such vaccine components that are rapidly degraded, such as DNA, mRNA or peptide antigens [70]. Liposomal systems can be used for mucosal vaccination (nasal, oral), protecting the antigen from destruction and delivering it through the mucous membrane to immune cells [71]. Furthermore, nanoparticles can be easily

combined with other immunomodulators. They can encapsulate the same saponin or CpG, designing a multicomponent adjuvant, which greatly enhances the efficacy of immunization, compared to simply mixing the components [72]. All these qualities make nanomaterials very attractive for the design of the next generation of veterinary vaccines.

Disadvantages. To date, nanoparticle-based adjuvants have not been sufficiently studied or standardized. Their reproducible industrial production is a technological challenge, requiring control of particle size, dispersion, surface charge and other parameters. Even the slightest changes in the production method can affect immunogenicity, requiring detailed regulations, which complicates the registration of such adjuvants. There are also problems with their storage stability. For example, liposomes can fuse or oxidize over time, while polymer particles can agglomerate, which reduces their efficacy. Therefore, it is necessary to determine and ensure optimal storage conditions (frozen or dry) [73]. The cost of some nanosized preparations is still higher than traditional adjuvants, which is important for veterinary vaccines. Finally, careful safety studies are required. Although many nanomaterials are individually biocompatible, their interaction with the immune system may have unexpected effects (e. g., overstimulation of certain cytokines or autoimmune reactions). However, current research demonstrates that, with the right approach to production, nanoscale adjuvants can provide high immunogenicity with minimal adverse reactions. It is expected that these shortcomings will be overcome as technology advances.

CONCLUSION

Adjuvants play a critical role in the efficacy of vaccines for farm animals. They enable inactivated and subunit vaccines to elicit a robust immune response, comparable to or even superior to that elicited by natural infection. The use of adjuvants has made it possible to control many dangerous diseases (foot-and-mouth disease, rabies, leptospirosis, coccidiosis, etc.) without the use of live pathogens. The main types of adjuvants (mineral aluminum salts, oil emulsions, saponins, bacterial components and nanoparticles) differ in their mechanisms of action, which affects the nature of the immunity they generate. Mineral adjuvants are effective in enhancing the humoral (antibody) response, oil adjuvants create strong and long-lasting immunity, and saponins and TLR ligands stimulate cellular immunity (Th1, CTL). Combining these adjuvants can achieve optimal immunogenicity. However, the

use of adjuvants requires safety precautions. Overly strong adjuvants can cause localized damage (abscesses, granulomas) and systemic reactions (fever, inflammation), which can reduce animal productivity and product quality. Therefore, in practice, doses and administration methods are selected that provide maximum benefit with minimal harm.

REFERENCES

- O'Hagan D. T., van der Most R., Lodaya R. N. [et al]. "World in motion" — emulsion adjuvants rising to meet the pandemic challenges // NPJ Vaccines. — 2021. — V. 6, No. 1. — P. 158. doi: 10.1038/s41541-021-00418-0
- Zhang Q., Cheng J., Hou J. [et al]. Synthetic biology-inspired development of live attenuated influenza vaccines // NPJ Vaccines. — 2025. — V. 10, No. 1. — P. 204. doi: 10.1038/s41541-025-01255-1
- Yao Y., Zhang Z., Yang Z. The combination of vaccines and adjuvants to prevent the occurrence of high incidence of infectious diseases in bovine // Front Vet Sci. — 2023. — V. 10. — P. 1243835. doi: 10.3389/fvets.2023.1243835
- Trambas I. A., Coughlan M. T., Tan S. M. Therapeutic Potential of Targeting Complement C5a Receptors in Diabetic Kidney Disease // Int J Mol Sci. — 2023. — V. 24, No. 10. doi: 10.3390/ijms24108758
- Zhao T., Cai Y., Jiang Y. [et al]. Vaccine adjuvants: mechanisms and platforms // Signal Transduct Target Ther. — 2023. — V. 8, No. 1. — P. 283. doi: 10.1038/s41392-023-01557-7
- Varela-Martinez E., Abendano N. [et al]. Molecular Signature of Aluminum Hydroxide Adjuvant in Ovine PB-MCs by Integrated mRNA and microRNA Transcriptome Sequencing // Front Immunol. — 2018. — V. 9. — P. 2406. doi: 10.3389/fimmu.2018.02406
- Brewer K. D., Weir G. M., Dude I. [et al]. Unique depot formed by an oil based vaccine facilitates active antigen uptake and provides effective tumour control // J Biomed Sci. — 2018. — V. 25, No. 1. — P. 7. doi: 10.1186/s12929-018-0413-9
- Chen K., Wang N., Zhang X. [et al]. Potentials of saponins-based adjuvants for nasal vaccines // Front Immunol. — 2023. — V. 14. — P. 1153042. doi: 10.3389/fimmu.2023.1153042
- Mata-Haro V., Cekic C., Martin M. [et al]. C. The vaccine adjuvant monophosphoryl lipid A as a TRIF-biased agonist of TLR4 // Science. — 2007. — V. 316, No. 5831. — P. 1628—32. doi: 10.1126/science.1138963
- HogenEsch H., O'Hagan D. T., Fox C. B. Optimizing the utilization of aluminum adjuvants in vaccines: you might just get what you want // NPJ Vaccines. — 2018. — V. 3. — P. 51. doi: 10.1038/s41541-018-0089-x
- Nooraei S., Sarkar Lotfabad A., Akbarzadehmoallemkolaei M. [et al]. Immunogenicity of Different Types of Adjuvants and Nano-Adjuvants in Veterinary Vaccines: A

Comprehensive Review // Vaccines (Basel). — 2023. — V. 11, No. 2. doi: 10.3390/vaccines11020453

12. HogenEsch H. Mechanism of Immunopotential and Safety of Aluminum Adjuvants // Frontiers in Immunology. — 2013. — V. 3—2012. doi: 10.3389/fimmu.2012.00406

13. Jensen F. C., Savary J. R., Diveley J. P. [et al]. Adjuvant activity of incomplete Freund's adjuvant // Adv Drug Deliv Rev. — 1998. — V. 32, No. 3. — P. 173—186. doi: 10.1016/s0169-409x(98)00009-x

14. Huang Z., Gong H., Sun Q. [et al]. Research progress on emulsion vaccine adjuvants // Heliyon. — 2024. — V. 10, No. 3. — P. e24662. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e24662

15. Heegaard P. M., Dedieu L., Johnson N. [et al]. Adjuvants and delivery systems in veterinary vaccinology: current state and future developments // Arch Virol. — 2011. — V. 156, No. 2. — P. 183—202. doi: 10.1007/s00705-010-0863-1

16. Antipov A., Petrovsky N. One Health adjuvant selection for vaccines against zoonotic infections // Explor Med. — 2025. — V. 6. doi: 10.37349/emed.2025.1001316

17. Vono M., Taccone M., Caccin P. [et al]. The adjuvant MF59 induces ATP release from muscle that potentiates response to vaccination // Proc Natl Acad Sci U S A. — 2013. — V. 110, No. 52. — P. 21095—100. doi: 10.1073/pnas.1319784110

18. Ko E. J., Kang S. M. Immunology and efficacy of MF59-adjuvanted vaccines // Hum Vaccin Immunother. — 2018. — V. 14, No. 12. — P. 3041—3045. doi: 10.1080/21645515.2018.1495301

19. Dalgaard K., Jensen M. H., Sorensen K. J. Saponin adjuvants. IV. Evaluation of the adjuvant quil A in the vaccination of cattle against foot-and-mouth disease // Acta Vet Scand. — 1977. — V. 18, No. 3. — P. 349—60. doi: 10.1186/BF03548432

20. Ayele G., Getachew B., Bari F. D. [et al]. Combined Adjuvant Formulations Enhanced an Immune Response of Trivalent Foot and Mouth Disease Vaccine in Cattle // Vet Med (Auckl). — 2023. — V. 14. — P. 47—62. doi: 10.2147/vmr.S397590

21. Cokcaliskan C., Turkoglu T., Uzunlu E. [et al]. Influence of vaccine potency and booster administration of foot-and-mouth disease vaccines on the antibody response in calves with maternal antibodies // J Vet Sci. — 2017. — V. 18, No. S1. — P. 315—322. doi: 10.4142/jvs.2017.18.S1.315

22. Petrovsky N. Comparative Safety of Vaccine Adjuvants: A Summary of Current Evidence and Future Needs // Drug Saf. — 2015. — V. 38, No. 11. — P. 1059—74. doi: 10.1007/s40264-015-0350-4

23. Asin J., Molin J., Perez M. [et al]. Granulomas Following Subcutaneous Injection With Aluminum Adjuvant-Containing Products in Sheep // Vet Pathol. — 2019. — V. 56, No. 3. — P. 418—428. doi: 10.1177/0300985818809142

24. Yeruham I., Yadin H., Haymovich M. [et al]. Adverse reactions to FMD vaccine // *Vet Dermatol.* — 2001. — V. 12, No. 4. — P. 197—201. doi: 10.1046/j.0959-4493.2001.00221.x
25. Fox C. B. Squalene emulsions for parenteral vaccine and drug delivery // *Molecules.* — 2009. — V. 14, No. 9. — P. 3286—312. doi: 10.3390/molecules14093286
26. Filipic B., Pantelic I., Nikolic I. [et al]. Nanoparticle-Based Adjuvants and Delivery Systems for Modern Vaccines // *Vaccines (Basel).* — 2023. — V. 11, No. 7. doi: 10.3390/vaccines11071172
27. Sparg S. G., Light M. E., van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins // *J Ethnopharmacol.* — 2004. — V. 94, No. 2—3. — P. 219—43. doi: 10.1016/j.jep.2004.05.016
28. Kensil C. R., Patel U., Lennick M., Marciari D. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from Quillaja saponaria Molina cortex // *J Immunol.* — 1991. — V. 146, No. 2. — P. 431—7. doi: 10.1093/imm/146.2.431
29. Stertman L., Palm A. E., Zarnegar B. [et al]. The Matrix-M adjuvant: A critical component of vaccines for the 21(st) century // *Hum Vaccin Immunother.* — 2023. — V. 19, No. 1. — P. 2189885. doi: 10.1080/21645515.2023.2189885
30. Morais V. S. N., Silveira F. Methods of saponin purification from Quillaja sp. for vaccine adjuvant production // *Front. Nat. Produc.* — 2025. — V. 3. — P. 1524624. doi: 10.3389/fntpr.2024.1524624
31. Ho N. I., Huis In 't Veld L. G. M., Raaijmakers T. K. [et al]. Adjuvants Enhancing Cross-Presentation by Dendritic Cells: The Key to More Effective Vaccines? // *Front Immunol.* — 2018. — V. 9. — P. 2874. doi: 10.3389/fimmu.2018.02874
32. Rajput Z. I., Hu S. H., Xiao C. W. [et al]. Adjuvant effects of saponins on animal immune responses // *J Zhejiang Univ Sci B.* — 2007. — V. 8, No. 3. — P. 153—61. doi: 10.1631/jzus.2007.B0153
33. Xiao C., Rajput Z. I., Hu S. Improvement of a commercial foot-and-mouth disease vaccine by supplement of Quil A // *Vaccine.* — 2007. — V. 25, No. 25. — P. 4795—800. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.04.027
34. Wang P. Natural and Synthetic Saponins as Vaccine Adjuvants // *Vaccines (Basel).* — 2021. — V. 9, No. 3. doi: 10.3390/vaccines9030222
35. Bottger S., Melzig M. F. The influence of saponins on cell membrane cholesterol // *Bioorg Med Chem.* — 2013. — V. 21, No. 22. — P. 7118—24. doi: 10.1016/j.bmc.2013.09.008
36. Huis In 't Veld L. G., Cornelissen L. A., van den Boogaard L. [et al]. Saponin-based adjuvant uptake and induction of antigen cross-presentation by CD11b+ dendritic cells and macrophages // *NPJ Vaccines.* — 2025. — V. 10, No. 1. — P. 15. doi: 10.1038/s41541-024-01056-y
37. Morais V., Suarez N., Cibulski S. [et al]. Leaf Saponins of Quillaja brasiliensis as Powerful Vaccine Adjuvants // *Pharmaceutics.* — 2025. — V. 17, No. 8. doi: 10.3390/pharmaceutics17080966
38. Bigaeva E., Doorn E., Liu H. [et al]. Meta-Analysis on Randomized Controlled Trials of Vaccines with QS-21 or ISCOMATRIX Adjuvant: Safety and Tolerability // *PLoS One.* — 2016. — V. 11, No. 5. — C. e0154757. doi: 10.1371/journal.pone.0154757
39. Martin L. B. B., Kikuchi S., Rejzek M. [et al]. Complete biosynthesis of the potent vaccine adjuvant QS-21 // *Nature Chemical Biology.* — 2024. — V. 20, No. 4. — P. 493—502. doi: 10.1038/s41589-023-01538-5
40. Vinay T. N., Park C. S., Kim H. Y. [et al]. Toxicity and dose determination of quillaja saponin, aluminum hydroxide and squalene in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) // *Vet Immunol Immunopathol.* — 2014. — V. 158, No. 1—2. — P. 73—85. doi: 10.1016/j.vetimm.2013.03.007
41. Vassilieva E. V., Li S., Korniyuchuk H. [et al]. cGAMP/Saponin Adjuvant Combination Improves Protective Response to Influenza Vaccination by Microneedle Patch in an Aged Mouse Model // *Front Immunol.* — 2020. — V. 11. — P. 583251. doi: 10.3389/fimmu.2020.583251
42. He Y., Wang J., Chi L. [et al]. Combination Adjuvants Enhance Recombinant H5 Hemagglutinin Vaccine Protection Against High-Dose Viral Challenge in Chickens // *Vaccines (Basel).* — 2024. — V. 12, No. 12. doi: 10.3390/vaccines12121448
43. Krieg A. M., Yi A. K., Matson S. [et al]. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation // *Nature.* — 1995. — V. 374, No. 6522. — P. 546—9. doi: 10.1038/374546a0
44. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T. [et al]. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA // *Nature.* — 2000. — V. 408, No. 6813. — P. 740—5. doi: 10.1038/35047123
45. Poltorak A., He X., Smirnova I. [et al]. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene // *Science.* — 1998. — V. 282, No. 5396. — P. 2085—8. doi: 10.1126/science.282.5396.2085
46. Garcon N., Vaughn D. W., Didierlaurent A. M. Development and evaluation of AS03, an Adjuvant System containing alpha-tocopherol and squalene in an oil-in-water emulsion // *Expert Rev Vaccines.* — 2012. — V. 11, No. 3. — P. 349—66. doi: 10.1586/erv.11.192
47. Chu R. S., Targoni O. S., Krieg A. M. [et al]. CpG oligodeoxynucleotides act as adjuvants that switch on T helper 1 (Th1) immunity // *J Exp Med.* — 1997. — V. 186, No. 10. — P. 1623—31. doi: 10.1084/jem.186.10.1623
48. Lycke N. From toxin to adjuvant: the rational design of a vaccine adjuvant vector, CTA1-DD/ISCOM // *Cell Microbiol.* — 2004. — V. 6, No. 1. — P. 23—32. doi: 10.1046/j.1462-5822.2003.00338.x
49. Yeh D. W., Lai C. Y., Liu Y. L. [et al]. CpG-oligodeoxynucleotides developed for grouper toll-like receptor (TLR) 21s effectively activate mouse and human TLR9s mediated immune responses // *Sci Rep.* — 2017. — V. 7, No. 1. — P. 17297. doi: 10.1038/s41598-017-17609-2
50. Fearon K., Marshall J. D., Abbate C. [et al]. A minimal human immunostimulatory CpG motif that potently induces IFN-gamma and IFN-alpha production // *Eur J Immunol.* — 2003. — V. 33, No. 8. — P. 2114—22. doi: 10.1002/eji.200323948
51. Ko E. J., Lee Y. T., Kim K. H. [et al]. Effects of MF59 Adjuvant on Induction of Isotype-Switched IgG Antibodies and Protection after Immunization with T-Dependent Influenza Virus Vaccine in the Absence of CD4+ T Cells // *J Virol.* — 2016. — V. 90, No. 15. — C. 6976—6988. doi: 10.1128/jvi.00339-16
52. Rankin R., Pontarollo R., Gomis S. [et al]. CpG-containing oligodeoxynucleotides augment and switch the immune responses of cattle to bovine herpesvirus-1 glycoprotein D // *Vaccine.* — 2002. — V. 20, No. 23—24. — P. 3014—22. doi: 10.1016/s0264-410x(02)00216-5
53. Tabarsi P., Anjidani N., Shahpari R. [et al]. Evaluating the efficacy and safety of SpikoGen(R), an Advax-CpG55.2-adjuvanted severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 spike protein vaccine: a phase 3 randomized placebo-controlled trial // *Clin Microbiol Infect.* — 2023. — V. 29, No. 2. — P. 215—220. doi: 10.1016/j.cmi.2022.09.001
54. Klinman D. M., Klaschik S., Sato T. [et al]. CpG oligonucleotides as adjuvants for vaccines targeting infectious diseases // *Adv Drug Deliv Rev.* — 2009. — V. 61, No. 3. — P. 248—55. doi: 10.1016/j.addr.2008.12.012
55. Milley B., Kiwan R., Ott G. S. [et al]. Optimization, Production, and Characterization of a CpG-Oligonucleotide-Ficolil Conjugate Nanoparticle Adjuvant for Enhanced Immunogenicity of Anthrax Protective Antigen // *Bioconjug Chem.* — 2016. — V. 27, No. 5. — P. 1293—304. doi: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00107
56. Kayraklioglu N., Horuluoglu B., Klinman D. M. CpG Oligonucleotides as Vaccine Adjuvants // *Methods Mol Biol.* — 2021. — V. 2197. — P. 51—85. doi: 10.1007/978-1-0716-0872-2_4
57. Nigar S., Shimamoto T. Cooperation of Oligodeoxynucleotides and Synthetic Molecules as Enhanced Immune Modulators // *Front Nutr.* — 2019. — V. 6. — P. 140. doi: 10.3389/fnut.2019.00140
58. Plessers E., Wyns H., Watteyn A. [et al]. Characterization of an intravenous lipopolysaccharide inflammation model in calves with respect to the acute-phase response // *Vet Immunol Immunopathol.* — 2015. — V. 163, No. 1—2. — P. 46—56. doi: 10.1016/j.vetimm.2014.11.005
59. Scheiermann J., Klinman D. M. Clinical evaluation of CpG oligonucleotides as adjuvants for vaccines targeting infectious diseases and cancer // *Vaccine.* — 2014. — V. 32, No. 48. — P. 6377—89. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.06.065
60. Silva A. L., Soema P. C., Slutter B. [et al]. PLGA particulate delivery systems for subunit vaccines: Linking particle properties to immunogenicity // *Hum Vaccin Immunother.* — 2016. — V. 12, No. 4. — P. 1056—69. doi: 10.1080/21645515.2015.1117714
61. Agger E. M., Rosenkrands I., Hansen J. [et al]. Cationic liposomes formulated with synthetic mycobacterial cordfactor (CAF01): a versatile adjuvant for vaccines with different immunological requirements // *PLoS One.* — 2008. — V. 3, No. 9. — C. e3116. doi: 10.1371/journal.pone.0003116
62. Nochi T., Yuki Y., Takahashi H. [et al]. Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines // *Nat Mater.* — 2010. — V. 9, No. 7. — P. 572—8. doi: 10.1038/nmat2784
63. Quan F. S., Huang C., Compans R. W. [et al]. Virus-like particle vaccine induces protective immunity against homologous and heterologous strains of influenza virus // *J Virol.* — 2007. — V. 81, No. 7. — P. 3514—24. doi: 10.1128/JVI.02052-06
64. Seubert A., Calabro S., Santini L. [et al]. Adjuvanticity of the oil-in-water emulsion MF59 is independent of Nlrp3 inflammasome but requires the adaptor protein MyD88 // *Proc Natl Acad Sci U S A.* — 2011. — V. 108, No. 27. — P. 11169—74. doi: 10.1073/pnas.1107941108
65. Sun H. X., Xie Y., Ye Y. P. ISCOMs and ISCOMATRIX // *Vaccine.* — 2009. — V. 27, No. 33. — P. 4388—401. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.05.032
66. Turley J. L., Lavelle E. C. Resolving adjuvant mode of action to enhance vaccine efficacy // *Curr Opin Immunol.* — 2022. — V. 77. — P. 102229. doi: 10.1016/j.coi.2022.102229
67. Maji M., Ghosh S., Didwania N. [et al]. Differentially Charged Liposomes Stimulate Dendritic Cells with Varying Effects on Uptake and Processing When Used Alone or in Combination with an Adjuvant // *ACS Omega.* — 2024. — V. 9, No. 27. — P. 29175—29185. doi: 10.1021/acsomega.3c07814
68. Kathaperumal K., Kumanan V., McDonough S. [et al]. Evaluation of immune responses and protective efficacy in a goat model following immunization with a cocktail of recombinant antigens and a polyprotein of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* // *Vaccine.* — 2009. — V. 27, No. 1. — P. 123—35. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.10.019
69. Hayashi M., Aoshi T., Haseda Y. [et al]. Advax, a Delta Inulin Microparticle, Potentiates In-built Adjuvant Property of Co-administered Vaccines // *EBioMedicine.* — 2017. — V. 15. — P. 127—136. doi: 10.1016/j.ebiom.2016.11.015
70. Hou X., Zaks T., Langer R. [et al]. Lipid nanoparticles for mRNA delivery // *Nat Rev Mater.* — 2021. — V. 6, No. 12. — P. 1078—1094. doi: 10.1038/s41578-021-00358-0
71. Zhao K., Rong G., Hao Y. [et al]. IgA response and protection following nasal vaccination of chickens with Newcastle disease virus DNA vaccine nanoencapsulated with Ag@SiO2 hollow nanoparticles // *Sci Rep.* — 2016. — V. 6. — P. 25720. doi: 10.1038/srep25720

72. Wilson-Welder J. H., Torres M. P., Kipper M. J. [et al]. Vaccine adjuvants: current challenges and future approaches // J Pharm Sci. — 2009. — V. 98, No. 4. — P. 1278—316. doi: 10.1002/jps.21523

73. Watkinson A. C., Kearney M. C., Quinn H. L. [et al]. Future of the transdermal drug delivery market — have we barely touched the surface? // Expert Opin Drug Deliv. — 2016. — V. 13, No. 4. — P. 523—32. doi: 10.1517/17425247.2016.1130034

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

O. P. Khripko — Candidate of Biological Sciences, Scientific Associate;

D. M. Konovalov — Candidate of Chemical Sciences, Scientific Associate;

A. V. Glushchenko — Candidate of Biological Sciences, Junior Scientific Associate;

A. Yu. Alekseev — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head and Senior Scientific Associate of the Laboratory of Experimental Biology of Pathogenic Microorganisms;

M. A. Shestopalov — Doctor of Chemical Sciences, Chief Scientific Associate and Head of the Laboratory of Bioactive Inorganic Compounds.

The article was submitted 17.11.2025.

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Научная статья

УДК 619:615.4 / 619:618

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.006

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СРЕДСТВА ЭКОВЕТ-А В ПРОФИЛАКТИКЕ МАСТИТА У КОРОВ

Айсет Шаамановна Абдулхажиева*, **Елена Васильевна Кузьмина****,
Ксения Андреевна Железнякова***

*Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, karina-428@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3824-4700>

**Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, niva1430@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>

***Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, ksenia.andreevna0708@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9407-0768>

Аннотация. В статье приведены результаты по оценке эффективности средства Эковет-А в профилактике мастита у коров. Эковет-А представляет собой электрохимически активированный раствор хлоркислородных и гидропероксидных соединений. Для исследований сформировали три группы (две опытные и одну контрольную) условно здоровых лакирующих коров по 20 голов в каждой. В схему обработки вымени коров перед доением включали: в 1 опытной группе средство Эковет-А; во 2 опытной группе — средство для обработки вымени на основе молочной кислоты. Дезинфицирующие средства применяли в течение месяца методом окунания сосков в невозвратный стаканчик на 30 секунд, в контрольной группе использовали воду. В результате проведенных исследований установлено, что за месячный период применения дезинфицирующих средств в преддоильной обработке коров в опытных группах количество трещин сосков вымени и случаев мастита относительно контрольного поголовья снизилось на 10—30 %, с наилучшим результатом в 1 опытной группе. При применении средства Эковет-А относительно контроля в молоке коров зарегистрировано снижение количества соматических клеток — в 1,8 раз и КМАФАнМ — в 1,5 раза. Таким образом, для профилактики мастита у коров средство Эковет-А может эффективно использоваться в схеме обработки вымени перед доением.

Ключевые слова: средство Эковет-А; электрохимически активированные растворы; коровы; мастит; профилактика

Воспаление молочной железы (мастит) относится к наиболее актуальным проблемам молочного скотоводства во всем мире, оказывая значительное негативное влияние на экономику животноводческих хозяйств. По данным исследований в России мастит выявляется у 5—36 % коров при разовом обследовании стада, а распространенность субклинического мастита в некоторых хозяйствах достигает 60 %. При этом прослеживается закономерность между концентрацией коров в хозяйствах и степенью распространения мастита. Наименьшее количество коров, больных маститом, зарегистрировано в индивидуальных крестьянских хозяйствах. В крупных хозяйствах с поголовьем свыше

500 коров субклинический мастит регистрируется более чем у 30 % дойного стада [1—4].

Воспаление молочной железы приводит к значительному снижению продуктивности, сокращению продолжительности использования коров и значительным финансовым затратам на ветеринарные мероприятия. В полученном от больных маститом животных молоке регистрируется ухудшение биологических и физико-химических характеристик. Введение такого молока в рацион телят увеличивает риск развития у них патологических состояний и может быть причиной гибели молодняка в раннем постнатальном периоде. Содержащиеся в молоке больных маститом коров микроорганиз-

мы являются источником пищевых интоксикаций у людей [5—7].

Мастит является сложным полиэтиологическим заболеванием, которое имеет различные предрасполагающие экологические и микробные причины. К ведущим факторам, способствующим возникновению и развитию мастита, относят нарушения правил и технологии доения (завышенный вакуум или его колебания, высокая частота пульсации, использование нестандартной сосковой резины, неудовлетворительная преддоильная подготовка вымени). К причинам, также способствующим возникновению данной патологии, относят нарушение температурного режима при содержании животных. После отела мастит зачастую развивается вследствие интоксикации организма на фоне отеков вымени и других послеродовых заболеваний [4, 8, 9].

Микроорганизмы, повсеместно распространенные в окружающей среде, выступают в качестве ключевых патогенов, инициирующих развитие мастита. В основном, развитие воспалительного процесса в вымени начинается при попадании патогена из окружающей среды в организм животного через сосковый канал. Возбудителями маститов могут быть свыше 140 видов бактерий, включая контагиозные, нормофлору организма животных и микробов внешней среды, которые вызывают воспаление по отдельности или в ассоциациях друг с другом. Наиболее распространенными патогенами являются стафилококки, кишечная палочка, стрептококки и энтерококки [10—12].

Поэтому использование методов, которые снижают бактериальное загрязнение вымени, является основополагающим аспектом борьбы с маститом. Различные исследования показали, что на бактериальную обсемененность поверхности молочной железы может влиять преддоильная подготовка вымени.

В этом аспекте дезинфекция сосков является распространенной практикой профилактики мастита, которая может служить эффективным инструментом в борьбе с данной патологией. В идеале средства для обработки вымени до доения должны обладать не только дезинфицирующими свойствами, но и не вызывать патологических изменений в состоянии кожи и оказывать моющий эффект [13—16].

В настоящее время большие перспективы имеет применение электрохимически активированных растворов, к которым относится средство Эковет-А, являющееся анолитом. Он нетоксичен, обладает

высокой обеззараживающей активностью, моющими и противовоспалительными свойствами [17, 18].

Целью настоящей работы явилось оценка эффективности средства Эковет-А в профилактике мастита у коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Средство Эковет-А представляет собой раствор, полученный путем электрохимической обработки хлорида натрия в питьевой воде. Его состав представлен хлоркислородными и гидропероксидными соединениями: хлорноватистая кислота (50—95 %); диоксид хлора (1—7 %); пероксид водорода (3—8 %); другие пероксидные и супероксидные соединения (1—5 %). Концентрация оксидантов в пересчете на активный хлор составляет 0,5 г/л.

Исследования проведены в условиях ООО «МТФ «Рассвет» (г. Грозный, Чеченская Республика) на коровах голштино-фризской породы. В хозяйстве используется беспривязный способ содержания животных, доение коров трехразовое — в молокопровод.

Для опыта по методу групп-аналогов с учетом массы тела, возраста и физиологического статуса сформировали три группы (две опытные и одну контрольную) условно здоровых коров по 20 голов в каждой.

В экспериментальный период опытные и контрольные коровы находились на однотипном рационе, в равных условиях содержания и доения. Преддоильная обработка сосков опытных коров проходила с использованием в 1 опытной группе средства Эковет-А, а во 2 опытной группе — средства для обработки вымени до доения на основе молочной кислоты «ANKAR BEFORE OXY FOAM» (которое используется в данном хозяйстве). Указанные средства применяли в течение месяца — методом окунания сосков в невозвратный стаканчик продолжительностью 30 секунд, в контрольной группе использовали воду.

На протяжении всего периода исследований наблюдали за состоянием вымени коров опытной и контрольной групп — визуально и с помощью пальпации. В начале и конце опыта проводили контрольные утренние дойки с отбором проб молока от каждой коровы, которые отправляли в ГБУ «Республиканская ветеринарная лаборатория». Отбор проб, подготовку молока к исследованиям и органолептическую оценку осуществляли по ГОСТ Р ИСО 22935—2—2011 «Молоко и молочные продукты. Органолептический анализ».

Для скрининговой диагностики мастита у коров использовали препарат Кенотест (производитель Cid Lines, Бельгия). Количественное определение соматических клеток в молоке проводилось на приборе на «Соматос-Мини», а качественные показатели молока — массовую долю жира (МДЖ), белка (МДБ) и сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО) определяли с помощью прибора «Лактан 1—4 М». Количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) в молоке определяли методом подсчета колоний на плотных питательных средах.

Полученные цифровые данные обработаны методами вариационной статистики с определением достоверности значений по t-критерию Стьюдента и считали их достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований установлено, что за месячный период применения дезинфицирующих средств в преддоильной обработке молочной железы коров в опытных группах снизилось количество трещин сосков вымени относительно контроля (рис. 1). В начале опыта трещины сосков вымени зарегистрированы у 50 % опытных коров и у 55 % контрольных. К концу экспериментального периода у контрольных коров показатель увеличился до 65 %, а в 1 опытной группе снизился до 35 %, во 2 опытной группе — до 45 %. Следовательно применение дезинфицирующего средства Эковет-А в преддоильной обработке вымени коров снижает количество трещин сосков относительно контроля на 30 %, а относительно средства сравнения — на 10 %.

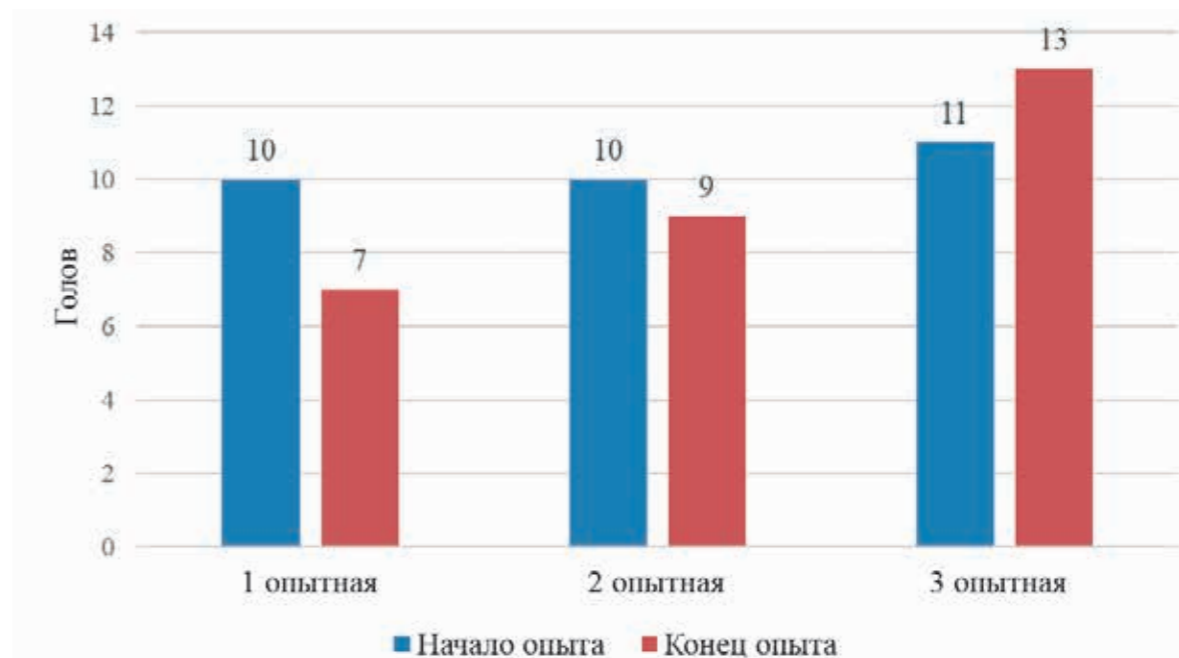


Рис. 1. Количество коров с трещинами сосков вымени при изучении профилактической эффективности средства Эковет-А (n = 20)

Применение дезинфицирующих средств в схеме преддоильной обработки вымени коров положительно отразилось на заболеваемости животных маститом. На начало опыта в группы отбирались коровы без клинических признаков воспаления молочной железы и нормальным уровнем соматических клеток. Далее в течение месячного опытного периода в контрольной группе коров диагностировано 3 (15 %) случая клинического мастита и 5 (25 %) — субклинического. Общее число больных маститом коров в контрольной группе составило 40 %. В 1 опытной группе при применении дезин-

фицирующего средства Эковет-А клинического мастита у коров не установлено, а субклинический мастит выявлен у 2 (10 %) животных. Во 2 опытной группе при применении средства «ANKAR BEFORE OXY FOAM» клинический мастит диагностирован у одной коровы (5 %), а субклинический — у 3 (15 %) животных.

Общее число больных маститом коров за период эксперимента в 1 опытной группе составило 10 %, во 2 опытной группе — 20 %. Следовательно использование дезинфицирующего средства Эковет-А в преддоильной обработке вымени коров

снижает воспаление молочной железы на 30 % относительно контроля и на 10 % относительно средства сравнения.

В количестве соматических клеток в молоке коров на конец опыта выявлена разница между группами — эти данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние дезинфицирующего средства Эковет-А на количество соматических клеток и КМАФАнМ в молоке коров (n = 20)

Группы	Количество соматических клеток, в 1 см ³	КМАФАнМ, КОЕ / см ³
1 опытная	3,5·10 ⁵ ± 0,15*	3,1·10 ⁵ ± 0,04*
2 опытная	4,6·10 ⁵ ± 0,19*	3,9·10 ⁵ ± 0,11
3 контрольная	6,2·10 ⁵ ± 0,22	4,7·10 ⁵ ± 0,07
Норматив для сорта молока по ГОСТ 52054—2023, не более		
Высшего	2,5·10 ⁵	1,0·10 ⁵
Первого	4,0·10 ⁵	3,0·10 ⁵
Второго	7,5·10 ⁵	5,0·10 ⁵

* p < 0,05 относительно контроля

В 1 опытной группе при применении дезинфицирующего средства Эковет-А в преддоильной обработке вымени коров относительно контроля достоверно (p < 0,05) в 1,8 раз было снижено количество соматических клеток в молоке и КМАФАнМ — в 1,5 раз. Во 2 опытной группе при применении средства «ANKAR BEFORE OXY FOAM» разница с 3 контрольной группой составила по количеству соматических клеток — 34,8 % (p < 0,05) и по КМАФАнМ — 17,1 %.

При оценке в конце опыта качественных показателей молока достоверной разницы между группами выявлено не было, однако присутствует тенденция в повышении массовой доли белка в молоке коров 1 опытной группы — с разницей в абсолютных процентах 0,3 %.

Выводы. Таким образом, приведёнными исследованиями установлено, что обработка вымени коров дезинфицирующим средством Эковет-А перед доением в течение 30 дней обеспечивает снижение в молоке количества соматических клеток — в 1,8 раз и КМАФАнМ — в 1,5 раза. Использование дезинфицирующих средств в преддоильной обработке коров уменьшает количество трещин сосков вымени и случаев мастита относительно контрольного поголовья на 10—30 %, с наилучшим результатом в 1 опытной группе при применении средства Эковет-А.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Востроилова Г. А.* Эффективность комплексной схемы лечения мастита у коров с применением препарата «Диомаст — КРС» и Липотона / Г. А. Востроилова, В. А. Грицюк, Л. В. Ческидова [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2025. — № 1 (30). — С. 51—62.
2. *Брюхова И. В.* Изучение влияния препарата «Прималакт» на организм и молочную железу лактирующих коров / И. В. Брюхова, Н. Т. Климов, Н. А. Хохлова, Ю. А. Чаплыгина // Аграрный вестник Урала. — 2020. — № 3(194). — С. 49—56. doi: 10.32417/1997-4868-2020-194-3-49-56
3. *Ларионов Г. А.* Профилактика и лечение субклинического мастита коров: монография / Г. А. Ларионов, Л. М. Вязова, И. В. Царевский. — Чебоксары, 2016. — 132 с. — ISBN978—5—9908745—9—6.
4. *Андреева А. А.* Этиология и эпизоотология мастита коров (аналитический обзор) / А. А. Андреева, *Евграфова В. А.*, М. С. Воронина [и др.] // Ветеринария сегодня. — 2024. — № 13(1). — С. 27—35. doi: 10.29326/2304-196X-2024-13-1-27-35
5. *Корчагина А. А.* Эффективность применения препарата Триолакт при терапии субклинического мастита у коров в период лактации / А. А. Корчагина, Г. А. Востроилова, Н. Т. Климов [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. — 2019. — № 3. — С. 88—90. doi: 10.17238/issn2072-6023.2019.3.88
6. *Слободяник В. И.* Иммунологические аспекты борьбы с маститом коров: Монография / В. И. Слободя-

ник, Н. Т. Климов, Л. В. Ческидова, Е. В. Зверев. — Воронеж: «Истоки», 2020. — 221 с.

7. *El-Sayed A.* Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era / A. El-Sayed, M. Kamel // Trop Anim Health Prod. — 2021. — Vol. 53 (2). — P. 236. doi: 10.1007/s11250-021-02680-9

8. *Михалев В. И.* Автоматизированное доение и заболеваемость коров маститом / В. И. Михалев, В. И. Зимников // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агротехнология и животноводство. — 2024. — Т. 19, № 3. — С. 507—516. doi: 10.22363/2312-797X-2024-19-3-507-516

9. *Ruegg P. L.* A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention / P. L. Ruegg // J. Dairy Sci. — 2017. — Vol. 100 (12). — P. 10381—10397. doi: 10.3168/jds.2017-13023. PMID: 29153171

10. *Зимников В. И.* Иммуно-биохимический статус крови клинически здоровых и больных маститом лактирующих коров при применении рекомбинантного интерферона — лямбда / В. И. Зимников, Т. И. Ермакова // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2024. — № 4 (29). — С. 128—141. doi: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.128

11. *Захарова О. А.* Маститы коров: этиология, диагностика, лечение, профилактика, качество молока / О. А. Захарова, Д. Е. Кучер, О. В. Евдокимова [и др.] // Рязань: Рязанский государственный агротехнологический университет им. П. А. Костычева, 2023. — 183 с.

12. *Alawneh J. I.* Efficacy of a Lactobacillus-Based Teat Spray on Udder Health in Lactating Dairy Cows / J. I. Alawneh, A. S. James, N. Phillips, et al. // Front Vet Sci. — 2020 — Vol. 23 (7). — P. 584436. doi: 10.3389/fvets.2020.584436

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. Ш. Абдулхажиева — соискатель отдела фармакологии;

Е. В. Кузьминова — доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник отдела фармакологии;

К. А. Железнякова — кандидат экономических наук, старший научный сотрудник отдела фармакологии.

Статья поступила в редакцию 08.09.2025.

CLINICAL PHARMACOLOGY

Original article

UDC 619:615.4 / 619:618

EFFICACY OF ECOVET-A IN THE PREVENTION OF BOVINE MASTITIS

Ayset Shaamanovna Abdulkhazhieva*, Elena Vasilyevna Kuzminova**,
Kseniya Andreevna Zheleznyakova***

*Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, karina-428@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3824-4700>

**Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, niva1430@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>

***Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, ksenia.andreevna0708@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9407-0768>

Abstract. The article presents the results of assessing the efficacy of Ecovet-A in the prevention of bovine mastitis. Ecovet-A is an electrochemically activated solution of chlorine-oxygen and hydroperoxide compounds. For the study, three groups (two experimental and one control) of conditionally healthy lactating cows were formed, with 20 animals in each one. The scheme for treating the cows' udders before milking included: in the first experimental group — Ecovet-A; in the second experimental group — an udder treatment agent based on lactic acid. Disinfectants were applied for a month by dipping the teats into a non-returnable cup for udder treatment for 30 seconds, while water was used in the control group. The conducted studies have established that over the monthly period of using disinfectants in the pre-milking treatment of cows in the experimental groups, the number of teat cracks and cases of mastitis decreased by 10—30 %, compared to the control herd, with the best result in the first experimental group. When using Ecovet-A, a 1.8-fold reduction in somatic cell count and a 1.5-fold reduction in QMAFAnM were recorded in cows' milk, relative to the control. Therefore, Ecovet-A can be effectively used as part of a pre-milking udder treatment regimen for the prevention of bovine mastitis.

Keywords: Ecovet-A, electrochemically activated solutions, cows, mastitis, prevention

Inflammation of the mammary gland (mastitis) is one of the most pressing problems in dairy farming worldwide, significantly affecting the economics of livestock farms. According to research in Russia, mastitis is detected in 5—36 % of cows during a single herd examination, and the incidence of subclinical mastitis on some farms reaches 60 %. A correlation is observed between the concentration of cows on farms and the incidence of mastitis. The lowest number of cows with mastitis is recorded on individual farms. On large farms with over 500 cows, subclinical mastitis is recorded in more than 30 % of the dairy herd [1—4].

Inflammation of the mammary gland leads to a significant reduction in productivity, a shortened lifespan of cows and significant financial costs for veterinary care. Milk from animals with mastitis exhibits deterioration in the biological and physicochemical properties. Introducing such milk into the calf diet increases the risk of pathological conditions develop-

ment and can cause death in the early postnatal period. Microorganisms contained in the milk of cows with mastitis are a source of food poisoning in humans [5—7].

Mastitis is a complex, multifactorial disease with various environmental and microbial causes. Leading factors contributing to the onset and development of mastitis include improper milking practices and techniques (excessive or fluctuating vacuum, high pulsation frequency, use of substandard milking liner, and inadequate pre-milking udder preparation). Other factors contributing to the development of this pathology include inadequate temperature control during animal keeping. After calving, mastitis often develops as a result of intoxication, resulting from udder edema and other postpartum diseases [4, 8, 9].

Microorganisms ubiquitous in the environment act as key pathogens initiating the mastitis development. Inflammatory processes in the udder generally

begin when a pathogen from the environment enters the animal's body through the teat canal. Mastitis can be caused by over 140 species of bacteria, including contagious bacteria, normal animal flora and environmental microbes that cause inflammation individually or in combination. The most common pathogens are staphylococci, *E. coli*, streptococci and enterococci [10—12].

Therefore, the use of methods that reduce bacterial contamination of the udder is a fundamental aspect of mastitis control. Various studies have shown that pre-milking udder preparation can affect bacterial contamination of the mammary gland surface. In this regard, teat disinfection is a common practice for mastitis prevention and can serve as an effective tool in the fight against this pathology. Ideally, pre-milking udder treatment products should not only have disinfectant properties but also be non-pathogenic and have a cleansing effect [13—16].

Currently, the use of electrochemically activated solutions, such as Ecovet-A, an anolyte, shows great promise. It is non-toxic, has high disinfectant activity, cleaning and anti-inflammatory properties [17, 18].

The research objective was to assess the efficacy of Ecovet-A in the prevention of bovine mastitis.

MATERIAL AND METHODS

Ecovet-A is a solution obtained by electrochemical treatment of sodium chloride in drinking water. Its composition includes oxychloride and hydroperoxide compounds: hypochlorous acid (50—95 %), chlorine dioxide (1—7 %), hydrogen peroxide (3—8 %) and other peroxide and superoxide compounds (1—5 %). The concentration of oxidants, calculated as active chlorine, is 0.5 g/L.

The study was conducted at CDF Rassvet LLC (Groznyy, Chechen Republic) on Holstein-Friesian cows. The farm uses loose keeping, and the cows are milked three times a day through a milk pipeline.

For the study, three groups (two experimental and one control) of apparently healthy cows, 20 animals in each one, were formed using the analogous group method based on body weight, age and physiological status.

During the experimental period, the experimental and control cows were fed the same diet and were kept under the same keeping and milking conditions. Pre-milking teat treatment was performed on the experimental cows in Group 1 using Ecovet-A, while pre-milking teat treatment with the lactic acid-based ANKAR BEFORE OXY FOAM (which is used on this farm) udder treatment was used in Group 2. The

indicated means were used for a month by dipping the teats into a non-returnable cup for udder treatment for 30 seconds; water was used in the control group.

Throughout the study period, the udder condition of cows in the experimental and control groups was monitored visually and by palpation. At the beginning and end of the study, morning milking operations were performed, with milk samples collected from each cow and sent to the Republican Veterinary Laboratory. Sampling, milk preparation for testing and organoleptic assessment were carried out in accordance with GOST R ISO 22935—2—2011 Milk and Dairy Products. Organoleptic Analysis.

For screening diagnostics of bovine mastitis, Kenotest (manufactured by Cid Lines, Belgium) was used. Quantitative determination of somatic cells in milk was performed using a Somatos-Mini device, and milk quality indicators (mass fraction of fat (MFF), mass fraction of protein (MFP) and nonfat milk solids (NFMS)) were determined using a Laktan 1—4 M device. The quantity of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (QMAFAnM) in milk was determined by counting colonies on solid nutrient media.

The obtained digital data were processed using variation statistics, with the Student's t-test used to determine the reliability of the values. A significance level of $p \leq 0.05$ was considered significant.

STUDY RESULTS

The study revealed that over a month-long period of using disinfectants in pre-milking treatment of the mammary glands of cows, the incidence of teat cracks in the udders of the experimental groups decreased, relative to the control group (Fig. 1). At the beginning of the experiment, teat cracks were recorded in 50 % of the experimental cows and 55 % of the control cows. By the end of the experimental period, the incidence increased up to 65 % in the control cows, decreased to 35 % in the first experimental group, and decreased to 45 % in the second experimental group. Consequently, the use of Ecovet-A disinfectant in pre-milking treatment of the udders of cows reduced the incidence of teat cracks by 30 %, relative to the control group, and by 10 %, relative to the comparison product.

The use of disinfectants in the pre-milking udder treatment regimen had a positive effect on the incidence of bovine mastitis. At the beginning of the experiment (experiment onset), the cows without clinical signs of mammary gland inflammation and with a normal somatic cell count were selected for each group. During the month-long experimental period, 3 (15 %) cases

of clinical mastitis and 5 (25 %) cases of subclinical mastitis were diagnosed in the control group of cows. The total number of cows with mastitis in the control group was 40 %. In the first experimental group, when using the disinfectant Ecovet-A, clinical mastitis was not detected in cows, and subclinical mastitis was detected in 2 (10 %) animals.

In the second experimental group, when using the product ANKAR BEFORE OXY FOAM, clinical

mastitis was diagnosed in one cow (5 %), and subclinical mastitis was diagnosed in 3 (15 %) animals. The overall incidence of bovine mastitis during the experimental period was 10 % in the experimental group 1 and 20 % in the experimental group 2. Consequently, the use of Ecovet-A disinfectant in pre-milking udder treatment reduced mammary gland inflammation by 30 %, relative to the control, and by 10 %, relative to the comparison product.

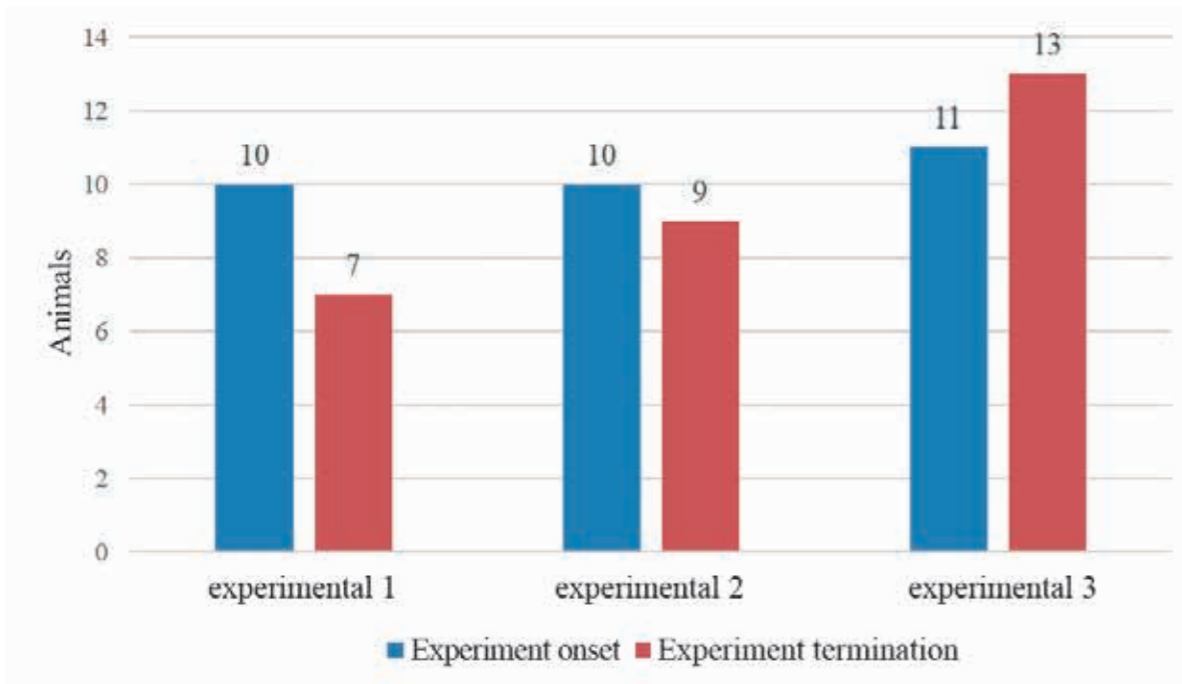


Fig. 1. Number of cows with cracked teats in the study of the preventive efficacy of Ecovet-A (n = 20)

A difference in the somatic cell count in the cows' milk at the end of the experiment (experiment termi-

nation) was revealed between the groups. These data are presented in Table 1.

Table 1

Effect of the disinfectant Ecovet-A on the somatic cell count and QMAFAnM in cows' milk (n = 20)

Groups	Somatic cell count, in 1 cm ³	QMAFAnM, CFU/cm ³
Experimental 1	3.5·10 ⁵ ± 0.15 *	3.1·10 ⁵ ± 0.04*
Experimental 2	4.6·10 ⁵ ± 0.19*	3.9·10 ⁵ ± 0.11
Experimental 3	6.2·10 ⁵ ± 0.22	4.7·10 ⁵ ± 0.07
Standard for milk grade according to GOST 52054—2023, no more than		
Highest	2.5·10 ⁵	1.0·10 ⁵
First	4.0·10 ⁵	3.0·10 ⁵
Second	7.5·10 ⁵	5.0·10 ⁵

* p < 0.05, relative to the control

In the first experimental group, the use of Ecovet-A disinfectant for pre-milking udder treatment of cows significantly (p < 0.05) reduced the somatic cell count in milk by 1.8 times and the QMAFAnM — by 1.5 times, compared to the control group. In the second experimental group, the use of ANKAR BEFORE OXY FOAM resulted in a 34.8 % (p < 0.05) difference in the somatic cell count and a 17.1 % difference in the QMAFAnM, compared to the third control group.

When assessing milk quality indicators at the end of the experiment, no significant differences were found between the groups.

However, there was a trend toward an increase in the mass fraction of protein in the milk of cows in the first experimental group, with an absolute percentage difference of 0.3 %.

CONCLUSION

Thus, the presented research has established that pre-milking treatment of cows' udders with Ecovet-A disinfectant for 30 days reduces somatic cell count in milk by 1.8 times and QMAFAnM — by 1.5 times. The use of disinfectants in pre-milking treatment of cows reduces the incidence of teat cracks and mastitis by 10—30 %, relative to the control cattle stock, with the best results in the first experimental group using Ecovet-A.

REFERENCES

1. *Vostroilova G. A.* Efficacy of a combination therapeutic regimen for bovine mastitis using the drug “Dio-mast — KRS” and Lipoton / G. A. Vostroilova, V. A. Gritsyuk, L. V. Cheskidova [et al.] // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2025. — No. 1 (30). — P. 51—62.
2. *Bryukhova I. V.* Study of the effect of the drug “Primalact” on the body and mammary gland of lactating cows / I. V. Bryukhova, N. T. Klimov, N. A. Khokhlova, Yu. A. Chaplygina // Agrarnyy vestnik Urala (Agrarian Bulletin of the Urals). — 2020. — No. 3 (194). — P. 49—56. doi: 10.32417/1997-4868-2020-194-3-49-56
3. *Larionov G. A.* Prevention and treatment of subclinical bovine mastitis: monograph / G. A. Larionov, L. M. Vyazova, I. V. Tsarevskiy. — Cheboksary, 2016. — 132 p. — ISBN978—5—9908745—9—6.
4. *Andreeva A. A.* Etiology and epizootology of bovine mastitis (analytical review) / A. A. Andreeva, V. A. Evgrafova, M. S. Voronina [et al.] // Veterinariya segodnya (Veterinary medicine today). — 2024. — No. 13 (1). — P. 27—35. doi: 10.29326/2304-196X-2024-13-1-27-35
5. *Korchagina A. A.* Efficacy of using Triolakt in the treatment of subclinical bovine mastitis during lactation / A. A. Korchagina, G. A. Vostroilova, N. T. Klimov [et al.] // Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii (Normative-legal regulatory issues in veterinary medi-

cine). — 2019. — No. 3. — P. 88—90. doi: 10.17238/issn2072-6023.2019.3.88

6. *Slobodyanik V. I.* Immunological aspects of combating bovine mastitis: Monograph / V. I. Slobodyanik, N. T. Klimov, L. V. Cheskidova, E. V. Zverev. — Voronezh: “Istoki”, 2020. — 221 p.

7. *El-Sayed A.* Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era / A. El-Sayed, M. Kamel // Trop Anim Health Prod. — 2021. — Vol. 53 (2). — P. 236. doi: 10.1007/s11250-021-02680-9

8. *Mikhalev V. I.* Automated milking and the incidence of bovine mastitis / V. I. Mikhalev, V. I. Zimnikov // Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Seriya: Agronomiya i zhivotnovodstvo. (Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series: Agronomy and Animal Husbandry). — 2024. — Vol. 19, No. 3. — P. 507—516. doi: 10.22363/2312-797X-2024-19-3-507-516

9. *Ruegg P. L.* A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention / P. L. Ruegg // J. Dairy Sci. — 2017. — Vol. 100 (12). — P. 10381—10397. doi: 10.3168/jds.2017-13023. PMID: 29153171

10. *Zimnikov V. I.* Immunobiochemical blood status of clinically healthy lactating cows and lactating cows with mastitis using recombinant interferon-lambda / V. I. Zimnikov, T. I. Ermakova // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2024. — No. 4 (29). — P. 128—141. doi: 10.17238/issn2541-8203.2024.4.128

11. *Zakharova O. A.* Bovine mastitis: etiology, diagnosis, treatment, prevention, milk quality / O. A. Zakharova, D. E. Kucher, O. V. Evdokimova [et al.] // Ryazan: Ryazan State Agrotechnological University named after P. A. Kostychev, 2023. — 183 p.

12. *Alawneh J. I.* Efficacy of a Lactobacillus-Based Teat Spray on Udder Health in Lactating Dairy Cows / J. I. Alawneh, A. S. James, N. Phillips, et al. // Front Vet Sci. — 2020. — Vol. 23 (7). — P. 584436. doi: 10.3389/fvets.2020.584436

13. *Zuev N. P.* Treatment and prevention of bovine mastitis / N. P. Zuev, N. S. Tuchkov // Vestnik Vyatskogo GATU (Bulletin of Vyatka SATU). — 2023. — No. 3 (17). — P. 7.

14. *Kalińska A.* Silver and Copper Nanoparticles as the New Biocidal Agents Used in Pre- and Post-Milking Disinfectants with the Addition of Cosmetic Substrates in Dairy Cows / A. Kalińska, S. Jaworski, M. Wierzbicki, et al. // Int J. Mol. Sci. — 2023. — Vol. 24 (2). — P. 1658. doi: 10.3390/ijms24021658

15. *Skowron K.* Comparison of the effectiveness of dipping agents on bacteria causing mastitis in cattle / K. Skowron, A. Sękowska, A. Kaczmarek, et al. // Ann Agric Environ Med. — 2019. — Vol. 26 (1). — P. 39—45. doi: 10.26444/aaem/82626

16. *Fitzpatrick S. R.* Effect of Pre-Milking Teat Foam Disinfection on the Prevention of New Mastitis Rates in Early Lactation / S. R. Fitzpatrick, M. Garvey, J. Flynn, et al. // Animals (Basel). — 2021. — Vol. 11 (9). — P. 2582. doi: 10.3390/ani11092582

17. Shereshkova S. E. Comparative bactericidal and disinfectant activity of the preparations "Anolit ANK Super" and "Anolit ANK Super + CHAS" / S. E. Shereshkova, N. I. Popov, I. V. Kushch [et al.] // Rossiyskiy zhurnal Problemy veterinarnoy sanitarii, gigieny i ekologii (Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology).

— 2023. — No. 4 (48). — P. 398—404. doi: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202304002

18. Ipatova L. G. Possibilities of using the disinfectant Anolit ANK SUPER in medical organizations / L. G. Ipatova, S. D. Marchenko, T. V. Potupchik // Vrach (Doctor). — 2021. — Vol. 32, No. 5. — P. 67—74. doi: 10.29296/25877305-2021-05-13

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. Sh. Abdulkhazhieva — Applicant for a Degree of the Department of Pharmacology;

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

K. A. Zheleznyakova — Candidate of Economic Sciences, Chief Scientific Associate of the Department of Pharmacology.

The article was submitted 08.09.2025.

Научная статья

УДК 619:615.4 / 636.5.033

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.007

ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ СИОЛАКТ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Александр Романович Ратников*, **Марина Петровна Семеновна****,
Елена Васильевна Кузьминова***

*Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-9480-9475>

**Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>

***Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
Краснодар, Россия, niva1430@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>

Аннотация. В настоящее время научные исследования, связанные с разработкой поликомпонентных пробиотиков, состав которых дополнен фитобиотическими или минеральными веществами, относят к актуальным направлениям фармакологии. Кормовая добавка сиолакт представляет собой комплекс лакто- и бифидобактерий с природным алюмосиликатным минералом. Цель работы состояла в оценке влияния сиолакта на продуктивность и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров. Исследования проведены на 60 цыплятах-бройлерах кросса Arbor Acres, из которых по принципу пар-аналогов было сформировано две группы по 30 особей (опытная и контрольная) в каждой. Цыплята из опытной группы с 5 по 42 дни жизни получали кормовую добавку сиолакт (0,1 % от массы комбикорма). Контрольная группа находилась на основном рационе. В результате проведенных исследований установлено, что сиолакт оказывает положительное влияние на метаболизм птицы, проявляющееся улучшением показателей белкового и углеводного обменов, а также маркеров состояния печени. Введение в рацион цыплят кормовой добавки способствует увеличению приростов массы тела птицы при разнице с контролем в 4,57 % ($p \leq 0,05$) к 42 дню жизни, а также повышает сохранность поголовья на 6,7 %.

Ключевые слова: кормовая добавка сиолакт, пробиотики, алюмосиликаты, цыплята-бройлеры, масса тела; кровь, биохимические показатели

Птицеводство представляет собой одну из наиболее интенсивных и динамично развивающихся отраслей агропромышленного комплекса страны, играющую ключевую роль в обеспечении населения высококачественными продуктами питания. Указ Президента Российской Федерации от 28.02.2024 года № 145 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации» определяет научно-технологические приоритеты, которые нацелены, в том числе, и на обеспечение продовольственной независимости России. В этом направлении особое внимание уделяется инновациям в кормопроизводстве, селекции и генетике животных, ветеринарной медицине, а также в области переработки и хранения сельскохозяйственной продукции. Поэтому разработка и внедрение сба-

лансированных рационов кормления и биологически активных добавок, а также современных фармакологических средств для профилактики и лечения заболеваний сельскохозяйственной животных относится к приоритетным направлениям научных исследований [1—3].

В контексте данной проблемы перспективы имеет применение в животноводстве пробиотиков (от греч. *pro* — «для», *bios* — «жизнь»), состоящих из микроорганизмов, которые оказывают положительный эффект на здоровье организма-хозяина.

Проводимые исследования свидетельствуют о том, что применение пробиотиков позволяет снизить уровень заболеваемости поголовья на птицефабриках за счет повышения резистентности организма птиц к патогенным микроорганизмам. Кроме

© Ратников А. Р., Семеновна М. П., Кузьминова Е. В., 2025

того, пробиотики способствуют нормализации кишечной микрофлоры и улучшению пищеварительных процессов, что приводит к более эффективному использованию кормов и, как следствие, к снижению себестоимости производства. В процессе выращивания молодняка птицы пробиотики демонстрируют свою эффективность в увеличении приростов массы тела, что обусловлено их способностью стимулировать метаболические процессы, направленные на синтез белков и рост мышечной ткани. Таким образом, применение пробиотиков является важным инструментом в современных технологиях интенсивного птицеводства, направленным на повышение продуктивности и экономической эффективности производства [4—8].

К эффективным средствам, широко применяемым в животноводстве, относят алюмосиликатные минералы. Этот класс природных соединений обладает уникальным комплексом физико-химических характеристик, включающих высокую адсорбционную и каталитическую активность, способность к ионному обмену и др.

А наличие в составе биологически активных веществ с разносторонней фармакологической активностью оказывает значительное положительное влияние на физиологические процессы организма. Широка биологических свойств алюмосиликатных минералов обуславливает их эффективное применение в ветеринарной медицине, сельском хозяйстве и пищевой промышленности [9—11].

При этом биологическое действие алюмосиликатных минералов можно значительно усилить, создавая на их основе лечебно-профилактические средства, обладающие антиоксидантными, гепатопротективными, антиоксидантными, иммуномодулирующими и другими свойствами, способными потенцировать терапевтический эффект при лечении различных патологических состояний и нарушений обмена веществ [12, 13].

В последнее время ведутся активные научные исследования, направленные на разработку поликомпонентных пробиотиков, состав которых дополнен фитобиотическими или минеральными веществами [14—16].

С учетом вышеизложенного в Краснодарском научно-исследовательском ветеринарном институте — обособленном структурном подразделении ФГБНУ КНЦЗВ разработана пробиотическая кормовая добавка сиолакт, в состав которой входит комплекс лакто- и бифидобактерий, природный алюмосиликатный минерал и полисахарид растительного происхождения.

Целью настоящей работы явилось оценка влияния кормовой добавки сиолакт на продуктивность и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены в условиях вивария ФГБНУ КНЦЗВ на цыплятах-бройлерах кросса *Arbor Acres*. В эксперименте было задействовано 60 голов птицы, из которых по принципу пар-аналогов сформировано две группы по 30 особей (опытная и контрольная) в каждой. Условия содержания для всех цыплят были идентичными — групповым методом в клетках. В первые три дня жизни (уравнительный период) птица получала гранулированный престартерный комбикорм. С 5 по 14 дни — комбикорм «Старт», с 15 дня — «Рост», а с 28 дня до убоя в 42 дня — «Финиш». Все корма были сбалансированы по питательным веществам, витаминам, аминокислотам и микроэлементам. Цыплята опытной группы с 5 до 42 дня жизни получали кормовую добавку сиолакт (0,1 % от массы комбикорма), тогда как контрольная группа находилась только на основном рационе.

Интенсивность роста цыплят-бройлеров оценивалась по изменению их массы тела на 5, 14, 28 и 42 сутки жизни. Клиническое состояние и сохранность поголовья контролировалось ежедневно. Для лабораторных исследований у 10 голов из каждой группы в конце эксперимента была отобрана кровь, в которой определялся ряд биохимических показателей при помощи автоматизированного анализатора *Vitalab Flexor*.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась путем вычисления среднего арифметического значения (M), ошибки среднего арифметического значения (m), и представлялась в виде $M \pm m$. Различия между опытными группами и контролем оценивались с помощью критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований установлено, что введение в рацион цыплят-бройлеров кормовой добавки сиолакт способствовало увеличению приростов массы тела птицы (рис. 1).

В начале опыта птица как опытной, так и контрольной групп характеризовалась практически идентичной фоновой массой тела. У опытных цыплят средняя масса тела по группе составила $156,4 \pm 1,26$ г, а у контрольных — $155,9 \pm 1,14$ г.

К концу эксперимента (на 42 сутки) опытная группа продемонстрировала значительно более высокие результаты по приростам массы тела, достигнув значений $2459,3 \pm 20,61$ г, в то время как в контрольной группе средний показатель составил $2351,6 \pm 18,43$ г. Анализ динамики показателей массы тела цыплят выявил различия между группами на всех контрольных точках гравиметрических исследований — в пользу бройлеров,

получавших сиолакт. При этом, на 14 сутки эксперимента межгрупповые различия были незначительными, составляя 1,16 %, на 28 сутки разрыв увеличился до 4,25 %, а на 42 сутки — до 4,57 % ($p \leq 0,05$), что свидетельствует о накопительном эффекте в начальном периоде применения пробиотического комплекса и о дальнейшем стабильном положительном эффекте сиолакта на приросты цыплят-бройлеров.



Рис. 1. Влияние кормовой добавки сиолакт на динамику массы тела цыплят-бройлеров

При оценке сохранности птицы установлено, что в опытной группе показатель выживаемости птицы за период опыта составил 100 %, что свидетельствует о высокой устойчивости бройлеров к стрессовым факторам и инфекциям. В контрольной группе был зафиксирован падеж двух бройлеров, что составило 6,7 % от поголовья группы.

В конце экспериментального периода в сыворотке крови цыплят-бройлеров были определены биохимические показатели, характеризующие фармакологическое влияния кормовой добавки сиолакт на основные виды обмена веществ. На рисунке 2 представлены определяемые показатели углеводно-белкового обмена в сыворотке крови цыплят-бройлеров.

Анализ полученных данных показал, что уровень общего белка в сыворотке крови цыплят опытной группы был на 9,68 % ($p \leq 0,05$) выше значений контрольной птицы. Разница между группа-

ми в концентрации креатинина составила 8,28 %, глюкозы — 12,6 % ($p \leq 0,01$) в пользу опытных бройлеров.

В содержании холестерина и триглицеридов в сыворотке цыплят существенных различий между группами выявлено не было. В опытной группе концентрация холестерина составила $2,38 \pm 0,14$ ммоль/л, триглицеридов — $0,26 \pm 0,05$ ммоль/л, а в контрольной — соответственно $2,35 \pm 0,11$ ммоль/л и $0,28 \pm 0,03$ ммоль/л.

Основными гепатоиндикаторными ферментами являются аланинаминотрансфераза (АлАТ) и аспаратаминотрансфераза (АсАТ).

Результаты исследований данных энзимов в сыворотке крови цыплят-бройлеров отражены на рисунке 3.

Проведенными исследованиями установлено, что в группе цыплят-бройлеров, получавших в условиях опыта сиолакт, отмечено достовер-

ное снижение активности АлАТ, указывающее на улучшение состояния гепатоцитов у опытной птицы — разница между группами составила 12,83 % ($p \leq 0,01$). В активности АсАТ изменения были незначительными, составляя 3,51 % в пользу опытной птицы.

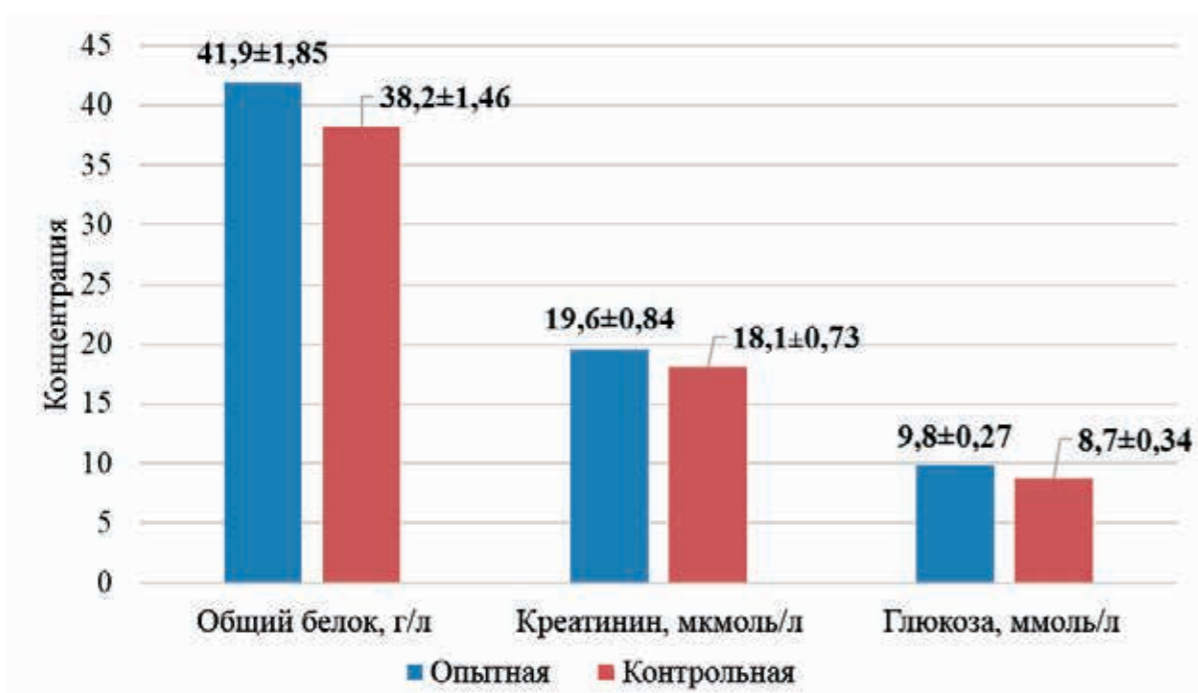


Рис. 2. Влияние кормовой добавки сиолакт на показатели углеводно-белкового обмена в сыворотке крови цыплят-бройлеров ($M \pm m$; $n = 10$)

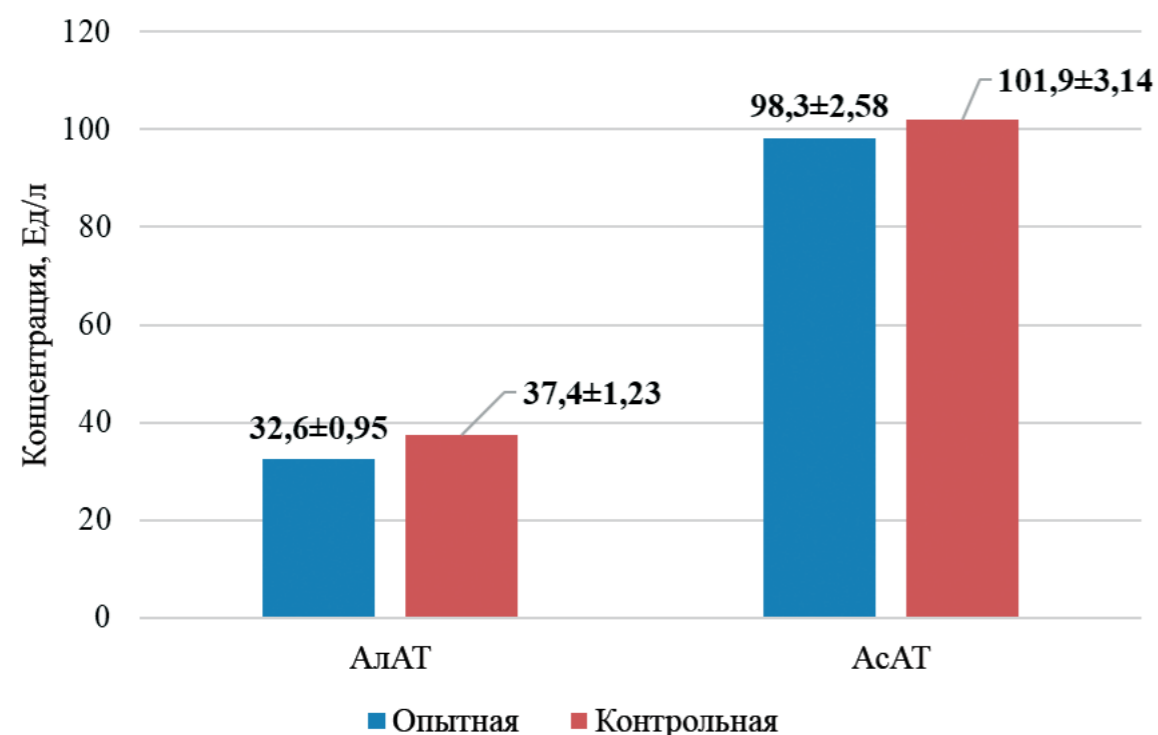


Рис. 3. Влияние кормовой добавки сиолакт на активность аминотрансфераз сыворотки крови цыплят-бройлеров ($M \pm m$; $n = 10$)

Выводы. Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что введение в рацион цыплят-бройлеров кормовой добавки сиолакт оказывает положительное влияние на метаболизм, проявляющееся улучшением показателей белкового и углеводного обмена, а также маркеров состояния печени. Фармакологическое действие сиолакта приводит к увеличению сохранности и приростов массы тела птицы.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Котарев В. И. Метаболический статус бройлеров родительского стада, инкубационные качества яиц и резистентность цыплят, полученных от них в разные периоды продуктивного использования / В. И. Котарев, Л. В. Лядова, Л. И. Денисенко [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2023. — № 3 (24). — С. 40—55. doi: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.40
2. Борисенко А. А. Перспективные научные исследования в целях реализации новой стратегии научно-технологического развития Российской Федерации: Монография / А. А. Борисенко, А. А. Борисенко, Е. К. Васильева [и др.] // Санкт-Петербург: Гуманитарный национальный исследовательский институт НАЦРАЗВИТИЕ, 2024. — 80 с. doi: 10.37539/M240405.2024.87.95.001
3. Алтухов А. И. Продовольственная безопасность России в условиях глобальных вызовов / А. И. Алтухов // Москва: Федеральный научный центр аграрной экономики и социального развития сельских территорий — Всероссийский научно-исследовательский институт экономики сельского хозяйства, 2024. — 576 с. — ISBN 978-5-00227-311-9.
4. Маркин Ю. Разумная альтернатива антибиотикам Пробиотики в рационах для птицы / Ю. Маркин, Н. Нестеров // Животноводство России. — 2019. — № S3. — С. 35—38. doi: 10.25701/ZZR.2019.64.87.009
5. Шахов А. Г. Влияние применения пробиотика «Пентапрол» свиноматкам, переболевшим послеродовыми болезнями, на иммунный статус выращиваемых под ними поросят / А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, В. Н. Коцарев [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2025. — № 2 (31). — С. 97—110.
6. Попов В. С. Биологически активные добавки для животных: полезные свойства, виды и применение (обзор) / В. С. Попов, Н. В. Самбуров, О. А. Грязнова, Г. А. Свзляя // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. — 2025. — № 2. — С. 159—165.
7. Abd El-Hack M. E. Probiotics in poultry feed: A comprehensive review / M. E. Abd El-Hack, M. T. El-Saadony,

M. E. Shafi, et al. // J. Anim Physiol Anim Nutr (Berl). — 2020. — Vol. 104 (6). — P. 1835—1850. doi: 10.1111/jpn.13454

8. Jeni R. E. Probiotics and potential applications for alternative poultry production systems / R. E. Jeni, D. K. Dittoe, E. G. Olson, et al. // Poult Sci. — 2021ю — Vol. 100 (7). — P. 101156. doi: 10.1016/j.psj.2021.101156

9. Семенов М. П. Клиническая фармакология препаратов на основе природных алумосиликатов: монография / М. П. Семенов, Е. В. Роголева, А. Г. Коцаев, Е. В. Кузьмина // Краснодар: Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, 2020. — 228 с. doi: 10.34617/x0yx-zp69

10. Srasra E. Bentonite Clays for Therapeutic Purposes and Biomaterial Design / E. Srasra, Bekri-Abbes I. // Curr Pharm Des. — 2020; — Vol. 26 (6). — P. 642—649. doi: 10.2174/1381612826666200203144034

11. Lee J. Y. Regenerative and anti-inflammatory effect of a novel bentonite complex on burn wounds / J. Y. Lee, H. N. Suh, K. Y. Choi, et al. // Vet Med Sci. — 2022. — Vol. 8 (6). — P. 2422—2433. doi: 10.1002/vms3.908

12. Тяпкина Е. Рациональное использование лекарственных препаратов в ветеринарии: учебное пособие / Е. Тяпкина, Л. Хахов, М. Семенов [и др.] // Краснодар: Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт, 2014. — 57 с.

13. de Oliveira L. H. Montmorillonite with essential oils as antimicrobial agents, packaging, repellents, and insecticides: an overview / L.H. de Oliveira, P. Trigueiro, J.S.N., et al. // Colloids Surf B Biointerfaces. — 2022. — Vol. 209 (Pt 2). — P. 112186. doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.112186

14. Юрина Н. А. Опыт совместного применения сорбентов и пробиотиков при выращивании сельскохозяйственной птицы / Н. А. Юрина, А. А. Данилова, В. А. Овсепьян // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. — 2021. — № 2 (54). — С. 228—233. doi: 10.18286/1816-4501-2021-2-228-233

15. Котарев В. И. Влияние энтеросорбента фито — и пробиотическими свойствами на морфометрические и структурные показатели печени в различные периоды выращивания цыплят-бройлеров / В. И. Котарев, Е. В. Михайлов, М. Ю. Сыромятников [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. — 2024. — № 2 (27). — С. 80—93. doi: 10.17238/issn2541-8203.2024.2.80

16. Salahi A. Beyond probiotics, uses of their next-generation for poultry and humans: A review / A. Salahi, W. A. Abd El-Ghany // J. Anim Physiol Anim Nutr (Berl). — 2024. — Vol. 108 (5). — P. 1336—1347. doi: 10.1111/jpn.13972

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. Р. Ратников — соискатель;

М. П. Семенов — доктор ветеринарных наук, заведующая отделом;

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

Статья поступила в редакцию 14.09.2025.

Original article
UDC 619:615.4 / 636.5.033

EFFECT OF THE FEED ADDITIVE SIOLACT ON THE PRODUCTIVITY AND BIOCHEMICAL BLOOD INDICATORS OF BROILER CHICKENS

Aleksandr Romanovich Ratnikov*, Marina Petrovna Semenenko**, Elena Vasilyevna Kuzminova***

*Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russia, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0003-9480-9475>

**Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russia, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>

***Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine, Krasnodar, Russia, niva1430@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>

Abstract. Currently, the research related to the design of multicomponent probiotics, the composition of which is supplemented with phytobiotic or mineral substances, is considered a relevant area of pharmacology. The feed additive Siolact is a complex of lacto- and bifidobacteria with a natural aluminosilicate mineral. The research objective was to assess the effect of Siolact on the productivity and biochemical blood indicators of broiler chickens. The study was conducted on 60 broiler chickens of Arbor Acres cross, out of which two groups of 30 individuals (experimental and control) were formed using the pair-analog principle. The chickens from the experimental group received the feed additive Siolact (0.1 % of the feed weight) from days 5 to 42 of age. The control group was fed the basal diet. The studies have revealed that Siolact has a positive effect on poultry metabolism, resulting in improved protein and carbohydrate metabolism, as well as liver health markers. Introducing the feed additive to the chicken diet increased body weight gain by 42 days of age, with a 4.57 % difference, compared to the control ($p \leq 0.05$), and also increased broiler stock livability by 6.7 %.

Keywords: Siolact feed additive, probiotics, aluminosilicates, broiler chickens, body weight, blood, biochemical indicators

Poultry farming is one of the most intensive and dynamically developing sectors of the country's agroindustrial complex, playing a key role in providing the population with high-quality food products. The Decree of the President of the Russian Federation No. 145 dtd. February 28, 2024 On the Strategy for Scientific and Technological Development of the Russian Federation defines scientific and technological priorities aimed, among other things, at ensuring Russia's food independence. In this area, special attention is paid to innovations in feed production, animal breeding and genetics, veterinary medicine, and the processing and storage of agricultural products. Therefore, the development and implementation of balanced diets and dietary supplements, as well as modern pharmacological agents for the prevention and treatment of diseases in farm animals, are priority areas of research [1—3].

In the context of this problem, the use of probiotics (Greek *pro* — for and *bios* — life) in animal husbandry, consisting of microorganisms that have a positive effect on the health of the host organism, holds promise. The research indicates that the use of probiotics can reduce the incidence of diseases at poultry farms by increasing the poultry resistance to pathogenic microorganisms. Furthermore, probiotics help normalize intestinal microflora and improve digestive processes, which leads to more efficient use of feed and, consequently, to a reduction in production costs. During the rearing of young poultry, probiotics demonstrate their efficacy in increasing body weight gain, which is due to their ability to stimulate metabolic processes aimed at protein synthesis and muscle growth. Thus, the use of probiotics is an important tool in modern intensive poultry farming technologies aimed at increasing the productivity and economic efficacy of production [4—8].

Aluminosilicate minerals are considered effective agents widely used in animal husbandry. This class of natural compounds possesses a unique set of physicochemical properties, including high adsorption and catalytic activity, ion exchange capacity and others. The presence of biologically active substances with diverse pharmacological activity has a significant positive effect on the body's physiological processes. The wide range of biological properties of aluminosilicate minerals determines their effective use in veterinary medicine, agriculture and the food industry [9—11].

Furthermore, the biological effects of aluminosilicate minerals can be significantly enhanced by designing therapeutic and prophylactic agents based on them that possess antitoxic, hepatoprotective, antioxidant, immunomodulatory and other properties capable of potentiating the therapeutic effect in the treatment of various pathological conditions and metabolic disorders [12, 13].

Recently, active research has been conducted aimed at designing multicomponent probiotics supplemented with phytobiotic or mineral substances [14—16].

In light of the above, Krasnodar Veterinary Research Institute, a separate structural division of the FSBSI KRCZ&VM, has designed the probiotic feed additive Siolact, which contains a complex of lacto- and bifidobacteria, a natural aluminosilicate mineral and a plant-based polysaccharide.

The research objective was to assess the effect of the feed additive Siolact on the productivity and biochemical blood indicators of broiler chickens.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted at the vivarium of the FSBSI KRCZ&VM using *Arbor Acres* broiler chickens. Sixty poultry were used in the experiment, divided into two groups of 30 poultry (experimental and control) each, using the pair-analog principle. All chickens were kept in identical groups in cages. During the first three days of life (the equalization period), the poultry received pelleted prestarter feed. From days 5 to 14, they received the compound feed Start, from day 15 — Rost, and from day 28 until slaughter at 42 days — Finish. All compound feeds were balanced in nutrients, vitamins, amino acids and microelements. The experimental group of chickens received the feed additive Siolact (0.1 % of the feed weight) from 5 to 42 days of age, while the control group received only the basal diet.

The growth rate of broiler chickens was assessed based on changes in body weight on the 5th, 14th, 28th

and 42nd days of age. Clinical condition and livability were monitored daily. Blood samples were collected from 10 poultry from each group at the end of the experiment for laboratory testing. A number of biochemical indicators were determined using a *Vitalab Flexor* automated analyzer.

The statistical analysis of the study results was performed by calculating the arithmetic mean (M) and the standard error of the arithmetic mean (m), and presented as $M \pm m$. The differences between the experimental and control groups were assessed using the Student's t-test.

STUDY RESULTS

The studies revealed that adding the feed additive Siolact to the diet of broiler chickens resulted in an increased body weight gain (Fig. 1).

At the beginning of the experiment, the poultry in both the experimental and control groups were characterized by practically identical background body weight. In the experimental chickens, the average body weight in the group was 156.4 ± 1.26 g, while in the control group it was 155.9 ± 1.14 g.

By the end of the experiment (on day 42), the experimental group demonstrated significantly higher results in body weight gain, reaching values of 2459.3 ± 20.61 g, while in the control group the mean value was 2351.6 ± 18.43 g.

The analysis of the dynamics of body weight indicators of chickens revealed differences between the groups at all control points of the gravimetric studies — in favor of broilers receiving siolact. Moreover, on day 14 of the experiment, intergroup differences were insignificant, amounting to 1.16 %. On day 28, the gap increased to 4.25 %, and on day 42, to 4.57 % ($p \leq 0.05$). This indicates a cumulative effect during the initial period of probiotic complex administration and a subsequent stable positive effect of siolact on broiler chicken growth.

When assessing poultry survivability, it was found that the experimental group had a 100 % survival rate over the entire experiment, demonstrating the broilers' high resilience to stress factors and infections. In the control group, two broilers died, representing 6.7 % of the total.

At the end of the experimental period, biochemical indicators characterizing the pharmacological effect of the feed additive Siolact on the main metabolic processes were determined in the blood serum of broiler chickens. Fig. 2 shows the determined indicators of carbohydrate and protein metabolism in the blood serum of broiler chickens.

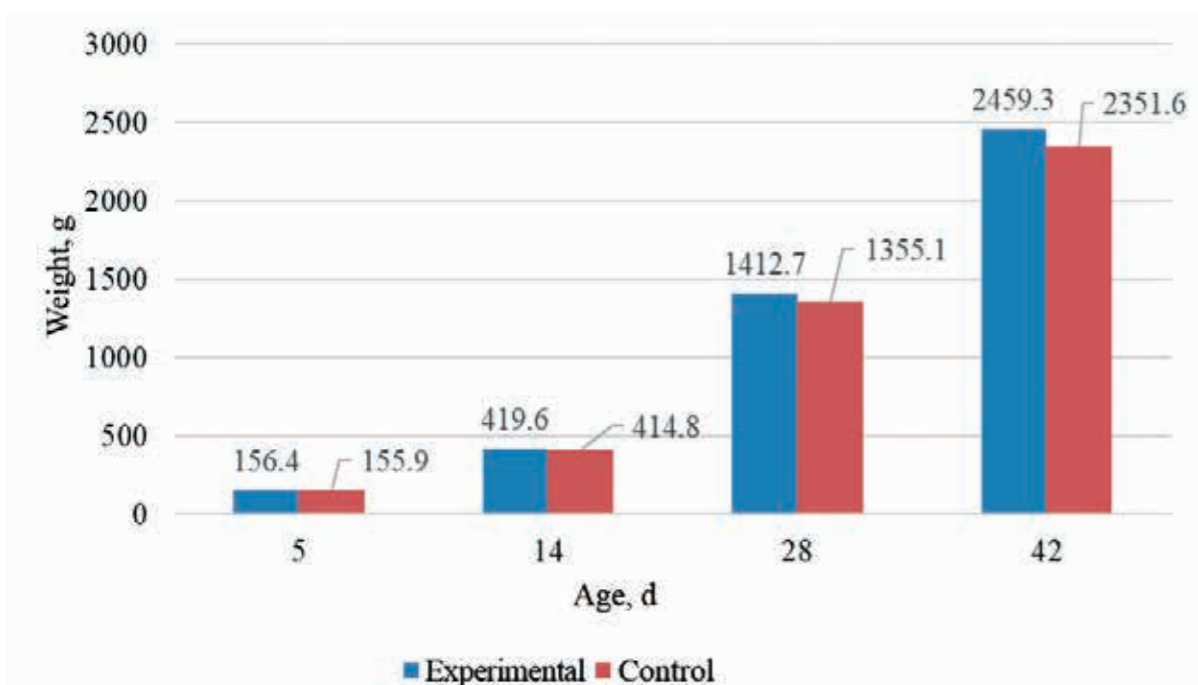


Fig. 1. Effect of the feed additive Siolact on body weight dynamics in broiler chickens

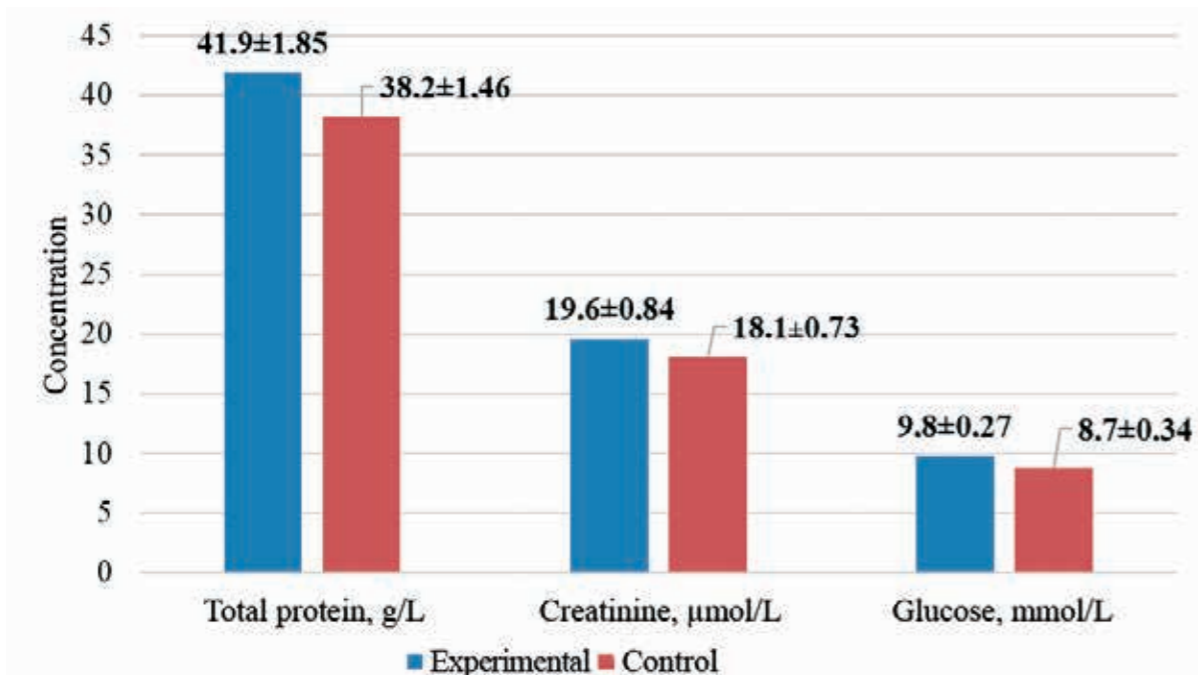


Fig. 2. Effect of the feed additive Siolact on the carbohydrate-protein metabolism indicators in the blood serum of broiler chickens (M ± m; n = 10)

The analysis of the obtained data revealed that the total protein level in the blood serum of the chickens in the experimental group was by 9.68 % ($p \leq 0.05$) higher than that of the control poultry. The difference between the groups in creatinine concentration was 8.28 %, and in glucose concentration — 12.6 % ($p \leq 0.01$), favoring the experimental broilers.

No significant differences were found in the serum cholesterol and triglyceride levels of the chickens between the groups. In the experimental group, cholesterol concentrations were 2.38 ± 0.14 mmol/L and triglyceride concentrations were 0.26 ± 0.05 mmol/L, while in the control group, these values were 2.35 ± 0.11 mmol/L and 0.28 ± 0.03 mmol/L, respectively.

The main hepatic indicator enzymes are alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). The results of studies of these enzymes in the blood serum of broiler chickens are shown in Fig. 3.

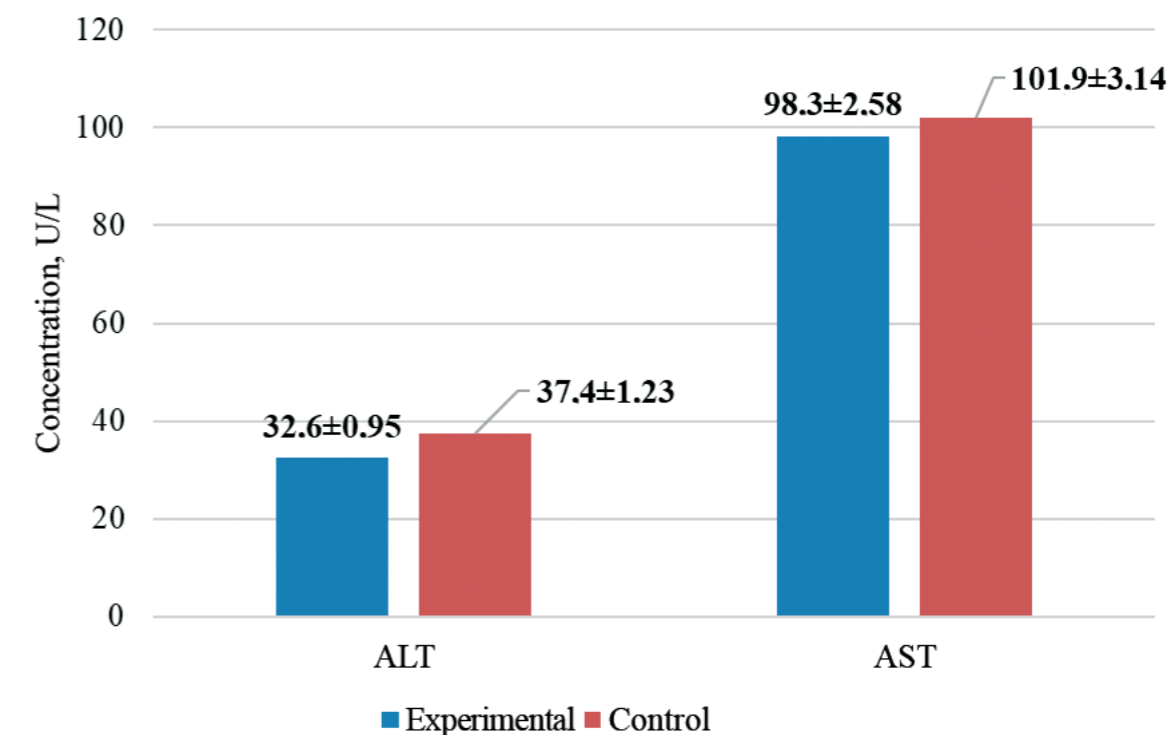


Fig. 3. Effect of the feed additive Siolact on the activity of aminotransferases in the blood serum of broiler chickens (M ± m; n = 10)

The conducted studies revealed that in the group of broiler chickens fed Siolact under experimental conditions, a significant decrease in the ALT activity was observed, indicating improved hepatocyte health in the experimental poultry.

The difference between the groups was 12.83 % ($p \leq 0.01$). The changes in the AST activity were insignificant, amounting to 3.51 % in favor of the experimental poultry.

CONCLUSION

Thus, the conducted studies have established that the administration of the feed additive Siolact into the diet of broiler chickens has a positive effect on metabolism, manifested by improved protein and carbohydrate metabolism, as well as liver health markers. The pharmacological action of Siolact leads to increased livability and weight gain in poultry.

REFERENCES

1. Kotarev V. I. Metabolic status of broilers of the parent flock, hatching qualities of eggs and resistance of chickens obtained from them in various periods of productive

use / V. I. Kotarev, L. V. Lyadova, L. I. Denisenko [et al.] // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2023. — No. 3 (24). — P. 40—55. doi: 10.17238/issn2541-8203.2023.3.40

2. Borisenko A. A. Promising research for the implementation of the new strategy for scientific and technological development of the Russian Federation: Monograph / A. A. Borisenko, A. A. Borisenko, E. K. Vasilyeva [et al.] // Saint Petersburg: National Humanitarian Research Institute NATSRVZVITIE, 2024. — 80 p. doi: 10.37539/M240405.2024.87.95.001

3. Altukhov A. I. Food security of Russia in the context of global challenges / AI Altukhov // Moscow: Federal Research Center for Agrarian Economics and Social Development of Rural Areas — All-Russian Research Institute of Agricultural Economics, 2024. — 576 p. — ISBN978—5—00227—311—9.

4. Markin Yu. A reasonable alternative to antibiotics. Probiotics in diets for poultry / Yu. Markin, N. Nesterov // Zhivotnovodstvo Rossii (Animal Husbandry of Russia). — 2019. — No. S3. — P. 35—38. doi: 10.25701/ZZR.2019.64.87.009

5. Shakhov A. G. Effect of the administration of the probiotic “Pentaprol” to sows that have suffered from postpartum diseases on the immune status of piglets reared under them / A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, V. N. Kotsarev [et

al.] // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2025. — No. 2 (31). — P. 97—110.

6. Popov V. S. Biologically active additives for animals: beneficial properties, types and application (review) / V. S. Popov, N. V. Samburov, O. A. Gryaznova, G. A. Svazlyan // Vestnik Kurskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii (Bulletin of Kursk State Agrarian Academy). — 2025. — No. 2. — P. 159—165.

7. Abd El-Hack M. E. Probiotics in poultry feed: A comprehensive review / M. E. Abd El-Hack, M. T. El-Saadony, M. E. Shafi, et al. // J. Anim Physiol Anim Nutr (Berl). — 2020. — Vol. 104 (6). — P. 1835—1850. doi: 10.1111/jpn.13454

8. Jeni R. E. Probiotics and potential applications for alternative poultry production systems / R. E. Jeni, D. K. Dittoe, E. G. Olson, et al. // Poult Sci. — 2021ю — Vol. 100 (7). — P. 101156. doi: 10.1016/j.psj.2021.101156

9. Semenenko M. P. Clinical pharmacology of drugs based on natural aluminosilicates: monograph / M. P. Semenenko, E. V. Rogaleva, A. G. Koshchaev, E. V. Kuzminova // Krasnodar: Kuban State Agrarian University named after I. T. Trubilin, 2020. — 228 p. doi: 10.34617/x0yx-zp69

10. Srasra E. Bentonite Clays for Therapeutic Purposes and Biomaterial Design / E. Srasra, Bekri-Abbes I. // Curr Pharm Des. — 2020; — Vol. 26 (6): — P. 642—649. doi: 10.2174/1381612826666200203144034

11. Lee J. Y. Regenerative and anti-inflammatory effect of a novel bentonite complex on burn wounds / J. Y. Lee, H. N. Suh, K. Y. Choi, et al. // Vet Med Sci. — 2022. — Vol. 8 (6). — P. 2422—2433. doi: 10.1002/vms3.908

12. Tyapkina E. Rational use of drugs in veterinary medicine: a tutorial / E. Tyapkina, L. Khakhov, M. Semenenko [et al.] // Krasnodar Veterinary Research Institute, 2014. — 57 p.

13. de Oliveira L. H. Montmorillonite with essential oils as antimicrobial agents, packaging, repellents, and insecticides: an overview / L.H. de Oliveira, P. Trigueiro, J.S.N., et al. // Colloids Surf B Biointerfaces. — 2022. — Vol. 209 (Pt 2). — P. 112186. doi: 10.1016/j.colsurfb.2021.112186

14. Yurina N. A. Experience of combined use of sorbents and probiotics in rearing poultry / N. A. Yurina, A. A. Danilova, V. A. Ovsepyan // Vestnik Ulyanovskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii (Bulletin of Ulyanovsk State Agrarian Academy). — 2021. — No. 2 (54). — P. 228—233. doi: 10.18286/1816-4501-2021-2-228-233

15. Kotarev V. I. Effect of an enterosorbent with phyto- and probiotic properties on morphometric and structural indicators of the liver during various periods of raising broiler chickens / V. I. Kotarev, E. V. Mikhaylov, M. Yu. Syromyatnikov [et al.] // Bulletin of Veterinary Pharmacology. — 2024. — No. 2 (27). — P. 80—93. doi: 10.17238/issn2541-8203.2024.2.80

16. Salahi A. Beyond probiotics, uses of their next-generation for poultry and humans: A review / A. Salahi, W. A. Abd El-Ghany // J. Anim Physiol Anim Nutr (Berl). — 2024. — Vol. 108 (5): — P. 1336—1347. doi: 10.1111/jpn.13972

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. R. Ratnikov — Applicant for a Degree;

M. P. Semenenko — Doctor of Veterinary Sciences, Head of the Department;

E. V. Kuzminova — Doctor of Veterinary Sciences, Chief Scientific Associate.

The article was submitted 14.09.2025.

Научная статья

УДК 619:636.2:577.175.62

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.008

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА РОСТ ФОЛЛИКУЛОВ И СТЕРОИДОГЕНЕЗ В ЯИЧНИКАХ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Никита Михайлович Лозовой

Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I, Воронеж, Россия, nikit.lozovoi@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0002-0029-0143>

Аннотация. В статье представлены результаты сравнительной оценки изменений размеров фолликулов в яичниках, выполненной с помощью клиническо-эхографического исследования, уровня секреции эстрадиола 17-β, определяемого методом ИФА в сыворотке крови, а также ультразвукографического контроля времени овуляции после действия прогестеронсодержащих внутривлагалищных имплантов с добавленными дозировками мелатонина, применяемых в составе схемы синхронизации половой охоты у молочных коров. В группах, где применялись импланты с мелатонином в дозировках 500 и 700 мг, размер предовуляторных фолликулов был на 8,0 и 10,1 % больше по сравнению с контролем. Также, биологическая активность данного пептида повлияла на функцию гранулёзных клеток, на что указывает повышение секреции эстрадиола на 15,0 и 33,7 % относительно группы контроля, в гормонально индуцированную стадию полового возбуждения. Следствием образования более крупных фолликулов и оптимизации стероидогенеза в яичниках стало своевременное наступление овуляции в ответ на инъекцию гонадолиберина.

Ключевые слова: внутривлагалищные импланты, молочные коровы, яичники, фолликулогенез, мелатонин, эстрадиол

Одной из серьезных проблем в современном скотоводстве является низкая результативность искусственного осеменения, что увеличивает период бесплодия животных и значительно снижает экономическую эффективность отрасли [1]. Формирование крупных стад высокопродуктивных животных сопровождается снижением их репродуктивной способности [2]. Известно, что паратипические факторы, связанные со спецификой содержания и эксплуатации коров, могут приводить к стрессу и нарушению метаболических процессов. Напряжённое течение гомеостаза организма может приводить к угнетению функции гранулёзных клеток фолликулов яичника, ухудшая динамику фолликулярного роста и продукцию эстрадиола [3]. Снижение оплодотворяемости зачастую связано с замедлением роста фолликулов и задержкой овуляции или её отсутствием [4, 5]. Известно, что поздний выход яйцеклетки может резко снижать результативность осеменения, так как средняя продолжительность жизни сперматозоидов в половом тракте коров, находящихся в стадии половой охоты, составляет 24 часа [5]. В связи с этим,

всё большее внимание уделяется разработке и применению улучшающих метаболизм препаратов, и проверке их влияния на состояние репродуктивной системы животных в производственных условиях [6]. По мнению ряда авторов применение мелатонина в ветеринарной акушерско-гинекологической практике имеет определённый потенциал [3, 7]. Данный гормон способен снижать влияние повреждающих факторов на репродуктивную систему, улучшая функциональное состояние его над [8]. Для решения проблемы низкой биодоступности гормона шишковидной железы при пероральном и инъекционном введении [9] актуальна разработка альтернативных путей доставки действующих веществ, в том числе внутривлагалищных имплантов, содержащих прогестерон и мелатонин. Применение такого подхода обеспечивает стабильное поступление гормонов в организм животных на протяжении всего времени контакта препарата со слизистой оболочкой.

В связи с этим, целью настоящего исследования является изучение влияния внутривлагалищного введения разных дозировок мелатонина на дина-

© Лозовой Н. М., 2025

мику роста фолликулов, время овуляции и секрецию эстрадиола в гормонально индуцированную стадию возбуждения полового цикла у молочных коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования служили клинически здоровые лактирующие коровы красно-пёстрой породы 2—4 лактации, содержащиеся привязно, в четырёхрядном коровнике. На момент исследования средняя молочная продуктивность была — 24 литра в день; количество дней в доении составляло в среднем 120—125. Основу кормления составляли сено, силос, а также концентрированные корма. В опыт были включены коровы, не оплодотворившиеся при первичном и вторичном осеменении в гормонально индуцированную охоту. Животные были распределены на 4 группы по принципу пар аналогов по 8—9 голов в каждой. Для синхронизации половой охоты и овуляции всем животным применялся протокол Ovsynch, включающий назначения гонадолиберина (25 мкг аларелина ацетата) в начале программы и применения простагландина $F_{2\alpha}$ (500 мкг клопростенола внутримышечно) через 7 дней, а также стимуляцию овуляции последующим введением аларелина (через 56 часов после инъекции простагландина). В качестве гонадолиберина использовался препарат Сурфагон (ООО «НПК Асконт»), а простагландина $F_{2\alpha}$ — Эстрофан (АО «Биовет»). Дополнительно к инъекциям гормональных препаратов всем животным апплицировали силиконовые внутривлагалищные импланты собственной разработки, при этом животным контрольной группы ($n = 9$) назначили препарат, содержащий только 1,75 г прогестерона, а коровам трёх опытных групп: первая ($n = 8$), вторая ($n = 8$), и третья ($n = 9$) с добавлением разных дозировок мелатонина: 300 мг, 500 мг и 700 мг соответственно.

Для мониторинга динамики изменений стероидогенеза в яичниках кровь получали от 3-х животных каждой группы в день введения имплантов (0 день) и далее в 1, 4 дни после введения, на 7 сутки (спустя 8 часов после их извлечения), а также перед искусственным осеменением на 10 день. В сыворотке крови определяли содержание эстрадиола методом иммуноферментного анализа с помощью набора готовых реактивов «К208 ИФА Эстрадиол» производства фирмы «Хема-Медика» на микропланшетном фотометре AMR-100T при длине волны 450 нм.

Изменения размеров доминантных фолликулов в гонадах и контроль времени овуляции регистрировали с помощью сканера Easi-Scan (BCFTechnologies), оснащенного линейным интравидеальным датчиком с частотой 7,5 МГц. УЗИ проводили, начиная с 6-го дня после установки имплантов, в течение 6 дней с интервалом 12 часов у всех подопытных коров.

Измерение диаметра доминантных фолликулов определяли по полученным с экрана сканера изображениям с размерной сеткой. Полученные данные были статистически обработаны с помощью компьютерного ПО Microsoft Office (Microsoft Excel) с учетом средних (М) и стандартных ошибок (m).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изменения размеров доминантных фолликулов в течение эксперимента представлены в таблице 1.

Согласно данным таблицы, исходный размер фолликулов в яичниках коров контрольной и опытных групп не имел значительных отличий и составлял $9,88 \pm 0,52$ и $10,13 \pm 0,50$ мм.

Через 12 и 24 часа от начала мониторинга интенсивной динамики фолликулогенеза не наблюдалось.

После извлечения имплантов и введения простагландина $F_{2\alpha}$ рост фолликулов активизировался. Так, в контрольной и в первой опытной группах ко дню введения аларелина (72 час) исследуемые структуры увеличились на 33,5 и 34,8 % относительно исходного размера соответственно, а их диаметр составил $13,19 \pm 0,46$ и $13,56 \pm 0,42$ мм.

Во второй и третьей опытных группах динамика фолликулярного роста носила более интенсивный характер. Так, к 60 часу наблюдения во второй группе исследуемые структуры достигли $13,38 \pm 0,52$ мм, увеличившись на 33,0 %, а в третьей прирост составил 37,0 % и диаметр — $13,88 \pm 0,54$ мм ($p \leq 0,05$), что достоверно превосходило значения контрольной группы на 12,5 %.

К 72 часу, в группах, где применялись импланты, содержащие 500 и 700 мг мелатонина доминантные фолликулы также были более крупными. Их размеры составляли — $14,44 \pm 0,49$ мм ($p \leq 0,05$) во второй группе и $14,81 \pm 0,55$ ($p \leq 0,05$) в третьей и разница с показателем группы контроля составила 9,1 и 11,6 %, а увеличение в диаметре с момента начала УЗИ мониторинга достигло 43,5 и 46,2 % соответственно.

Таблица 1

Влияние разных доз мелатонина на рост фолликулов у коров

группа	доминантный фолликул	Время от начала УЗИ контроля, часов									
		0	12	24 извлечение имплантов и введение клопростенола	36	48	60	72 введение аларелина	84	96 искусственное осеменение	104
Первая $n = 8$	диаметр, мм	$10,06 \pm 0,64$	$10,37 \pm 0,63$	$10,50 \pm 0,50$	$11,38 \pm 0,62$	$11,94 \pm 0,56$	$12,63 \pm 0,47$	$13,56 \pm 0,42$	$14,50 \pm 0,54$	$16,00 \pm 0,48$	$17,06 \pm 0,56$
	увеличение %	0	+3,08	+4,37	+13,12	+18,69	+25,55	+34,79	+44,13	+59,04	+69,58
Вторая $n = 8$	диаметр, мм	$10,06 \pm 0,52$	$10,50 \pm 0,50$	$10,72 \pm 0,54$	$11,44 \pm 0,58$	$12,19 \pm 0,60$	$13,38 \pm 0,52$	$14,44 \pm 0,49^*$	$15,56 \pm 0,56^*$	$16,94 \pm 0,58^*$	$18,00 \pm 0,66$
	увеличение %	0	+4,37	+6,56	+13,72	+21,17	+33,00	+43,54	+54,67	+68,39	+78,93
Третья $n = 9$	диаметр, мм	$10,13 \pm 0,50$	$10,56 \pm 0,62$	$10,89 \pm 0,54$	$11,61 \pm 0,52$	$12,44 \pm 0,56$	$13,88 \pm 0,54^*$	$14,81 \pm 0,55^*$	$15,94 \pm 0,58^{**}$	$17,28 \pm 0,50^{**}$	$18,38 \pm 0,60^*$
	увеличение %	0	+4,24	+7,50	+14,61	+22,80	+37,02	+46,20	+57,35	+70,58	+81,44
Контроль $n = 9$	диаметр, мм	$9,88 \pm 0,52$	$10,13 \pm 0,55$	$10,38 \pm 0,46$	$11,12 \pm 0,48$	$11,56 \pm 0,52$	$12,25 \pm 0,55$	$13,19 \pm 0,46$	$14,13 \pm 0,54$	$15,56 \pm 0,42$	$16,61 \pm 0,53$
	увеличение %	0	+2,53	+5,06	+12,55	+17,00	+23,99	+33,50	+43,02	+57,49	+68,12

* $p \leq 0,05$ ** $p \leq 0,01$

Введение подопытным животным аларелина в 9 день, стимулировало выделение ФСГ и ЛГ гипофизом, что ускоряло достижение фолликулами предовуляторной стадии. Сравнивая изменения размера фолликулов, произошедшие к 104 часу от начала наблюдения, отметили меньшую интенсивность роста в контрольной и первой группах, так разме-

ры данных структур увеличились на 68,1 и 69,6 % соответственно и их диаметры перед овуляцией составили $16,61 \pm 0,53$ и $17,06 \pm 0,56$ мм.

Во второй группе был зарегистрирован более интенсивный рост фолликулов, они увеличились на 54,7 % к 84 часу, достигнув диаметра $15,56 \pm 0,56$ мм ($p \leq 0,05$) и на 68,4 % к 96 часу,

составив $16,94 \pm 0,58$ мм ($p \leq 0,05$), что достоверно отличалось от значений контрольной группы — $14,13 \pm 0,54$ и $15,56 \pm 0,42$ мм в тот же период. К 104 часу размер преовуляторных фолликулов в этой группе достиг $18,00 \pm 0,66$ мм в диаметре, что на 8,0 % ($16,61 \pm 0,53$ мм) больше по сравнению с контрольной группой.

Наибольшая активность роста структур после введения аларелина установлена в третьей группе, где фолликулы яичников увеличивались на 57,4 %

к 84 и на 70,6 % к 96 часу наблюдения. К 104 часу диаметр исследуемых структур в данной группе достиг $18,38 \pm 0,60$ мм ($p \leq 0,05$), достоверно превышая показатель группы контроля на 10,1 %.

Таким образом, в группе, где применялись импланты с мелатонином в дозировках 500 и 700 мг наблюдалась лучшая интенсивность фолликулярного роста, приводящая к образованию преовуляторных структур более крупного размера, чем в контрольной и первой группах (рис. 1).

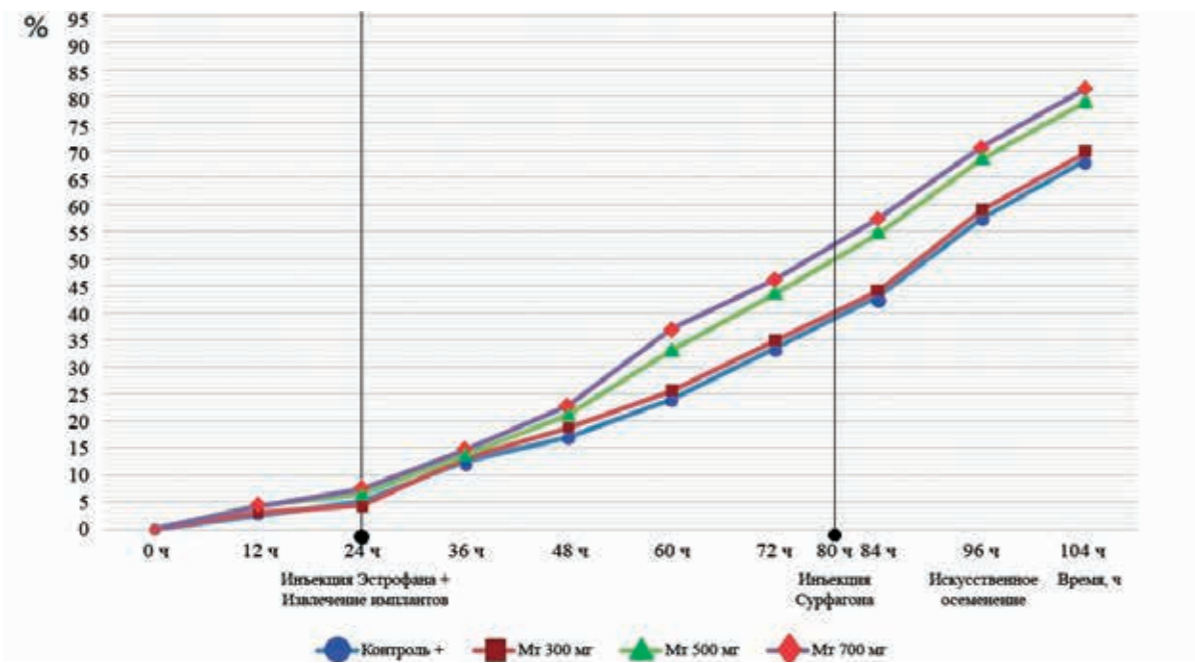


Рис. 1. Динамика роста фолликулов (увеличение% относительно исходного диаметра) в период с 6 по 10 день программы синхронизации половой охоты

При изучении влияния мелатонина на секреторную функцию яичников нами определен уровень эстрадиола-17β в крови коров (табл. 2).

Анализ изменения концентрации эстрадиола-17β позволил определить, что более высокие дозировки мелатонина, положительно повлияли не только на качество фолликулов, но и на метаболизм эстрадиола, выделяемого в гонадах в стадию возбуждения.

Введение имплантов привело к снижению концентрации эстрадиола, что, по-видимому, связано с прекращением выработки ФСГ в гипоталамусе из-за действия прогестерона и, как следствие отсутствием роста фолликулов и секреции ими гормона. Так, в контрольной группе спустя сутки действия имплантов концентрация снизилась на 16,1 % (с $0,31 \pm 0,09$ до $0,26 \pm 0,08$ нмоль/л), в первой опытной — на 16,0 % (с $0,25 \pm 0,06$ до $0,21 \pm 0,10$), во второй опытной — на 20,0 %

(с $0,30 \pm 0,17$ до $0,24 \pm 0,01$) и в третьей — на 15,4 % (с $0,26 \pm 0,07$ до $0,22 \pm 0,08$). К 4-му дню действия препаратов концентрация эстрадиола достигла минимума во всех группах, а затем повысилась к 7-му дню, когда импланты извлекались и путём введения клопростенола индуцировалась стадия возбуждения, после чего уровень гормона возрастал. В группах, где применялись импланты с мелатонином наблюдалась лучшая реакция яичников на стимуляцию, что выражалось в виде повышения концентрации эстрадиола 17-β в организме. Так, в первой группе уровень стероидного гормона от 4-го к 7-му дню возрос на 25,0 % (с $0,20 \pm 0,05$ до $0,25 \pm 0,03$ нмоль/л), во второй — на 47,4 % (с $0,19 \pm 0,09$ до $0,28 \pm 0,01$) и в третьей — на 50,0 % (с $0,22 \pm 0,10$ до $0,33 \pm 0,03$ нмоль/л) ($p \leq 0,05$). Следовательно, динамика повышения продукции эстрадиола в контрольной группе в тот же период носила самый низкий харак-

тер, где наблюдалось повышение концентрации на 14,3 % (с $0,21 \pm 0,07$ до $0,24 \pm 0,03$ нмоль/л). Оценка данного показателя в день введения спермы, свидетельствовала о более высоком уровне продукции гормона в группе животных, где применялись импланты с добавлением 700 мг мелатонина. В контрольной и первой опытной группах полученные значения были практически идентичны: $0,37 \pm 0,14$ и $0,38 \pm 0,13$ нмоль/л соответственно. Во второй группе разница концентрации гормона с показателем контроля была 15,0 %, со-

ставляя $0,43 \pm 0,19$ нмоль/л, а в третьей — 33,7 % ($0,52 \pm 0,20$ нмоль/л). По-видимому, мелатонин положительно повлиял на функцию гранулёзных клеток в фолликулах яичника, на что указывают повышение динамики фолликулярного роста и секреции эстрадиола после извлечения имплантов у коров второй и третьей групп. Таким образом, использование мелатонина в дозах 500 и 700 мг позволяет оптимизировать стероидогенез в яичниках в период прохождения животными гормональной программы синхронизации охоты и овуляции.

Таблица 2

Влияние применения прогестеронсодержащих имплантов с разной концентрацией мелатонина при гормональной синхронизации охоты и овуляции и в день искусственного осеменения на концентрацию в крови эстрадиола-17β (нмоль/л)

Группа	Доза мелатонина, мг	День взятия крови в период синхронизации половой охоты				
		0 (апликация имплантов)	1	4	7 (извлечение имплантов)	10 (ИО)
Первая n = 3	300	$0,25 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,10$	$0,20 \pm 0,05$	$0,25 \pm 0,03$	$0,38 \pm 0,13$
Вторая n = 3	500	$0,30 \pm 0,17$	$0,24 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,09$	$0,28 \pm 0,01$	$0,43 \pm 0,19$
Вторая n = 3	700	$0,26 \pm 0,07$	$0,22 \pm 0,08$	$0,22 \pm 0,10$	$0,33 \pm 0,03^*$	$0,52 \pm 0,20$
Контрольная n = 3	—	$0,31 \pm 0,09$	$0,26 \pm 0,08$	$0,21 \pm 0,07$	$0,24 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,14$

* $p \leq 0,05$

Важным показателем адекватного ответа гипофиза на стимуляцию выделения ЛГ в ответ на инъекцию гонадолиберина, является своевременное наступление овуляции [10]. Результаты ультразвукографического мониторинга, проведённого с целью контроля времени овуляционного ответа после введения аларелина представлены в таблице 3.

Полученные данные свидетельствуют о том, что спустя 24 часа после введения гонадолиберина (8 часов с момента введения спермы) овуляция регистрировалась у 33,3 % животных из контрольной, у 37,5 % первой, второй и у 55,5 % третьей опытных групп. Дальнейший контроль по прошествии 36 часов от введения аларелина (20 часов после осеменения) показал, что в контрольной и первой опытной группе, овуляция произошла у 8 из 9 животных (88,9 %), и 7 из 8 (87,5 %) коров соответственно. В группах, где применялись имплан-

ты с дозировками 500 и 700 мг мелатонина у второй и третьей контролируемая стадия в тот же период наступила у всех животных. Наибольшая активность продукции эстрадиола в фолликулах яичников в группе животных, где применялось 700 мг мелатонина, могла повлиять на интенсивность преовуляционного всплеска ЛГ после введения гонадотропина, что отразилось на своевременности овуляционного ответа. Так, спустя 8 часов после введения спермы данная стадия в третьей опытной группе наступила у 5 животных, в отличие от 3-х в других группах [10]. Также, коррекция стероидогенеза во второй и третьей группах обеспечила 100 % завершение стадии возбуждения в виде овуляции в промежутке 20 часов после искусственного осеменения, в отличие от контрольной и первой опытной с результатами 88,9 и 87,5 % соответственно.

Таблица 3

Контроль времени овуляции через 24 и 36 часов после введения Сурфагона

Группа	Доза мелатонина, мг	Время после введения аларелина ацетата				Итого %
		24 ч.		36 ч.		
		Кол-во животных		Кол-во животных		
		голов	%	Кол-во	%	
Первая <i>n</i> = 8	300	3	37,50	4	50,00	87,50
Вторая <i>n</i> = 8	500	3	37,50	5	62,50	100
Третья <i>n</i> = 9	700	5	55,50	4	44,50	100
Контрольная <i>n</i> = 9	—	3	33,33	5	55,56	88,89

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, дополнительное введение мелатонина в дозировках 500 и 700 мг в состав прогестеронсодержащих имплантов, применяемых в программах синхронизации половой охоты и овуляции, вызывает образование более крупных преовуляторных фолликулов в яичниках и обеспечивает положительный овуляторный ответ у всех обработанных животных. Также, биологическая активность нейропептида при его содержании в дозе 700 мг положительно повлияла на функцию гранулёзных клеток, на что указывает повышение секреции эстрадиола 17-β в гормонально индуцированную стадию полового возбуждения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ.

1. Воспроизводство стада-основа эффективного производства молока / И. А. Шкуратова, М. В. Ряпосова, Е. Н. Шилова [и др.]. — Екатеринбург: Ситипринт, 2020. — 110 с. — ISBN978—5—907215—51—1.
2. Каплунов В. Р. Причины низкой репродуктивной способности и выбытия молочных коров / В. Р. Каплунов, Г. Ф. Медведев, О. Н. Кухтина // Животноводство-ветеринарная медицина. — 2023. — № 2. — С. 3—10.
3. Abdelnaby E. A. Melatonin and CIDR improved the follicular and luteal haemodynamics, uterine and ovarian arteries vascular perfusion, ovarian hormones and nitric oxide in cyclic cows. / E. A. Abdelnaby, A. M. Abo El-Maaty // *Reprod. Domest. Anim.* 2021 Mar;56(3):498—510.
4. Нежданов А. Г., Сафонов В. А., Лободин К. А., Венцова И. Ю. Нарушение воспроизводительной функции у высокопродуктивных молочных коров как след-

ствие расстройств метаболических процессов // Проблемы биологии продуктивных животных. — 2011. — № S4. — С. 91—93.

5. Никитин В. В. Диаметр овуляторного фолликула, индуцированного экзогенным ГнРГ, как предиктор репродуктивного статуса высокопродуктивных коров / В. В. Никитин, К. В. Племяшов, Е. А. Корочкина // *Ветеринария*. — 2024. — № 5. — С. 32—35. — DOI 10.30896/0042-4846.2024.27.5.32-35

6. Михалев В. И. Гонадотропные и антиоксидантные препараты в профилактике эмбриональной смертности у коров / В. И. Михалев, Е. Г. Лозовая, В. А. Бутко, А. Г. Нежданов // Саратовский форум Ветеринарной медицины и продовольственной безопасности Российской Федерации: Материалы Национальной научно-практической конференции, посвящается 100-летию факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ им. Н. И. Вавилова, Саратов, 03—04 сентября 2018 года. — Саратов: б. и., 2018. — С. 117—119.

7. Tamura H. The importance of melatonin in assisted reproductive technologies and ovarian aging. / H. Tamura, M. Jezaki, M. Tanabe, Y. Shirafuta, Y. Mihara, M. Shinagawa, I. Tamura, R. Maekawa, S. Sato, T. Taketani, A. Takasaki, R. J. Reiter and N. Sugino // *Int J Mol Sci.* — 2020. — 21(3) — P. 1135.

8. Zhao R. Melatonin in animal husbandry: functions and applications / R. Zhao, Y. Bai, F. Yang // *Front Vet Sci.* 2024 Sep 2; 11: 1444578. doi: 10.3389/fvets.2024.1444578. PMID: 39286597; PMCID: PMC11402905

9. Abulaiti A. Administration of melatonin prior to modified synchronization protocol improves the productive and reproductive efficiency of Chinese crossbred buffaloes in low breeding season. / Abulaiti A, Nawaz M, Naseer Z,

Ahmed Z, Liu W, Abdelrahman M, Shaukat A, Sabek A, Pang X, Wang S. // *Front Vet Sci.* 2023 May 12;10:1118604. doi: 10.3389/fvets.2023.1118604. PMID: 37261111; PMCID: PMC10228501

10. Нежданов, А. Г. Гормональный контроль за воспроизводством крупного рогатого скота / А. Г. Нежданов, К. А. Лободин, Г. П. Дюльгер // *Ветеринария*. — 2008. — № 1. — С. 3—7.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Н. М. Лозовой — аспирант кафедры акушерства, анатомии и хирургии.

Статья поступила в редакцию 29.08.2025.

Original article
UDC 619:636.2:577.175.62

EFFECT OF MELATONIN ON FOLLICLE GROWTH AND STEROIDOGENESIS IN BOVINE OVARIES

Nikita Mikhailovich Lozovoy

Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great,
Voronezh, Russia, nikit.lozovoi@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0002-0029-0143>

Abstract. This article presents the results of a comparative assessment of changes in ovarian follicle size using clinical and echographic examination, the level of 17β -estradiol secretion determined by ELISA in serum, and ultrasonographic monitoring of ovulation time after the use of progesterone-containing intravaginal implants with the addition of various doses of melatonin, used as part of a regimen for synchronizing estrus in dairy cows. In the groups that were administered implants with melatonin at doses of 500 and 700 mg, the size of preovulatory follicles was by 8.0 and 10.1 % larger, compared to the control. Furthermore, the biological activity of this peptide affected the function of granulosa cells, as indicated by an increase in estradiol secretion by 15.0 and 33.7 % relative to the control group during the hormonally induced stage of estrus (sexual heat). The formation of larger follicles and optimization of ovarian steroidogenesis resulted in timely ovulation in response to a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) injection.

Keywords: intravaginal implants, dairy cows, ovaries, folliculogenesis, melatonin, estradiol

One of the serious problems in modern cattle breeding is the low efficacy of artificial insemination, which increases the period of animal infertility and significantly reduces the economic efficacy of the industry [1]. The formation of large herds of high yielding animals is accompanied by a decrease in their reproductive capacity [2]. It is known that paratypic factors associated with the specifics of the keeping and use of cows can lead to stress and disruption of metabolic processes. Stressed homeostasis of the body can lead to the suppression of the function of granulosa cells of ovarian follicles, impairing the dynamics of follicular growth and estradiol production [3]. A decrease in fertility is often associated with a slowdown in follicle growth and a delay in ovulation or its absence [4, 5]. It is known that late egg release can dramatically reduce the efficacy of insemination, since the average lifespan of sperm in the reproductive tract of cows in the estrus stage is 24 hours [5]. In this regard, increasing attention is being paid to the design and use of drugs that improve metabolism, and testing their effects on the reproductive system of animals in production conditions [6]. According to a number of authors, the use of melatonin in veterinary obstetrics and gynecology has a certain potential [3, 7]. This hormone is capable of reducing the effect of damaging factors on the reproductive system, improving its functional state [8].

To solve the problem of low bioavailability of the pineal gland hormone when administered orally and by injection [9], the development of alternative routes of delivery of active substances, including intravaginal implants containing progesterone and melatonin, is relevant. The use of this approach ensures a stable supply of hormones to the animal's body throughout the entire period of contact of the drug with the mucous membrane.

In this regard, the research objective is to investigate the effect of intravaginal administration of various doses of melatonin on the dynamics of follicle growth, ovulation time and estradiol secretion in the hormonally induced estrus in dairy cows.

MATERIAL AND METHODS

The study involved clinically healthy lactating Red-Motley cows in their second to fourth lactations, kept tethered in a four-row barn. At the time of the study, average milk production was 24 liters per day. The average number of days in milk was 120—125. The diet consisted of hay, silage and concentrated feed. The study included the cows that failed their primary and secondary inseminations during hormonally induced estrus. The animals were divided into four groups of 8—9 animals each, based on the principle of paired analogues. To synchronize estrus and ovulation,

all animals were administered the Ovsynch protocol, which included the administration of GnRH (25 μ g of alarellin acetate) at the beginning of the program and prostaglandin $F_{2\alpha}$ (500 μ g of cloprostenol intramuscularly) 7 days later.

The ovulation was then stimulated by subsequent administration of alarellin (56 hours after the prostaglandin injection). Surfagon (NPK Askont+ LLC) was used as GnRH, and Estrofan (Biovet JSC) was used as prostaglandin $F_{2\alpha}$.

In addition to hormonal injections, all animals were administered proprietary silicone intravaginal implants. The animals in the control group ($n = 9$) were administered a progesterone-only implant, while the cows in three experimental groups ($n = 8$), ($n = 8$) and ($n = 9$) were administered various doses of melatonin: 300 mg, 500 mg and 700 mg, respectively.

To monitor the dynamics of ovarian steroidogenesis, blood was collected from three animals in each group on the day of implant administration (day 0), then on days 1 and 4 post-implantation, on day 7 (8 hours after implant removal), and before artificial insemination on day 10. The estradiol content in the blood serum was determined by enzyme immunoassay using the ready-made reagent kit K208 IFA Estradiol manufactured by Hema-Medica on an AMR-100T microplate photometer at a wavelength of 450 nm.

The changes in the size of dominant gonadal follicles and ovulation time were recorded using an Easi-Scan scanner (BCF Technologies) equipped with a 7.5 MHz linear intrarectal transducer.

The ultrasound examinations were performed starting on day 6 after implant administration for six days at 12-hour intervals in all experimental cows. The dominant follicle diameter measurements were determined from the images obtained from the scanner screen with a size grid. The data obtained were statistically processed using the Microsoft Office software (Microsoft Excel), taking into account the mean (M) and standard errors (m).

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

According to the table data, the initial follicle size in the ovaries of the cows in the control and experimental groups did not differ significantly, amounting up to 9.88 ± 0.52 mm and 10.13 ± 0.50 mm. No significant increase in folliculogenesis was observed 12 and 24 hours after the start of monitoring.

Follicle growth increased after implant removal and prostaglandin $F_{2\alpha}$ administration. Thus, in the control and experimental groups by the day of alarellin administration (72 hours), the studied struc-

tures had increased by 33.5 and 34.8 % respectively, relative to their initial size, and their diameters were 13.19 ± 0.46 mm and 13.56 ± 0.42 mm.

In the second and third experimental groups, follicular growth dynamics was more intense. By 60 hours of observation, the follicular structures in the second group reached 13.38 ± 0.52 mm, increasing by 33.0 %. In the third group, the increase was 37.0 %, with a diameter of 13.88 ± 0.54 mm ($p \leq 0.05$), significantly exceeding the control group by 12.5 %.

By 72 hours, dominant follicles were also larger in the groups administered the implants containing 500 and 700 mg of melatonin. Their sizes were 14.44 ± 0.49 mm ($p \leq 0.05$) in the second group, and 14.81 ± 0.55 mm ($p \leq 0.05$) in the third one, and the difference with the control group indicator was 9.1 and 11.6 %, and the increase in diameter from the start of ultrasound monitoring reached 43.5 and 46.2 %, respectively.

The administration of alarellin to experimental animals on day 9 stimulated the release of FSH and LH by the pituitary gland, accelerating follicle growth to the preovulatory stage.

Comparing follicle size changes by 104 hours after the start of observation, there was noted a lower growth rate in the control and first groups. The size of these structures increased by 68.1 and 69.6 % respectively, and their diameters before ovulation were 16.61 ± 0.53 and 17.06 ± 0.56 mm.

In the second group, more intensive growth of follicles was recorded: they increased by 54.7 % by 84 hours, reaching a diameter of 15.56 ± 0.56 mm ($p \leq 0.05$) and by 68.4 % by 96 hours, amounting up to 16.94 ± 0.58 mm ($p \leq 0.05$), which was significantly different from the values in the control group — 14.13 ± 0.54 and 15.56 ± 0.42 mm in the same period. By 104 hours, the size of preovulatory follicles in this group reached 18.00 ± 0.66 mm in diameter, which was by 8.0 % (16.61 ± 0.53 mm) more, compared to the control group.

The greatest growth activity after melatonin administration was observed in the third group, where ovarian follicles increased by 57.4 % by 84 hours and by 70.6 % by 96 hours of observation. By 104 hours, the diameter of the examined structures in this group reached 18.38 ± 0.60 mm ($p \leq 0.05$), significantly exceeding the control group by 10.1 %.

Thus, the group administered melatonin implants at doses of 500 and 700 mg demonstrated greater follicular growth intensity, leading to the formation of larger preovulatory structures than in the control and first groups (Fig. 1).

Effect of various doses of melatonin on follicle growth in cows

Table 1

group	dominant follicle	Time from the start of ultrasound monitoring, hours									
		0	12	24 removal of implants and administration of cloprostenol	36	48	60	72 administration of alarelin	84	96 artificial insemina- tion	104
First n = 8	diameter, mm	10.06 ± 0.64	10.37 ± 0.63	10.50 ± 0.50	11.38 ± 0.62	11.94 ± 0.56	12.63 ± 0.47	13.56 ± 0.42	14.50 ± 0.54	16.00 ± 0.48	17.06 ± 0.56
	increase %	0	+3.08	+4.37	+13.12	+18.69	+25.55	+34.79	+44.13	+59.04	+69.58
Second n = 8	diameter, mm	10.06 ± 0.52	10.50 ± 0.50	10.72 ± 0.54	11.44 ± 0.58	12.19 ± 0.60	13.38 ± 0.52	14.44 ± 0.49*	15.56 ± 0.56*	16.94 ± 0.58*	18.00 ± 0.66
	increase %	0	+4.37	+6.56	+13.72	+21.17	+33.00	+43.54	+54.67	+68.39	+78.93
Third n = 9	diameter, mm	10.13 ± 0.50	10.56 ± 0.62	10.89 ± 0.54	11.61 ± 0.52	12.44 ± 0.56	13.88 ± 0.54*	14.81 ± 0.55*	15.94 ± 0.58**	17.28 ± 0.50**	18.38 ± 0.60*
	increase %	0	+4.24	+7.50	+14.61	+22.80	+37.02	+46.20	+57.35	+70.58	+81.44
Control n = 9	диаметр, мм	9.88 ± 0.52	10.13 ± 0.55	10.38 ± 0.46	11.12 ± 0.48	11.56 ± 0.52	12.25 ± 0.55	13.19 ± 0.46	14.13 ± 0.54	15.56 ± 0.42	16.61 ± 0.53
	increase %	0	+2.53	+5.06	+12.55	+17.00	+23.99	+33.50	+43.02	+57.49	+68.12

* p ≤ 0.05
** p ≤ 0.01

While studying the effect of melatonin on ovarian secretory function, we determined the level of 17β-estradiol in the blood of cows (Table 2).

The analysis of changes in 17β-estradiol concentrations revealed that higher melatonin doses had a positive effect not only on follicle quality but also on the metabolism of estradiol secreted in the gonads during estrus.

Implant administration has resulted in a decrease in estradiol concentrations, which is likely due to the

cessation of the FSH production in the hypothalamus due to progesterone and, consequently, the cessation of follicle growth and hormone secretion. Thus, in the control group, after a day of implant action, the concentration decreased by 16.1 % (from 0.31 ± 0.09 to 0.26 ± 0.08 nmol/L), in the first experimental group — by 16.0 % (from 0.25 ± 0.06 to 0.21 ± 0.10), in the second experimental group — by 20.0 % (from 0.30 ± 0.17 to 0.24 ± 0.01) and in the third — by 15.4 % (from 0.26 ± 0.07 to 0.22 ± 0.08). By day 4 of

drug action, the concentration of estradiol reached a minimum in all groups, and then increased by day 7, when the implants were removed and the estrus stage was induced by the introduction of cloprostenol, after which the hormone level increased. In the groups using melatonin implants, a better ovarian response to stimulation was observed, which was expressed as an

increase in the concentration of 17β-estradiol in the body. Thus, in the first group, the level of the steroid hormone from day 4 to day 7 increased by 25.0 % (from 0.20 ± 0.05 to 0.25 ± 0.03 nmol/L), in the second — by 47.4 % (from 0.19 ± 0.09 to 0.28 ± 0.01) and in the third — by 50.0 % (from 0.22 ± 0.10 to 0.33 ± 0.03 nmol/L) (p ≤ 0.05).

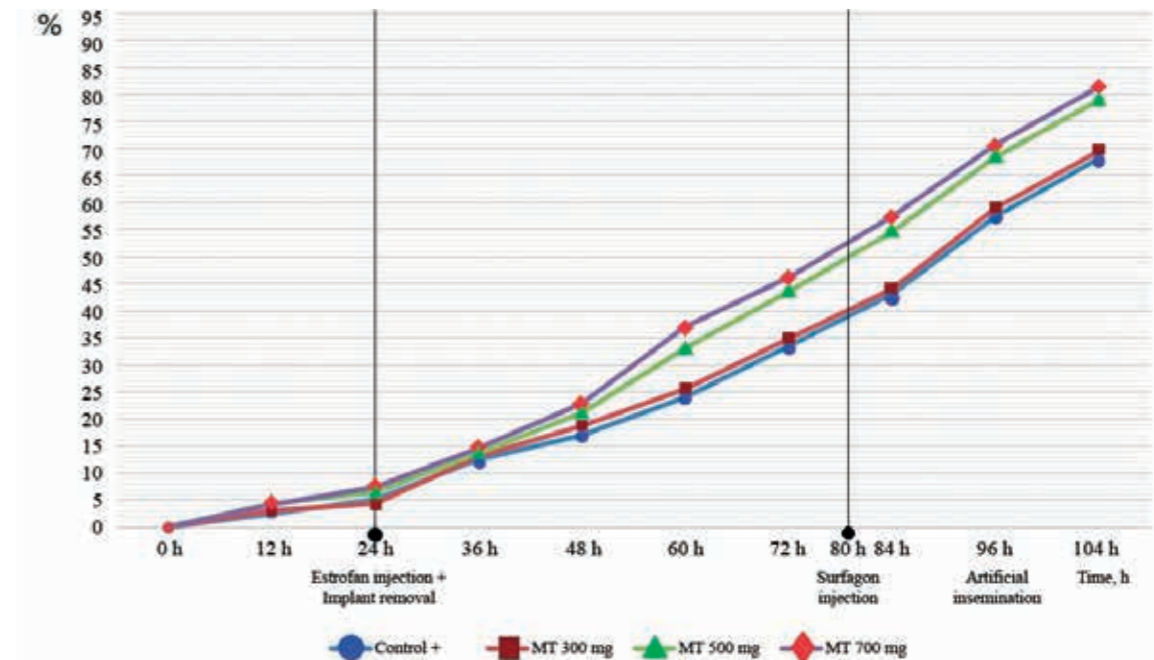


Fig. 1. Dynamics of follicle growth (% increase relative to the initial diameter) in the period from day 6 to day 10 of the estrus synchronization program

Effect of using progesterone-containing implants with various melatonin concentrations during hormonal synchronization of estrus and ovulation and on the day of artificial insemination on the blood concentration of 17β-estradiol (nmol/L)

Table 2

Group	Melatonin dose, mg	Day of blood collection during the period of estrus synchronization				
		0 (implant administration)	1	4	7 (implant removal)	10 (AI)
First n = 3	300	0.25 ± 0.06	0.21 ± 0.10	0.20 ± 0.05	0.25 ± 0.03	0.38 ± 0.13
Second n = 3	500	0.30 ± 0.17	0.24 ± 0.01	0.19 ± 0.09	0.28 ± 0.01	0.43 ± 0.19
Third n = 3	700	0.26 ± 0.07	0.22 ± 0.08	0.22 ± 0.10	0.33 ± 0.03*	0.52 ± 0.20
Control n = 3	—	0.31 ± 0.09	0.26 ± 0.08	0.21 ± 0.07	0.24 ± 0.03	0.37 ± 0.14

* p ≤ 0.05

Consequently, the dynamics of increase in estradiol production in the control group during the same period was the lowest, where an increase in concentration by 14.3 % was observed (from 0.21 ± 0.07 to 0.24 ± 0.03 nmol/L).

The assessment of this indicator on the day of sperm injection indicated a higher level of hormone production in the group of animals that were administered implants with the addition of 700 mg of melatonin. In the control and first experimental groups, the obtained values were almost identical: 0.37 ± 0.14 and 0.38 ± 0.13 nmol/L, respectively. In the second group, the difference in hormone concentration with the control indicator was 15.0 %, amounting up to 0.43 ± 0.19 nmol/L, and in the third — 33.7 %

(0.52 ± 0.20 nmol/L). Melatonin apparently had a positive effect on granulosa cell function in ovarian follicles, as evidenced by increased follicular growth and estradiol secretion after implant removal in the cows from groups two and three. Thus, the use of melatonin at doses of 500 and 700 mg optimizes ovarian steroidogenesis during the hormonal synchronization of estrus and ovulation.

An important indicator of an adequate pituitary response to stimulation of the LH secretion following a gonadotropin-releasing hormone injection is the timely onset of ovulation [10]. The results of ultrasonographic monitoring conducted to monitor the time of the ovulatory response after the administration of alarelin are presented in Table 3.

Table 3

Monitoring the time of ovulation 24 and 36 hours after the administration of Surfagon

Group	Melatonin dose, mg	Time after administration of alarelin acetate				Total %
		24 h		36 h		
		Number of animals		Number of animals		
		animals	%	animals	%	
First <i>n</i> = 8	300	3	37.50	4	50.00	87.50
Second <i>n</i> = 8	500	3	37.50	5	62.50	100
Third <i>n</i> = 9	700	5	55.50	4	44.50	100
Control <i>n</i> = 9	—	3	33.33	5	55.56	88.89

The data obtained indicate that 24 hours after the administration of gonadotropin-releasing hormone (8 hours from the moment of sperm injection), ovulation was recorded in 33.3 % of animals in the control group, 37.5 % in the first and second experimental groups, and 55.5 % in the third experimental group. Further monitoring 36 hours after the administration of alarelin (20 hours after insemination) showed that in the control and first experimental groups, ovulation occurred in 8 out of 9 animals (88.9 %) and in 7 out of 8 (87.5 %) cows, respectively. In the groups that were administered the implants with dosages of 500 and 700 mg of melatonin, the controlled stage occurred in all animals in the second and third experimental groups during the same period. The highest estradiol production in ovarian follicles in the group of animals treat-

ed with 700 mg of melatonin may have affected the intensity of the pre-ovulatory LH surge after gonadotropin administration, which affected the timeliness of the ovulatory response. Thus, 8 hours after sperm injection, this stage occurred in 5 animals in the third experimental group, compared to 3 in the other groups [10]. Furthermore, correction of steroidogenesis in the second and third groups ensured 100 % completion of the excitation stage, manifested by ovulation, within 20 hours after artificial insemination, compared to 88.9 and 87.5 % in the control and first experimental groups, respectively.

CONCLUSION

Thus, the addition of melatonin at doses of 500 and 700 mg to progesterone-containing implants used in

programs to synchronize estrus and ovulation induces the formation of larger preovulatory follicles in the ovaries and ensures a positive ovulatory response in all treated animals. Furthermore, the biological activity of the neuropeptide at a dose of 700 mg positively affected granulosa cell function, as evidenced by an increase in 17β -estradiol secretion during the hormonally induced estrus.

REFERENCES

1. Herd reproduction is the basis for efficient milk production / I. A. Shkuratova, M. V. Ryaposova, E. N. Shilova [et al.]. — Ekaterinburg: Cityprint, 2020. — 110 p. — ISBN978—5—907215—51—1.
2. Kaplunov V. R. Causes of low reproductive capacity and attrition of dairy cows / V. R. Kaplunov, G. F. Medvedev, O. N. Kukhtina // Zhivotnovodstvo i veterinarnaya meditsina (Animal Husbandry and Veterinary Medicine). — 2023. — No. 2. — P. 3—10.
3. Abdelnaby E. A. Melatonin and CIDR improved the follicular and luteal haemodynamics, uterine and ovarian arteries vascular perfusion, ovarian hormones and nitric oxide in cyclic cows. / E. A. Abdelnaby, A. M. Abo El-Maaty // *Reprod. Domest. Anim.* 2021 Mar;56(3):498—510.
4. Nezhdanov A. G., Safonov V. A., Lobodin K. A., Ventsova I. Yu. Impaired reproductive function in high yielding dairy cows as a consequence of metabolic disorders // *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh* (Problems of Biology of Productive Animals). — 2011. — No. S4. — P. 91—93.
5. Nikitin V. V. Diameter of the ovulatory follicle induced by exogenous GnRH as a predictor of the reproductive status of high yielding cows / V. V. Nikitin, K. V. Ple-

myashov, E. A. Korochkina // *Veterinariya* (Veterinary Science). — 2024. — No. 5. — P. 32—35. — DOI 10.30896/0042-4846.2024.27.5.32-35

6. Mikhalev V. I. Gonadotropic and antioxidant drugs in the prevention of embryonic mortality in cows / V. I. Mikhalev, E. G. Lozovaya, V. A. Butko, A. G. Nezhdanov // *Saratov Forum of Veterinary Medicine and Food Security of the Russian Federation: Proceedings of the National Scientific and Practical Conference, dedicated to the 100th anniversary of the Faculty of Veterinary Medicine, Food and Biotechnology of the FSBEI HE Saratov SAU named after N. I. Vavilov, Saratov, September 3—4, 2018.* — Saratov: b. i., 2018. — P. 117—119.

7. Tamura H. The importance of melatonin in assisted reproductive technologies and ovarian aging. / H. Tamura, M. Jezaki, M. Tanabe, Y. Shirafuta, Y. Mihara, M. Shinagawa, I. Tamura, R. Maekawa, S. Sato, T. Taketani, A. Takasaki, R. J. Reiter and N. Sugino // *Int J Mol Sci.* — 2020. — 21(3) — P. 1135.

8. Zhao R. Melatonin in animal husbandry: functions and applications / R. Zhao, Y. Bai, F. Yang // *Front Vet Sci.* 2024 Sep 2; 11: 1444578. doi: 10.3389/fvets.2024.1444578. PMID: 39286597; PMCID: PMC11402905

9. Abulaiti A. Administration of melatonin prior to modified synchronization protocol improves the productive and reproductive efficiency of Chinese crossbred buffaloes in low breeding season. / Abulaiti A, Nawaz M, Naseer Z, Ahmed Z, Liu W, Abdelrahman M, Shaukat A, Sabek A, Pang X, Wang S. // *Front Vet Sci.* 2023 May 12;10:1118604. doi: 10.3389/fvets.2023.1118604. PMID: 37261111; PMCID: PMC10228501

10. Nezhdanov, A. G. Hormonal control of cattle reproduction / A. G. Nezhdanov, K. A. Lobodin, G. P. Dyulger // *Veterinariya* (Veterinary science). — 2008. — No. 1. — P. 3—7.

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

N. M. Lozovoy — Postgraduate Student of the Department of Obstetrics, Anatomy and Surgery.

The article was submitted 29.08.2025.

Обзорная статья

УДК 619:615.33

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.009

ПОТЕНЦИАЛ АЗИТРОМИЦИНА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ЦИТОЗООНОЗА У КОШЕК

София Руслановна Шичанина[✉], Юрий Васильевич Козлов, Инна Алексеевна ХуторнаяКубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина,
Краснодар, Россия, sshichanina@gmail.com[✉]

Аннотация. Данное исследование посвящено анализу потенциала азитромицина — 15-членного макролида, обладающего широким спектром антимикробных и иммуномодулирующих свойств, — в лечении цитозооноза у кошек. В работе рассмотрены структурные особенности препарата, его механизмы действия и фармакокинетические преимущества. Особое внимание уделено возможности использования азитромицина в ветеринарии, в частности, в комплексной терапии паразитарных заболеваний, таких как цитозооноз, вызываемый паразитом *Cytauxzoon felis*. Проанализированы существующие схемы лечения, их эффективность и сравнительные показатели выживаемости животных. Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности комбинации азитромицина с противомаларийными препаратами, что значительно снижает уровень смертности. Исследование подчеркивает актуальность дальнейших клинических и экспериментальных работ по внедрению азитромицина в ветеринарную практику для повышения эффективности борьбы с опасными паразитарными инфекциями у домашних животных.

Ключевые слова: азитромицин, цитозооноз, терапия, атоваквон, кошки

В России домашние животные есть у 63 % населения, причем более половины владельцев (51,3 %) выбирают кошек. Несмотря на такую популярность, в среде хозяев и даже среди ветеринарных специалистов сохраняется крайне низкая осведомленность о цитозоонозе. Цитозооноз — это острое, смертельно опасное протозойное заболевание кошек, вызываемое паразитом *Cytauxzoon felis*. Оно передается через укусы иксодовых клещей-переносчиков, поражает исключительно кошачьих. Опасность цитозооноза заключается в его стремительном развитии, тяжелых симптомах и крайне высокой летальности (90 %) [6, 9, 15, 25, 28, 37].

Особую проблему создает отсутствие официально зарегистрированных и легкодоступных в Российской Федерации препаратов с прямой противопаразитарной активностью против *C. felis*. Таким образом, исследование, направленное на оценку эффективности существующих и разработку новых терапевтических схем, таких как комплексное применение азитромицина и антипротозойных препаратов, является критически важным и актуальным для улучшения выживаемости кошек и повышения информированности ветеринарного сообщества.

Азитромицин — 15-членный макролид, относящийся к подклассу азалидов. Он является производным эритромицина — 14-членного макролида с замещенным метильной группой азотом и включенным в лактонное кольцо. Данная структурная модификация позволила усилить кислотоустойчивость антибиотика, а также улучшила его способность проникать в клетки и ткани организма [1, 4].

За счет своей двухосновной структуры азитромицин активно поглощается и накапливается клетками иммунной системы: гранулоцитами, макрофагами, моноцитами, а также долго выводится из организма животных. Благодаря этой особенности данный антибиотик препятствует проникновению простейших в клетки крови. Поэтому препарат успешно применяется в ветеринарии в комплексном лечении пироплазмоза. Наибольшая эффективность азитромицина была выявлена в терапии цитозооноза кошек [1, 12, 16, 19, 24, 27, 28, 29, 31].

Жизненный цикл простейших *Cytauxzoon felis* характеризуется последовательной сменой тканевой и эритроцитарной фаз. После попадания инфицированной слюны клеща в организм кошачьих, спорозоиты в течение 36 часов мигрируют в мононуклеарные клетки хозяина, где инициируется

бесполое размножение путем шизогонии [11, 18]. Патогенез заболевания связан с развитием шизонтов в инфицированных клетках, что приводит к обструкции кровеносных сосудов в паренхиматозных органах, таких как лимфатические узлы, печень, легкие и селезенка [9, 26]. Широкое распространение шизонтов приводит к нарушению кровообращения, инфицированию тканей и тяжелой системной воспалительной реакции, которая может привести к полиорганной недостаточности и смерти в течение 3 недель после заражения [21, 33]. В дальнейшем, шизонты трансформируются в мерозоиты, покидающие макрофаги для инфицирования эритроцитов [7, 15, 20, 21, 22, 23, 25, 26, 27].

Лечение данного заболевания является ключевым в эндемических зонах. Кроме того, рост географического распространения инфекции и возможность обнаружения паразитов у хронически инфицированных кошек, которые побывали за границей, делают исследование цитозооноза важным и в неэндемических регионах [27].

В ходе анализа научных работ иностранных и российских авторов было изучено множество схем лечения цитозооноза кошек, включающих применение антипротозойных препаратов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Парваквион и бупарваквион, используемые для лечения тейлериоза крупного рогатого скота, а также диметиазина ацетат, применяемый для лечения трипаносомоза у сельскохозяйственных животных, были исследованы при терапии пироплазмоза кошек. Однако данные препараты проявили низкую эффективность при лечении экспериментально вызванного цитозооноза [10, 27].

Исследование зарубежной и отечественной литературы позволило выявить две самые действенные схемы лечения цитозооноза кошек:

1. Пероральный прием антипротозойного препарата атоваквон и противомикробного препарата азитромицин в сочетании с индивидуальной поддерживающей терапией [12, 14, 16, 24, 28];

2. Подкожное и внутримышечное введение атропина и препаратов с имидакарбом дипропионатом в качестве действующего вещества [14, 20, 24, 29].

В первой схеме лечения Атоваквон вводили перорально или через зонд для энтерального питания в дозе 15 мг/кг каждые 8 часов в течение 10 дней. Азитромицин вводили перорально или через зонд для энтерального питания в дозе 10 мг/кг каждые 24 часа в течение 10 дней [16].

В результате было установлено, что комбинация азитромицина и атоваквона в дозе 15 мг/кг превосходит по эффективности применение диминазена и имидакарба: уже через сутки после введения препаратов было отмечено улучшение клинического состояния животных [23, 24].

У большей части испытуемых кошек с естественным заражением при микроскопическом исследовании крови пироплазмы не были обнаружены уже через 1—8 недель после лечения. ПЦР у каждой кошки была либо отрицательной, либо показала крайне низкое количество паразитов. Снижение паразитемии благоприятно отразилось на выживаемости животных (60 %) [10, 12, 14, 16, 21].

По второй схеме кошки предварительно получали атропин в дозе 0,05 мг/кг подкожно за 15 минут до внутримышечной инъекции имидакарба дипропионата в дозе 3,5 мг/кг. Повторная инъекция препаратов проводилась через 7 дней [24, 29, 34].

В результате проведенной терапии не установлено ослабление паразитемии по сравнению с первой схемой лечения, что отразилось в росте летальности. В итоге смертность животных составила 74 % от общего количества кошек [22, 24, 28, 29, 32, 36].

Исследование показало, что у кошек с острым цитозоонозом, для лечения которых применяли комбинацию атоваквона и азитромицина, выживаемость была более чем в 2 раза выше по сравнению с аналогичной группой животных, проходивших терапию имидакарбом дипропионатом: 60 % и 26 % соответственно [9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 21, 24, 27, 28, 29, 34, 36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За прошедшие годы было исследовано множество антипротозойных препаратов при терапии цитозооноза кошек, и было обнаружено, что в основном они имеют низкую эффективность. Проведенные исследования демонстрируют, что при отсутствии терапевтического вмешательства летальность при данном заболевании достигает 100 %.

Однако современные протоколы лечения позволяют улучшить прогноз, существенно снижая показатель смертности. На текущий момент рекомендуемым способом лечения является пероральный прием противомаларийного препарата атоваквон и противомикробного препарата азитромицин в сочетании с индивидуальной поддерживающей терапией.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Андреева И. В. Эффективность 16- и 14—15-членных макролидов при лечении бактериальных инфекций дыхательных путей / И. В. Андреева // НИИ антимикробной химиотерапии. — Смоленск: ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия», 2012. — С. 165—166.
2. Голдман Р. К., Скаглионе Ф. Взаимодействие макролидов с бактериями и его биологическая основа // *Curr Drug Targets Infect Disord.* — 2004. — № 3. — С. 241—260.
3. Камаль М. А., Салем Х. М., Альхотан Р. А., Хусейн Э. О. и др. Изучение динамики устойчивости к противомикробным препаратам у *Mycoplasma gallisepticum*: взаимодействие с антибиотиками и дезинфицирующими средствами // *Vet Med Sci.* — 2025. — № 1. — С. 1—18.
4. Коба И. С., Хахов Л. А., Шантыз А. Х. Доклинические исследования на лабораторных животных новых лекарственных веществ: учеб. пособие / И. С. Коба, Л. А. Хахов, А. Х. Шантыз. — Краснодар: КубГАУ, 2018. — 89 с.
5. Козлов Ю. В., Ломидзе М. А. Современное применение и значение макролидов в медицине // *Научный журнал КубГАУ.* — 2022. — № 182. — С. 112—131.
6. Alho A. M., Silva J., Fonseca M. J., Santos F., Nunes C., de Carvalho L. M., Rodrigues M., Cardoso L. First report of *Cytauxzoon* sp. infection in a domestic cat from Portugal // *Parasit Vectors.* — 2016. — № 1. — P. 1—5.
7. Antognoni M. T., Rocconi F., Ravagnan S., Vascellari M., Capelli G., Miglio A., Di Tommaso M. *Cytauxzoon* sp. Infection and Coinfections in Three Domestic Cats in Central Italy // *Vet Sci.* — 2022. — № 2. — P. 50—63.
8. Bakheit A. H. Azithromycin // *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol.* — 2014. — № 39. — P. 1—40.
9. Carli E., Trotta M., Chinelli R., Drigo M., Sinigoj L., Tosolini P., Furlanello T., Millotti A., Caldin M., Solano-Gallego L. *Cytauxzoon* sp. infection in the first endemic focus described in domestic cats in Europe // *Vet Parasitol.* — 2012. — № 183. — P. 343—352.
10. Carli E., Trotta M., Bianchi E., Furlanello T., Caldin M., Pietrobelli M., Solano-Gallego L. *Cytauxzoon* sp. infection in two free-ranging young cats: clinicopathological findings, therapy and follow-up // *Turkiye Parazitoloj Derg.* — 2014. — № 3. — P. 185—189.
11. Carney B., Jackson T., Fisher T. Fatal *cytauxzoonosis* in a Kentucky cat (*Felis domesticus*) // *Vet Parasitol.* — 2006. — № 139. — P. 192—195.
12. Cohn L. A., Birkenheuer A. J., Bruncker J. D., Ratcliff E. R., Craig A. W. Efficacy of atovaquone and azithromycin or imidocarb dipropionate in cats with acute *cytauxzoonosis* // *J Vet Intern Med.* — 2011. — № 1. — P. 55—60.
13. Cohn L. A. *Cytauxzoonosis* // *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* — 2022. — № 6. — P. 1211—1224.
14. Greene C. E., Latimer K., Hopper E., Shoemaker G., Lower K., Cullens F. Administration of diminazene aceturate or imidocarb dipropionate for treatment of *cytauxzoonosis* in cats // *J Am Vet Med Assoc.* — 1999. — № 4. — P. 497—500.
15. Haber M. D., Tucker M. D., Marr H. S., Levy J. K., Burgess J., Lappin M. R., Birkenheuer A. J. The detection of *Cytauxzoon felis* in apparently healthy free-roaming cats in the USA // *Vet Parasitol.* — 2007. — № 3—4. — P. 316—320.
16. Hartley A. N., Marr H. S., Birkenheuer A. J. *Cytauxzoon felis* cytochrome b gene mutation associated with atovaquone and azithromycin treatment // *J Vet Intern Med.* — 2020. — № 6. — P. 2432—2437.
17. Heidary M., Ebrahimi Samangani A., Kargari A., Kiani Nejad A., Yashmi I., Motahar M., Taki E., Khoshnood S. Mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of azithromycin // *J Clin Lab Anal.* — 2022. — № 6.
18. Jacobs C. H. Prevalence of *Cytauxzoon felis* in feral cats in Russellville, Arkansas // *J Arkansas Acad Sci.* — 2018. — № 21. — P. 123—128.
19. Janas A., Przybylski P. 14- and 15-membered lactone macrolides and their analogues and hybrids: structure, molecular mechanism of action and biological activity // *Eur J Med Chem.* — 2019 Nov 15. — P. 2—69.
20. Legroux J. P., Halos L., René-Martellet M., Servonet M., Pingret J. L., Bourdoiseau G., Baneth G., Chabanne L. First clinical case report of *Cytauxzoon* sp. infection in a domestic cat in France // *BMC Vet Res.* — 2017. — № 1. — P. 1—7.
21. Lloret A., Addie D. D., Boucraut-Baralon C., Egberink H., Frymus T., Gruffydd-Jones T., Hartmann K., Horzinek M. C., Hosie M. J., Lutz H., Marsilio F., Pennisi M. G., Radford A. D., Thiry E., Truyen U., Möstl K. European Advisory Board on Cat Diseases. *Cytauxzoonosis* in cats: ABCD guidelines on prevention and management // *J Feline Med Surg.* — 2015. — № 7. — P. 637—641.
22. Nentwig A., Meli M. L., Schrack J., Reichler I. M., Riond B., Gloor C., Howard J., Hofmann-Lehmann R., Willi B. First report of *Cytauxzoon* sp. infection in domestic cats in Switzerland: natural and transfusion-transmitted infections // *Parasit Vectors.* — 2018. — № 1. — P. 1—13.
23. Panait L. C., Stock G., Globokar M., Balzer J., Groth B., Mihalca A. D., Pantchev N. First report of *Cytauxzoon* sp. infection in Germany: organism description and molecular confirmation in a domestic cat // *Parasitol Res.* — 2020. — № 9. — P. 3005—3011.
24. Ratcliff E. R., Cohn L. A., Birkenheuer A. J., Bruncker J. D., Craig A. W. Efficacy of atovaquone and azithromycin or imidocarb dipropionate in cats with acute *cytauxzoonosis* // *J Vet Intern Med.* — 2011. — № 1. — P. 55—60.
25. Reichard M. V., Cotey S. R., Dangoudoubiyam S., Weerathne P., Tussey K., Wilkes R. P., Miller C. A., Mehlinger L., Burcham G. N. *Cytauxzoonosis* in Indiana, USA: a case series of cats infected with *Cytauxzoon felis* (2018—2022) // *J Feline Med Surg.* — 2024. — № 5. — P. 1—9.
26. Reichard M. V., Sanders T. L., Weerathne P., Meinkoth J. H., Miller C. A., Scimeca R. C., Almazán C. *Cytauxzoonosis* in North America // *Pathogens.* — 2021. — № 9. — P. 289—291.
27. Rizzi T. E., Reichard M. V., Cohn L. A., Birkenheuer A. J., Taylor J. D., Meinkoth J. H. Prevalence of *Cytauxzoon felis* infection in healthy cats from enzootic areas in Arkansas, Missouri, and Oklahoma // *Parasit Vectors.* — 2015. — № 13. — P. 1—6.
28. Schreeg M. E., Marr H. S., Tarigo J., Cohn L. A., Levy M. G., Birkenheuer A. J. Pharmacogenomics of *Cytauxzoon felis* cytochrome b: implications for atovaquone and azithromycin therapy in domestic cats with *cytauxzoonosis* // *J Clin Microbiol.* — 2013. — № 9. — P. 3066—3069.
29. Sherrill M. K., Cohn L. A. *Cytauxzoonosis*: Diagnosis and treatment of an emerging disease // *J Feline Med Surg.* — 2015. — № 11. — P. 940—948.
30. Taguchi K., Chuang V. T. G., Ogino H., Hara R., Iketani O., Enoki Y., Kizu J., Hori S., Matsumoto K. Direct comparison of anti-inflammatory effects of 14-, 15-, and 16-membered macrolide antibiotics in experimental inflammation model induced by carrageenan in rats // *Pharmazie.* — 2024. — № 3. — P. 64—66.
31. Veronesi F., Ravagnan S., Cerquetella M., Carli E., Olivieri E., Santoro A., Pesaro S., Berardi S., Rossi G., Ragni B., Beraldo P., Capelli G. First detection of *Cytauxzoon* spp. infection in European wildcats (*Felis silvestris silvestris*) of Italy // *Ticks Tick Borne Dis.* — 2016. — № 5. — P. 853—858.
32. Wang J. L., Li T. T., Liu G. H., Zhu X. Q., Yao C. *Cytauxzoon felis* infections in domestic cats: Two tales // *Clin Microbiol Rev.* — 2017. — № 4. — P. 861—885.
33. Wikander Y. M., Anantatat T., Kang Q., Reif K. E. Prevalence of *Cytauxzoon felis* infection-carriers in eastern Kansas domestic cats // *Pathogens.* — 2020. — № 10. — P. 1—14.
34. Wikander Y. M., Reif K. E. *Cytauxzoon felis*: An overview // *Pathogens.* — 2023. — № 1. — P. 1—19.
35. Wikander Y. M., Kang Q., Reif K. E. Acute *Cytauxzoon felis* cases in domestic cats from eastern Kansas: a retrospective case-control study (2006—2019) // *Vet Sci.* — 2020. — № 4. — P. 1—14.
36. Willi B., Meli M. L., Cafarelli C., Gilli U. O., Kippar A., Hubbuch A., Riond B., Howard J., Schaarschmidt D., Regli W., Hofmann-Lehmann R. *Cytauxzoon europaeus* infections in domestic cats in Switzerland and in European wildcats in France: a tale that started more than two decades ago // *Parasit Vectors.* — 2022. — № 1. — P. 1—17.
37. Zou F. C., Li Z., Yang J. F., Chang J. Y., Liu G. H., Lv Y., Zhu X. Q. *Cytauxzoon felis* infection in domestic cats, Yunnan Province, China, 2016 // *Emerg Infect Dis.* — 2019. — № 2. — P. 353—354.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ю. В. Козлов — кандидат ветеринарных наук, доцент;
С. Р. Шичанина — студентка;
И. А. Хуторная — студентка.

Статья поступила в редакцию 11.08.2025.

Review article
UDC 619:615.33

POTENTIAL OF AZITHROMYCIN IN THE COMPLEX THERAPY OF FELINE CYTAUXZOOONOSIS

Sofiya Ruslanovna Shichanina, Yuriy Vasilyevich Kozlov, Inna Alekseevna Khutornaya

Kuban State Agrarian University named after I. T. Trubilin,
Krasnodar, Russia, sshichanina@gmail.com

Abstract. This study analyzes the potential of azithromycin, a 15-membered macrolide with a broad spectrum of antimicrobial and immunomodulatory properties, for the treatment of feline cytauxzoonosis. The paper examines the drug structural features, mechanisms of action and pharmacokinetic advantages. Particular attention is paid to the potential use of azithromycin in veterinary medicine, particularly in the complex therapy of parasitic diseases, such as cytauxzoonosis (cytozoonosis) caused by the parasite *Cytauxzoon felis*. Existing treatment regimens, their efficacy and comparative animal survival rates are analyzed. The data obtained demonstrate the high efficacy of combining azithromycin with antimalarial drugs, significantly reducing mortality. The study emphasizes the relevance of further clinical and experimental research on the introduction of azithromycin into veterinary practice to improve the efficacy of the fight against dangerous parasitic infections in pets.

Keywords: azithromycin, cytauxzoonosis/cytozoonosis, therapy, atovaquone, cats

In Russia, 63 % of the population owns pets, with more than half of owners (51.3 %) choosing cats. Despite this popularity, awareness of cytauxzoonosis remains extremely low among pet owners and even among veterinary professionals. Cytauxzoonosis is an acute, life-threatening protozoan disease in cats caused by the parasite *Cytauxzoon felis*. Transmitted by the bite of the tick, it exclusively affects cats. The danger of cytauxzoonosis lies in its rapid progression, severe symptoms and extremely high mortality rate (90 %) [6, 9, 15, 25, 28, 37].

A particular problem is the lack of officially registered and readily available drugs with direct antiparasitic activity against *C. felis* in the Russian Federation. Therefore, research aimed at assessing the efficacy of existing therapeutic regimens and the design of new ones, such as the combination of azithromycin and antiprotozoal drugs, is critically important and relevant to improve feline survival and raise awareness in the veterinary community.

Azithromycin is a 15-membered macrolide belonging to the azalide subclass. It is a derivative of erythromycin, a 14-membered macrolide with a methyl-substituted nitrogen atom incorporated into the lactone ring. This structural modification enhances the acid resistance of the antibiotic and improves its ability to penetrate cells and tissues [1, 4].

Due to its dibasic structure, azithromycin is actively absorbed and accumulated by immune system cells (granulocytes, macrophages and monocytes), and is also slowly eliminated from the body. This feature prevents protozoa from penetrating blood cells. Therefore, the drug is successfully used in veterinary medicine as part of the complex treatment of piroplasmiasis. Azithromycin has been shown to be particularly effective in the treatment of feline cytauxzoonosis [1, 12, 16, 19, 24, 27, 28, 29, 31].

The life cycle of the protozoan *Cytauxzoon felis* is characterized by a sequential change of the tissue and erythrocytic phases. After ingestion of infected tick saliva by cats, sporozoites migrate within 36 hours into the host's mononuclear cells, where asexual reproduction by schizogony is initiated [11, 18]. The pathogenesis of the disease is associated with the development of schizonts in infected cells, which leads to obstruction of blood vessels in parenchymal organs such as lymph nodes, liver, lungs and spleen [9, 26]. Widespread dissemination of schizonts leads to circulatory impairment, tissue infection and a severe systemic inflammatory response, which can lead to multiple organ failure and death within 3 weeks of infection [21, 33]. Subsequently, schizonts transform into merozoites, which exit macrophages to infect erythrocytes [7, 15, 20, 21, 22, 23, 25, 26, 27].

Treatment of this disease is crucial in endemic areas. Furthermore, the increasing geographic spread of the infection and the possibility of detecting parasites in chronically infected cats that have traveled abroad make cytauxzoonosis research important in non-endemic regions as well [27].

A review of research papers by foreign and Russian authors examined numerous treatment regimens for feline cytauxzoonosis, including the use of antiprotozoal drugs.

STUDY RESULTS

Parvakvion and buparvakvion, used to treat bovine theileriosis, as well as dimethiazine acetate, used to treat trypanosomiasis in farm animals, were studied for feline piroplasmiasis.

However, these drugs demonstrated low efficacy in the treatment of experimentally induced cytauxzoonosis [10, 27].

A review of foreign and domestic literature revealed two of the most effective treatment regimens for feline cytauxzoonosis.

1. Peroral administration of the antiprotozoal drug atovaquone and the antimicrobial drug azithromycin in combination with individualized supportive therapy [12, 14, 16, 24, 28].

2. Subcutaneous and intramuscular administration of atropine and drugs containing imidocarb dipropionate as the active ingredient [14, 20, 24, 29].

In the first treatment regimen, atovaquone was administered perorally or via an enteral feeding tube at a dose of 15 mg/kg every 8 hours for 10 days. Azithromycin was administered perorally or via an enteral feeding tube at a dose of 10 mg/kg every 24 hours for 10 days [16].

The results showed that the combination of azithromycin and atovaquone at a dose of 15 mg/kg was superior to diminazene and imidocarb: an improvement in the animals' clinical condition was noted within 24 hours of administration [23, 24].

In the majority of naturally infected cats, microscopic blood examination revealed no evidence of piroplasms within 1–8 weeks after treatment. The PCR testing in every cat was either negative or showed extremely low parasite counts. The reduction in parasitemia had a beneficial effect on animal survival (60 %) [10, 12, 14, 16, 21].

In the second regimen, cats were pre-treated with atropine at a dose of 0.05 mg/kg subcutaneously 15 minutes before an intramuscular injection of imidocarb dipropionate at a dose of 3.5 mg/kg. A repeat injection of the drugs was administered 7 days later [24, 29, 34].

This therapy failed to reduce parasitemia, compared to the first treatment regimen, resulting in an increased mortality rate. Ultimately, mortality accounted for 74 % of all cats treated [22, 24, 28, 29, 32, 36].

The study showed that cats with acute feline cytauxzoonosis treated with a combination of atovaquone and azithromycin had a more than two-fold higher survival rate, compared to a similar group of animals treated with imidocarb dipropionate: 60 % and 26 %, respectively [9, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 21, 24, 27, 28, 29, 34, 36].

CONCLUSION

Over the years, numerous antiprotozoal drugs have been studied for the treatment of feline cytauxzoonosis, and they have generally been found to be ineffective. The studies have demonstrated that, without therapeutic intervention, the mortality rate for this disease reaches 100 %. However, modern treatment protocols can improve the prognosis, significantly reducing the mortality rate. The current recommended treatment is peroral administration of the antimalarial drug atovaquone and the antimicrobial drug azithromycin, combined with individualized supportive care.

REFERENCES

1. Andreeva I. V. Efficacy of 16- and 14–15-membered macrolides in the treatment of bacterial respiratory tract infections / I. V. Andreeva // NII antimikrobnoy khimioterapii. — Smolensk: GBOU VPO "Smolenskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiya" (Research Institute of Antimicrobial Chemotherapy. — Smolensk: Smolensk State Medical Academy), 2012. — P. 165–166.
2. Goldman R. K., Scaglione F. Interaction of macrolides with bacteria and its biological basis // Curr Drug Targets Infect Disord. — 2004. — No. 3. — P. 241–260.
3. Kamal M. A., Salem H. M., Alkhotan R. A., Hussein E. O., et al. Study of the dynamics of antimicrobial resistance in *Mycoplasma gallisepticum*: interaction with antibiotics and disinfectants // Vet Med Sci. — 2025. — No. 1. — P. 1–18.
4. Koba I. S., Khakhov L. A., Shantyz A. Kh. Preclinical studies of new drugs on laboratory animals: tutorial / I. S. Koba, L. A. Khakhov, A. Kh. Shantyz. — Krasnodar: KubSAU, 2018. — 89 p.
5. Kozlov Yu. V., Lomidze M. A. Modern use and importance of macrolides in medicine // Nauchnyy zhurnal KubGAU (Research journal of KubSAU). — 2022. — No. 182. — P. 112–131.
6. Alho A. M., Silva J., Fonseca M. J., Santos F., Nunes C., de Carvalho L. M., Rodrigues M., Cardoso L. First report of *Cytauxzoon* sp. infection in a domestic cat from Portugal // Parasit Vectors. — 2016. — No. 1. — P. 1–5.

7. Antognoni M. T., Rocconi F., Ravagnan S., Vascelari M., Capelli G., Miglio A., Di Tommaso M. Cytauxzoon sp. Infection and Coinfections in Three Domestic Cats in Central Italy // *Vet Sci.* — 2022. — No. 2. — P. 50—63.
8. Bakheit A. H. Azithromycin // *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol.* — 2014. — No. 39. — P. 1—40.
9. Carli E., Trotta M., Chinelli R., Drigo M., Sinigoi L., Tosolini P., Furlanello T., Millotti A., Caldin M., Solano-Gallego L. Cytauxzoon sp. infection in the first endemic focus described in domestic cats in Europe // *Vet Parasitol.* — 2012. — No. 183. — P. 343—352.
10. Carli E., Trotta M., Bianchi E., Furlanello T., Caldin M., Pietrobelli M., Solano-Gallego L. Cytauxzoon sp. infection in two free-ranging young cats: clinicopathological findings, therapy and follow-up // *Turkiye Parazitoloj Derg.* — 2014. — No. 3. — P. 185—189.
11. Carney B., Jackson T., Fisher T. Fatal cytauxzoonosis in a Kentucky cat (*Felis domesticus*) // *Vet Parasitol.* — 2006. — No. 139. — P. 192—195.
12. Cohn L. A., Birkenheuer A. J., Brunker J. D., Ratcliff E. R., Craig A. W. Efficacy of atovaquone and azithromycin or imidocarb dipropionate in cats with acute cytauxzoonosis // *J Vet Intern Med.* — 2011. — No. 1. — P. 55—60.
13. Cohn L. A. Cytauxzoonosis // *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* — 2022. — No. 6. — P. 1211—1224.
14. Greene C. E., Latimer K., Hopper E., Shoemaker G., Lower K., Cullens F. Administration of diminazene aceturate or imidocarb dipropionate for treatment of cytauxzoonosis in cats // *J Am Vet Med Assoc.* — 1999. — No. 4. — P. 497—500.
15. Haber M. D., Tucker M. D., Marr H. S., Levy J. K., Burgess J., Lappin M. R., Birkenheuer A. J. The detection of Cytauxzoon felis in apparently healthy free-roaming cats in the USA // *Vet Parasitol.* — 2007. — No. 3—4. — P. 316—320.
16. Hartley A. N., Marr H. S., Birkenheuer A. J. Cytauxzoon felis cytochrome b gene mutation associated with atovaquone and azithromycin treatment // *J Vet Intern Med.* — 2020. — No. 6. — P. 2432—2437.
17. Heidary M., Ebrahimi Samangani A., Kargari A., Kiani Nejad A., Yashmi I., Motahar M., Taki E., Khoshnood S. Mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of azithromycin // *J Clin Lab Anal.* — 2022. — No. 6.
18. Jacobs C. H. Prevalence of Cytauxzoon felis in feral cats in Russellville, Arkansas // *J Arkansas Acad Sci.* — 2018. — No. 21. — P. 123—128.
19. Janas A., Przybylski P. 14- and 15-membered lactone macrolides and their analogues and hybrids: structure, molecular mechanism of action and biological activity // *Eur J Med Chem.* — 2019 Nov 15. — P. 2—69.
20. Legroux J. P., Halos L., René-Martellet M., Servonet M., Pingret J. L., Bourdoiseau G., Baneth G., Chabanne L. First clinical case report of Cytauxzoon sp. infection in a domestic cat in France // *BMC Vet Res.* - 2017. - No. 1. - P. 1-7
21. Lloret A., Addie D. D., Boucraut-Baralon C., Egberink H., Frymus T., Gruffydd-Jones T., Hartmann K., Horzinek M. C., Hosie M. J., Lutz H., Marsilio F., Pennisi M. G., Radford A. D., Thiry E., Truyen U., Möstl K. European Advisory Board on Cat Diseases. Cytauxzoonosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management // *J Feline Med Surg.* — 2015. — No. 7. — P. 637—641.
22. Nentwig A., Meli M. L., Schrack J., Reichler I. M., Riond B., Gloor C., Howard J., Hofmann-Lehmann R., Willi B. First report of Cytauxzoon sp. infection in domestic cats in Switzerland: natural and transfusion-transmitted infections // *Parasit Vectors.* — 2018. — No. 1. — P. 1—13.
23. Panait L. C., Stock G., Globokar M., Balzer J., Groth B., Mihalca A. D., Pantchev N. First report of Cytauxzoon sp. infection in Germany: organism description and molecular confirmation in a domestic cat // *Parasitol Res.* — 2020. — No. 9. — P. 3005—3011.
24. Ratcliff E. R., Cohn L. A., Birkenheuer A. J., Brunker J. D., Craig A. W. Efficacy of atovaquone and azithromycin or imidocarb dipropionate in cats with acute cytauxzoonosis // *J Vet Intern Med.* — 2011. — No. 1. — P. 55—60.
25. Reichard M. V., Cotey S. R., Dangoudoubiyam S., Weerarathne P., Tussey K., Wilkes R. P., Miller C. A., Mehlinger L., Burcham G. N. Cytauxzoonosis in Indiana, USA: a case series of cats infected with Cytauxzoon felis (2018—2022) // *J Feline Med Surg.* — 2024. — No. 5. — P. 1—9.
26. Reichard M. V., Sanders T. L., Weerarathne P., Meinkoth J. H., Miller C. A., Scimeca R. C., Almazán C. Cytauxzoonosis in North America // *Pathogens.* — 2021. — No. 9. — P. 289—291.
27. Rizzi T. E., Reichard M. V., Cohn L. A., Birkenheuer A. J., Taylor J. D., Meinkoth J. H. Prevalence of Cytauxzoon felis infection in healthy cats from enzootic areas in Arkansas, Missouri, and Oklahoma // *Parasit Vectors.* — 2015. — No. 13. — P. 1—6.
28. Schreeg M. E., Marr H. S., Tarigo J., Cohn L. A., Levy M. G., Birkenheuer A. J. Pharmacogenomics of Cytauxzoon felis cytochrome b: implications for atovaquone and azithromycin therapy in domestic cats with cytauxzoonosis // *J Clin Microbiol.* — 2013. — No. 9. — P. 3066—3069.
29. Sherrill M. K., Cohn L. A. Cytauxzoonosis: Diagnosis and treatment of an emerging disease // *J Feline Med Surg.* — 2015. — No. 11. — P. 940—948.
30. Taguchi K., Chuang V. T. G., Ogino H., Hara R., Iketani O., Enoki Y., Kizu J., Hori S., Matsumoto K. Direct comparison of anti-inflammatory effects of 14-, 15-, and 16-membered macrolide antibiotics in experimental inflammation model induced by carrageenan in rats // *Pharmazie.* — 2024. — No. 3. — P. 64—66.
31. Veronesi F., Ravagnan S., Cerquetella M., Carli E., Olivieri E., Santoro A., Pesaro S., Berardi S., Rossi G., Ragni B., Beraldo P., Capelli G. First detection of Cytauxzoon spp. infection in European wildcats (*Felis silvestris silvestris*) of Italy // *Ticks Tick Borne Dis.* — 2016. — No. 5. — P. 853—858.
32. Wang J. L., Li T. T., Liu G. H., Zhu X. Q., Yao C. Cytauxzoon felis infections in domestic cats: Two tales // *Clin Microbiol Rev.* — 2017. — No. 4. — P. 861—885.
33. Wikander Y. M., Anantatat T., Kang Q., Reif K. E. Prevalence of Cytauxzoon felis infection-carriers in eastern Kansas domestic cats // *Pathogens.* — 2020. — No. 10. — P. 1—14.
34. Wikander Y. M., Reif K. E. Cytauxzoon felis: An overview // *Pathogens.* — 2023. — No. 1. — P. 1—19.
35. Wikander Y. M., Kang Q., Reif K. E. Acute Cytauxzoon felis cases in domestic cats from eastern Kansas: a retrospective case-control study (2006—2019) // *Vet Sci.* — 2020. — No. 4. — P. 1—14.
36. Willi B., Meli M. L., Cafarella C., Gilli U. O., Kippar A., Hubbuch A., Riond B., Howard J., Schaarschmidt D., Regli W., Hofmann-Lehmann R. Cytauxzoon europaeus infections in domestic cats in Switzerland and in European wildcats in France: a tale that started more than two decades ago // *Parasit Vectors.* — 2022. — No. 1. — P. 1—17.
37. Zou F. C., Li Z., Yang J. F., Chang J. Y., Liu G. H., Lv Y., Zhu X. Q. Cytauxzoon felis infection in domestic cats, Yunnan Province, China, 2016 // *Emerg Infect Dis.* — 2019. — No. 2. — P. 353—354.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yu. V. Kozlov — Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor;

S. R. Shichanina — Student;

I. A. Khutornaya — Student.

The article was submitted 11.08.2025.

Научная статья

УДК 616.348—007.59—07:636.1

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.010

ОСОБЕННОСТИ ДИАГНОСТИКИ ЗАВОРОТА БОЛЬШОЙ ОБОДОЧНОЙ КИШКИ У ЛОШАДЕЙ

Максим Александрович Погорелов[✉], Анатолий Александрович Стекольников

Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины,
Санкт-Петербург, Россия, dnm_erfolg@mail.ru[✉]

Аннотация. Заворот большой ободочной кишки у лошадей является одной из самых опасных и тяжелых форм и заболеваний желудочно-кишечного тракта. Заболевание развивается стремительно, требует немедленной госпитализации в профильную клинику и оперативного лечения. Стопроцентная летальность при отсутствии оперативного лечения, а также необходимость начать операцию как можно раньше делают актуальной проблему ранней диагностики заболеваний большой ободочной кишки, требующих хирургического вмешательства.

Зачастую невыраженные клинические признаки в начале развития болезни, отсутствие постоянного контроля за животным и слабая информированность по данной проблеме владельцев животных приводят к фатальным последствиям. Развиваются тяжелые вторичные изменения в виде эндотоксемия, сепсиса, перитонита, дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности. Все вышеперечисленное значительно затрудняет как проведение самой операции, так и постоперативное ведение пациентов и приводит к невозможности проведения какого-либо лечения и как следствие, гибели животного или необходимости эвтаназии.

Целью данной работы являлось изучение особенностей диагностики острых заболеваний толстого отдела кишечника лошадей, способствующим наиболее эффективному лечению и минимизации случаев летального исхода.

Ключевые слова: лошади, колики, заворот большой ободочной кишки, диагностика

Из-за высокого процента смертности при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, сопровождающегося синдромом колик, каждый такой случай является чрезвычайной ситуацией не только для лошади и его владельца, но и для ветеринарного врача [1].

Основные методы, применяемые в диагностике этой патологии, включают данные анамнеза, клинического, ректального, ультразвукового и лабораторных исследований, гастроскопию и назогастральное зондирование. В некоторых случаях достаточно одного из выше перечисленных методов диагностики, но чаще всего требуется комплексная диагностика [2]. Как правило, этот диагностический алгоритм позволяет достаточно точно определить степень тяжести заболевания, его локализацию (желудок, тонкий, или толстый отделы кишечника) и определиться со стратегией лечения.

Однако, заворот большой ободочной кишки наряду с некоторыми другими видами странгуляции

кишечника лошади требует более пристального внимания со стороны клиницистов. Данная патология характеризуется развитием сильного метеоризма слепой кишки, некрозом стенки кишки и нарушением проницаемости клеточных мембран, что приводит к усиленной резорбции кишечных эндотоксинов, с возникновением через 4—5 часов, тяжелой формы эндотоксического шока [3].

Поэтому диагностика при подозрении на данное заболевание требует более тщательного и взвешенного подхода, для спасения жизни пациента, либо своевременного принятия решения об эвтаназии, при неблагоприятных прогнозах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Статистические данные собраны в ветеринарной клинике «Форсайд» расположенной в Ленинградской области, специализирующейся на лечение лошадей, в том числе и оперативных

вмешательствах по поводу заболеваний желудочно-кишечного тракта лошадей.

Был проведен ретроспективный анализ историй болезни двадцати животных, проходивших диагностику и последующее лечение в клинике по поводу симптомокомплекса колик и подозрением на непроходимость толстого отдела кишечника. Диагноз — заворот большой ободочной кишки, подтвержденный интраоперационно, был поставлен двенадцати животным. Период взятый для анализа историй болезни охватил 2021—2024 гг. Полученные в ходе диагностики данные анализировались и сравнивались с данными, взятыми из отечественных и зарубежных литературных источников.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для сбора данных отбирались больные лошади с признаками непроходимости толстого отдела кишечника, которые после диагностики проходили консервативное, либо оперативное лечение с дальнейшим интраоперационным подтверждением диагноза — заворот большой ободочной кишки.

Лечение заворота большой ободочной кишки лошадей связано со значительными интраоперационными и постоперационными рисками и требует длительной реабилитации. Это влечет за собой как значительные финансовые затраты, обусловленные госпитализацией, так и не редко смерть пациента. [4]. В связи с этим становится актуальным как можно более ранняя и точная диагностика, как желудочно-кишечных заболеваний лошадей в целом, так и заворота большой ободочной кишки, в частности.

Общепринятый диагностический протокол, который применялся для диагностики пациентов с симптомокомплексом колик, включает в себя сбор анамнеза (возраст, условия содержания и кормления, наличие хронических заболеваний, время появления первых симптомов, ранее применяемое лечение и ответ на него), клиническое исследование (степень болевого синдрома, частоту сердечных сокращений (ЧСС), частоту дыхательных движений (ЧДД), термометрия), зондирование желудка, ректальное и ультразвуковое исследования, иногда общий и биохимический анализы крови и гастроскопическое исследования [2].

Данные анамнеза важны для постановки диагноза, так по сообщениям многих авторов, увеличения случаев заворота большой ободочной кишки отмечается в хозяйствах с большим маточным поголовьем. Развитие заворота связано, по всей видимости, с тем, что после родов имеется довольно

большое пустое пространство в области тазового изгиба большой ободочной кишки, что в совокупности со свободным его расположением в брюшной полости, способствует завороту. Так же отмечается сезонный подъем заболеваемости, связанный со сменой рациона и переходом на кормление зеленой травой [4, 5]. По результатам, полученным в ходе диагностики, принимается решение о консервативном лечении, либо срочном оперативном вмешательстве. Учитывая тот факт, что при завороте большой ободочной кишки у лошадей не существует консервативного лечения и общее состояние пациента стремительно ухудшается точность постановки диагноза и скорость принятия решения о проведении операции, имеют решающее значение для исхода лечения [3, 6, 7].

Во всех, без исключения, случаях, когда диагноз заворот большой ободочной кишки подтверждался интраоперационно либо посмертно у пациентов с симптомокомплексом колик наблюдались значительные превышения нормы таких показателей как уровень лактата и гематокрита, ЧСС и ЧДД. Намного сильнее была выражена демонстрация абдоминальной боли. Лошади проявляли сильное беспокойство, ложились или падали, не реагировали на людей и окружающую среду. В ряде случаев таким пациентам не проводилось ректальное исследование ввиду очевидности необходимости оперативного вмешательства. Важно отметить факт стремительного и неуклонного повышения вышеперечисленных клинических показателей во время нахождения таких пациентов в стационаре, а также слабый и непродолжительный ответ на введение обезболивающих препаратов, либо вовсе его отсутствие [7].

Напротив, пациенты с неполным заворотом большой ободочной кишки, смещением, закупоркой ее кормовыми массами, либо метеоризмом, демонстрировали более умеренную болевую реакцию, основные клинические показатели хоть и превышали норму, но оставались на определенном уровне, либо снижались после начала терапевтического лечения. Эти пациенты хорошо отвечали на вводимые обезболивающие препараты.

В таблице отражены основные параметры и клинические симптомы, используемые при диагностике лошадей с симптомокомплексом колик. Полученные в ходе диагностики данные, позволяют выбрать тактику лечения, оперативное вмешательство, либо консервативная терапия, а также своевременно реагировать на развития заворота большой ободочной кишки в условиях стационара.

Таблица

Основные клинические показатели лошадей, применяемые для диагностики пациентов с симптомокомплексом колик в клинике «Форсайд»

№	Пол и возраст	Цвет слизистых / снк (секунд)	ЧСС (уд/мин)	ЧДД, (дых. Движ./мин)	Гематокрит %	Лактат венозной крови (м. моль/литр)	Ректальное исследование	Диагноз	Результаты лечения
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Мерин 5л.	Красные /3	55	22	48	2,5	Переполн. газом БОК*	Тимпания БОК*	Консервативное
2	Кобыла 8л.	Бледно-роз. /2	38	18	37	1,5	Переполн. кормом БОК*	Закупорка БОК*	Консервативное
3	Кобыла 11л.	Бледно-роз. /2	36	20	34	1,7	Перемещение БОК в почечно-селезеночное пространство	Перемещение БОК в почечно-селезеночное пространство	Консервативное
4	Мерин 3 г.	Красные /2	55	25	45	2,6	Переполн. газом БОК*	Тимпания БОК*	Консервативное
5	Мерин 20 л.	Красные /2	48	26	38	3,6	Переполн. газом БОК*	Тимпания БОК*	Консервативное
6	Жеребец 9л.	Бледно-роз. /2	36	16	35	1,2	Переполн. кормом БОК*	Закупорка БОК*	Консервативное
7	Кобыла 22 г.	Бледно-роз. /2	44	20	48	2,7	Переполн. кормом БОК*	Закупорка БОК*	Консервативное
8	Мерин 7 л.	Красные /2	47	17	46	2,5	Переполн. кормом БОК*	Закупорка БОК*	Консервативное

Окончание табл.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
9	Мерин, 10 л.	Темно-красн./3	94	30	59	5,2	Переполн. газом БОК*	Заворот БОК*	Опер. лечение
10	Кобыла 10 л.	Красные /2	80	26	55	4,5	Переполн. газом БОК*	Заворот БОК*	Опер. лечение
11	Мерин 8 л.	Бледные/4	56	35	56	7,8	Не проводилось	Заворот БОК* (посмертно)	Эвтаназия
12	Кобыла 15 л.	Бледно-роз. /2	64	20	38	2,5	Переполн. газом БОК*	Частичн. заворот БОК*	Опер. лечение
13	Кобыла 13 л.	Красные /2	80	28	65	5,5	Переполн. газом БОК*	Заворот БОК*	Опер. лечение
14	Мерин 11 л.	Бледные/4	110	38	70	13,3	Не проводилось	Заворот БОК*	Умер на опер. столе
15	Мерин 19 л.	Темно-красн./4	85	30	65	4,7	Переполн. газом БОК*	Заворот БОК*	Опер. лечение
16	Кобыла 9 л.	Темно-красн./3	84	25	61	3,8	Переполн. газом БОК*	Заворот БОК*	Опер. лечение
17	Жеребец 5 л.	Синюшные/ 4	95	26	68	6,8	Не проводилось	Заворот БОК*	Эвтаназия
18	Кобыла 12 л.	Бледно-роз. /2	70	28	57	4,5	Переполн. газом БОК*	Заворот БОК*	Опер. лечение
19	Мерин 9 л.	Синюшные/ 4	90	33	65	7,3	Не проводилось	Заворот БОК*	Эвтаназия
20	Мерин 16 л.	Бледные/4 Темно-красн./3	110	38	70	13,3	Не проводилось	Заворот БОК*	Опер. лечение

* большая ободочная кишка

В таблице отражена статистика пациентов с симптомокомплексом колик, продиагностированных и проходивших лечение в клинике «Форсайд» в период с 2021 по 2024 год. Анализ приведенных в таблице данных, позволяет сделать вывод, что заворот большой ободочной кишки в ряде случаев схожий по клиническим признакам с другими патологиями толстого отдела кишечника, таких как метеоризм и закупорка каловыми массами, сопровождается значительно более глубокими изменениями клинических показателей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В этой статье был проведен анализ литературных данных по проблеме дифференциальной диагностики заворота большой ободочной кишки у лошадей. Так же приведены статистические данные пациентов клиники «Форсайд» за последние четыре года. Так как клиника «Форсайд» является профильным учреждением, в котором проводится оперативное лечение лошадей с данным диагнозом, то, по нашему мнению, приведенные в таблице статистические данные, являются актуальными для Ленинградской области.

На основании собственных исследований и данных, взятых из литературных источников, диагностика заворота большой ободочной кишки не выходит за рамки стандартного диагностического протокола. Однако отсутствие консервативного лечения при данном заболевании, временной фактор и невозможность проводить качественное оперативное вмешательство вне специализированной клиники делают дифференциальную диагностику заворота большой ободочной кишки решающим фактором для успеха лечения.

Заболевания толстого отдела желудочно-кишечного тракта лошадей в целом и заворот большой ободочной кишки в особенности, являются одной из самых распространенных причин длительной госпитализации лошадей.

Сложное специфическое лечение наряду с острыми прогнозами и высокой смертностью (при

диагнозе заворот большой ободочной кишки), требуют от ветеринарных врачей наличия специфических знаний по данной проблематике, более точной и своевременной дифференциальной диагностики с последующим направлением в профильные учреждения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Колики лошадей. Причины. Диагноз. Лечение. Ковач М. ООО «Королевский издательский дом» 2010 г. сс37—40; 123—124.

2. Принципы дифференциальной диагностики при коликах у лошадей /Principles of differential diagnosis for equine colic Автор (ы): Ковач М., Алиев Р. У., Лобанова В. Р., Дракул Н., Иванятов Е. Ю., Павленко Е. И. Галлицкая К. А., Берестов И. Ветеринарная клиника «Новый Век», филиал Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина Журнал: № 1—2021

3. Заворот большой ободочной кишки у лошадей. Диагностика и лечение / Equine large colon volvulus. Diagnosis and treatment М. Ковач, д. в.н., профессор, главный врач ветеринарной клиники «Новый Век» (Москва), Р. Алиев, ветеринарный врач ветеринарной клиники «Новый Век» (Москва), Й. TOTX, д. в.н., профессор, ветеринарная клиника «Хохмоор» (Германия) / М. KOVAC, DVM, MSc, Dr.sci., Professor, Veterinary Clinic «New Century» (Moscow), R. Aliev, DVM, Veterinary Clinic «New Century», Moscow, J. TOTX, DVM, PhD, Dr.sci., Professor, Veterinary Clinic «Hochmoor» (Germany) Журнал: № 3—2015

4. Анализ причин заворота большой ободочной кишки у лошадей. Погорелов М. А., Стекольников А. А. 293 Международный вестник ветеринарии № 3 2023 г. С 293

5. Jorg A. Auer, John A. Equine surgery fourth edition. — Fourth edition ed. — St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2012. — 474—476 pp.

6. DISEASES AND SURGERY OF THE LARGE COLON Janet K. Johnston, DVM, and David E. Freeman, MVB, PhD VETERINARY CLINICS OF NORTH AMERICA: EQUINE PRACTICE VOLUME 13 • NUMBER 2 • AUGUST 1997 сс324—327

7. The Equine Acute Abdomen Nathaniel A. White, DVM, MSJames N. Moore, DVM, PhDTim S. Mair, BVSc, MRCVS, PhD2009 с 640

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

М. А. Погорелов — соискатель каф. общей, частной и оперативной хирургии;
А. А. Стекольников — доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН.

Статья поступила в редакцию 20.08.2025.

Original article

UDC 616.348—007.59—07:636.1

FEATURES OF DIAGNOSIS OF EQUINE LARGE INTESTINAL VOLVULUS

Maksim Aleksandrovich Pogorelov[✉], Anatoliy Aleksandrovich Stekolnikov

Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, Saint Petersburg, Russia, dnm_erfolg@mail.ru[✉]

Abstract. Equine large intestinal volvulus is one of the most dangerous and severe forms of gastrointestinal disease. The disease progresses rapidly, requiring immediate hospitalization in a specialized clinic and surgical treatment. The 100 % mortality rate without surgical treatment, as well as the need to begin surgery as early as possible, make the early diagnosis of large intestinal diseases requiring surgical intervention a pressing issue.

Often subtle clinical signs at the disease onset (lack of constant animal monitoring and poor owner awareness of the problem lead to fatal consequences. Severe secondary complications, such as endotoxemia, sepsis, peritonitis and respiratory and cardiovascular failure) develop. All of the above significantly complicates both the surgery itself and postoperative management, leading to the impossibility of any treatment, resulting in the death of the animal or the need for euthanasia.

The research objective was to study diagnostic features of acute equine intestinal diseases, facilitating more effective treatment and minimizing mortality.

Keywords: horses, colic, large intestinal volvulus, diagnosis

Due to the high mortality rate associated with gastrointestinal diseases associated with colic syndrome, each such case is an emergency not only for the horse and its owner, but also for the veterinarian [1].

The primary diagnostic methods used for this condition include anamnesis, clinical, rectal, ultrasound and laboratory examinations, gastroscopy and nasogastric intubation. In some cases, one of the above diagnostic methods is sufficient, but more often, a comprehensive diagnostic approach is required [2]. This diagnostic algorithm typically allows for a fairly accurate determination of the disease severity, its location (stomach, small intestine or large intestine) and the determination of a treatment strategy.

However, large intestinal volvulus, along with some other types of equine intestinal strangulation, requires closer attention from clinicians.

This pathology is characterized by the development of severe cecal flatulence, intestinal wall necrosis and impaired cell membrane permeability, leading to increased resorption of intestinal endotoxins, with the development of a severe form of endotoxic shock within 4—5 hours [3].

Therefore, diagnosis of suspected cases of this disease requires a more thorough and balanced approach to save the patient's life or promptly decide on euthanasia if the prognosis is unfavorable.

MATERIAL AND METHODS

The statistical data were collected at the veterinary clinic Forside, located in Leningrad region, specializing in equine treatment, including surgical interventions for equine gastrointestinal diseases.

A retrospective analysis of the medical records of 20 animals diagnosed and subsequently treated at the clinic for a symptom complex of colic and suspected large intestinal obstruction was conducted. Twelve animals were diagnosed with large intestinal volvulus, confirmed intraoperatively. The period covered by the medical records spanned 2021—2024. The data obtained during the diagnosis were analyzed and compared with the data from domestic and international literature sources.

STUDY RESULTS

For data collection, sick horses with signs of large intestinal obstruction were used. They were diagnosed, underwent either conservative or surgical treatment with subsequent intraoperative confirmation of the diagnosis of large intestinal volvulus.

Treatment of equine large intestinal volvulus is associated with significant intraoperative and postoperative risks and requires lengthy rehabilitation. This entails significant financial costs due to hospitalization and, not infrequently, death. [4] Therefore, the earli-

est and most accurate diagnosis of equine gastrointestinal diseases in general, and large intestinal volvulus in particular, is essential.

The generally accepted diagnostic protocol used to diagnose patients with colic includes a comprehensive medical history (age, keeping and feeding conditions, presence of chronic diseases, time of the symptom onset, previous treatment and response to them), a clinical examination (pain severity, heart rate (HR), respiratory rate (RR), thermometry), gastric intubation, rectal and ultrasound examinations, and sometimes complete blood counts, biochemical blood tests and a gastroscopic examination [2].

The medical history is important for diagnosis, as many authors report an increased incidence of large intestinal volvulus on farms with large breeding herds. The development of volvulus is likely related to the presence of a fairly large empty space in the pelvic flexure of the intestine after parturition, which, combined with its free position in the abdominal cavity, contributes to the volvulus development. A seasonal increase in the incidence of the disease is also noted, associated with dietary changes and the transition to green grass feeding [4, 5]. Based on the results obtained during diagnosis, a decision is made on conservative treatment or urgent surgical intervention. Given the fact that there is no conservative treatment for equine large intestinal volvulus and the patient's general condition rapidly deteriorates, the accuracy

of the diagnosis and the speed of decision-making regarding surgery are crucial.

In all cases, without exception, where the diagnosis of large intestinal volvulus was confirmed intraoperatively or postmortem in patients with colic symptoms, significant elevations in lactate and hematocrit levels, heart rate and respiratory rate were observed. Abdominal pain was much more pronounced. Horses displayed severe anxiety, laying down or falling and were unresponsive to people and the environment. In a number of cases, rectal examinations were not performed in these patients due to the obvious need for surgical intervention. It is important to note the rapid and persistent increase in the above-mentioned clinical indicators during the hospital stay of these patients, as well as a weak and short-lived response to pain medication or no response at all [7].

In contrast, patients with a partial large intestinal volvulus, displacement, impaction by fecal matter or flatulence demonstrated a more moderate pain response. While the main clinical indicators were elevated, they remained at a certain level or decreased after the therapeutic treatment onset. These patients responded well to the administered analgesics.

The Table displays the key indicators and clinical signs used to diagnose horses with colic symptoms. The data obtained during diagnosis help select a treatment strategy, whether surgical intervention or conservative therapy, and promptly respond to the development of large intestinal volvulus in a hospital setting.

Table

Key clinical indicators used to diagnose equine patients with colic symptoms at the veterinary clinic Forside

No.	Gender and age	Mucous membrane color / CFR (seconds)	Heart rate (bpm)	RR, (breathing movement/min)	Hematocrit %	Venous blood lactate (mmol/L)	Rectal examination	Diagnosis	Treatment results
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Gelting horse 5 y. o.	Red /3	55	22	48	2.5	Gas-filled LI*	LI* tympany	Conservative
2	Mare 8 y. o.	Pale pink /2	38	18	37	1.5	Food-filled LI*	LI* impaction	Conservative
3	Mare 11 y. o.	Pale pink /2	36	20	34	1.7	LI* transfer into the re-nal-splenic space	LI* transfer into the re-nal-splenic space	Conservative

Table (continued)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4	Gelting horse 3 y. o.	Red /2	55	25	45	2.6	Gas-filled LI*	LI* tympany	Conservative
5	Gelting horse 20 y. o.	Red /2	48	26	38	3.6	Gas-filled LI*	LI* tympany	Conservative
6	Unaltered male horse, 9 y. o.	Pale pink /2	36	16	35	1.2	Food-filled LI*	LI* impaction	Conservative
7	Mare, 22 y. o.	Pale pink /2	44	20	48	2.7	Food-filled LI*	LI* impaction	Conservative
8	Gelting horse, 7 y. o.	Red /2	47	17	46	2.5	Food-filled LI*	LI* impaction	Conservative
9	Gelting horse, 10 y. o.	Dark red /3	94	30	59	5,2	Gas-filled LI*	LI* volvulus	Surgical treatment
10	Mare, 10 y. o.	Red /2	80	26	55	4.5	Gas-filled LI*	LI* volvulus	Surgical treatment
11	Gelting horse, 8 y. o.	Pale/4	56	35	56	7.8	Was not performed	LI* volvulus (post mortem)	Euthanasia
12	Mare, 15 y. o.	Pale pink /2	64	20	38	2.5	Gas-filled LI*	Partial LI* volvulus	Surgical treatment
13	Mare, 13 y. o.	Red /2	80	28	65	5.5	Gas-filled LI*	LI* volvulus	Surgical treatment
14	Gelting horse, 11 y. o.	Pale/4	110	38	70	13.3	Was not performed	LI* volvulus	Died on the operating table.
15	Gelting horse, 19 y. o.	Dark red/4	85	30	65	4.7	Gas-filled LI*	LI* volvulus	Surgical treatment
16	Mare, 9 y. o.	Dark red/3	84	25	61	3.8	Gas-filled LI*	LI* volvulus	Surgical treatment
17	Unaltered male horse, 5 y. o.	Bluish/ 4	95	26	68	6.8	Was not performed	LI* volvulus	Euthanasia
18	Mare, 12 y. o.	Pale pink /2	70	28	57	4.5	Gas-filled LI*	LI* volvulus	Surgical treatment
19	Gelting horse, 9 y. o.	Bluish / 4	90	33	65	7.3	Was not performed	LI* volvulus	Euthanasia

Table (the end)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
20	Gelting horse, 16 y. o.	Pale/4 Dark red./3	110	38	70	13.3	Was not performed	LI* volvulus	Surgical treatment

* large intestine

The Table presents the statistics for patients with colic symptoms diagnosed and treated at the veterinary clinic Forside from 2021 to 2024. The analysis of the data presented in the Table suggests that large intestinal volvulus, while in some cases similar in clinical signs to other intestinal pathologies such as flatulence and fecal impaction, is accompanied by significantly more profound changes in clinical indicators.

CONCLUSION

This article analyzes the literature on the differential diagnosis of equine large intestinal volvulus. The statistical data for patients treated at the veterinary clinic Forside over the past four years are also provided. Since the veterinary clinic Forside is a specialized institution that performs surgical treatment of horses with this diagnosis, we believe the statistical data presented in the Table are relevant for Leningrad region.

Based on our own research and data from literature, the diagnosis of large intestinal volvulus (LIV) does not go beyond the standard diagnostic protocol. However, the lack of conservative treatment for this condition, the time factor, and the impossibility of performing high-quality surgical intervention outside a specialized clinic make differential diagnosis of LIV a crucial factor for treatment success.

Diseases of the equine gastrointestinal tract in general, and large intestinal volvulus (LIV) in particular, are among the most common causes of prolonged hospitalization in horses. Complex, specific treatment, along with a cautious prognosis and high mortality

(with a diagnosis of LIV), require veterinarians to have specific knowledge of this issue, as well as more accurate and timely differential diagnosis and subsequent referral to specialized institutions.

REFERENCES

1. Equine Colic. Causes. Diagnosis. Treatment. *Kovac M.*, Royal Publishing House, 2010, P. 37—40; 123—124.
2. Principles of Differential Diagnosis for Equine Colic. Author(s): *Kovac M., Aliev R. U., Lobanova V. R., Drakul N., Ivanyatov E. Yu., Pavlenko E. I., Galitskaya K. A., Berestov I.* Veterinary Clinic “New Century” — branch of Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K. I. Skryabin. Journal: No. 1—2021
3. Equine Large Colon Volvulus. Diagnosis and Treatment. *M. Kovach*, Doc. of Vet. Sciences, Professor, Medical Director of Veterinary Clinic “New Century” (Moscow), et al. Journal: No. 3—2015.
4. Analysis of the causes of equine large colon volvulus. *Pogorelov M. A., Stekolnikov A. A.* 293 *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii (International Bulletin of Veterinary Medicine)*, No. 3 2023. P. 293.
5. *Jorg A. Auer, John A.* Equine surgery fourth edition. — Fourth edition ed. — St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2012. — 474—476 p.
6. DISEASES AND SURGERY OF THE LARGE COLON *Janet K. Johnston, DVM, and David E. Freeman, MVB, PhD VETERINARY CLINICS OF NORTH AMERICA: EQUINE PRACTICE VOLUME13 • NUMBER2 • AUGUST 1997 P. 324—327.*
7. The Equine Acute Abdomen *Nathaniel A. White, DVM, MSJames N. Moore, DVM, PhDTim S. Mair, BVSc, MRCVS, PhD2009 P. 640.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

M. A. Pogorelov — Candidate for a Degree of the Department of General, Special and Operative Surgery;
A. A. Stekolnikov — Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Academician of the RAS.

The article was submitted 20.08.2025.

СРЕДСТВА ЗООГИГИЕНЫ, ДЕЗИНФЕКЦИИ, ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ

Научная статья

УДК 619:618.19—002.1:632.2

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.011

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МАСТИТА У КОРОВ В ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКЕ

**Ольга Борисовна Павленко[✉], Оксана Владимировна Фенич,
Виталий Иванович Зимников, Евдокия Владимировна Тюрина**

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия, kobra_64.64@mail.ru[✉]

Аннотация. В статье приведены материалы по распространению мастита у коров. Установлено, что субклиническая форма мастита у коров является наиболее распространенной, которая диагностирована у 34,5 % обследованных коров при частоте поражения 12,6 % долей. Интенсивность поражения долей молочной железы субклиническим маститом не имела значительной вариабельности в связи с возрастом коров, периодом лактации, но была выражена сезонность. При сопоставлении частоты заболевания передних и задних долей молочной железы коров субклиническим маститом, установили незначительное преимущественное поражение задних долей. На частоту заболевания коров субклиническим маститом при машинном доении существенное влияние оказывает величина, форма и расположение сосков.

Ключевые слова: коровы, распространение, мастит, субклинический мастит

Мастит коров является серьезным заболеванием лактирующих коров, во время которого снижается количество и качество молока и является существенным тормозом развития молочного скотоводства. По общероссийской статистике у коров в период воспалительного процесса в молочной железе происходит снижение годового удоя на 10,0—15,0 %. Основные потери приходятся на период болезни, лечения и последующего выздоровления. В течение года около 68,0 % коров стада может 2 и более раз переболеть этим заболеванием, что приводит к развитию хронического течения болезни и впоследствии к агалактии. Вследствие этих причин приходится выбраковывать животных. Выбраковка достигает до 20,0 % коров в год от дойного стада [1—4].

Общее поголовье коров во всех странах мира достигает 211 миллионов, из них более 40,0 % животных заболевают различными формами мастита. В хозяйствах нашей страны маститом переболевает от 22,0 до 60,0 % коров. Наиболее распространенной является субклиническая форма, которая регистрируется в 2—4 раза чаще, чем клинически выраженная [5].

Установлено, что с увеличением молочной продуктивности с 4—5 тыс. кг до 6 тыс. кг заболеваемость увеличивается в 1,7 раза, до 7 тыс. кг — в 2,5 раза и свыше 7 тыс. кг — в 4 раза. Среди высокопродуктивных молочных коров за период лактации маститом переболевает 72,1 % животных. Из них 14,8 % переболевает два и более раза [6].

Мастит у коров может проявиться в результате воздействия многих факторов — этиология его возникновения многообразна. Мастит развивается в любое время года и в любом физиологическом состоянии животного. По данным исследований в некоторых молочных хозяйствах средней полосы России мастит в различных формах обнаруживался за год у 25,0—35,0 % коров от общего поголовья предприятия.

Коровы заболевают маститом в любой период лактации, при этом чаще заболевание поражает высокопродуктивных животных. До четверти переболевших коров впоследствии выбраковываются в результате атрофии одной или двух четвертей вымени. Также стоит отметить, что скрытым маститом в некоторых хозяйствах болеет более половины коров в стаде, а снижение удоев в результате

© Павленко О. Б., Фенич О. В., Зимников В. И., Тюрина Е. В., 2025

перебеливания маститом может достигать до 12,0—15,0 % от годового удоя [7].

Маститы коров наблюдаются не только в лактационный, но и в периоды запуска и сухостоя. В промышленных комплексах по производству молока в результате проведения исследований диагноз мастит был установлен у 39,0 % коров из 1250 гол, в том числе и скрытых форм при соотношении 1:4—5. В периоды запуска и сухостоя коров было установлено, что 23,0 % проб молока положительно среагировали на быстрый калифорнийский тест [8].

В некоторых хозяйствах Ульяновской области уровень мастита составлял от 26,17 до 31,03 %. При этом соотношение клинического мастита к скрытому составляет приблизительно 1:2. На наш взгляд, причиной послужило изменение условий содержания, а именно: отказ руководства и ветеринарной службы хозяйства от организации выгула коров, пастбы в летний период [9]. Целью нашей работы явилось изучение распространения мастита у коров в условиях Донецкой Народной Республики в различные физиологические периоды, сезоны года.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили в условиях ООО «Агрофирма «Горняк» Старобешевского района Донецкой Народной Республики. Материалом для исследований служили здоровые лактирующие коровы и больные субклиническим маститом, в возрасте от 1 до 8 лактаций, а также был проведен анализ амбулаторного журнала и актов обследования поголовья на мастит в период 2024—2025 гг. Для диагностики мастита провели исследование дойного поголовья в количестве 200 голов. Диагностику субклинического мастита проводили в такой последовательности: 1) наружный осмотр; 2) пальпация; 3) взятие проб молока для лабораторного исследования. При осмотре молочной железы определяли ее форму и степень развития, а также величину

и расположение сосков. Особое внимание обращали на величину и форму симметричных долей вымени и состояние кожного покрова.

Пальпацией определяли наличие болезненности, местную температуру симметричных долей, консистенцию паренхимы молочной железы до и после доения. При прощупывании надвыменных лимфатических узлов учитывали их величину, болевую чувствительность, подвижность и консистенцию.

Для лабораторного исследования брали молоко в конце доения (альвеолярное) из каждой доли в отдельности. С целью исключения диагностических ошибок мы не исследовали молоко коров в первые 20 дней лактации, в период запуска и сухостоя.

Для выяснения взаимосвязи между формой, длиной, толщиной соска, формой его верхушки и частотой заболевания долей молочной железы провели морфологическую оценку сосков с параллельным исследованием проб паренхимного молока на наличие субклинического мастита. Оценка сосков молочной железы коров проводили перед доением путем осмотра и измерения с помощью линейки и штангенциркуля. Промеры сосков делали с правой стороны. Длину передних и задних сосков молочной железы измеряли линейкой от их основания до верхушки, а толщину — штангенциркулем в верхней трети сосков.

Диагноз ставили на основании реакции молока с экспресс-диагностиком «Kenotest», согласно методических рекомендаций, клинического осмотра, данных анамнеза. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью прикладной программы «Microsoft Excel».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенных исследований были получены следующие данные: субклинический мастит диагностировали у 34,5 % обследованных коров, частота поражения долей молочной железы составила 12,6 % (табл. 1).

Таблица 1

Распространение субклинического мастита у коров

Обследовано на субклинический мастит		Больных субклиническим маститом				Интенсивность поражения долей
коров	долей	коров		долей		
		кол-во	%	кол-во	%	
200	768	69	34,5	97	12,6	1,4

Интенсивность поражения долей при обследовании коров, больных субклиническим маститом, составила 1,4 раза.

По данным многих исследователей при изучении структуры воспалительных процессов субклиническую форму мастита отмечают у 70,8—

83,7 % животных, клиническую — у 16,3—29,2 % коров [9].

С целью выяснения распространения мастита у лактирующих коров в различные сезоны года проведён анализ амбулаторного журнала и актов обследования поголовья на мастит в период 2024—2025 гг (рис.).

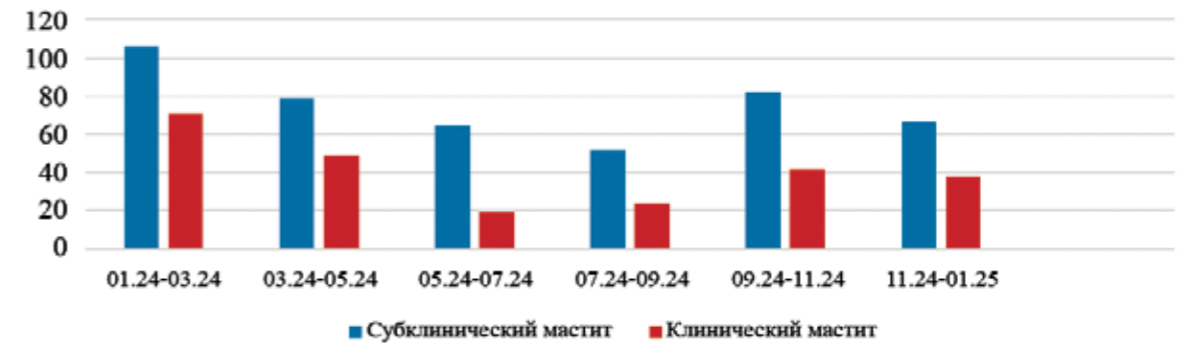


Рис. Сезонность распространения мастита у коров

В результате проведенных исследований было установлено, что с января по март 2024 года было выявлено 175 случаев мастита, что составляет 22,1 % от дойного поголовья. Субклиническую форму наблюдали в 105 случаях, а клиническую у — 70 случаях.

Второй пик заболеваемости наблюдали с сентября по ноябрь 2024 года, при этом субклиническую форму мастита наблюдали у 84 голов, а клиническую у 41 коровы.

Таким образом, отмечена выраженная сезонность заболеваемости коров маститом. Наибольшее поражение маститом поголовья наблюдали в периоды с января по май. Это может быть связано с ухудшением кормовой базы и нарушением параметров микроклимата в животноводческих помещениях.

По данным Г. А. Ларионова (2015) субклинический мастит у коров в период лактации чаще раз-

вивается в весеннее и летнее время и составляет 16,0 и 32,0 % соответственно [10].

Влияние возраста на частоту заболевания долей молочной железы субклиническим маститом мы проследили на 73 коровах хозяйства. Среди обследованного поголовья коров хозяйства по возрасту заболеваемость распределилась следующим образом: 3 года — 13,7 %, 4 года — 9,6 %, 5 лет — 24,7 %, 6 лет — 6,8 %, 7 лет — 16,4 %. Наибольший процент заболевших субклиническим маститом коров установлен среди коров 3-х летнего (50,0 %) и 7 — летнего возраста (33,3 %).

Далее мы проанализировали взаимосвязь между заболеванием коров субклиническим маститом и периодом лактации. Лактацию условно подразделили на четыре периода: первый — с 21 по 110 день, второй — с 111 по 200, третий — с 201 по 290, четвертый — более 291 дня (табл. 2).

Таблица 2

Заболеваемость коров субклиническим маститом по периодам лактации

Период лактации (дни)	Обследовано животных	Выявлено коров, больных субклиническим маститом	
		гол	%
21—110	62	26	41,9
111—200	55	23	41,8
201—290	7	3	42,9
свыше 290	18	8	44,4

Установлено, что субклинический мастит регистрируется почти с одинаковой частотой на протяжении всей лактации (колебания составляют 41,8—44,4 %).

Далее сопоставляя частоту заболевания передних и задних долей молочной железы субклиническим маститом, установили незначительное преимущественное поражение задних долей (табл. 3).

Таблица 3

Частота заболевания долей вымени субклиническим маститом

Доли вымени	Обследовано		Диагностировано заболевание	
	коров	долей	голов	%
Правая передняя	200	200	20	10,0
Правая задняя	200	196	21	10,71
Левая передняя	200	195	30	15,38
Левая задняя	200	188	34	18,08

Разницу между частотой заболевания задних и передних долей молочной железы можно объяснить тем, что у коров задние доли более продуктивные. Г. А. Ларионов с соавторами выявили, что при нарушении правил и технологии доения воспалительный процесс в передней правой и задней левой четвертях составляет 44,0 %, в передней левой и задней правой четвертях — 29,0 % [10].

На частоту заболевания коров субклиническим маститом при машинном доении существенное влияние оказывает величина, форма и расположение сосков. Нормальным расположением сосков является, такое при котором расстояние между верхушками передних сосков 15,0—18,0 см, задних — 6,0—10,0 см, между передними и задними — 8,0—12,0 см.

Нами также определен уровень заболеваемости коров маститом в зависимости от формы сосков, их расположения (табл. 4). Установлено, что из 9 сос-

ков цилиндрической формы оказалось пораженными субклиническим маститом — 6 (67,3 %), из 30 конической формы — 5 (16,6 %), из 2 бутылчатой — 2 (100,0 %). Значительно чаще заболевание диагностировали у коров с воронкообразной формой верхушки соска (13 из 24), чем с плоской (4 из 17) и конусообразной (10 из 33). При нормальном расположении сосков заболевание диагностировали в 33,3 % случаев, а при сближенном — в 50,0 %.

Таким образом, цилиндрическая, бутылчатая форма сосков, воронкообразная форма их верхушки и сближенное расположение сосков способствуют более частому заболеванию субклиническим маститом.

Взаимосвязь между размерами сосков и частотой возникновения субклинического мастита у коров установить не удалось (табл. 5). Диаметр сосков больных долей был на 0,1—0,2 мм меньше диаметра здоровых.

Таблица 4

Характеристика сосков вымени у коров и частота заболевания коров субклиническим маститом

Показатели	Форма соска			Форма верхушки соска			Расположение сосков	
	цилиндрическая	коническая	бутылчатая	плоская	конусовидная	воронкообразная	нормальное	сближенное
Обследовано коров	9	30	2	17	33	24	18	16
Выявлено больных коров, %	67,3	16,6	100,0	23,5	30,3	54,1	33,3	50,0

Таблица 5

Размеры сосков молочной железы и заболеваемость коров субклиническим маститом ($M \pm m$)

Соски молочной железы		Толщина сосков, мм	Длина сосков, мм
передние	здоровые	19,8 ± 0,4	79,0 ± 1,7
	пораженные	19,6 ± 0,7	79,0 ± 0,6
задние	здоровые	19,7 ± 0,4	71,7 ± 1,5
	пораженные	19,6 ± 1,1	67,7 ± 2,4

Длина передних сосков здоровых и больных долей у обследованных коров была одинаковой (79,0 мм). Задние соски были короче передних на 7,3 мм.

Обращает на себя внимание значительное уменьшение длины сосков задних пораженных долей (71,7 и 67,7 мм, $p < 0,02$), в сравнении с симметричными здоровыми долями.

Уменьшение толщины и длины сосков пораженных долей молочной железы свидетельствуют о наличии атрофических процессов и развитии соединительной ткани.

Следовательно, на частоту заболевания долей молочной железы субклиническим маститом размеры сосков не оказывают существенного влияния.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, субклиническая форма мастита у коров является наиболее распространенной. Интенсивность поражения долей молочной железы субклиническим маститом не имеет значительной варибельности в связи с возрастом коров, периодом лактации, но установлена сезонность данной патологии с пиком, приходящим на периоды с января по май.

При сопоставлении частоты заболевания передних и задних долей молочной железы коров субклиническим маститом, установили незначительное преимущественное поражение задних долей. На частоту заболевания коров субклиническим маститом при машинном доении существенное влияние оказывает величина, форма и расположение сосков.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Комаров В. Ю. Диагностика воспаления молочной железы, как фактор продуктивного долголетия молочных коров / В. Ю. Комаров // Научный журнал молодых ученых. — 2018. — № 4 (13). — С. 1—7.
2. Павленко О. Б. Применение пробиотика «Ветом-3» для лечения коров при субклиническом масти-

те: специальность 16.00.07: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Павленко Ольга Борисовна. — Воронеж, 2005. — 19 с.

3. Yang W-T, Ke C-Y, Wu W-T, Lee R-P, Tseng Y-H. Effective treatment of bovine mastitis with intramammary infusion of Angelica dahurica and Rheum officinale extracts. Evid Based Complement Alternat Med. 2019.

4. Sharun K, Dhama K, Tiwari R, et al. Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. Veterinary Quarterly. 2021;41(1):107—136.

5. Ятрусева Е. С. Эффективность применения средств на основе пробиотических бактерий в профилактике маститов и повышении качества молока коров / Е. С. Ятрусева // Аграрный вестник Урала. — 2017. — № 2. — С. 72—76.

6. Новикова С. Влияние однократного введения препарата «Цефтонит® форте» на показатели крови при лечении мастита у лактирующих коров / С. Новикова, А. Сазонов, Л. Кашковская // Эффективное животноводство. — 2018. — № 1(140). — С. 48—50.

7. Определение взаимосвязи возникновения мастита у коров с различным количеством лактаций / Ж. Ш. Ушакова, В. Д. Кочарян, М. А. Ушаков, А. В. Филатова // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. — 2022. — № 1(65). — С. 331—341.

8. Назаров М. В. Особенности диагностики, лечения и профилактики субклинического мастита у коров в период запуска и сухостоя / М. В. Назаров, Б. В. Гаврилов, Е. В. Попович // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. — 2022. — № 6(98). — С. 170—174.

9. Терентьева Н. Распространение мастита у коров в хозяйствах Ульяновской области / Н. Терентьева, В. Ермолаев // Ветеринария сельскохозяйственных животных. — 2017. — № 10. — С. 37—44.

10. Ларионов Г. А. Динамика поражения четвертей вымени коров при субклиническом мастите в период лактации / Г. А. Ларионов, Л. М. Вязова, О. Н. Дмитриева // Аграрный вестник Урала. — 2015. — № 4(134). — С. 45—49.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

О. Б. Павленко — доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник;
В. И. Зимников — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
Е. В. Тюрина — младший научный сотрудник;
О. В. Фенич — аспирант.

Статья поступила в редакцию 12.09.2025.

AGENTS FOR ZOOHYGIENE, DISINFECTION,
DISINSECTIZATION AND DISINFESTATION

Original article
UDC 619:618.19—002.1:632.2

DISTRIBUTION OF BOVINE MASTITIS
IN THE DONETSK PEOPLE'S REPUBLIC

Olga Borisovna Pavlenko[✉], Oksana Vladimirovna Fenich, Vitaliy Ivanovich Zimnikov,
Evdokiya Vladimirovna Tyurina

All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy,
Voronezh, Russia, kobra_64.64@mail.ru[✉]

Abstract. This article presents the data on the distribution of bovine mastitis. Subclinical mastitis was found to be the most common form, diagnosed in 34.5 % of cows examined, with an incidence of 12.6 % of the mammary gland lobes affected. The incidence of subclinical mastitis did not vary significantly with cow age or lactation period, but did show a pronounced seasonality. A comparison of the incidence of subclinical mastitis in the front and posterior (rear) mammary gland lobes revealed a slight predominance of the posterior lobes. The size, shape and position of the teats significantly affect the incidence of subclinical mastitis in machine-milked cows.

Keywords: cows, distribution, mastitis, subclinical mastitis

Bovine mastitis is a serious disease of lactating cows, reducing the quantity and quality of milk and significantly hindering the development of dairy farming. According to nationwide statistics, the cows with mammary gland inflammation experience a 10.0—15.0 % reduction in annual milk yield. The main losses occur during the illness, treatment and subsequent recovery. Over the course of a year, approximately 68.0 % of cows in a herd may experience this disease two or more times, leading to chronicity and eventually agalactia. As a result, animals are culled. Culling rates reach up to 20.0 % of dairy cows per year [1—4].

The total cow population worldwide reaches 211 million, out of which more than 40.0 % develop various forms of mastitis. On farms in our country, mastitis affects from 22.0 to 60.0 % of cows. The most common is the subclinical form, which is recorded by 2—4 times more often than the clinically expressed form [5].

It has been established that with an increase in milk productivity (milk yield) from 4000—5000 kg to 6000 kg, the incidence of mastitis increases by 1.7 times (up to 7000 kg), by 2.5 times (above 7000 kg) — by 4 times. Among high-yielding dairy cows, 72.1 % of animals experience mastitis during lactation. Out of these 14.8 % experience the disease two or more times [6].

Bovine mastitis can be caused by many factors. Its etiology is diverse. Mastitis can develop at any time of year and in any physiological state of the animal. According to research on some dairy farms in central Russia, mastitis in various forms was detected in 25.0—35.0 % of the total herd of cows per year. Mastitis develops in cows at any stage of lactation, although the disease most often affects high-yielding animals. Up to a quarter of cows that have recovered from the disease are subsequently culled due to atrophy of one or two quarters of the udder. It is also worth noting that on some farms, more than half of the cows in the herd suffer from latent mastitis, and the reduction in milk yield as a result of suffering from mastitis can reach 12.0—15.0 % of the annual milk yield [7].

Bovine mastitis is observed not only during lactation but also during the cow drying off and dry periods. At industrial dairy complexes, the studies revealed that mastitis was diagnosed in 39.0 % of 1250 cows, including latent forms, at a ratio of 1:4—5. During the cow drying off and dry periods, 23.0 % of milk samples were positive for the California Mastitis Test [8].

On some farms in Ulyanovsk region, mastitis rates ranged from 26.17 % to 31.03 %. Moreover, the ratio of clinical to latent mastitis was approximately 1:2. In our opinion, this was due to changes in keeping condi-

tions, namely, the refusal of farm management and veterinary services to organize outdoor grazing of cows during the summer [9]. The research objective was to study the distribution of bovine mastitis in the Donetsk People's Republic during various physiological periods and seasons.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted at Gornyak Agricultural Firm LLC, in Starobeshevskiy district of the Donetsk People's Republic. Healthy lactating cows and those with subclinical mastitis, aged between one and eight lactations, were used for the study.

Ambulatory records and herd mastitis examination reports for the period of 2024—2025 were also analyzed. To diagnose mastitis, a dairy herd of 200 animals was examined. Subclinical mastitis was diagnosed in the following sequence: 1) external examination; 2) palpation; 3) milk sampling for laboratory testing. During examination, the mammary gland shape and development were determined, as well as the size and position of the teats. Particular attention was paid to the size and shape of the symmetrical udder lobes and the condition of the skin.

Palpation was used to determine the presence of tenderness, local temperature of the symmetrical lobes and the consistency of the mammary gland parenchyma before and after milking. When palpating the supra-mammary lymph nodes, their size, sensitivity to pain, mobility and consistency were recorded.

Milk (alveolar milk) was collected from each individual lobe at the end of milking for laboratory testing. To avoid diagnostic errors, we did not analyze milk from cows during the first 20 days of lactation, during the cow drying off period or during the dry period.

To determine the relationship between teat shape, length, thickness and apex shape and the incidence of mammary gland lobe disease, we conducted a morphological assessment of the teats, along with a parallel analysis of parenchymal milk samples for subclinical mastitis.

The cows' mammary gland teats were assessed before milking by inspection and measurement with a ruler and calipers. Teat measurements of teats were taken on the right side.

The length of the front and posterior teats was measured with a ruler from their base to the apex, and the thickness was measured with a caliper across the upper third of the teats.

The diagnosis was based on the milk reaction with the *Kenotest* rapid diagnostic kit, according to guidelines, clinical examination and medical history. Statistical data processing was performed using *Microsoft Excel*.

STUDY RESULTS

The following data were obtained as a result of the study. Subclinical mastitis was diagnosed in 34.5 % of the cows examined, and the incidence of mammary gland lobular lesions was 12.6 % (Table 1).

Table 1

Distribution of bovine subclinical mastitis

Examined for subclinical mastitis		Cows with subclinical mastitis				Intensity of lobular lesions
cows	lobes	cows		lobes		
		number	%	number	%	
200	768	69	34.5	97	12.6	1.4

The intensity of lobular lesions in cows with subclinical mastitis was by 1.4 times higher than in cows with subclinical mastitis.

According to many researchers studying the structure of inflammatory processes, subclinical mastitis is observed in 70.8—83.7 % of animals, while clinical mastitis is observed in 16.3—29.2 % of cows [9].

In order to determine the prevalence of mastitis in lactating cows in different seasons of the year, an analysis of the ambulatory records and reports of herd ex-

aminations for mastitis was conducted in the period of 2024—2025 (Fig.).

The study revealed that 175 cases of mastitis were detected from January to March 2024, representing 22.1 % of the dairy herd. Subclinical mastitis was observed in 105 cases, while clinical mastitis was observed in 70 cases. A second peak in incidence was observed from September to November 2024, with subclinical mastitis observed in 84 cows and clinical mastitis — in 41 cows.

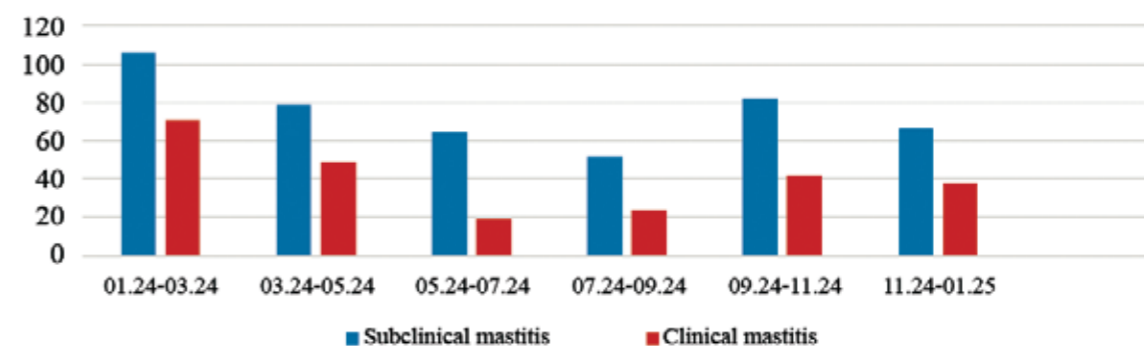


Fig. Seasonality of bovine mastitis distribution

Thus, a pronounced seasonal pattern in mastitis incidence was observed. The highest incidence of mastitis among the herd was observed from January to May. This may be due to deterioration in the feed supply and disruption of the microclimate in the livestock buildings.

According to G. A. Larionov (2015), subclinical mastitis in lactating cows most often develops in the spring and summer, accounting for 16.0 and 32.0 % respectively [10].

We examined the effect of age on the incidence of subclinical mastitis in the mammary gland lobes in 73 cows on the farm.

Among the examined cattle stock, the incidence of subclinical mastitis was distributed by age as follows: 3-year-olds — 13.7 %, 4-year-olds — 9.6 %, 5-year-olds — 24.7 %, 6-year-olds — 6.8 %, and 7-year-olds — 16.4 %. The highest percentage of cows with subclinical mastitis was found among 3-year-old cows (50.0 %) and 7-year-old cows (33.3 %).

We analyzed the relationship between subclinical mastitis incidence and lactation period. Lactation was divided into four periods: the first — from 21 to 110 days, the second — from 111 to 200 days, the third — from 201 to 290 days, and the fourth — more than 291 days (Table 2).

Table 2

Incidence of subclinical mastitis in cows by lactation periods

Lactation period (days)	Animals examined	Detected cows with subclinical mastitis	
		animals	%
21—110	62	26	41.9
111—200	55	23	41.8
201—290	7	3	42.9
more than 290	18	8	44.4

It has been found that subclinical mastitis is recorded with almost the same frequency throughout lactation (ranging from 41.8 % to 44.4 %).

Further comparison of the incidence of subclinical mastitis in the front and posterior lobes of the mammary gland revealed a slight predominance of the posterior lobes (Table 3).

The difference between the incidence of posterior and front mammary gland disease can be explained by the fact that the posterior lobes are more productive in cows. G. A. Larionov et al. has found that when milk-

ing procedures and technology are not followed, the incidence of inflammation in the right front and left posterior quarters is 44.0 %, and in the left front and right posterior quarters, it is 29.0 % [10].

The size, shape and position of the teats significantly affect the incidence of subclinical mastitis in machine-milked cows. Normal teat positioning is defined as a distance between the apexes of the front teats of 15.0—18.0 cm, the distance between the apexes of the hind teats of 6.0—10.0 cm, and the distance between the front and hind teats of 8.0—12.0 cm.

Table 3

Incidence of subclinical mastitis in udder lobes

Udder lobes	Examined		The disease was diagnosed	
	cows	lobes	cows	%
Right front	200	200	20	10.0
Right posterior (rear)	200	196	21	10.71
Left front	200	195	30	15.38
Left posterior (rear)	200	188	34	18.08

We also determined the incidence of bovine mastitis based on teat shape and position (Table 4). It has been found that 6 out of 9 cylindrical teats (67.3 %) were affected with subclinical mastitis, 5 out of 30 conical teats (16.6 %), and 2 out of 2 bottle-shaped teats (100.0 %). The disease was diagnosed significantly more often in cows with a funnel-shaped teat apex (13

out of 24) than in those with a flat (4 of 17) or conical (10 of 33) teat apex. In cows with normal teat placement, the disease was diagnosed in 33.3 % of cases, and in cows with close teat placement, in 50.0 %.

Thus, cylindrical, bottle-shaped teats, funnel-shaped apexes and close positioning of them contribute to a higher incidence of subclinical mastitis.

Table 4

Characteristics of the udder teats in cows and the incidence of bovine subclinical mastitis

Indicators	Teat shape			Teat apex shape			Teat positioning	
	cylindrical	conical	bottle	flat	cone-shaped	funnel-shaped	normal	close
Cows examined	9	30	2	17	33	24	18	16
Sick cows detected %	6 67.3	5 16.6	2 100.0	4 23.5	10 30.3	13 54.1	6 33.3	8 50.0

A correlation between teat size and the incidence of subclinical mastitis in cows could not be established

(Table 5). The diameter of the affected teats was by 0.1–0.2 mm smaller than that of healthy teats.

Table 5

Mammary gland teat sizes and incidence of bovine subclinical mastitis (M ± m)

Mammary gland teats		Teat thickness, mm	Teat length, mm
front	healthy	19.8 ± 0.4	79.0 ± 1.7
	affected	19.6 ± 0.7	79.0 ± 0.6
posterior	healthy	19.7 ± 0.4	71.7 ± 1.5
	affected	19.6 ± 1.1	67.7 ± 2.4

The front teats of the healthy and affected lobes in the examined cows were identical in length (79.0 mm). The posterior teats were shorter than the front teats by

7.3 mm. A significant reduction in teat length in the affected posterior lobes is noteworthy (71.7 mm vs. 67.7 mm, $p < 0.02$), compared to symmetrical healthy

lobes. The reduction in teat thickness and length in the affected lobes indicates the presence of atrophic processes and the connective tissue development. Therefore, teat size does not significantly affect the incidence of subclinical mastitis in the mammary gland.

CONCLUSION

Thus, subclinical mastitis is the most common form in cows. The incidence of subclinical mastitis in the mammary gland does not vary significantly depending on the cow's age or lactation period, but a seasonal pattern has been established, with a peak between January and May. A comparison of the incidence of subclinical mastitis in the front and posterior lobes of cows' mammary glands revealed a slight predominance of the posterior lobes. The size, shape and position of the teats significantly affect the incidence of subclinical mastitis in machine-milked cows.

REFERENCES

1. Komarov V. Yu. Diagnosis of mammary gland inflammation as a factor in the productive longevity of dairy cows / V. Yu. Komarov // Nauchnyy zhurnal molodykh uchenykh (Research journal of young scientists). — 2018. — No. 4 (13). — P. 1—7.
2. Pavlenko O. B. Use of the probiotic “Vetom-3” for the treatment of cows with subclinical mastitis: specialty 16.00.07: abstract of a thesis for the degree of Candidate of Veterinary Sciences / Pavlenko Olga Borisovna. — Voronezh, 2005. — 19 p.
3. Yang W-T, Ke C-Y, Wu W-T, Lee R-P, Tseng Y-H. Effective treatment of bovine mastitis with intramammary infusion of Angelica dahurica and Rheum officinale extracts. Evid Based Complement Alternat Med. 2019.
4. Sharun K, Dhama K, Tiwari R, et al. Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mas-

titis: a comprehensive review. Veterinary Quarterly. 2021;41(1):107—136.

5. Yatrushcheva E. S. Efficacy of using products based on probiotic bacteria in the prevention of mastitis and improving the quality of cow's milk / E. S. Yatrushcheva // Agrarnyy vestnik Urala (Agrarian Bulletin of the Urals). — 2017. — No. 2. — P. 72—76.

6. Novikova S. Effect of a single administration of the drug “Tseftonit® forte” on blood indicators in the treatment of mastitis in lactating cows / S. Novikova, A. Sazonov, L. Kashkovskaya // Effektivnoe zhivotnovodstvo (Effective animal husbandry). — 2018. — No. 1 (140). — P. 48—50.

7. Determining the relationship between the occurrence of mastitis in cows with different numbers of lactations / Zh. Sh. Ushakova, V. D. Kocharyan, M. A. Ushakov, A. V. Filatova // Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: Nauka i vysshee professionalnoe obrazovanie (Bulletin of Nizhnevolzhsk Agrarian University Complex: Science and Higher Professional Education). — 2022. — No. 1 (65). — P. 331—341.

8. Nazarov M. V. Features of diagnosis, treatment and prevention of bovine subclinical mastitis during the cow drying off and dry periods / M. V. Nazarov, B. V. Gavrilov, E. V. Popovich // Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Bulletin of Orenburg State Agrarian University). — 2022. — No. 6 (98). — P. 170—174.

9. Terentyeva N. Distribution of bovine mastitis on farms in Ulyanovsk region / N. Terentyeva, V. Ermolaev // Veterinariya selskokhozyaystvennykh zhivotnykh (Veterinary science of farm animals). — 2017. — No. 10. — P. 37—44.

10. Larionov G. A. Dynamics of lesions of the udder quarters of cows with subclinical mastitis during lactation / G. A. Larionov, L. M. Vyazova, O. N. Dmitrieva // Agrarnyy vestnik Urala (Agrarian Bulletin of the Urals). — 2015. — No. 4 (134). — P. 45—49.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

O. B. Pavlenko — Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Chief Scientific Associate;
V. I. Zimnikov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
E. V. Tyurina — Junior Scientific Associate;
O. V. Fenich — Postgraduate Student.

The article was submitted 12.09.2025.

ПАТОФИЗИОЛОГИЯ, ПАТОБИОХИМИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Научная статья
УДК 636.087.6
DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.013

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ЛОЗЕКОРМ» НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ КУР-НЕСУШЕК

Марина Петровна Семененко*, Анастасия Александровна Онищук**,
Ксения Андреевна Железнякова***, Яна Юрьевна Чернорыж****,
Наталья Александровна Лагунина*****

*Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,

Краснодар, Россия, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>

**ОЛФАРМ, Москва, Россия, firefoxana8@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-6778-5094>

***Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,

Краснодар, Россия, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9407-0768>

****Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии,

Москва, Россия, revengeful_w@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9848-8515>

*****Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов, Москва, Россия, nat-lagunina@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0008-4390-5447>

Аннотация. В статье представлены результаты изучения влияния кормовой добавки «Лозекорм» на клеточный иммунитет кур-несушек. Для оценки функционального состояния клеточного звена иммунитета применялась реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) с расчетом индекса стимуляции пролиферации (ИСП). Установлено, что введение «Лозекорм» в рацион кур-несушек способствует стимуляции пролиферативной активности мононуклеарных клеток периферической крови, что подтверждает активизацию Т-клеточного иммунного ответа. Повышение иммунного статуса свидетельствует об эффективности применения добавки «Лозекорм» для коррекции иммунологической реактивности у птицы.

Ключевые слова: куры-несушки, кормовая добавка «Лозекорм», клеточный иммунитет, реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ), индекс стимуляции пролиферации (ИСП)

Эпизоотическое благополучие птицеводческих хозяйств определяется не только инфекционной нагрузкой со стороны внешней среды, но и уровнем общей резистентности и иммунологической реактивности птицы [1, 2].

В. Song в своем исследовании продемонстрировал необходимость укрепления иммунной системы цыплят-бройлеров с помощью мер по улучшению питания [3].

Ключевую роль в формировании адекватного иммунного ответа играет функциональное состояние клеточного звена иммунитета, в частности, популяция Т-лимфоцитов [4]. В связи с этим, поиск средств, способных усиливать иммунный статус и повышать устойчивость птицы к заболе-

ваниям, остается актуальной задачей современного промышленного птицеводства.

Одним из перспективных направлений является использование комплексных кормовых добавок на основе природных биологически активных соединений. К таким средствам относится добавка «Лозекорм», содержащая хвойный экстракт, янтарную кислоту, флавоноиды и микроэлементы. Известно, что данные компоненты обладают выраженной антиоксидантной и иммуномодулирующей активностью [5, 6]. Первоначально зарегистрированная для применения в пчеловодстве [7, 8], добавка показала свою эффективность и безопасность в исследованиях на птице [9, 10]. Следует отметить, что центральное звено иммунной систе-

Оценка влияния кормовой добавки «Лозекорм» на пролиферативную активность лимфоцитов кур-несушек

мы птиц, в отличие от млекопитающих, отделено от системы гемоцитопоза, то есть пролиферация, созревание и дифференцировка лимфоцитов происходят в отдельных специализированных органах (тимус, фабрициева сумка и др.) [11]. Поэтому, для оценки модулирующего воздействия фармакологических средств на клеточный иммунитет одним из наиболее информативных методов является оценка пролиферативной активности Т-лимфоцитов в реакции бласттрансформации (РБТЛ) [12]. Данный метод позволяет количественно оценить функциональный ответ иммунокомпетентных клеток на стимуляцию и широко применяется в экспериментальной иммунологии.

В связи с чем, целью настоящего исследования явилась оценка влияния кормовой добавки «Лозекорм» на клеточный иммунитет кур-несушек по пролиферативной активности лимфоцитов в реакции бласттрансформации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кормовая добавка «Лозекорм» является комплексным соединением, представляя собой маслянистую жидкость от желтого до желто-коричневого цвета со специфическим запахом. В качестве действующих веществ содержит хвойный экстракт 0,9—1,5 % и янтарную кислоту 1,0—1,2 %. Использование хвойного экстракта в составе кормовой добавки приводит к стимуляции защитных свойств организма птицы за счет адаптогенных эфирных соединений, а также полипренолов, находящихся в его составе. Наличие янтарной кислоты способствует активации энергообеспечивающих ферментов цикла Кребса, следствием чего является усиление обменных процессов и улучшение физиологического состояния всего организма птицы.

Исследования проведены в условиях вивария ООО «ОЛФАРМ» (г. Москва). В эксперимент были включены куры-несушки породы белый Леггорн 10-месячного возраста, разделенные на четыре группы — три опытные и контрольная ($n = 10$). Птица содержалась в двухъярусных клеточных батареях с сетчатым полом и желобковыми (наружными) кормушками при свободном доступе к воде и контролируемом микроклимате, получая базовый рацион в соответствии с нормами ВНИТИП (2023).

Опытным группам кур на протяжении 10 дней непосредственно после кормления индивидуально задавалась кормовая добавка «Лозекорм» *per os* в дозах: 0,25, 0,5 и 0,75 мл/кг массы тела. Контрольная птица содержалась на основном рационе.

Влияние «Лозекорм» на показатели клеточного иммунитета осуществлялось по уровню мононуклеарных клеток периферической крови (МНК, PBMC — peripheral blood mononuclear cells), включающих лимфоциты (Т-, В-, НК-клетки) и моноциты, которые играют ключевую роль в иммунном ответе, для чего из подкрыльцовой вены кур на 10 сутки эксперимента в вакуумные пробирки с ЭДТА-К2 отбиралось 5 мл крови, которые сразу же несколько раз переворачивались на 180° для смешивания крови с антикоагулянтом [13]. Выделение МНК проводилось не позднее 2—4 часов после отбора крови. Кровь с PBS смешивалась в соотношении 1:1 и нашлаивалась под углом по каплям на градиент фикола (ПанЭко, Россия). Далее, кровь откручивалась 30 мин (400g, 20 °С, без торможения). Затем пипеткой аккуратно собиралось интерфазное кольцо, которое дважды отмывалось чистой средой RPMI 1640 (300g, 10 мин). При необходимости проводился лизис эритроцитов путем ресуспендирования в 0,83 % NH_4Cl (KHCO_3 0,1 %, EDTA 0,01 % (рН 7,4) 5 мин, 4 °С и последующей отмывкой в PBS [14].

Выделение PBMC у кур требует адаптации методов из-за особенностей их крови (у кур 5—10 % лейкоцитов в крови (у человека — 20—40 %)). Оптимальный способ — центрифугирование в Ficoll 1,077—1,080. Все манипуляции выполнялись в стерильных условиях.

Реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) — ключевой метод оценки функциональной активности Т- и В-клеток в ответ на митогены или антигены. У кур этот тест применяют для изучения иммунного статуса, эффективности вакцин и иммуномодуляторов. Выделенные МНПК помещались в 96-луночные культуральные панели с концентрацией 10^5 клеток в 100 мкл в лунку. Антигены-стимуляторы добавлялись по 100 мкл в лунку к клеткам до конечных концентраций. В качестве положительного контроля служили моноциты, активированные митогеном конковалином А (КонА, 5 мг, ПанЭко, Россия). Куриные лимфоциты менее чувствительны к Фитогемагглютинину, чем человеческие. В качестве отрицательных контролей использовались: нестимулированные моноциты только со средой; культуры, стимулированные неспецифическим антигеном (НА) — антиген ККГЛ (Конго-крымская геморрагическая лихорадка, лат. febris haemorrhagica crimiiana), также стимуляция проводилась разными адьювантами (адьювант 1 — импортный адьювант по типу «масло в воде» животного происхождения (АД1), адью-

вант 2 — отечественный адъювант по типу «масло в воде» животного происхождения (АД2), адъювант 3 — отечественный адъювант по типу «масло в воде» растительного происхождения (АД3)). Клетки культивировались в полноростовой среде RPMI-1640, с 20 % ЭТС, 2 мМ глутамин, 4,5 г/л глюкозы, 50 мкг/мл гентамицина, 0,2 ед/мл инсулина при 41 °С (температура тела кур) в атмосфере 5 % CO₂.

Пролиферация оценивалась в реакции бласттрансформации через 72 ч с помощью инвертированного микроскопа (увеличение x400). Результаты РБТЛ выражали в виде индекса стимуляции пролиферации (ИСП) — отношение среднего количества бластов в присутствии стимуляторов к среднему количеству бластов в отсутствие стимуляторов. Положительным считался результат, если ИСП превышает 2.

Статистическая обработка выполнялась с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и пакета IBM SPSS Statistics 27.0 (IBM Corp.,

США). Результаты представлены в виде среднего арифметического значения (М), стандартного отклонения (SD) и 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Нормальность распределения количественных признаков проверялась с помощью критерия Шапиро — Уилка. Поскольку распределение значений не отличалось от нормального, для оценки достоверности различий между группами применялись параметрические методы. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении всего эксперимента клиническое состояние птицы во всех группах сохранялось в пределах физиологической нормы. Падеж отсутствовал.

Результаты оценки влияния кормовой добавки «Лозекорм» на пролиферативную активность лимфоцитов представлены в таблице.

Таблица

Изменение ИСП под действием исследуемых стимуляторов в опытных и контрольной группах, (М ± SD) с указанием 95 % доверительного интервала

Стимуляторы	Группы							
	1 (0,25 мл/кг)		2 (0,5 мл/кг)		3 (0,75 мл/кг)		4 (контроль)	
	М ± SD	95 % ДИ	М ± SD	95 % ДИ	М ± SD	95 % ДИ	М ± SD	95 % ДИ
АД1	5,43 ± 5,61	-3,50—14,35	12,47 ± 2,12	7,21—17,74	10,38 ± 5,44	1,72—19,02	9,75 ± 10,27	0,99—26,50
АД2	5,38 ± 4,60	-1,94—12,70	13,12 ± 5,06	0,55—25,69	8,39 ± 3,27	3,19—13,59	10,40 ± 8,12	0,32—20,48
АД3	7,39 ± 7,53	-4,59—19,37	13,59 ± 2,84	6,54—20,64	9,81 ± 7,04	-1,39—21,01	8,95 ± 14,42	-3,95—13,30
НА	7,04 ± 7,23	-4,46—18,55	11,28 ± 1,65	7,18—15,38	6,87 ± 2,52	2,86—10,87	6,14 ± 5,23	-0,35—12,64
КонА	21,19 ± 14,98	-2,65—45,03	20,80 ± 3,20	12,85—25,75	21,28 ± 15,52	-3,42—45,98	17,18 ± 17,56	-0,63—42,99

Анализ индекса стимуляции пролиферации (ИСП) показал, что во всех экспериментальных и контрольной группах значения ИСП при использовании всех стимуляторов превышали пороговое значение 2, что свидетельствует о положительной реакции бласттрансформации лимфоцитов. Статистический анализ не выявил достоверных межгрупповых различий в значениях ИСП ме-

жду контрольной и опытными группами при использовании любого из стимуляторов ($p > 0,05$). Качественный анализ данных выявил определенные тенденции в изменении ИСП: При использовании стимулятора АД1 наибольшее значение ИСП отмечено во второй опытной группе (12,47 ± 2,12), что на 27,9 % превышало показатель контрольной группы; Стимулятор АД2 вызвал наиболее выра-

женную пролиферативную активность во второй опытной группе (13,12 ± 5,06), что на 26,2 % выше контрольных значений.

Под действием стимулятора АД3 максимальный ответ зарегистрирован во второй опытной группе (13,59 ± 2,84), превышающий контроль на 51,8 %; При использовании НА все опытные группы показали превышение над контролем, наиболее выраженное во второй группе (83,7 %). Стимуляция КонА вызвала повышенный иммунный ответ во всех опытных группах с максимальным эффектом в третьей группе (23,8 %).

Статистическая достоверность средних значений ИСП была установлена только во второй опытной группе (0,5 мл/кг) при стимуляции всеми использованными адъювантами (АД1, $p = 0,02$; АД2, $p = 0,04$; АД3, $p = 0,04$; НА, $p = 0,01$). В других опытных группах и контрольной группе достоверность различий не достигала уровня статистической значимости ($p > 0,05$).

Выводы. Проведенное исследование позволило установить, что кормовая добавка «Лозекорм» обладает иммуномодулирующей активностью и оказывает стимулирующее влияние на клеточное звено иммунитета кур-несушек, что подтверждается повышением пролиферативной активности мононуклеарных клеток периферической крови в реакции бласттрансформации лимфоцитов. Наибольшая иммуностимулирующая эффективность установлена для дозы добавки 0,5 мл/кг корма.

При данном уровне введения отмечена выраженная тенденция к повышению индекса стимуляции пролиферации под действием всех изученных митогенов, при этом для стимуляторов АД1, АД2, АД3 и НА были зарегистрированы статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с другими группами.

Применение «Лозекорм» в дозе 0,25 мл/кг не оказало статистически значимого влияния на изученные показатели клеточного иммунитета ($p > 0,05$). Увеличение дозы добавки до 0,75 мл/кг также не привело к усилению пролиферативного ответа лимфоцитов по сравнению с дозой 0,5 мл/кг, которая в исследованиях оказалась оптимальной для применения.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о дозозависимом эффекте кормовой добавки «Лозекорм» и позволяют рекомендовать ее применение в дозе 0,5 мл/кг корма для стимуляции клеточного иммунитета кур-несушек без негативного влияния на общее состояние организма.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Джавадов Э. Д. Представление о функционировании специфических факторов иммунной системы / Э. Д. Джавадов, И. Н. Вихрева, Н. И. Прокофьева [и др.] // Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. — № 1 (3). — 2017. — с. 3—5. ISSN2542—0283.
2. Kaiser P. Advances in avian immunology — prospects for disease control: a review / P. Kaiser // Avian pathology. — 2010. — Т. 39. — № 5. — С. 309—324.
3. Song B. Effects of age on immune function in broiler chickens / B. Song // Journal of Animal Science and Biotechnology. — 2021. — Т. 12. — № 1. — С. 42.
4. Erf G. F. Cell-mediated immunity in poultry / G. F. Erf // Poultry science. — 2004. — Т. 83. — № 4. — С. 580—590.
5. Кротова О. Е. Применение янтарной кислоты в кормлении цыплят бройлеров / О. Е. Кротова // Материалы международной конференции. Элиста. — 2020. — С. 155—160.
6. Пихтовые экстракты как средство повышения физиологических резервов организма / И. О. Гарнов, А. В. Кучин, Н. К. Мазина [и др.] // Известия Коми научного центра УРО РАН. — 2014. — № 3 (19). — С. 44—52.
7. Семенов М. П. Лозекорм — новая безвредная кормовая добавка для пчел / М. П. Семенов, Ф. Д. Онищук, Е. В. Кузьминова // Пчеловодство. — 2021. — № 3. — С. 8—10.
8. Фармако-токсикологические исследования безвредности и практическое применение кормовой добавки «лозекорм» / Н. А. Лагунина, А. А. Онищук, В. И. Карцев [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. — 2024. — № 1 (61). — С. 40—44.
9. Экспериментальные исследования по оценке безвредности кормовой добавки «лозекорм» и ее производственные испытания в условиях птицеводческих хозяйств / Ф. Д. Онищук, М. П. Семенов, А. А. Онищук [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. — 2023. — № 3 (59). — С. 72—76.
10. Онищук А. А. Влияние кормовой добавки лозекорм на рост, развитие и гомеостаз крови цыплят-бройлеров в ходе экспериментальной доклинической оценки / А. А. Онищук, М. П. Семенов, Н. А. Лагунина, Л. Х. Казакова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. — 2024. — № 3 (63). — С. 50—54.
11. Селезнев С. Б. Структурные особенности иммунной системы птиц / С. Б. Селезнев, В. В. Пронин, М. С. Дюмин, С. Л. Фисенко // Российский ветеринарный журнал. — 2016. — № 3. — С. 28—30.
12. Ma X. Combined adjuvant effect of ginseng stem-leaf saponins and selenium on immune responses to a live bivalent vaccine of Newcastle disease virus and infectious bronchitis virus in chickens / X. Ma, S. Bi, Y. Wang, X. Chi, and S. Hu // Poultry science. — 2019. — Т. 98. — № 9. — С. 3548—3556.

13. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов / Н. В. Садовников, Н. Д. Придыбайло, Н. А. Верещак, А. С. Заслонов. — Екатеринбург — Санкт-Петербург: Уральская ГСХА, НПШ «АВИВАК», 2009. — С. 25—26. Текст: непосредственный. ISBN978—5—87203—260—6.

14. Журавлева М. С. Количественная характеристика показателей иммунного ответа у кур на различные типы антигенов: диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. 06.02.02 / М. С. Журавлева, Москва, 2014. — 174 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

М. П. Семенов — доктор ветеринарных наук, доцент, заведующая отделом;
А. А. Онищук — соискатель;
К. А. Железнякова — кандидат экономических наук, старший научный сотрудник;
Я. Ю. Чернорыж — кандидат медицинских наук, научный сотрудник;
Н. А. Лагунина — кандидат ветеринарных наук.

Статья поступила в редакцию 11.09.2025.

PATHOPHYSIOLOGY, PATHOBIOCHEMISTRY AND EXPERIMENTAL THERAPY

Original article
UDC 636.087.6

ASSESSMENT OF THE EFFECT OF THE FEED ADDITIVE LOZEKORM ON THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF LYMPHOCYTES IN LAYING HENS

Marina Petrovna Semenenko*, **Anastasiya Aleksandrovna Onishchuk****,
Kseniya Andreevna Zheleznyakova***, **Yana Yuryevna Chernoryzh******,
Natalya Aleksandrovna Lagunina*****

*Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>

**OLPHARM, Moscow, Russia, firefoxana8@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0006-6778-5094>

***Krasnodar Research Center for Zootechnics and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russia, sever291@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9407-0768>

****National Research Center for Epidemiology and Microbiology,
Moscow, Russia, revengeful_w@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9848-8515>

*****All-Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality,
Moscow, Russia, nat-lagunina@yandex.ru, <https://orcid.org/0009-0008-4390-5447>

Abstract. The article presents the results of a study examining the effect of the feed additive Lozekorm on the cellular immunity of laying hens. To assess the functional state of the cellular immune system, the lymphocyte blast transformation reaction (LBTR) was used, along with calculation of the proliferation stimulation index (PSI). It has been found that the introduction of Lozekorm into the laying hens' diet stimulates the proliferative activity of peripheral blood mononuclear cells, confirming the activation of the T-cell immune response. The improved immune status demonstrates the efficacy of Lozekorm in correcting the poultry's immunological reactivity.

Keywords: laying hens, feed additive Lozekorm, cellular immunity, lymphocyte blast transformation reaction (LBTR), proliferation stimulation index (PSI)

The epizootic well-being of poultry farms is determined not only by the infectious load from the external environment, but also by the level of general resistance and immunological reactivity of the poultry [1, 2]. B. Song demonstrated in his research the need to strengthen the immune system of broiler chickens through nutritional measures [3]. The functional state of the cellular component of the immune system, in particular the T-lymphocyte population, plays a key role in the formation of an adequate immune response [4]. Therefore, the search for agents capable of enhancing the immune status and increasing the resistance of poultry to diseases remains a pressing issue in modern industrial poultry farming.

One promising area is the use of complex feed additives based on natural biologically active compounds. Such agents include the feed additive Lozekorm, which

contains pine extract, succinic acid, flavonoids and microelements. These components are known to exhibit significant antioxidant and immunomodulatory activity [5, 6]. Initially registered for use in beekeeping [7, 8], the additive has demonstrated its efficacy and safety in studies on poultry [9, 10]. It should be noted that the central link of the immune system of poultry, unlike that of mammals, is separated from the hemopoiesis system, i. e., proliferation, maturation, and differentiation of lymphocytes occur in separate specialized organs (thymus, bursa of Fabricius, etc.) [11]. Therefore, one of the most informative methods for assessing the modulating effect of pharmacological agents on cellular immunity is the assessment of the proliferative activity of T-lymphocytes in the blast transformation reaction (RBTL) [12]. This method allows for a quantitative assessment of the functional re-

sponse of immunocompetent cells to stimulation and is widely used in experimental immunology.

Therefore, the research objective was to assess the effect of the feed additive Lozekorm on the cellular immunity of laying hens based on the proliferative activity of lymphocytes in the blast transformation reaction.

MATERIAL AND METHODS

The feed additive Lozekorm is a complex compound, an oily liquid ranging from yellow to yellow-brown in color with a specific odor. Its active ingredients include 0.9–1.5 % pine extract and 1.0–1.2 % succinic acid. The use of pine extract in the feed additive stimulates the poultry's immune system due to its adaptogenic essential compounds and polyphenols. The presence of succinic acid promotes the activation of energy-producing enzymes of the Krebs cycle, resulting in enhanced metabolic processes and improved physiological well-being of the poultry.

The study was conducted at the vivarium of OLPHARM LLC (Moscow). Ten-month-old White Leghorn laying hens were included in the experiment, divided into four groups: three experimental and one control ($n = 10$). The poultry were kept in two-tiered battery cages with mesh floors and trough (external) feeders with free access to water and a controlled microclimate. They were fed a basal diet in accordance with ARRVIPF (VNITIP) standards (2023).

The experimental groups were individually given the feed additive Lozekorm for 10 days immediately after feeding at doses of 0.25, 0.5, and 0.75 ml/kg of body weight. The control poultry were kept on the basal diet. The effect of Lozekorm on cellular immunity indicators was assessed by measuring the level of peripheral blood mononuclear cells (PBMC), including lymphocytes (T, B, NK cells) and monocytes, which play a key role in the immune response. For this purpose, 5 ml of blood was collected from the axillary vein of chickens on day 10 of the experiment into vacuum tubes with EDTA-K2, which were immediately turned 180° several times to mix the blood with the anticoagulant [13]. PBMC were isolated no later than 2–4 hours after blood collection. Blood was mixed with PBS in a 1:1 ratio and layered at an angle, drop by drop, onto a Ficoll gradient (PanEco, Russia). Next, the blood was spun for 30 min (400g, 20 °C, without braking). The interphase ring was then carefully collected with a pipette and washed twice with pure RPMI 1640 medium (300g, 10 min). If necessary, erythrocytes were lysed by resuspension in 0.83 % NH₄Cl (KHCO₃ 0.1 %, EDTA 0.01 % (pH 7.4)) for 5 min, 4 °C, and subsequent washing in PBS [14].

Isolation of PBMC from chickens requires adaptation of methods due to the characteristics of their blood (chickens have 5–10 % leukocytes in their blood (in humans, 20–40 %)). The optimal method is centrifugation in Ficoll 1.077–1.080. All manipulations were performed under sterile conditions.

The lymphocyte blast transformation reaction (LBTR) is a key method for assessing the functional activity of T and B cells in response to mitogens or antigens. In chickens, this test is used to study the immune status and the efficacy of vaccines and immunomodulators. Isolated PBMCs were placed in 96-well culture panels at a concentration of 10⁵ cells in 100 µl per well. Stimulant antigens were added to the cells at 100 µl per well to reach the final concentrations. Monocytes activated with the mitogen concavalin A (ConA, 5 mg, PanEco, Russia) served as a positive control. Chicken lymphocytes are less sensitive to phytohemagglutinin than human ones. The following were used as negative controls: unstimulated monocytes with medium only; cultures stimulated by a non-specific antigen (NA) — the CCHF antigen (Crimean-Congo hemorrhagic fever, lat. febris haemorrhagica crimiana), stimulation was also carried out with different adjuvants (adjuvant 1 — imported adjuvant of the oil in water type of animal origin (AD₁), adjuvant 2 — domestic adjuvant of the oil in water type of animal origin (AD₂), adjuvant 3 — domestic adjuvant of the oil in water type of plant origin (AD₃)). Cells were cultured in complete growth RPMI-1640 medium supplemented with 20 % FBS, 2 mM glutamine, 4.5 g/L glucose, 50 µg/mL gentamicin, and 0.2 U/mL insulin at 41 °C (chicken body temperature) in 5 % CO₂ atmosphere.

Proliferation was assessed in a blast transformation reaction in 72 hours using an inverted microscope (400x magnification). The LBTR results were expressed as the proliferation stimulation index (PSI) — the ratio of the average blast count in the presence of stimulants to the average blast count in the absence of stimulants. A PSI greater than 2 was considered positive.

The statistical analysis was performed using Microsoft Excel and IBM SPSS Statistics 27.0 (IBM Corp., USA). The results are presented as mean (M), standard deviation (SD), and 95 % confidence interval (95 % CI). The normality of the distribution of quantitative variables was tested using the Shapiro — Wilk test. Since the distribution of values was not significantly different from normal, parametric methods were used to assess the significance of differences between groups. The differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

Throughout the experiment, the clinical condition of the poultry in all groups remained within physiological norms. There were no mortalities.

The results of assessing the effect of the feed additive Lozekorm on lymphocyte proliferative activity are presented in the Table.

Table
Changes in PSI under the effect of the studied stimulants in the experimental and control groups (M ± SD) with 95 % confidence interval

Stimulants	Groups							
	1 (0.25 ml/kg)		2 (0.5 ml/kg)		3 (0.75 ml/kg)		4 (control)	
	M ± SD	95 % CI	M ± SD	95 % CI	M ± SD	95 % CI	M ± SD	95 % CI
AD1	5.43 ± 5.61	–3.50—14.35	12.47 ± 2.12	7.21—17.74	10.38 ± 5.44	1.72—19.02	9.75 ± 10.27	0.99—26.50
AD2	5.38 ± 4.60	–1.94—12.70	13.12 ± 5.06	0.55—25.69	8.39 ± 3.27	3.19—13.59	10.40 ± 8.12	0.32—20.48
AD3	7.39 ± 7.53	–4.59—19.37	13.59 ± 2.84	6.54—20.64	9.81 ± 7.04	–1.39—21.01	8.95 ± 14.42	–3.95—13.30
NA	7.04 ± 7.23	–4.46—18.55	11.28 ± 1.65	7.18—15.38	6.87 ± 2.52	2.86—10.87	6.14 ± 5.23	–0.35—12.64
ConA	21.19 ± 14.98	–2.65—45.03	20.80 ± 3.20	12.85—25.75	21.28 ± 15.52	–3.42—45.98	17.18 ± 17.56	–0.63—42.99

The analysis of the proliferation stimulation index (PSI) showed that in all experimental and control groups the PSI values, when using all the stimulants, exceeded the threshold value of 2, which indicated a positive reaction of lymphocyte blast transformation. The statistical analysis did not reveal reliable intergroup differences in the PSI values between the control and experimental groups when using any of the stimulants ($p > 0.05$). The qualitative data analysis revealed certain trends in the PSI changes. When using the AD₁ stimulant, the highest PSI value was noted in the second experimental group (12.47 ± 2.12), which was by 27.9 % higher than the control group value. Stimulant AD₂ caused the most pronounced proliferative activity in the second experimental group (13.12 ± 5.06), which was by 26.2 % higher than the control values. Under the effect of the AD₃ stimulant, the maximum response was recorded in the second experimental group (13.59 ± 2.84), exceeding the control by 51.8 %. When using NA, all experimental groups showed an excess over the control, which was most pronounced in the second group (83.7 %). The stimulation with ConA induced an increased immune response in all experimental groups, with the maximum effect in the third group (23.8 %).

Statistical significance of the mean PSI values was established only in the second experimental group (0.5 ml/kg) when stimulated with all the adjuvants used (AD₁, $p = 0.02$; AD₂, $p = 0.04$; AD₃, $p = 0.04$; NA, $p = 0.01$). In the other experimental groups and the control group, the reliability of differences did not reach the level of statistical significance ($p > 0.05$).

CONCLUSION

The study showed that the feed additive Lozekorm has immunomodulatory activity and stimulates the cellular immunity of laying hens, as evidenced by an increase in the proliferative activity of peripheral blood mononuclear cells in the lymphocyte blast transformation reaction. The highest immunostimulating efficacy was demonstrated at a dose of 0.5 ml/kg of feed. At this level of administration, a significant tendency toward an increase in the proliferation stimulation index was observed under the effect of all the studied mitogens, with statistically significant differences ($p < 0.05$) recorded for the AD₁, AD₂, AD₃ and NA stimulants, compared to the other groups. The use of Lozekorm at a dose of 0.25 ml/kg did not have a statistically significant effect on the studied indicators of cellular immunity ($p > 0.05$). Increasing the supplement dosage to

0.75 ml/kg also did not result in an increased lymphocyte proliferative response, compared to the 0.5 ml/kg dose, which was found to be optimal in studies.

Thus, the study results demonstrate a dose-dependent effect of the feed additive Lozekorm and allow to recommend its use at a dosage of 0.5 ml/kg of feed to stimulate cellular immunity in laying hens without adversely affecting their overall health.

REFERENCES

1. Dzhavadov E. D. Concept of the functioning of specific factors of the immune system / E. D. Dzhavadov, I. N. Vikhreva, N. I. Prokofyeva [et al.] // Aktualnye voprosy sel'skokhozyaystvennoy biologii (Current issues in agricultural biology). — No. 1 (3). — 2017. — P. 3—5. ISSN2542—0283.
2. Kaiser P. Advances in avian immunology — prospects for disease control: a review / P. Kaiser // Avian pathology. — 2010. — V. 39. — No. 5. — P. 309—324.
3. Song B. Effects of age on immune function in broiler chickens / B. Song // Journal of Animal Science and Biotechnology. — 2021. — V. 12. — No. 1. — P. 42.
4. Erf G. F. Cell-mediated immunity in poultry / G. F. Erf // Poultry science. — 2004. — V. 83. — No. 4. — P. 580—590.
5. Krotova O. E. Use of succinic acid in feeding broiler chickens / O. E. Krotova // Materialy mezhdunarodnoy konferentsii (Proceedings of the international conference). Elista. — 2020. — P. 155—160.
6. Fir extracts as a means of increasing the body's physiological reserves / I. O. Garnov, A. V. Kuchin, N. K. Mazina [et al.] // Izvestiya Komi nauchnogo tsentra URO RAN (Bulletin of Komi Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences). — 2014. — No. 3 (19). — P. 44—52.
7. Semenenko M. P. Lozekorm — a new harmless feed additive for bees / M. P. Semenenko, F. D. Onishchuk, E. V. Kuzminova // Pchelovodstvo (Beekeeping). — 2021. — No. 3. — P. 8—10.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

M. P. Semenenko — Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor, Head of the Department;
A. A. Onishchuk — Applicant for a Degree;
K. A. Zheleznyakova — Candidate of Economic Sciences, Senior Scientific Associate;
Ya. Yu. Chernoryzh — Candidate of Medical Sciences, Scientific Associate;
N. A. Lagunina — Candidate of Veterinary Sciences.

The article was submitted 11.09.2025.

8. *Pharmacotoxicological studies of the safety and practical use of the feed additive “lozekorm”* / N. A. Lagunina, A. A. Onishchuk, V. I. Kartsev [et al.] // Aktualnye voprosy veterinarnoy biologii (Current issues in veterinary biology). — 2024. — No. 1 (61). — P. 40—44.

9. Experimental studies to assess the safety of the feed additive “lozekorm” and its production tests at poultry farms / F. D. Onishchuk, M. P. Semenenko, A. A. Onishchuk [et al.] // Aktualnye voprosy veterinarnoy biologii (Current issues in veterinary biology). — 2023. — No. 3 (59). — P. 72—76.

10. Onishchuk A. A. Effect of the feed additive lozekorm on the growth, development and blood homeostasis of broiler chickens during experimental preclinical assessment / A. A. Onishchuk, M. P. Semenenko, N. A. Lagunina, L. Kh. Kazakova // Aktualnye voprosy veterinarnoy biologii (Current issues in veterinary biology). — 2024. — No. 3 (63). — P. 50—54.

11. Seleznev S. B. Structural features of the immune system of poultry / S. B. Seleznev, V. V. Pronin, M. S. Dyumin, S. L. Fisenko // Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal (Russian Veterinary Journal). — 2016. — No. 3. — P. 28—30.

12. Ma X. Combined adjuvant effect of ginseng stem-leaf saponins and selenium on immune responses to a live bivalent vaccine of Newcastle disease virus and infectious bronchitis virus in chickens / X. Ma, S. Bi, Y. Wang, X. Chi, and S. Hu // Poultry science. — 2019. — V. 98. — No. 9. — P. 3548—3556.

13. General and special methods for studying the blood of industrial crossbreed poultry / N. V. Sadovnikov, N. D. Pridybaylo, N. A. Vereshchak, A. S. Zaslouov. — Ekaterinburg — St. Petersburg: Uralskaya GSKhA, NPP “AVIVAK” (Ural State Agricultural Academy, NPP “AVIVAK”), 2009. — Pp. 25—26. Text: direct. ISBN978—5—87203—260—6.

14. Zhuravleva M. S. Quantitative characteristics of the immune response indicators in chickens to various types of antigens: thesis for the degree of Candidate of Veterinary Sciences. 06.02.02 / M. S. Zhuravleva, Moscow, 2014. — 174 p.

Научная статья

УДК 619:591.4:577.1

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.014

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА КРОВИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ПАТОЛОГИЯХ ПЕЧЕНИ

Евгения Оганесовна Кузнецова, Александр Иванович Белоусов, Ольга Юрьевна Опарина, Александр Сергеевич Красноперов, Антон Евгеньевич Черницкий ✉

Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия, cherae@mail.ru ✉

Аннотация. Патологии печени у крупного рогатого скота сопровождаются метаболическими и иммунными нарушениями, отражающимися на составе крови. Целью работы было оценить изменения морфологических показателей крови и интегральных лейкоцитарных индексов у коров при патологиях печени. Исследование проводили на 100 коровах. Биохимические показатели в сыворотке крови измеряли с помощью автоматического анализатора «Chem Well-2910 Combi» (Awareness Technology, США). Ретроспективно сформировали пять групп по 10 голов в каждой: 1 — здоровые (без патологий печени); 2 — легкая степень цитолиза; 3 — средняя степень цитолиза; 4 — легкая степень холестаза; 5 — средняя степень холестаза. Гематологические показатели измеряли с помощью автоматического анализатора «Abacus Junior Vet» (Diatron, Австрия). На основе лейкоцитарной формулы рассчитывали интегральные лейкоцитарные индексы: интоксикации (в модификациях ЛИИ Рейса), сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК), лимфоцитарно-гранулоцитарный (ИЛГ), соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ), соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ) и Кребса (ИК). Установлено, что содержание эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов в крови больных и здоровых коров статистически значимо не различались ($p > 0,05$). У животных с легкой степенью цитолиза выявили снижение относительного содержания моноцитов на 23,3 % ($p < 0,05$), со средней — увеличение уровня сегментоядерных нейтрофилов на 37,5 % ($p < 0,05$), соответственно по сравнению со здоровыми особями. При прогрессировании цитолиза у коров отмечали тенденцию к уменьшению ИЛГ и увеличению ИК, ИСЛК, ИСЛМ, ИСНМ и ЛИИ Рейса. У животных с легкой и средней степенью холестаза наблюдали повышение уровня сегментоядерных нейтрофилов на 15,6 и 21,9 % ($p < 0,05$) при отсутствии изменений и снижении содержания лимфоцитов на 20,2 % ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению со здоровыми особями. Изменения в лейкоцитарной формуле таких коров сопровождались уменьшением ИЛГ на 19,9 и 39,0 % ($p < 0,05$) и повышением ИСНМ на 13,2 и 17,6 % ($p < 0,05$), ИК — на 19,3 и 57,5 % ($p < 0,05$), ИСЛК — на 20,5 и 63,4 % ($p < 0,05$), ЛИИ Рейса — на 27,2 и 25,9 % ($p < 0,05$), соответственно, ИСЛМ при легкой степени холестаза оставался без существенных изменений, а при средней — повышался на 23,7 % ($p < 0,05$) по сравнению со здоровыми. Результаты исследования подтверждают возможность использования интегральных лейкоцитарных индексов для дифференциальной диагностики, оценки тяжести и прогнозирования течения заболеваний печени у коров.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, гепатобилиарная система, лейкоцитарная формула, интегральные лейкоцитарные индексы, патологии печени, цитолитический синдром, холестатический синдром

Патологии печени у крупного рогатого скота (КРС) остаются одной из актуальных проблем ветеринарной медицины [1, 2].

Более чем у 40 % коров в России диагностируют нарушения в работе гепатобилиарной системы [3].

На сегодняшний день нет единой классификации по синдромам поражения печени у КРС [4, 5].

Среди наиболее распространенных синдромов выделяют холестатический и цитолитический [3]. Первый характеризуется нарушением синтеза, секреции и оттока желчи, что приводит к накоплению токсичных желчных кислот и билирубина в крови, провоцируя интоксикацию, воспалительные и аллергические реакции. Второй представляет собой нарушение проницаемости клеточных мембран

© Кузнецова Е. О., Белоусов А. И., Опарина О. Ю., Красноперов А. С., Черницкий А. Е., 2025

и разрушение гепатоцитов, сопровождающиеся выходом внутриклеточных ферментов в кровь.

Для своевременного выявления патологий печени важна ранняя диагностика [4]. Основными прижизненными методами являются: сбор анамнеза; клинико-инструментальная диагностика, куда входят исследования аппетита и пищевой мотивации, состояния кожи и слизистых оболочек, температуры тела, определение границ печени, болевой реакции при пальпации и перкуссии; лабораторная диагностика, включающая исследования поглотительно-выделительной функции (бромсульфалеиновая и вофавердиновая пробы), пигментного обмена (концентрации в крови общего, свободного и связанного билирубина, коэффициента конъюгации, содержания прямого билирубина и уробилиноидов в моче и стеркобилина в кале), метаболического профиля (показателей белкового, углеводного, липидного, минерального и витаминного обменов, активности аспаратаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), щелочная фосфатазы (ЩФ), глутаматдегидрогеназы (ГлДГ), креатинфосфаткиназы (КФК) и других ферментов). Как правило, клинические методы исследования позволяют выявлять патологии печени только на поздних стадиях, при тяжелых поражениях органа [3].

На этих стадиях часто отмечают серьезные системные изменения, негативно сказывающиеся на общем состоянии организма животных [6]. В клинической практике широко используется общий анализ крови (ОАК).

Однако одного лишь ОАК недостаточно для детального понимания характера и динамики процессов при патологиях печени. Важную информацию для оценки состояния больного животного могут предоставить лейкоцитарная формула и интегральные лейкоцитарные индексы, которые отражают соотношение различных популяций лейкоцитов в периферической крови [7, 8, 9].

Лейкоцитарная формула и ее производные являются важными индикаторами состояния иммунной системы [10, 11].

В медицинской практике интегральные лейкоцитарные индексы широко применяются для диагностики воспалительных, инфекционных и метаболических нарушений, позволяют оценивать тяжесть патологического процесса, прогнозировать течение заболевания и эффективность терапии [7]. Возможности использования интегральных лейкоцитарных индексов в ветеринарной гепатологии изучены недостаточно [9, 12, 13].

Цель работы — оценить изменения морфологических показателей крови и интегральных лейкоцитарных индексов у коров при патологиях печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование проведено на базе ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН в рамках государственного задания № 0532—2021—0009 в соответствии с Программой фундаментальных научных исследований государственных академий наук по направлению 4.2.1.5 «Разработка технологий прижизненного управления качеством животноводческого сырья для получения высококачественных и безопасных продуктов питания».

Объектом исследования служили 100 высокопродуктивных коров голштинской породы 2—3 лактации через 91 день после отела. Все животные содержались в одинаковых условиях, в сельскохозяйственной организации на территории Свердловской области.

При клиническом обследовании животных оценивали общее состояние, активность, упитанность, аппетит, жвачку и моторику преджелудков, состояние кожных покровов и видимых слизистых оболочек, температуру тела, частоту дыхания и сердечных сокращений [13]. Для диагностики патологий печени проводили пальпацию и перкуссию области органа с оценкой болевой реакции [13]. Дополнительно исследовали состояние подвздошных лимфатических узлов, оценивая их размер, консистенцию, подвижность и болезненность.

Отбор проб крови выполняли из хвостовой вены в две вакуумные стерильные пробирки с ЭДТА и активатором свертывания для дальнейших гематологических и биохимических исследований, соответственно. Для оценки функционального состояния гепатобилиарной системы на автоматическом биохимическом анализаторе Chem Well-2910 Combi (Awaveness Technology, США) в сыворотке крови животных исследовали активность АсАТ, ГГТ, ГлДГ, КФК, ЩФ, содержание общего билирубина и холестерина. Для анализа использовали готовые биохимические наборы производства Vital Diagnostics Spb (Россия), DIALAB GmbH (Австрия) и Human (Германия).

Ретроспективно на основании критериев (табл. 1), предложенных И. А. Никулиным и соавт. [5] (первый этап) и А. И. Белоусовым и соавт. [3] (второй этап), все коровы были разделены на здоровых (без патологий печени), с холестатическим и цитолитическим синдромом, и далее на группы

по степени поражения печени [3]. Животные, не соответствующие критериям отбора, были исключены из исследования. В результате, из 100 животных было сформировано 5 групп по 10 голов в каждой

(табл. 1): 1 — здоровые (без патологий печени); 2 — легкая степень цитолиза; 3 — средняя степень цитолиза; 4 — легкая степень холестаза; 5 — средняя степень холестаза.

Таблица 1

Биохимические критерии для оценки степени поражения печени у коров

Показатель	Без патологии печени (норма) [3, 5]	Синдром цитолиза		Синдром холестаза	
		Легкая степень	Средняя степень	Легкая степень	Средняя степень
	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
АсАТ, Ед/л	43—103	103—150	150—180	43—103	43—103
ГлДГ, Ед/л	11,5—46,4	46,4—80	80—100	11,5—46,4	11,5—46,4
КФК, Ед/л	84,3—296,8	84,3—296,8	84,3—296,8	84,3—296,8	84,3—296,8
ЩФ, Ед/л	39,0—100	39,0—100	10,9—27,5	> 100	> 100
ГГТ, Ед/л	10,9—27,5	10,9—27,5	10,9—27,5	27,5—35	35—60

Морфологический состав крови, включая содержание эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов, оценивали с помощью автоматического гематологического анализатора «Abacus Junior Vet» (Diatron, Австрия) с применением наборов реактивов того же производителя. Мазки крови окрашивали по методу Романовского — Гимзы, дифференциальный подсчет лейкоцитов выполняли на микроскопе Olympus BX 43 (Olympus, Япония). На основе лейкоцитарной формулы рассчитывали интегральные лейкоцитарные индексы: интоксикации (в модификациях ЛИИ Рейса), сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК), лимфоцитарно-гранулоцитарный (ИЛГ), соотношения нейтрофилов и моноцитов (ИСНМ), соотношения лимфоцитов и моноцитов (ИСЛМ) и Кребса (ИК) [14]:

$$\text{ЛИИ Рейса} = (\text{юн} + \text{пян} + \text{сян}) / (\text{эоз} + \text{мон} + \text{лимф})$$

$$\text{ИСЛК} = (\text{эоз} + \text{баз} + \text{юн} + \text{пян} + \text{сян}) / (\text{лимф} + \text{мон});$$

$$\text{ИЛГ} = (\text{лимф} * 10) / (\text{юн} + \text{пян} + \text{сян} + \text{эоз} + \text{баз});$$

$$\text{ИСНМ} = (\text{юн} + \text{пян} + \text{сян}) / (\text{мон});$$

$$\text{ИСЛМ} = \text{лимф} / \text{мон};$$

$$\text{ИК} = (\text{юн} + \text{пян} + \text{сян}) / \text{лимф},$$

где юн — юные нейтрофилы, %; пян — палочкоядерные нейтрофилы, %; сян — сегментоядерные нейтрофилы, %; эоз — эозинофилы, %; мон — моноциты, %; баз — базофилы, %; лимф — лимфоциты, %.

При обработке экспериментальных данных использовали программы IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp., США) и MS Excel 2016 (Microsoft, США). Данные представляли в виде медианы и квартилей (Q1-Q3). Сравнение независимых выборок проводили с использованием U-критерия Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех обследованных коров с синдромами цитолиза и холестаза в эксперименте отсутствовали клинические признаки поражений органа, такие как изменение габитуса, цвета видимых слизистых оболочек, увеличение границ печени, диарея.

Гематологические показатели и данные лейкоцитарной формулы здоровых животных (1-я группа), с синдромом цитолиза (2-я и 3-я группы) и холестаза (4-я и 5-я группы) представлены в таблицах 2—4.

Большинство исследованных гематологических показателей у здоровых и больных коров находились в пределах физиологических границ вида [15].

Анализ гемограммы (рис. 1) показал, что и при цитолизе, и при холестазе у обследованных коров наблюдается снижение относительного содержания лимфоцитов и увеличение числа сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови, коррелирующее со степенью тяжести.

Таблица 2

Гематологические показатели у здоровых и больных коров

Показатель (норма [15])	Без патологии печени	Синдром цитолиза		Синдром холестаза	
		Легкая степень	Средняя степень	Легкая степень	Средняя степень
	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Эритроциты, $10^{12}/л$ (5,0—10)	6,89 (6,33—7,82)	6,91 (6,41—7,53)	6,51 (6,17—7,16)	6,92 (6,33—7,0)	6,79 (6,51—7,23)
Тромбоциты, $10^9/л$ (100—800)	268,0 (181,5—407,0)	280,0 (182,3—321,8)	328,5 (90,5—594,3)	214,0 (108,5—375,0)	262,5 (179,8—303,0)
Лейкоциты, $10^9/л$ (4,0—12)	8,32 (7,97—9,51)	8,83 (7,77—10,6)	9,66 (8,04—15,3)	9,10 (7,48—11,6)	8,88 (7,59—10,6)

Данные представлены в виде медианы (квартили Q_1 - Q_3). Различия относительно 1-й группы статистически достоверны:

* $p < 0,05$
 ** $p < 0,01$
 *** $p < 0,001$.

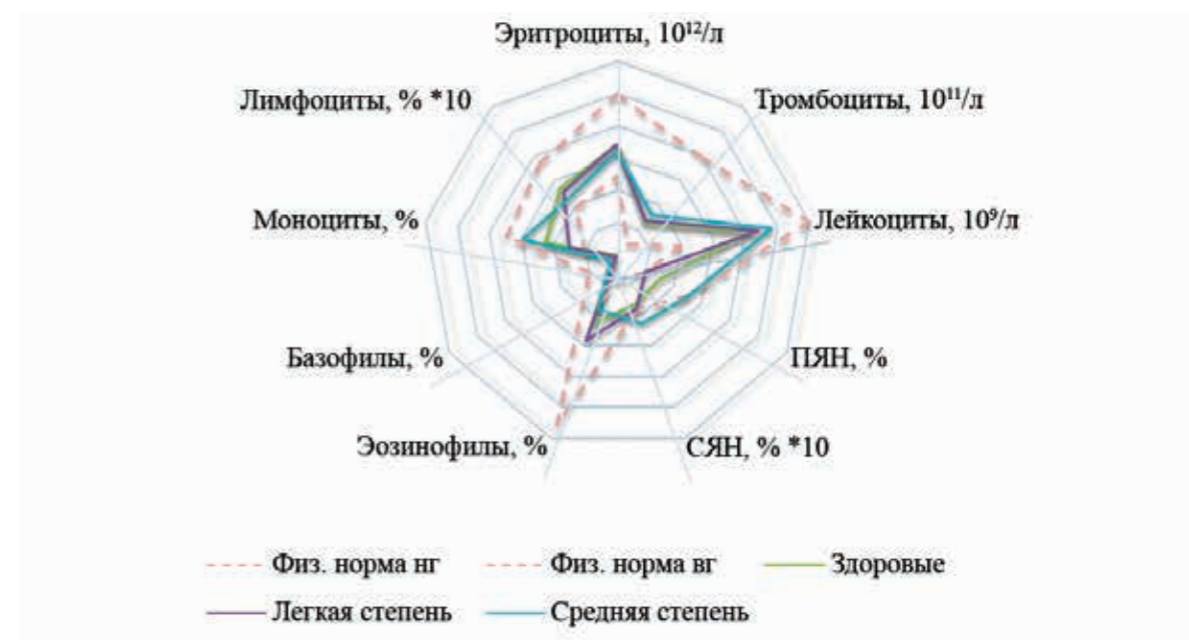
Таблица 3

Лейкоцитарная формула крови у здоровых и больных коров

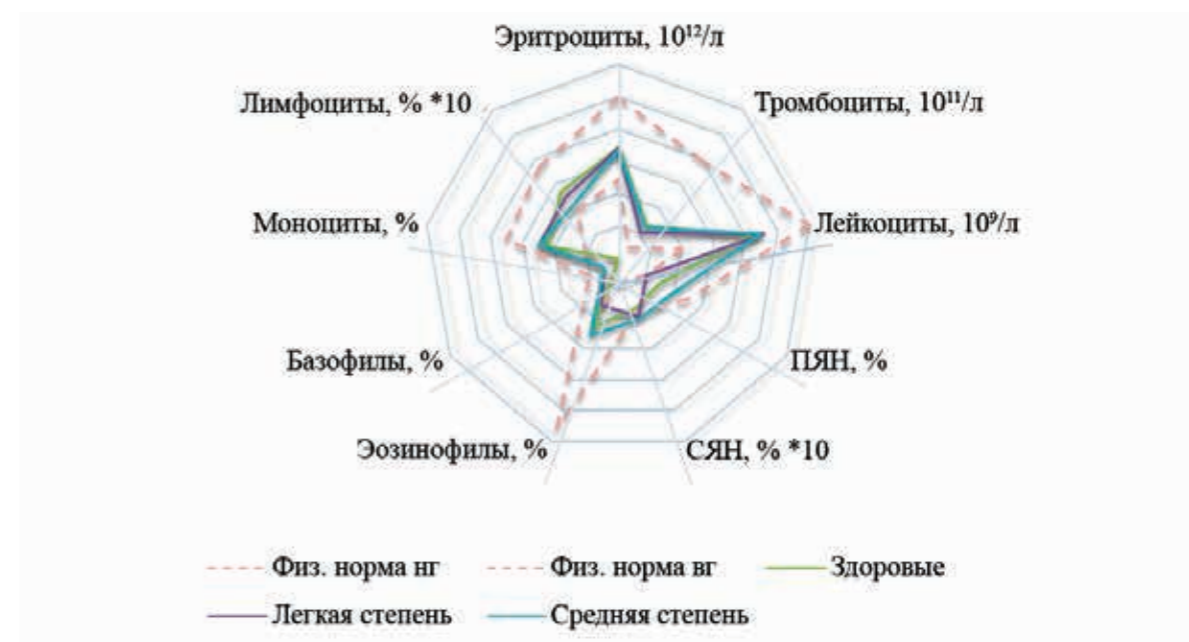
Показатель (норма [15])	Без патологии печени	Синдром цитолиза		Синдром холестаза	
		Легкая степень	Средняя степень	Легкая степень	Средняя степень
	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
ЮН, % (0—1,0)	0 (0—0)	0 (0—0)	0 (0—0)	0 (0—0)	0 (0—0,75)
ПЯН, % (2,0—5,0)	3,0 (2,0—4,25)	2,0 (2,0—2,0)	5,0 (3,0—7,0)	2,0 (2,0—4,0)	4,0 (2,0—6,0)
СЯН, % (13,0—35,0)	32,0 (29,5—34,3)	35,0 (30,5—41,8)	44,0* (34,0—49,0)	37,0* (33,0—46,0)	39,0*** (39,0—42,0)
Эозинофилы, % (3,0—11,0)	4,5 (1,75—6,5)	5,5 (3,25—7,75)	3,5 (1,25—7,25)	3,0 (2,0—6,0)	5,0 (4,0—7,0)
Базофилы, % (0,0—2,0)	0 (0—1,25)	0 (0—1,0)	0,5 (0—1,75)	1,0 (0,0—1,0)	1,0 (0—3,0)
Моноциты, % (2,0—7,0)	4,5 (4,0—6,5)	3,0* (1,5—5,75)	6,0 (4,5—6,0)	5,0 (3,0—6,25)	5,0 (3,5—5,25)
Лимфоциты, % (40—75)	54,5 (51,5—58,8)	51,5 (49,3—57,8)	46,5 (37,8—61,3)	50,0 (44,0—56,0)	43,5*** (39,8—46,3)

ЮН — юные нейтрофилы, %; ПЯН — палочкоядерные нейтрофилы, %; СЯН — сегментоядерные нейтрофилы, %. Данные представлены в виде: медиана (квартили Q_1 - Q_3). Различия относительно 1-й группы статистически достоверны:

* $p < 0,05$
 ** $p < 0,01$
 *** $p < 0,001$



А



Б

Рис. 1. Гемограммы у обследуемых коров:

А — при синдроме цитолиза; Б — при синдроме холестаза. ПЯН — палочкоядерные нейтрофилы, %; СЯН — сегментоядерные нейтрофилы, %

Так, при средней степени цитолиза относительное содержание сегментоядерных нейтрофилов у животных превышало медианные значения у клинически здоровых особей на 37,5 % ($p < 0,05$).

При легкой степени цитолиза происходило снижение содержания моноцитов в крови на 23,3 % ($p < 0,05$).

Аналогичная динамика выявлена при синдроме холестаза: относительное содержание в крови у обследованных коров сегментоядерных нейтрофилов у особей с легкой степенью возросло на 15,6 % ($p < 0,05$), а со средней — на 21,9 % ($p < 0,01$). Кроме того, у животных со средней степенью холестаза наблюдали уменьшение на 20,2 % ($p < 0,05$).

относительного содержания лимфоцитов, соответственно, по сравнению со здоровыми особями.

Необходимо отметить также, что при цитолизе и холестазах средней степени у коров относительное содержание сегментоядерных нейтрофилов в крови превышало физиологические границы вида на 37,5 и 21,9 % соответственно (табл. 3). Тогда как при легкой степени повышение данного показателя встречали у 40 % особей в каждой группе. В то же время лимфопению у обследованных коров регистрировали при средней степени цитолиза у 10 %, а при холестазах у 50 % животных.

Для комплексной оценки состояния иммунной системы животных рассматривали интегральные лейкоцитарные индексы (рис. 2).

С нарастанием цитолитического синдрома у коров наблюдали тенденцию к увеличению ЛИИ Рейса ИСЛК и ИК и уменьшению ИЛГ. При цитолизе средней степени также отмечали снижение ИСЛМ на 34,3 % ($p < 0,05$). Совокупность этих изменений отражает формирование воспалительно-интоксикационного синдрома с активацией врожденного и угнетением адаптивного иммунного ответа.

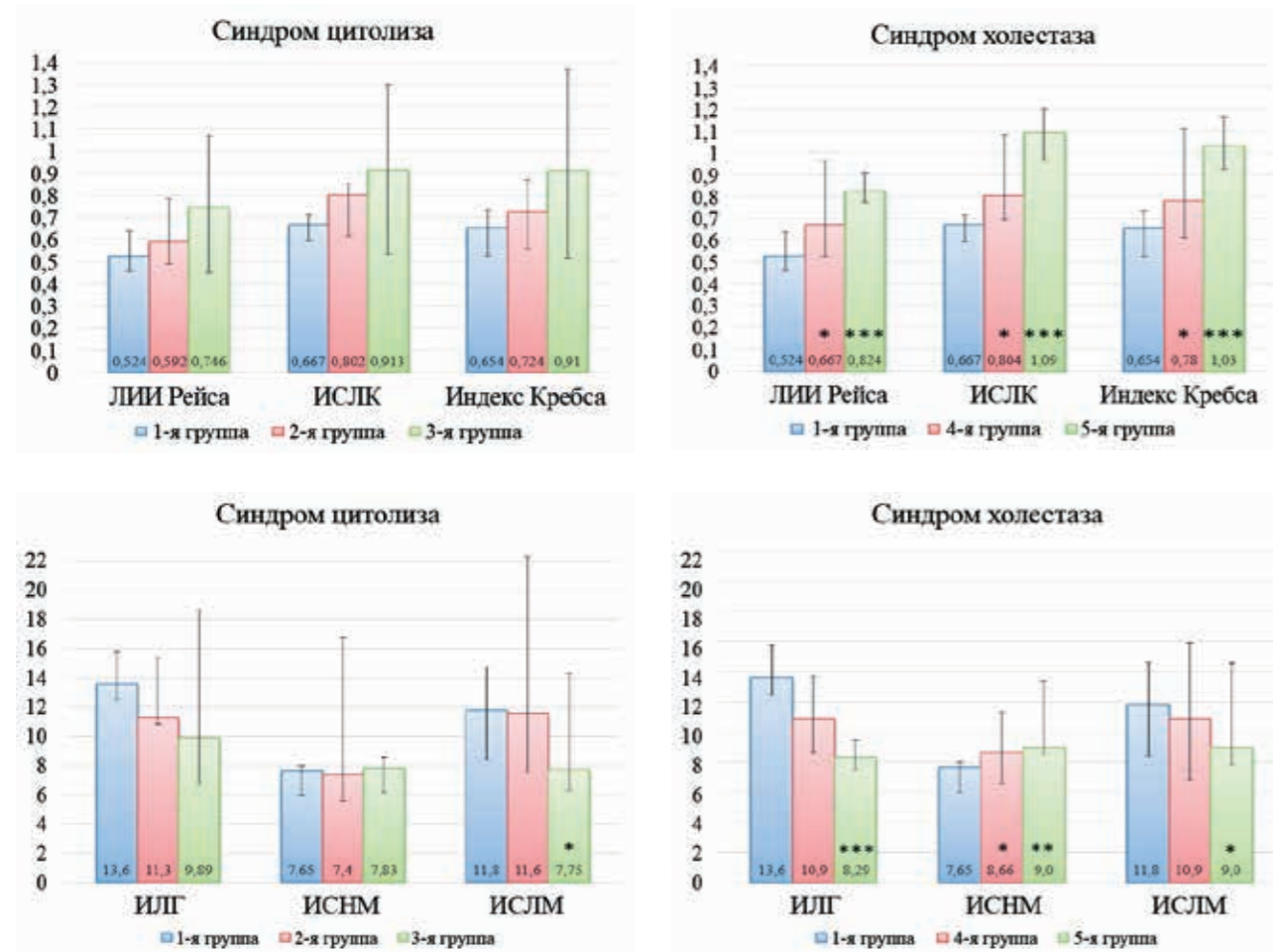


Рис. 2. Интегральные лейкоцитарные индексы при патологиях печени:

ЛИИ Рейса — интоксикации; ИСЛК — сдвига лейкоцитов крови; ИЛГ — лимфоцитарно-гранулоцитарный; ИСНМ — соотношения нейтрофилов и моноцитов; ИСЛМ — соотношения лимфоцитов и моноцитов и ИК — Кребса. Данные представлены в виде: медиана (квартили Q_1-Q_3). Различия относительно 1-й группы статистически достоверны: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Аналогичные изменения, но с различной степенью выраженности, наблюдались при синдроме холестаза: у животных выявлено достоверное ($p < 0,05$) повышение ЛИИ Рейса (на 27,2 % в 4-й и 25,9 % в 5-й группе), ИСЛК (на 20,5 %

в 4-й и 63,4 % в 5-й группе), ИСНМ (на 13,2 % в 4-й и 17,6 % в 5-й группе), ИК (на 19,3 % в 4-й и 57,5 % в 5-й группе) и снижение ИЛГ (на 19,9 % в 4-й и 39,0 % в 5-й группе) и ИСЛМ (на 23,7 % в 5-й группе) по сравнению со здоровыми особями.

Наши результаты подтверждают данные предыдущих исследований, согласно которым неинфекционные патологии печени у крупного рогатого скота часто протекают без выраженной клинической симптоматики, но с изменениями биохимического профиля и гематологического статуса [2, 5, 6, 16].

У всех обследованных животных содержание тромбоцитов и эритроцитов сохранялось в пределах физиологических границ вида, что указывает на сохранение функциональной активности их костного мозга. Таким образом, результаты подтверждают корректность разделения животных на группы: у коров 2—4-й групп отсутствовали тяжелые стадии патологического процесса. Например, по данным Manthorpe E. M. и соавт. при тяжелых неинфекционных поражениях печени выраженная тромбоцитопения регистрируется в 86,0 % случаев [17].

У коров 3-й, 4-й и 5-й групп выявлен сдвиг лейкоцитарной формулы влево, что может быть следствием нарушений процессов детоксикации в печени при холестатическом синдроме и повышения концентрации токсических продуктов в системном кровотоке [18]. При нарушении экскреции продукты клеточного метаболизма накапливаются в крови, активируя нейтрофилы и макрофаги [11]. Полученные данные свидетельствуют о супрессии иммунитета. Правильность наших сведений согласуются с другими авторами [19].

Необходимо отметить, что при легкой стадии цитолиза сдвигов в лейкоцитарной формуле нет. Но у коров этой группы содержание моноцитов в крови достоверно снижалось, тогда, как в 3-й группе оно оставалось на уровне здоровых животных. Такие изменения объясняются физиологией моноцитов. Эти клетки, с одной стороны, устраняют патогены путем фагоцитоза, с другой — играют ключевую роль в реакциях регенерации органа [9]. На ранних стадиях разрушение клеток печени вызывает локальную воспалительную реакцию, что способствует миграции клеток в пораженные ткани [20]. При большом числе разрушенных гепатоцитов индуцируется выработка провоспалительных цитокинов, которые, в свою очередь, стимулируют дифференцировку моноцитов [21].

Поражение печени сопровождается воспалительной реакцией различной интенсивности.

При легкой и средней степени холестаза у обследованных животных наблюдается интоксикация, о чем свидетельствуют повышение ЛИИ и ИСЛК. С увеличением степени холестаза у коров мы наблюдали снижение ИЛГ, отражающее сдвиг иммун-

ного баланса в сторону активации гранулоцитов. В обеих группах обнаружено заметное повышение ИСНМ, что указывает на активацию врожденного иммунного ответа. При средней степени холестаза обнаружено достоверное снижение ИСЛМ, указывающее на нарастание тяжести патологического процесса и угнетение адаптивного иммунитета, прежде всего [6].

Наше исследование показало, что увеличение ИК при увеличении степени холестаза может играть роль маркера острого стресса. Кроме того, рост относительного содержания сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови и повышение ИК косвенно характеризуют усиление фагоцитарной активности, необходимой для элиминации токсичных метаболитов [16]. Анализ литературных и экспериментальных данных позволяют считать эти показатели надежным индикатором воспаления и обширного повреждения тканей печени [7, 9, 12, 22].

При цитолитическом синдроме у животных в обеих группах наблюдали подобные, но менее выраженные изменения указанных индексов. Вероятно, это связано с различиями в генезе холестатического и цитолитического синдромов [18]. При синдроме цитолиза снижение ИЛГ по сравнению со здоровыми особями не достигало уровня статистической значимости, однако намечалась тенденция к нарушению равновесия между клеточным и гуморальным иммунным ответом [6].

Вероятно, в условиях острого поражения печени иммунная система отдает приоритет более быстрым механизмам врожденной защиты, активируемым в ответ на обширное повреждение тканей. При нарастании цитолиза у коров активируется врожденный иммунный ответ, что подтверждается статистически достоверным снижением ИСЛМ в 3-й группе [2, 6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интегральные лейкоцитарные индексы (ЛИИ, ИЛГ, ИСЛК, ИСНМ, ИСЛМ, ИК) показали высокую информативность для оценки состояния печени у коров. При цитолизе средней степени наблюдается умеренное повышение сегментоядерных нейтрофилов и снижение ИСЛМ, тогда как остальные индексы остаются без существенных изменений.

При холестазах уже при легкой степени поражения печени отмечается достоверное повышение ЛИИ, ИСЛК, ИСНМ и ИК, снижение ИЛГ и ИСЛМ, а также рост сегментоядерных нейтрофилов и снижение лимфоцитов. Полученные нами результаты

исследований подтвердили возможность использования интегральных лейкоцитарных индексов в качестве дополнительного инструмента для расширенной диагностики заболеваний печени у коров при отсутствии клинической симптоматики.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Owen H. Development and application of a new liver pathology recording system for use in cattle abattoirs / H. Owen, E. Jones, C. Kowald, S. Hand, M. McGowan, R. Cobbold, T. S. Barnes, J. S. Gibson, S. Ranjbar, C. Palmieri, R. Allavena // *Research in Veterinary Science*. — 2023. — Vol. 158. — P. 164—184. DOI:10.1016/j.rvsc.2023.03.002
2. Khalphallah A. Hepatobiliary diseases in buffalo (*Bubalus bubalis*): clinical, laboratory, and ultrasonographic findings / A. Khalphallah, N. M. Aref, A. M. Abu-Seida, E. Elmeligy, S. A. Bayoumi, A. A. Al-Lethie, D. Salman // *Journal of Veterinary Science*. — 2018. — Vol. 19. — No. 4. — P. 543—549. DOI:10.4142/jvs.2018.19.4.543
3. Шкуратова И. А. Взаимосвязь морфо-биохимических показателей, как инструмент повышения эффективности диагностики заболеваний печени у высокопродуктивных коров / И. А. Шкуратова, Л. И. Дроздова, А. И. Белоусов А. С. Красноперов // *Известия Международной академии аграрного образования*. — 2023. — № 68. — С. 6—13.
4. Гринь В. А., Алгоритмы диагностики гепатопатологии крупного рогатого скота с использованием методов системного анализа / В. А. Гринь, Н. Д. Кузьминов // *Сборник научных трудов СКНИИЖ*. — 2020. — Т. 9. — № 1. — С. 217—221. DOI:10.34617/bths-5y68
5. Никулин И. А. Синдромный принцип диагностики болезней печени у крупного рогатого скота / И. А. Никулин, Г. Е. Копытина // *Ветеринария*. — 2008. — № 1. — С. 41—43.
6. Vlasova A. N. Bovine immunology: implications for dairy cattle / A. N. Vlasova, L. J. Saif // *Frontiers in Immunology*. — 2021. — Vol. 12. — Art. 643206. DOI:10.3389/fimmu.2021.643206. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34267745> (дата обращения: 15.03.2025)
7. Qi X. T. Peripheral blood lymphocyte-to-monocyte ratio predicts mortality in patients with HBV-related decompensated cirrhosis / X. T. Qi // *Clinical Laboratory*. — 2019. — Vol. 65. — No. 1. — Art. 10.7754. DOI:10.7754/Clin.Lab.2018.180717. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30775885> (дата обращения: 10.04.2025)
8. Yanar K. E. Prognostic potential of inflammatory markers, oxidative status, thrombocyte indices, and renal biochemical markers in neonatal calf diarrhoea-induced systemic inflammatory response syndrome / K. E. Yanar, E. Eren, M. S. Aktaş, M. S. Eroğlu, Ö. Kandemir, G. Aydın // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. — 2023. — Vol. 265. — Art. 110680. DOI:10.1016/j.vetimm.2023.110680. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37980800> (дата обращения: 12.03.2025)

9. Mylostyyvi R. Changes in leukocyte indices of holstein cows under prolonged heat stress conditions / R. Mylostyyvi // *Qeios*. — 2025. — Vol. 6 — No. 10. DOI: 10.32388/9OGXDP.3. URL: <https://www.qeios.com/read/9OGXDP> (дата обращения: 16.03.2025)

10. Сафонов В. А. Гематологические маркеры внутриутробной задержки развития у новорожденных теллят / В. А. Сафонов, Т. С. Ермилова, А. Е. Черницкий // *Ветеринарный фармакологический вестник*. — 2023. — № 4 (25). — С. 39—50. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.4.39

11. Сидельникова В. И. Эндогенная интоксикация и воспаление: последовательность реакций и информативность маркеров / В. И. Сидельникова, А. Е. Черницкий, М. И. Рецкий // *Сельскохозяйственная биология*. — 2015. Т. 50. — № 2 — С. 152—161. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.2.152rus

12. Buonacera A. Neutrophil to lymphocyte ratio: an emerging marker of the relationships between the immune system and diseases / A. Buonacera, B. Stancanelli, M. Colaci, L. Malatino // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2022. — Vol. 23. — No. 7. — Art. 3636. DOI:10.3390/ijms23073636. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35408994> (дата обращения: 17.03.2025)

13. Алехин Ю. Н. Методические рекомендации по диагностике, профилактике и терапии гепатопатий у крупного рогатого скота / Ю. Н. Алехин, С. В. Шабунин, М. И. Рецкий, Г. Н. Близнецова, И. Р. Сидельникова, Д. Б. Чусов, И. А. Никулин, Б. В. Уша, И. А. Шкуратова. — Воронеж: Типография «Скоропечатня», 2009. — 88 с.

14. Дунаевская С. С. Интегральные гематологические индексы и гомоцистеин при пострезекционной печеночной недостаточности / С. С. Дунаевская, А. А. Косик // *Хирургическая практика*. — 2024. — № 1. — С. 19—27.

15. Полозюк, О. Н. Гематология: учебное пособие / О. Н. Полозюк, Т. М. Ушакова // *Персиановский: Донской ГАУ*. — 2019. — 159 с.

16. Ткаченко Е. А. Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей / Е. А. Ткаченко, М. А. Дерхо // *Известия ОГАУ*. — 2014. — № 3. — С. 81—83.

17. Manthorpe E. M. Clinical and pathologic features of acute bovine liver disease in Australia / E. M. Manthorpe, I. V. Jerrett, G. T. Rawlin, L. Woolford // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. — 2021. — Vol. 33. — No. 5. — P. 875—883. DOI:10.1177/10406387211025829

18. Gomez D. E. Cholangiohepatitis in dairy cattle: 13 Cases / D. E. Gomez, E. Doré, D. Francoz, A. Desrochers, H. Pierre, G. Fecteau // *Journal of Veterinary Internal Medicine*. — 2017. — Vol. 31. — No. 3 — P. 922—927. DOI:10.1111/jvim.14675

19. Riyadi N. R. Relationship between Absolute Lymphocyte Count and Ascites in Patients with Liver Cirrhosis / N. R. Riyadi, A. B. Carmelita, L. Sasmita, D. N. Kahanjak, // *The Indonesian Journal of Gastroenterology, Hepa-*

tology, and Digestive Endoscopy. — 2023. — Vol. 24. — No. 3 — P. 195—200. DOI: 10.24871/2432023195

20. Triantafyllou E. The role of monocytes and macrophages in acute and acute-on-chronic liver failure / E. Triantafyllou, K. J. Woollard, M. J. W. McPhail, C. G. Antoniadis, L. A. Possamai // *Frontiers in Immunology*. — 2018. — Vol. 9. — Art. 2948. DOI:10.3389/fimmu.2018.02948. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30619308> (дата обращения: 12.03.2025)

21. Triantafyllou E. MerTK expressing hepatic macrophages promote the resolution of inflammation in acute liv-

er failure / E. Triantafyllou, O. T. Pop, L. A. Possamai, A. Wilhelm, E. Liaskou, A. Singanayagam, C. Bernsmeier, W. Khamri, G. Petts, R. Dargue, S. P. Davies, J. Tickle, M. Yuksel, V. C. Patel, R. D. Abeles, Z. Stamataki, S. M. Curbishley, Y. Ma, I. D. Wilson, M. Coen, C. G. Antoniadis // *Gut*. — 2018. — Vol. 67. — No. 2. — P. 333—347. DOI:10.1136/gutjnl-2016-313615

22. Liu K. Neutrophils in liver diseases: pathogenesis and therapeutic targets / K. Liu, F. S. Wang, R. Xu // *Cellular & Molecular Immunology*. — 2021. — Vol. 18. — P. 38—44. DOI:10.1038/s41423-020-00560-0

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ


Е. О. Кузнецова — старший специалист;
А. И. Белоусов — доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник;
О. Ю. Опарина — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
А. С. Красноперов — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник;
А. Е. Черницкий — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 29.08.2025.

Original article
UDC 619:591.4:577.1

CHANGES IN THE MORPHOLOGICAL COMPOSITION OF THE BLOOD IN CATTLE WITH LIVER PATHOLOGIES

Evgeniya Oganessovna Kuznetsova, Aleksandr Ivanovich Belousov, Olga Yuryevna Oparina, Aleksandr Sergeevich Krasnoperov, Anton Evgenyevich Chernitskiy 

Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia, cherae@mail.ru 

Abstract. Bovine liver pathologies are accompanied by metabolic and immune disorders reflected in the blood composition. The research objective was to assess the changes in blood morphological indicators and integral leukocyte indices in cows with liver pathologies. The study was conducted on 100 cows. Biochemical indicators in blood serum were measured using the Chem Well-2910 Combi automatic analyzer (Awareness Technology, USA). Five groups of 10 animals each were retrospectively formed: 1 — healthy (no liver pathologies); 2 — mild cytolysis; 3 — moderate cytolysis; 4 — mild cholestasis; 5 — moderate cholestasis. Hematological indicators were measured using an Abacus Junior Vet automatic analyzer (Diatron, Austria). Based on the leukocyte formula, the following integral leukocyte indices were calculated: the intoxication (as modified by the Reis LII), blood leukocyte shift (BLS), lymphocyte-granulocyte ratio (LGR), neutrophil-monocyte ratio (NMR), lymphocyte-monocyte ratio (LMR) and Krebs index (KI). It had been found that the content of erythrocytes, platelets and leukocytes in the blood of sick and healthy cows did not differ statistically significantly ($p > 0.05$). In the animals with a mild degree of cytolysis, a decrease in the relative content of monocytes by 23.3 % ($p < 0.05$) was revealed ($p < 0.05$), with a moderate degree of cytolysis, there was an increase in the level of segmented neutrophils by 37.5 % ($p < 0.05$), respectively, compared to healthy individuals. With the progression of cytolysis in cows, a tendency towards a decrease in the LGR and an increase in the KI, BLS, LMR, NMR and the Reis LII was noted. In the animals with a mild and moderate cholestasis, an increase in the level of segmented neutrophils by 15.6 and 21.9 % ($p < 0.05$) was observed with no changes and a decrease in the lymphocyte content by 20.2 % ($p < 0.05$), respectively, compared to healthy individuals. The changes in the leukocyte count of such cows were accompanied by a decrease in the LGR by 19.9 and 39.0 % ($p < 0.05$), and an increase in the NMR by 13.2 and 17.6 % ($p < 0.05$), the KI — by 19.3 and 57.5 % ($p < 0.05$), the BLS — by 20.5 and 63.4 % ($p < 0.05$), the Reis LII — by 27.2 and 25.9 % ($p < 0.05$), respectively. The LMR in case of a mild cholestasis remained without significant changes, and in case of a moderate cholestasis it increased by 23.7 % ($p < 0.05$), compared to healthy cows. The results of the study confirm the possibility of using integral leukocyte indices for differential diagnosis, severity assessment and prognosis of liver diseases in cows.

Keywords: cattle, hepatobiliary system, leukocyte formula, integral leukocyte indices, liver pathologies, cytolytic syndrome, cholestatic syndrome

Liver pathologies in cattle remain a pressing issue in veterinary medicine [1, 2]. More than 40 % of cows in Russia are diagnosed with hepatobiliary disorders [3]. To date, there is no unified classification of liver injury syndromes in cattle [4, 5].

The most common syndromes include cholestatic and cytolytic ones [3]. The first is characterized by impaired synthesis, secretion and outflow of bile, leading to the accumulation of toxic bile acids and bilirubin in the blood, causing intoxication, inflammatory and allergic reactions. The second is a disruption of cell membrane permeability and destruction of he-

patocytes, accompanied by the release of intracellular enzymes into the blood.

Early diagnosis is important for the timely detection of liver pathologies [4]. The main intravital methods are collecting anamnesis, clinical and instrumental diagnosis, which includes studies of appetite and food motivation, the condition of the skin and mucous membranes, body temperature, determination of the liver boundaries, pain response to palpation and percussion; laboratory diagnosis, including studies of the absorption-excretion function (bromsulphalein and vofaverdin tests), pigment metabolism (concentrations of to-

tal, free and conjugated bilirubin in the blood, conjugation coefficient, the content of direct bilirubin and urobilinoids in the urine and stercobilin in the feces), metabolic profile (indicators of protein, carbohydrate, lipid, mineral and vitamin metabolism, the activity of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma-glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), glutamate dehydrogenase (GDH), creatine phosphate kinase (CPK) and other enzymes). As a rule, clinical research methods allow to identify liver pathologies only at late stages, with severe organ damage [3]. At these stages, serious systemic changes are often observed that negatively affect the general condition of the animal's body [6]. In clinical practice, a complete blood count (CBC) is widely used. However, a CBC alone is not enough to provide a detailed understanding of the nature and dynamics of processes in case of liver pathologies. Important information for assessing the condition of a sick animal can be provided by the leukocyte formula and integral leukocyte indices, which reflect the ratio of different leukocyte populations in the peripheral blood [7, 8, 9]. The leukocyte formula and its derivatives are important indicators of the immune system condition [10, 11]. In medical practice, integral leukocyte indices are widely used to diagnose inflammatory, infectious and metabolic disorders, allow to assess the severity of the pathological process, predict the disease course and the efficacy of therapy [7]. The possibilities of using integral leukocyte indices in veterinary hepatology have not been sufficiently studied [9, 12, 13].

The research objective was to assess the changes in the blood morphological indicators and integral leukocyte indices in cows with liver pathologies.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted at the FSBSI "UFARC of the UB of the RAS" under the state assignment No. 0532-2021-0009 in accordance with the Fundamental Scientific Research Program of the State Academies of Sciences in area 4.2.1.5 Development of

Technologies for in vivo Quality Control of Livestock Raw Materials to Produce High Quality and Safe Food Products.

The study involved 100 high yielding Holstein cows in their second and third lactations, 91 days after calving. All animals were kept under identical conditions at an agricultural facility in Sverdlovsk region.

During the clinical examination of animals, their general condition, activity, nutritional status, appetite, rumination, forestomach motility, skin and visible mucous membrane condition, body temperature, respiratory rate and heart rate were assessed [13]. To diagnose liver pathologies, palpation and percussion of the organ area were performed, with pain response assessed [13]. The condition of the iliac lymph nodes was additionally examined, assessing their size, consistency, mobility and tenderness.

Blood samples were collected from the tail vein into two vacuum-sealed sterile tubes containing EDTA and a clot activator for further hematological and biochemical analysis, respectively. To assess the functional state of the hepatobiliary system, the animals' serum was analyzed for AST, GGT, GDH, CPK, ALP activity, total bilirubin and cholesterol levels using the Chem Well-2910 Combi automated biochemical analyzer (Awareness Technology, USA). Ready-to-use biochemical kits from Vital Diagnostics Spb (Russia), DIALAB GmbH (Austria) and Human (Germany) were used for the analysis.

Retrospectively, based on the criteria (Table 1) proposed by I. A. Nikulin et al. [5] (first stage) and A. I. Belousov et al. [3] (second stage), all cows were divided into healthy (without liver pathologies), with cholestatic and cytolytic syndrome, and then into groups according to the degree of liver damage [3]. The animals that did not meet the selection criteria were excluded from the study. As a result, 5 groups of 10 animals each were formed from 100 animals (Table 1): 1 — healthy (without liver pathologies); 2 — mild cytolysis; 3 — moderate cytolysis; 4 — mild cholestasis; 5 — moderate cholestasis.

Table 1

Biochemical criteria for assessing the degree of liver damage in cows

Indicator	No liver pathology (norm) [3, 5]	Cytolysis syndrome		Cholestasis syndrome	
		Mild degree	Moderate degree	Mild degree	Moderate degree
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
1	2	3	4	5	6
AST, U/L	43—103	103—150	150—180	43—103	43—103

Table 1 (the end)

1	2	3	4	5	6
GDH, U/L	11.5—46.4	46.4—80	80—100	11.5—46.4	11.5—46.4
CPK, U/L	84.3—296.8	84.3—296.8	84.3—296.8	84.3—296.8	84.3—296.8
ALP, U/L	39.0—100	39.0—100	10.9—27.5	> 100	> 100
GGT, U/L	10.9—27.5	10.9—27.5	10.9—27.5	27.5—35	35—60

The blood morphological composition, including the content of erythrocytes, platelets and leukocytes, was assessed using an automatic hematology analyzer Abacus Junior Vet (Diatron, Austria) using reagent kits from the same manufacturer. Blood smears were stained using the Romanowsky — Giemsa method, and a differential leukocyte count was performed on an Olympus BX 43 microscope (Olympus, Japan). Based on the leukocyte formula, the integral leukocyte indices were calculated: the intoxication (in the modifications of the Reis LII), blood leukocyte shift (BLS), lymphocyte-granulocyte ratio (LGR), neutrophil-monocyte ratio (NMR), lymphocyte-monocyte ratio (LMR) and Krebs index (KI) [14]:

$$\text{Reis LII} = (\text{imm} + \text{stab} + \text{seg}) / (\text{eos} + \text{mon} + \text{lymph})$$

$$\text{BLS} = (\text{eos} + \text{bas} + \text{imm} + \text{stab} + \text{seg}) / (\text{lymph} + \text{mon});$$

$$\text{LGR} = (\text{lymph} * 10) / (\text{imm} + \text{stab} + \text{seg} + \text{eos} + \text{bas});$$

$$\text{NMR} = (\text{imm} + \text{stab} + \text{seg}) / (\text{mon});$$

$$\text{ISLM} = \text{lymph} / \text{mon};$$

$$\text{IR} = (\text{imm} + \text{stab} + \text{seg}) / \text{lymph},$$

where imm — immature neutrophils, %; stab — stab neutrophils, %; seg — segmented neutrophils, %; eos — eosinophils, %; mon — monocytes, %; bas — basophils, %; lymph — lymphocytes, %.

The IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp., USA) and MS Excel 2016 (Microsoft, USA) were used to process the experimental data. The data were presented as medians and quartiles (Q₁-Q₃). The comparison of independent samples was performed using the Mann — Whitney U test.

STUDY RESULTS AND DISCUSSION

All cows with cytolysis and cholestasis syndromes examined in the experiment showed no clinical signs of organ damage, such as changes in habitus, color of visible mucous membranes, enlarged liver margins or diarrhea.

Hematological indicators and leukocyte counts of healthy animals (Group 1), those with cytolysis syndrome (Groups 2 and 3) and those with cholestasis (Groups 4 and 5) are presented in Tables 2—4.

Table 2

Hematological indicators in healthy and sick cows

Indicator (norm [15])	No liver pathology	Cytolysis syndrome		Cholestasis syndrome	
		Mild degree	Moderate degree	Mild degree	Moderate degree
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
Erythrocytes, 10 ¹² /L (5.0—10)	6.89 (6.33—7.82)	6.91 (6.41—7.53)	6.51 (6.17—7.16)	6.92 (6.33—7.0)	6.79 (6.51—7.23)
Platelets, 10 ⁹ /L (100—800)	268.0 (181.5—407.0)	280.0 (182.3—321.8)	328.5 (90.5—594.3)	214.0 (108.5—375.0)	262.5 (179.8—303.0)
Leukocytes, 10 ⁹ /L (4.0—12)	8.32 (7.97—9.51)	8.83 (7.77—10.6)	9.66 (8.04—15.3)	9.10 (7.48—11.6)	8.88 (7.59—10.6)

The data are presented as median (quartiles Q₁-Q₃). Differences relative to Group 1 are statistically significant:

- * *p* < 0.05
- ** *p* < 0.01
- *** *p* < 0.001

Most of the hematological indicators studied in healthy and sick cows were within the physiological limits of the species [15].

The analysis of the hemogram (Fig. 1) showed that in case of both cytolysis and cholestasis, the examined Thus, in case of a moderate cytolysis, the relative content of segmented neutrophils in animals exceeded the median values in clinically healthy individuals by 37.5 % (*p* < 0.05). In case of a mild cytolysis, the monocyte content in the blood decreased by 23.3 % (*p* < 0.05).

Cows showed a decrease in the relative content of lymphocytes and an increase in the number of segmented neutrophils in the peripheral blood, correlating with the degree of severity.

Similar dynamics was observed in case of cholestasis syndrome: the relative content of segmented neutrophils in the blood of the cows examined increased by 15.6 % (*p* < 0.05) in the individuals with a mild cytolysis, and by 21.9 % (*p* < 0.01) in those with a moderate cholestasis. Furthermore, in the animals with a moderate cholestasis, there was observed a 20.2 % (*p* < 0.05)

decrease in the relative lymphocyte content, respectively, compared to healthy individuals.

It should also be noted that in the cows with a moderate cytolysis and cholestasis, the relative content of segmented neutrophils in the blood exceeded the physiological limits for the species by 37.5 and 21.9 % respectively (Table 3). In contrast, in mild cases, an increase in this indicator was observed in 40 % of animals in each group. Meanwhile, lymphopenia was recorded in 10 % of cows with a moderate cytolysis and in 50 % of animals with cholestasis. To comprehensively assess the state of the animals' immune systems, integrated leukocyte indices were examined (Fig. 2).

As cytolytic syndrome progressed in cows, there was observed a trend toward an increase in the Reis LII, BLS and KI, and a decrease in the LGR. In case of a moderate cytolysis, a decrease in the LMR by 34.3 % (*p* < 0.05) was also observed. These changes, taken together, reflect the development of an inflammatory-intoxication syndrome with activation of the innate immune response and suppression of the adaptive immune response.

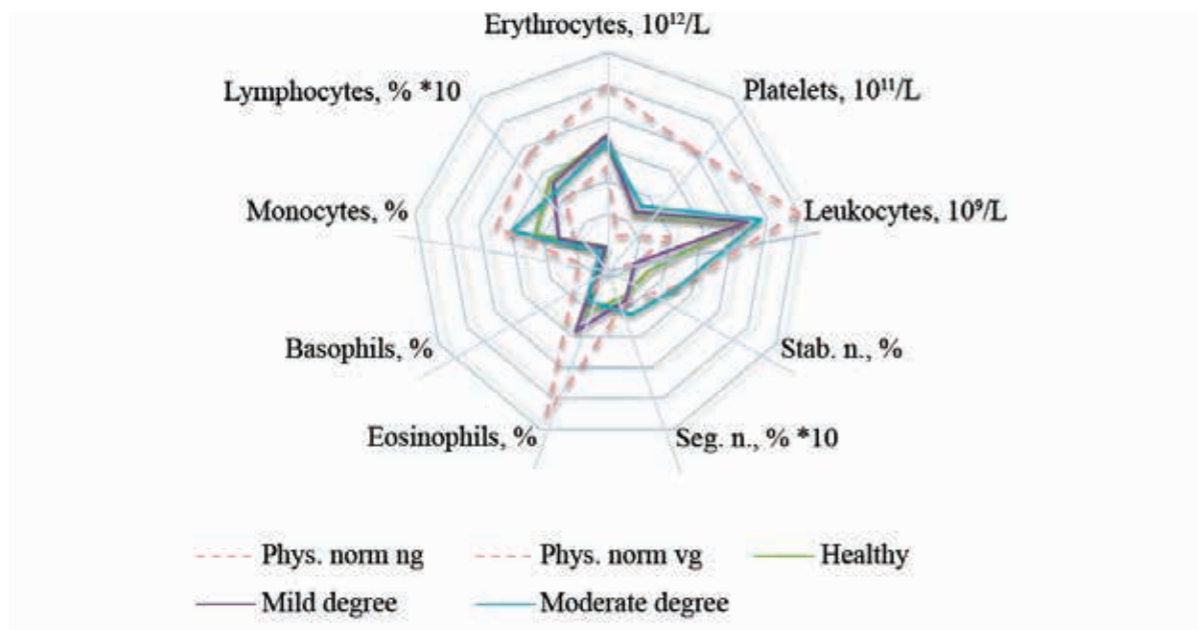
Table 3

Leukocyte count in healthy and sick cows

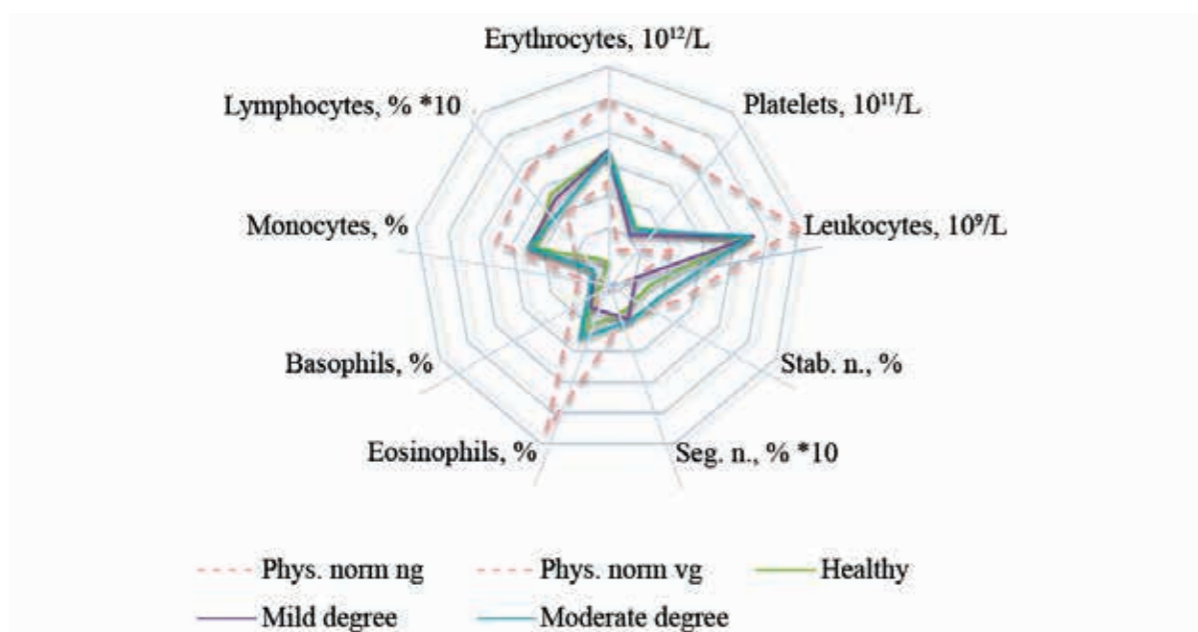
Indicator (norm [15])	No liver pathology	Cytolysis syndrome		Cholestasis syndrome	
		Mild degree	Moderate degree	Mild degree	Moderate degree
	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4	Group 5
Imm, % (0—1.0)	0 (0—0)	0 (0—0)	0 (0—0)	0 (0—0)	0 (0—0.75)
Stab, % (2.0—5.0)	3.0 (2.0—4.25)	2.0 (2.0—2.0)	5.0 (3.0—7.0)	2.0 (2.0—4.0)	4.0 (2.0—6.0)
Seg, % (13.0—35.0)	32.0 (29.5—34.3)	35.0 (30.5—41.8)	44.0* (34.0—49.0)	37.0* (33.0—46.0)	39.0*** (39.0—42.0)
Eosinophils, % (3.0—11.0)	4.5 (1.75—6.5)	5.5 (3.25—7.75)	3.5 (1.25—7.25)	3.0 (2.0—6.0)	5.0 (4.0—7.0)
Basophils, % (0.0—2.0)	0 (0—1.25)	0 (0—1.0)	0.5 (0—1.75)	1.0 (0.0—1.0)	1.0 (0—3.0)
Monocytes, % (2.0—7.0)	4.5 (4.0—6.5)	3.0* (1.5—5.75)	6.0 (4.5—6.0)	5.0 (3.0—6.25)	5.0 (3.5—5.25)
Lymphocytes, % (40—75)	54.5 (51.5—58.8)	51.5 (49.3—57.8)	46.5 (37.8—61.3)	50.0 (44.0—56.0)	43.5*** (39.8—46.3)

Imm — immature neutrophils, %; stab — stab neutrophils, %; seg — segmented neutrophils, %. The data are presented as: median (quartiles Q₁-Q₃). Differences relative to Group 1 are statistically significant:

- * *p* < 0.05
- ** *p* < 0.01
- *** *p* < 0.001



A



B

Fig. 1. Hemograms of the examined cows:

A — in case of cytolysis syndrome; B — in case of cholestasis syndrome. stab — stab neutrophils, %; seg — segmented neutrophils, %

Similar changes, but with varying degrees of severity, were observed in case of cholestasis syndrome: the animals showed a reliable ($p < 0.05$) increase in the Reis LII (by 27.2 % in Group 4, and by 25.9 % in Group 5), BLS (by 20.5 % in Group 4, and 63.4 % in Group 5), NMR (by 13.2 % in Group 4, and by 17.6 % in Group 5), KI (by 19.3 % in Group 4, and 57.5 % in Group 5) and a decrease in the LGR

(by 19.9 % in Group 4, and 39.0 % in Group 5) and the LMR (by 23.7 % in Group 5), compared to healthy individuals.

Our results confirm previous studies indicating that non-infectious liver diseases in cattle often occur without significant clinical symptoms, but with changes in the biochemical profile and hematological status [2, 5, 6, 16].

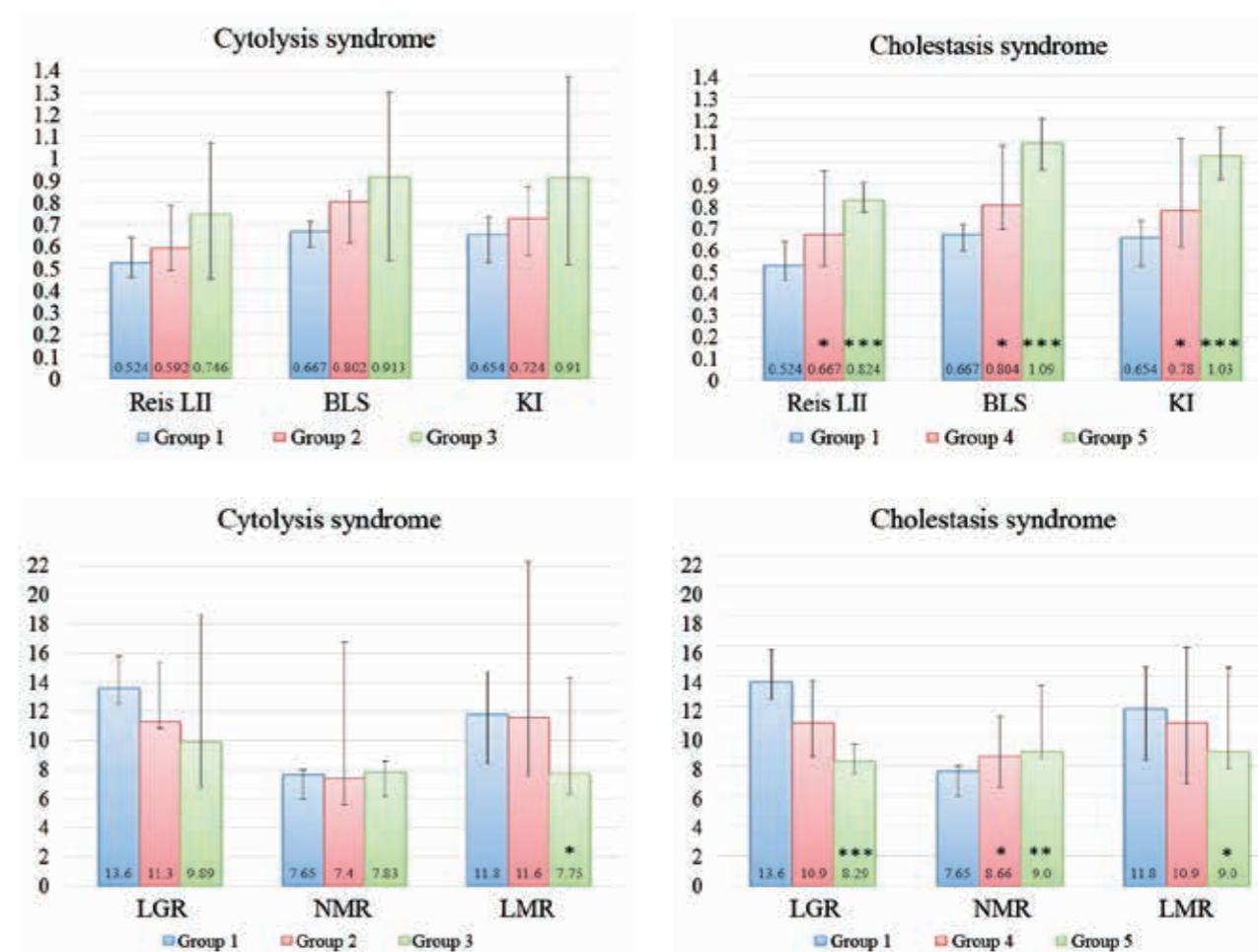


Fig. 2. Integrated leukocyte indices in case of liver pathologies:

Reis LII — intoxication; BLS — blood leukocyte shift; LGR — lymphocyte-granulocyte ratio; NMR — neutrophil-monocyte ratio; LMR — lymphocyte-monocyte ratio and KI — Krebs index. The data are presented as: median (quartiles Q₁-Q₃). Differences relative to Group 1 are statistically significant: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

In all animals examined, platelet and erythrocyte counts remained within the physiological limits of the species, indicating the preservation of functional bone marrow activity. Thus, the results confirm the appropriateness of the animal grouping: the cows in Groups 2—4 did not exhibit severe stages of the pathological process. For example, according to Manthorpe E. M. et al., severe thrombocytopenia is recorded in 86.0 % of cases of severe non-infectious liver disease [17].

In the cows in Groups 3, 4, and 5, there was observed a leftward shift in the leukocyte count, which may be due to impaired liver detoxification processes associated with cholestatic syndrome and increased concentrations of toxic products in the systemic circulation [18]. When excretion is impaired, cellular metabolic products accumulate in the blood, activating neutrophils and macrophages [11]. These data indicate immune suppression. Our findings are consistent with those of other authors [19].

It should be noted that there are no changes in the leukocyte count in case of a mild stage of cytolysis. However, in the cows in this group, the monocyte count in the blood significantly decreased, while in Group 3 it remained at the level of healthy animals. These changes are explained by the physiology of monocytes. These cells, on the one hand, eliminate pathogens through phagocytosis, and on the other, play a key role in organ regeneration reactions [9]. In the early stages, liver cell destruction causes a local inflammatory response, which promotes cell migration into the affected tissue [20]. With a large number of destroyed hepatocytes, the production of proinflammatory cytokines is induced, which, in turn, stimulate the differentiation of monocytes [21].

Liver damage is accompanied by an inflammatory response of varying intensity.

In the animals with a mild and moderate cholestasis, intoxication is observed, as evidenced by an in-

crease in the LII and BLS. As the severity of cholestasis in cows increased, we observed a decrease in the LGR, reflecting a shift in the immune balance toward granulocyte activation. A significant increase in the NMR was found in both groups, indicating activation of the innate immune response. In case of a moderate cholestasis, a significant decrease in the LMR was found, indicating increasing severity of the pathological process and suppression of adaptive immunity, primarily [6]. Our study has demonstrated that an increase in the KI with increasing severity of cholestasis can act as a marker of acute stress. Furthermore, an increase in the relative content of segmented neutrophils in the peripheral blood and an increase in the KI indirectly characterize increased phagocytic activity necessary for the elimination of toxic metabolites [16]. The analysis of literary and experimental data allows to consider these indicators as a reliable indicator of inflammation and extensive damage to liver tissue [7, 9, 12, 22].

Similar, but less pronounced, changes in these indices were observed in the animals with cytolytic syndrome in both groups. This is likely due to the differences in the genesis of cholestatic and cytolytic syndromes [18].

In case of cytolytic syndrome, the decrease in the LGR, compared to healthy individuals, did not reach statistical significance; however, a tendency toward an imbalance between the cellular and humoral immune responses was observed [6]. It is likely that, under conditions of acute liver damage, the immune system prioritizes more rapid innate defense mechanisms activated in response to extensive tissue damage. As cytolysis increases in cows, the innate immune response is activated, as confirmed by a statistically significant decrease in the LMR in Group 3 [2, 6].

CONCLUSION

Integral leukocyte indices (LII, LGR, BLS, NMR, LMR, KI) have demonstrated high informativeness for assessing liver condition in cows. In case of a moderate cytolysis, a moderate increase in segmented neutrophils and a decrease in the LMR are observed, while other indices remain unchanged. In case of cholestasis, even with a mild liver damage, a significant increase in the LII, BLS, NMR and KI is observed, along with a decrease in the LGR and LMR, as well as an increase in segmented neutrophils and a decrease in lymphocytes. Our research results confirmed the potential of using integrated leukocyte indices as an additional tool for the advanced diagnosis of liver disease in cows in the absence of clinical symptoms.

REFERENCES

1. Owen H. Development and application of a new liver pathology recording system for use in cattle abattoirs / H. Owen, E. Jones, C. Kowald, S. Hand, M. McGowan, R. Cobbold, T. S. Barnes, J. S. Gibson, S. Ranjbar, C. Palmieri, R. Allavena // *Research in Veterinary Science*. — 2023. — Vol. 158. — P. 164—184. DOI:10.1016/j.rvsc.2023.03.002
2. Khalphallah A. Hepatobiliary diseases in buffalo (*Bubalus bubalis*): clinical, laboratory, and ultrasonographic findings / A. Khalphallah, N. M. Aref, A. M. Abu-Seida, E. Elmeligy, S. A. Bayoumi, A. A. Al-Lethie, D. Salman // *Journal of Veterinary Science*. — 2018. — Vol. 19. — No. 4. — P. 543—549. DOI:10.4142/jvs.2018.19.4.543
3. Shkuratova I. A. Relationship between morphobiochemical parameters as a tool for improving the efficacy of liver disease diagnosis in high yielding cows / I. A. Shkuratova, L. I. Drozdova, A. I. Belousov, A. S. Krasnoperov // *Izvestiya Mezhdunarodnoy akademii agrarnogo obrazovaniya* (Bulletin of the International Academy of Agrarian Education). — 2023. — No. 68. — P. 6—13.
4. Grin V. A., Algorithms for diagnosing hepatopathology in cattle using systems analysis methods / V. A. Grin, N. D. Kuzminov // *Sbornik nauchnykh trudov SKNIIZh* (Collection of research papers of the SKNIIZh). — 2020. — Vol. 9. — No. 1. — P. 217—221. DOI: 10.34617/bths-5y68
5. Nikulin I. A. Syndromic principle of diagnosis of bovine liver diseases / I. A. Nikulin, G. E. Kopytina // *Veterinariya* (Veterinary science). — 2008. — No. 1. — P. 41—43.
6. Vlasova A. N. Bovine immunology: implications for dairy cattle / A. N. Vlasova, L. J. Saif // *Frontiers in Immunology*. — 2021. — Vol. 12. — Art. 643206. DOI:10.3389/fimmu.2021.643206. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34267745> (date of access: 15.03.2025)
7. Qi X. T. Peripheral blood lymphocyte-to-monocyte ratio predicts mortality in patients with HBV-related decompensated cirrhosis / X. T. Qi // *Clinical Laboratory*. — 2019. — Vol. 65. — No. 1. — Art. 10.7754. DOI:10.7754/Clin.Lab.2018.180717. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30775885> (date of access: 10.04.2025)
8. Yanar K. E. Prognostic potential of inflammatory markers, oxidative status, thrombocyte indices, and renal biochemical markers in neonatal calf diarrhoea-induced systemic inflammatory response syndrome / K. E. Yanar, E. Eren, M. S. Aktaş, M. S. Eroğlu, Ö. Kandemir, G. Aydın // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. — 2023. — Vol. 265. — Art. 110680. DOI:10.1016/j.vetimm.2023.110680. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37980800> (date of access: 12.03.2025)
9. Mylostyvyi R. Changes in leukocyte indices of holstein cows under prolonged heat stress conditions / R. Mylostyvyi // *Qeios*. — 2025. — Vol. 6 — No. 10. DOI: 10.32388/9OGXDP.3. URL: <https://www.qeios.com/read/9OGXDP> (date of access: 16.03.2025)

10. Safonov V. A. Hematological markers of intrauterine growth restriction in newborn calves / V. A. Safonov, T. S. Ermilova, A. E. Chernitskiy // *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. — 2023. — No. 4 (25). — P. 39—50. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2023.4.39

11. Sidelnikova V. I. Endogenous intoxication and inflammation: sequence of reactions and informativeness of markers / V. I. Sidelnikova, A. E. Chernitskiy, M. I. Retskiy // *Selskokhozyaystvennaya biologiya* (Agricultural Biology). — 2015. Vol. 50. — No. 2 — P. 152—161. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.2.152rus

12. Buonacera A. Neutrophil to lymphocyte ratio: an emerging marker of the relationships between the immune system and diseases / A. Buonacera, B. Stancanelli, M. Colaci, L. Malatino // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2022. — Vol. 23. — No. 7. — Art. 3636. DOI:10.3390/ijms23073636. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35408994> (date of access: 17.03.2025)

13. Alekhin Yu. N. Methodological recommendations for the diagnosis, prevention and treatment of bovine hepatopathies / Yu. N. Alekhin, S. V. Shabunin, M. I. Retskiy, G. N. Bliznetsova, I. R. Sidelnikova, D. B. Chusov, I. A. Nikulin, B. V. Usha, I. A. Shkuratova. — Voronezh: Skoropchatnya Printing House, 2009. — 88 p.

14. Dunaevskaya S. S. Integral hematological indices and homocysteine in post-resection liver failure / S. S. Dunaevskaya, A. A. Kosik // *Khirurgicheskaya praktika* (Surgical practice). — 2024. — No. 1. — P. 19—27.

15. Polozyuk, O. N. Hematology: a textbook / O. N. Polozyuk, T. M. Ushakova // *Persianovskiy: Donskoy GAU* (Don SAU). — 2019. — 159 p.

16. Tkachenko E. A. Leukocyte indices in case of experimental cadmium intoxication of mice / E. A. Tkachenko, M. A. Derkho // *Izvestiya OGAU* (Bulletin of OSAU). — 2014. — No. 3. — P. 81—83.

17. Manthorpe E. M. Clinical and pathologic features of acute bovine liver disease in Australia / E. M. Manthorpe, I. V. Jerrett, G. T. Rawlin, L. Woolford // *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. — 2021. — Vol. 33. — No. 5. — P. 875—883. DOI:10.1177/10406387211025829

18. Gomez D. E. Cholangiohepatitis in dairy cattle: 13 Cases / D. E. Gomez, E. Doré, D. Francoz, A. Desrochers, H. Pierre, G. Fecteau // *Journal of Veterinary Internal Medicine*. — 2017. — Vol. 31. — No. 3 — P. 922—927. DOI:10.1111/jvim.14675

19. Riyadi N. R. Relationship between Absolute Lymphocyte Count and Ascites in Patients with Liver Cirrhosis / N. R. Riyadi, A. B. Carmelita, L. Sasmitae, D. N. Kahanjak, // *The Indonesian Journal of Gastroenterology, Hepatology, and Digestive Endoscopy*. — 2023. — Vol. 24. — No. 3 — P. 195—200. DOI: 10.24871/2432023195

20. Triantafyllou E. The role of monocytes and macrophages in acute and acute-on-chronic liver failure / E. Triantafyllou, K. J. Woollard, M. J. W. McPhail, C. G. Antoniadis, L. A. Possamai // *Frontiers in Immunology*. — 2018. — Vol. 9. — Art. 2948. DOI:10.3389/fimmu.2018.02948. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30619308> (date of access: 12.03.2025)

21. Triantafyllou E. MerTK expressing hepatic macrophages promote the resolution of inflammation in acute liver failure / E. Triantafyllou, O. T. Pop, L. A. Possamai, A. Wilhelm, E. Liaskou, A. Singanayagam, C. Bernsmeier, W. Khamri, G. Petts, R. Dargue, S. P. Davies, J. Tickle, M. Yuksele, V. C. Patel, R. D. Abeles, Z. Stamataki, S. M. Curbishley, Y. Ma, I. D. Wilson, M. Coen, C. G. Antoniadis // *Gut*. — 2018. — Vol. 67. — No. 2. — P. 333—347. DOI:10.1136/gutjnl-2016-313615

22. Liu K. Neutrophils in liver diseases: pathogenesis and therapeutic targets / K. Liu, F. S. Wang, R. Xu // *Cellular & Molecular Immunology*. — 2021. — Vol. 18. — P. 38—44. DOI:10.1038/s41423-020-00560-0

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

- E. O. Kuznetsova** — Senior Scientific Associate;
A. I. Belousov — Doctor of Veterinary Sciences, Principal Scientific Associate;
O. Yu. Oparina — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
A. S. Krasnoperov — Candidate of Veterinary Sciences, Senior Scientific Associate;
A. E. Chernitskiy — Doctor of Biological Sciences, Principal Scientific Associate.

The article was submitted 29.08.2025.

Научная статья

УДК 619:616—076:636.3

DOI: 10.65173/2541-8203.2025.33.4.015

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ И МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СПЕРМАТИД НА РАЗЛИЧНЫХ ЭТАПАХ СПЕРМИОГЕНЕЗА

Андрей Григорьевич Ульянов*✉, Вячеслав Иванович Котарев**,
Игнатий Андреевич Ульянов***, Петр Макарович Торгун*

*Воронежский государственный аграрный университет имени
императора Петра I, Воронеж, Россия, agu16@mail.ru✉

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

***Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко, Воронеж, Россия

Аннотация. Спермиогенез у баранов включает четыре фазы: 1 — фазу Гольджи; 2 — фазу колпачка; 3 — фазу акросомы; 4 — фазу созревания. В фазу Гольджи входят первые три этапа спермиогенеза (1—3). В цитоплазме молодых сперматид с помощью комплекса Гольджи формируется проакросомический пузырек, в котором накапливается ШИК-положительный материал в виде крупной акросомальной гранулы. Следующие четыре этапа спермиогенеза (4—7) составляют фазу колпачка. Акросомический пузырек располагается на поверхности оболочки ядра в виде колпачка, покрывая её одну третью часть. К концу фазы колпачка акросомальная структура покрывает половину поверхности ядра. Ядро приобретает овальную форму и смещается к переднему полюсу клетки. В период фазы акросомы (8—11 этапы спермиогенеза) акросомальная структура удлиняется, формируется акросомический конус с острым концом. В течение последней фазы созревания (12—17 этапы) сперматиды с удлиненной акросомой приближаются к ядру клеток Сертоли. Последние гипертрофируются, располагаются перпендикулярно базальной мембране и мигрируют ближе к центру семенного канальца. К концу фазы созревания исчезает акросомический конус, сперматиды превращаются в сперматозоиды, которые перемещаются в канал придатка семенника.

Ключевые слова: этапы спермиогенеза, фазы: Гольджи, колпачка, акросомы, созревания

Изучение спермиогенеза у различных животных на световом и электронно-микроскопическом уровнях позволяет выяснить сложные процессы дифференцировки сперматогенных клеток, а также особенности функционирования клеток Лейдига и клеток Сертоли.

В настоящее время в семеннике взрослого животного можно выделить около 30 различных типов сперматогенных клеток, однако в одном участке на поперечном срезе извитого семенного канальца можно видеть не более пяти типов клеток. Количество клеточных ассоциаций из пяти клеток у разных видов животных может быть разным, но состав каждой клеточной ассоциации для данного вида животного всегда постоянный.

Сперматогенные клетки в каждом участке извитого канальца постоянно меняются и одна группа сперматогенных клеток замещается дру-

гой. Количество встречающихся сочетаний клеток в семеннике животного данного вида ограничено и постоянно. Одна группа сперматогенных клеток соответствует одной стадии цикла сперматогенного эпителия, а полный набор определенных сочетаний клеток представляет цикл сперматогенного эпителия.

Полная серия морфологических изменений, которые можно наблюдать в одном участке семенного канальца между появлением одинаковых сочетаний клеток сперматогенного эпителия, составляет цикл сперматогенного эпителия [1—4]. Существование определенных сочетаний сперматогенных клеток в извитых семенных канальцах семенника и смена одного сочетания другим были обнаружены еще в конце XIX столетия. Однако описание полной серии всех клеточных сочетаний и точной последовательности при смене их друг другом было осу-

ществлено в 50-е годы XX столетия. В 1952 году Леблон и Клермон [1—4] впервые описали цикл сперматогенного эпителия для ряда грызунов, но наиболее подробно цикл сперматогенного эпителия был изучен у крыс.

Использование метода, предложенного Леблном и Клермоном для изучения цикла сперматогенного эпителия, дало возможность описать спермиогенез у многих млекопитающих: мыши [5, 6], хомяка [7], морской свинки [8], обезьяны *РаріоAnubis* [9], северного оленя [10], опоссума [11], верблюда [12], речного бобра [13,14], калана [15], норки [16], быка [17].

Дифференцировка морфологических стадий сперматогенного эпителия необходима для более глубокого анализа гистогенетических процессов, происходящих в семенном канальце, для выяснения количественных закономерностей сперматогенного процесса, а также для стандартизации материала при экспериментальных воздействиях и при патологических изменениях.

Изучение спермиогенеза у млекопитающих необходимо проводить с учетом стадий цикла сперматогенного эпителия (ЦСЭ).

К сожалению, в отечественной литературе лишь некоторые авторы изучают спермиогенез с использованием стадий ЦСЭ [13—17].

Целью настоящего сообщения является изучение различных этапов спермиогенеза у половозрелых баранов.

На основании анализа акросомической структуры нами определены 17 этапов развития сперматид, первые 12 из которых использованы для идентификации 12 стадий цикла сперматогенного эпителия у баранов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Использован материал от 30 баранов русской длинношерстной породы в возрасте 2—3 года. Фрагменты семенников фиксировали в жидкости Штиве. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином, азаном по Гейденгайну. Применяли Шик-реакцию и окраску трихром-ШИК.

Для электронной микроскопии образцы яичек фиксировали в 2,5%-ном глутаровом альдегиде и в 1%-ном осмиевом фиксаторе. Готовили срезы на ультрамикротоме БС-490 и ЛКБ-4800. Срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе «Тесла БС-500».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований в семеннике баранов выявлены ствольные сперматогонии типа A_0 , дифференцирующиеся сперматогонии A_1, A_2, A_3, A_4 ; сперматогонии промежуточного типа, сперматогонии типа Б, первичные сперматозоиды на различных фазах мейотического деления (прелептотены, лептотены, зиготены, пахитены, диплотены, диакинеза); вторичные сперматозоиды и сперматиды.

На базальной мембране семенного канальца располагаются клетки Сертоли (суспендоциты), 7 типов сперматогоний, первичные сперматозоиды в стадии прелептотены, лептотены и зиготены. В этой работе мы не будем характеризовать сперматогонии, идентифицировать которые крайне сложно даже с применением электронной микроскопии и современных маркеров, специфичность которых еще окончательно не изучена.

В этом сообщении основное внимание будет обращено на первичные и вторичные сперматозоиды и сперматиды на различных этапах спермиогенеза. Первичные сперматозоиды в стадии прелептотены имеют меньшие размеры, чем сперматогонии типа Б. Хроматин в ядре сперматозоидов на стадии прелептотены слабо выражен.

Сперматозоиды на стадии лептотены характеризуются наличием тонких нитей хромосом, расположенных в центре ядра. В сперматозоиде на зиготенной стадии хромосомы располагаются плотно. Они становятся более толстыми и отличаются небольшой длиной. Сперматозоиды в стадии зиготены характеризуются наличием ярко выраженной фигуры хроматинового «букета». Она оказывается прижатой к ядерной оболочке, в результате чего окрашенная часть ядра приобретает форму полумесяца, остальная же часть ядра остается как бы пустой. В зиготенных сперматозоиде конъюгация гомологичных хромосом приводит к образованию бивалентов, количество которых равно гаплоидному числу хромосом. Биваленты по толщине превосходят лептотенные хромосомы.

Сперматозоиды в конце зиготенной фазы постепенно смещаются во второй ряд семенного эпителия и превращаются в пахитенные сперматозоиды. Сперматозоиды на стадии пахитены отличаются наибольшими ядрами.

Профаза мейоза завершается диплотенной стадией, которая переходит в стадию диакинеза. Оболочка ядра исчезает и наступает первое мейотическое деление, в результате которого образуются вторичные сперматозоиды.

После короткой интерфазы в результате второго мейотического деления вторичных сперматоцитов образуются сперматиды, которые далее претерпевают спермиогенез.

Спермиогенез у баранов включает четыре фазы: 1 — фазу Гольджи; 2 — фазу колпачка; 3 — фазу акросомы; 4 — фазу созревания.

Первые три этапа спермиогенеза (1—3) составляют первую фазу спермиогенеза — фазу Гольджи. В течение фазы Гольджи (рис. 1, 2) отмечается гипертрофия комплекса Гольджи, формирование проакросомального пузырька и накопление ШИК-положительного материала в виде крупной акросомальной гранулы.

Следующие четыре этапа спермиогенеза (4—7) составляют фазу колпачка. На четвертом этапе акросомический пузырек располагается на поверхности оболочки ядра в виде колпачка. Акросомальная гранула увеличивается в объеме и располагается на внутренней поверхности пузырька, прилегающей к ядерной оболочке.

На пятом этапе спермиогенеза акросомальная гранула утрачивает округлую форму и расплывается на поверхности ядра.

На шестом этапе (рис. 1, 3, 4) спермиогенеза акросомическая структура покрывает более одной трети поверхности ядра. В центре акросомальной структуры располагается ШИК-положительная гранула.

На седьмом этапе акросомальная структура покрывает половину поверхности ядра. Ядро приобретает овальную форму и вместе с акросомальной структурой смещается к переднему полюсу клетки. Передняя поверхность колпачка сближается с оболочкой клетки.

Последующие четыре этапа спермиогенеза (8—11) составляют фазу акросомы. На восьмом этапе спермиогенеза акросомальная структура, контактируя с оболочкой клетки, формирует передний контур сперматиды.

На девятом этапе спермиогенеза ядро сперматиды уменьшается и приобретает удлиненную форму. Акросомальная структура покрывает почти две трети поверхности ядра.

На десятом этапе (рис. 1, 5, 6) спермиогенеза ядро сперматиды еще более удлиняется, цитоплазма вытягивается в каудальном направлении. Акросомальная структура также удлиняется и приобретает форму конуса.

На одиннадцатом этапе спермиогенеза акросомальная структура удлиняется и формируется акросомический конус с острым концом. Сперматиды

группами располагаются в цитоплазме клеток Сертоли и апикальной частью обращены в сторону базальной мембраны канальцев.

С двенадцатого этапа спермиогенеза начинается фаза созревания, которая включает последние 6 этапов спермиогенеза (12—17). На 12-м этапе спермиогенеза (рис. 1, 7, 8) отмечается уменьшение ядра сперматиды и увеличение акросомической части. Головка приобретает форму удлиненного конуса, большую часть которого занимает акросома.

На тринадцатом этапе спермиогенеза акросоматические структуры сперматид продвигаются к ядрам клеток Сертоли.

На четырнадцатом этапе спермиогенеза является удлиненный акросомический отросток, который на конце несколько утолщен и максимально приближен к ядру клетки Сертоли.

На пятнадцатом этапе происходит инволюция акросомического выроста и конуса. Сперматиды перемещаются ближе к центру канальцев.

На шестнадцатом этапе (рис. 1, 9, 10) уменьшается головка сперматид, хорошо выражена хвостовая часть.

На семнадцатом этапе сперматозоиды располагаются на поверхности сперматогенного пласта клеток и перемещаются в канал придатка семенника.

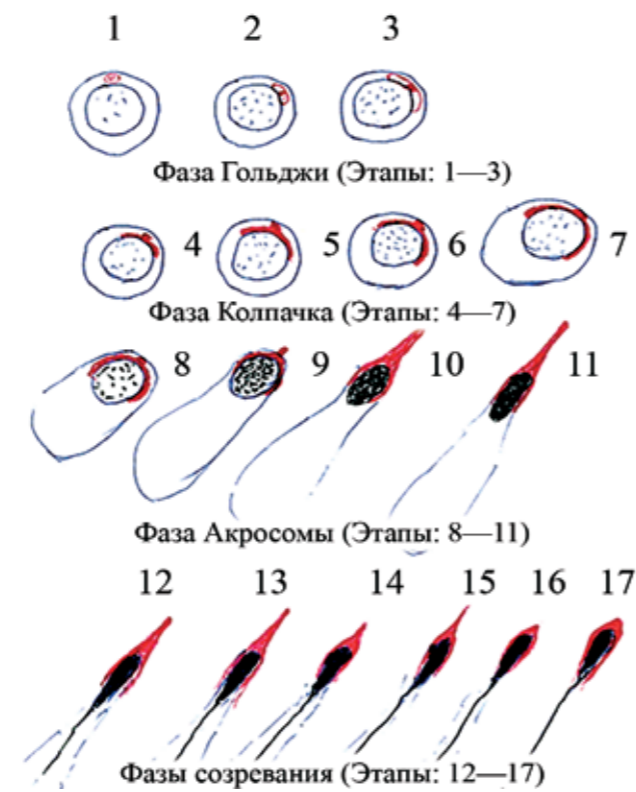


Рис. 1. Схема спермиогенеза у баранов

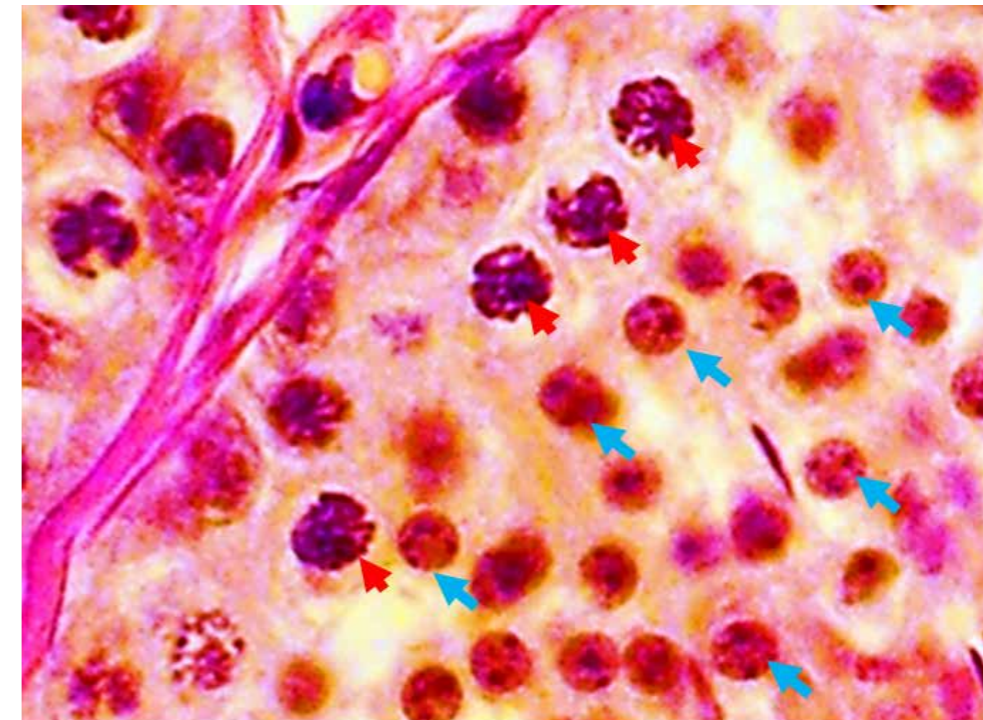


Рис. 2. Фрагмент семенного канальца. Хорошо выражена базальная мембрана светло розового цвета, во втором ряду расположены первичные пахитенные сперматоциты (красные стрелки). Ближе к центру канальца видны молодые сперматиды первого этапа спермиогенеза (голубые стрелки). Окраска трихром-ШИК. Фиксация: жидкость Штыве. Ув. об. 60, ок. 10

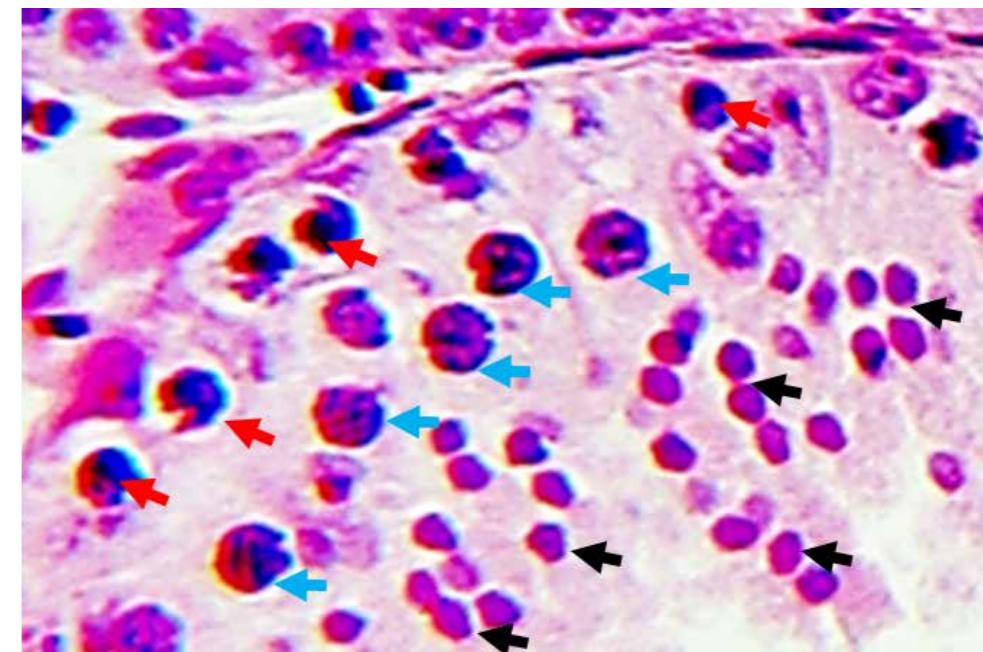


Рис. 3. Фрагмент семенного канальца. Вверху расположена базальная мембрана, на которой видны зиготенные первичные сперматоциты (красные стрелки). Во втором ряду выявлены крупные пахитенные сперматоциты (голубые стрелки). Ближе к центру канальца видны сперматиды 6-го этапа спермиогенеза (черные стрелки). Окраска: ШИК-реакция, докраска гематоксилином. Фиксация: жидкость Штыве. Ув. об. 60, ок. 10

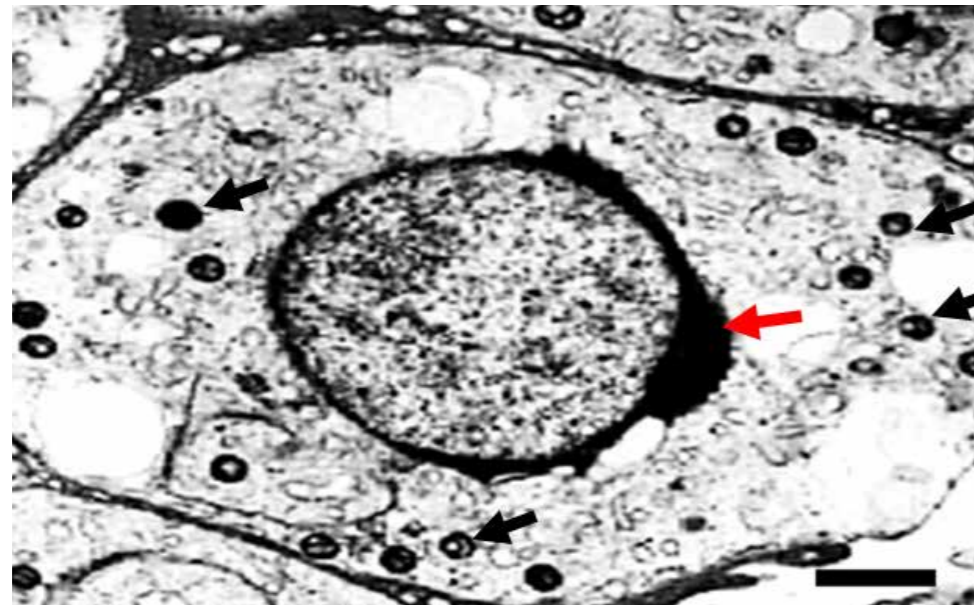


Рис. 4. Электронная микроскопия, сперматиды 6-го этапа спермиогенеза. В центре расположено ядро, с правой стороны к ядру прилегает акросомическая структура в виде колпачка (красная стрелка). Центральная часть акросомической структуры утолщена, содержит акросомическую гранулу. В цитоплазме видны электронно-плотные овальные митохондрии (черные стрелки). Ув. 8000. Масштабный отрезок (внизу справа) — 1 мкм

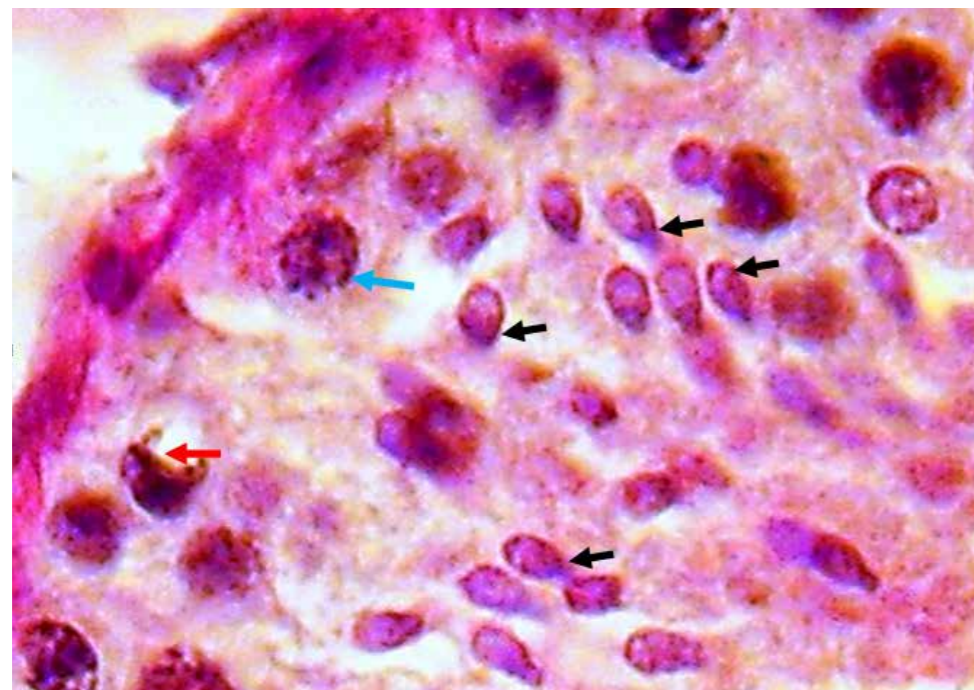


Рис. 5. Фрагмент семенного канальца. Вверху слева видна базальная мембрана. В первом ряду расположены зиготенный (красная стрелка) и лептотенный сперматоцит (голубая стрелка). Ближе к центру семенного канальца выявлены удлиненные сперматиды (черные стрелки) десятого этапа спермиогенеза. Одни клетки обращены акросомической структурой к базальной мембране, другие — к центру канальца. Окраска: ШИК-реакция, докраска гематоксилином. Фиксация: жидкость Штиве. Ув. об. 60, ок. 10

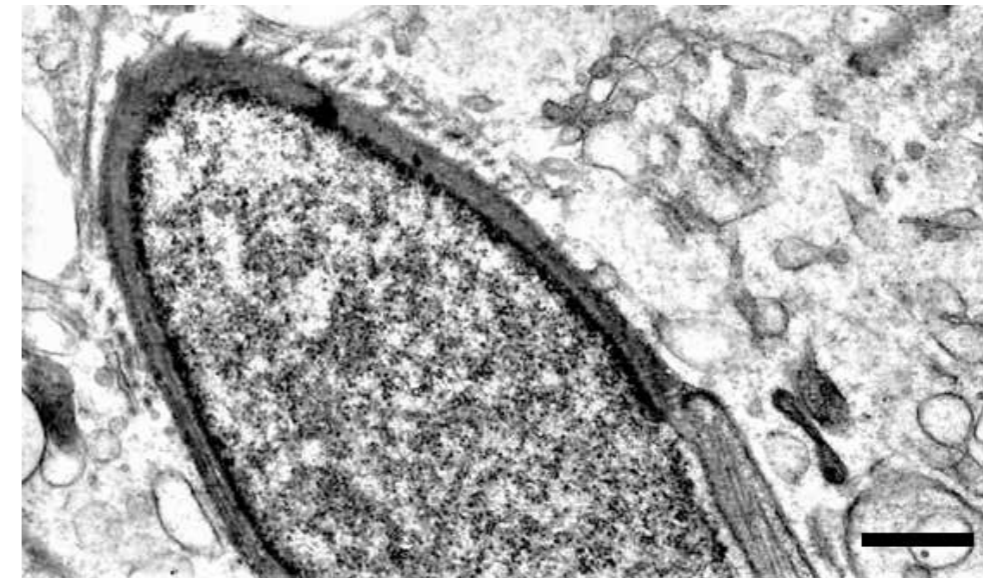


Рис. 6. Электронная микроскопия сперматиды 10-го этапа спермиогенеза. Ядра становятся удлиненными. Акросомическая структура покрывает больше половины поверхности ядра. Отмечается уплотнение (конденсация) хроматина ядра. Цитоплазма сползает в каудальную часть клетки Ув. 10 000. Масштабный отрезок (внизу справа) — 1 мкм

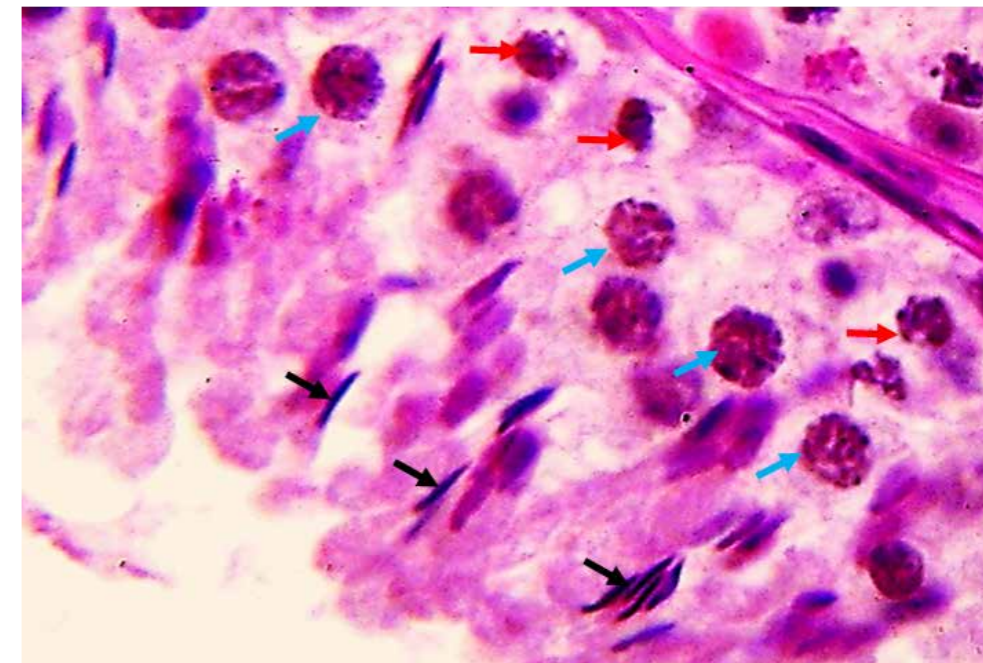


Рис. 7. Фрагмент семенного канальца. Вверху справа расположена базальная мембрана, на которой видны зиготенные первичные сперматоциты (красные стрелки). Во втором ряду расположены первичные пахитенные сперматоциты (голубые стрелки). Ближе к центру канальца выявлены удлиненные сперматиды двенадцатого этапа спермиогенеза (черные стрелки). Все сперматиды акросомической структурой обращены к базальной мембране. Окраска: ШИК-реакция, докраска гематоксилином. Фиксация: жидкость Штиве. Ув. об.60, ок. 10

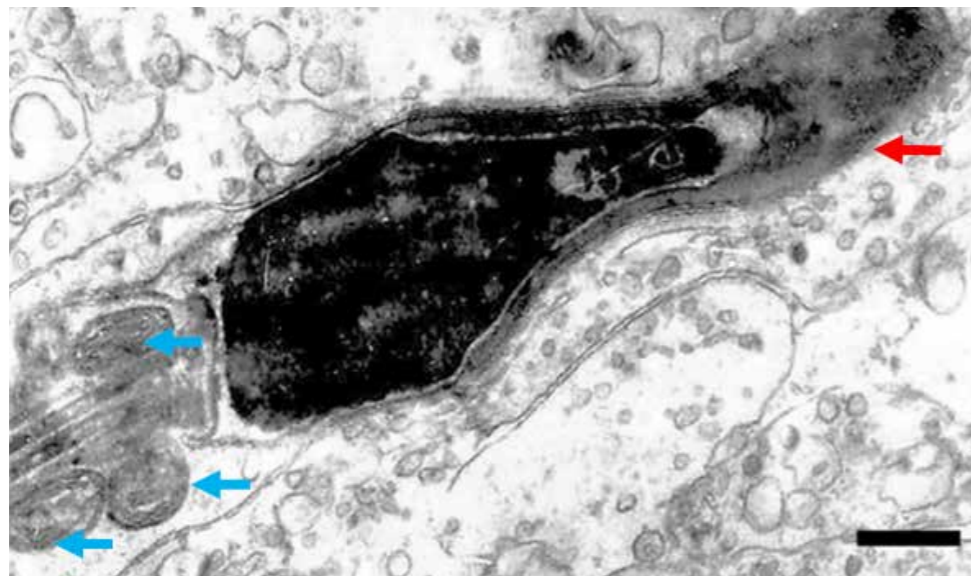


Рис. 8. Электронная микроскопия, сперматиды 12-го этапа спермиогенеза (фаза созревания). Ядро темное, удлинненное. Акросомическая структура располагается впереди ядра (красная стрелка). Отмечается выраженная конденсация хроматина ядра. В связующем отделе видны митохондрии (голубые стрелки). Ув. 10 000. Масштабный отрезок (внизу справа) — 1 мкм

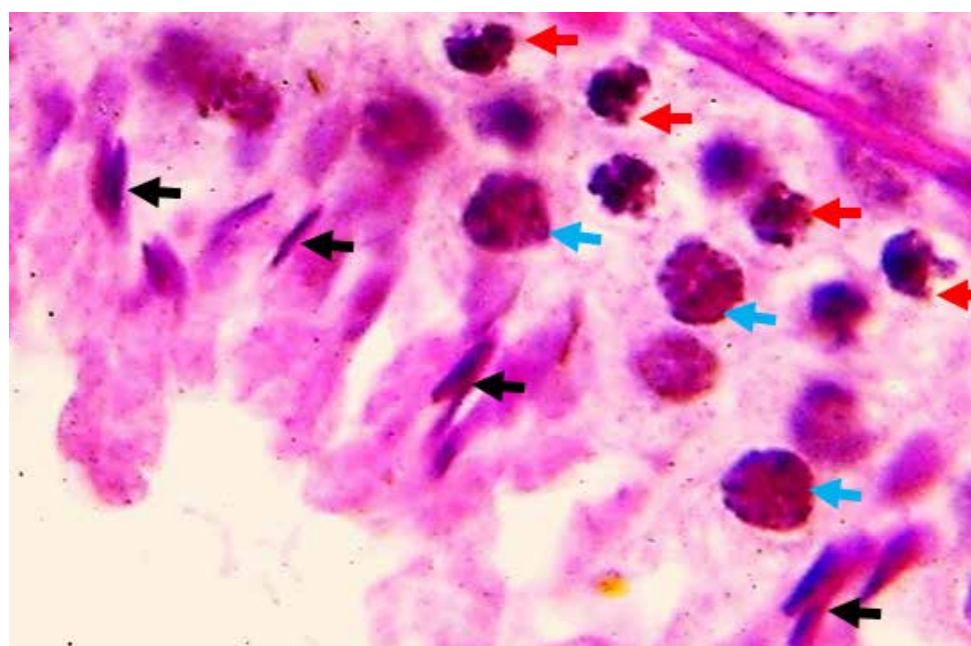


Рис. 9. Фрагмент семенного канальца. Вверху справа расположена базальная мембрана, на которой видны зиготенные (красные стрелки) первичные сперматоциты. Во втором ряду расположены крупные клетки первичные пахитенные сперматоциты (голубые стрелки). Ближе к центру канальца выявлены сперматиды шестнадцатого этапа спермиогенеза (черные стрелки). Окраска: ШИК-реакция, докраска гематоксилином. Фиксация: жидкость Штыве. Ув. об. 60, ок. 10

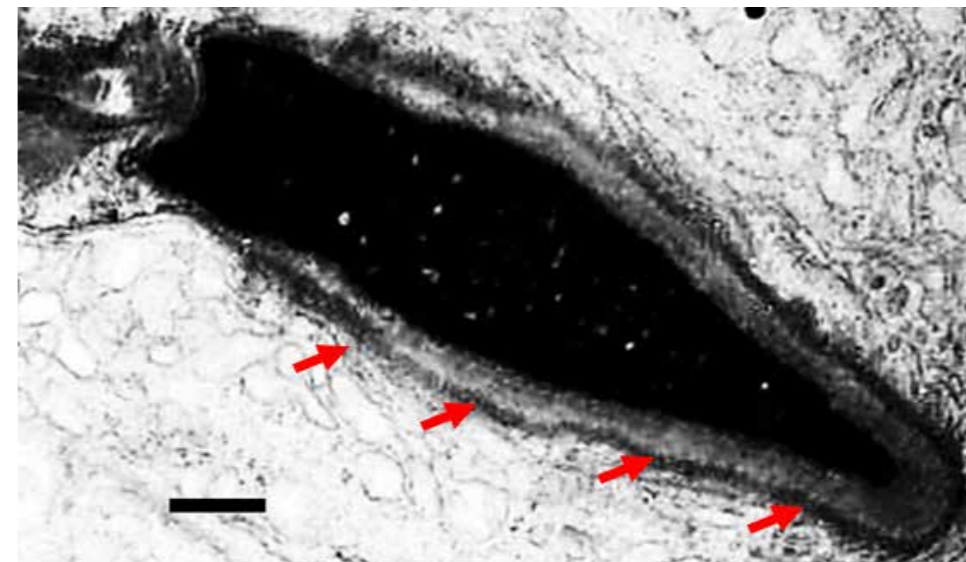


Рис. 10. Электронная микроскопия, сперматиды 16-го этапа спермиогенеза (фаза созревания). Ядро темное, удлинненное. Акросома (красные стрелки) располагается впереди ядра. Ув. 10 000. Масштабный отрезок (внизу слева) — 1 мкм

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Спермиогенез у баранов характеризуется развитием хорошо выраженной акросомической структуры, форма которой является критерием определения этапов спермиогенеза. Количество этапов спермиогенеза связано с особенностями цикла сперматогенного эпителия.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. *Clermont Y.* Duration of the cycle of the seminiferous epithelium and the spermatogonial renewal in the monkey *Macaca arctoides* / Y. Clermont, M. Antar // *Amer. J. Anat.* 1973. V.136. N2. P. 153—165.
2. *Clermont Y.* Reexamination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted «in toto» / Y. Clermont, E. Bustos-Obregon // *Amer. J. Anat.* 1968. V.122. P. 237—248.
3. *Leblond C.* Definition of the stages of the cycle the seminiferous epithelium in the rat / C. Leblond, Y. Clermont // *Ann. NJ Acad. sci.* 1952. V.55. N4. P. 548—573.
4. *Leblond C.* Spermatogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the periodic acid-fuchsin sulfuric acid technique / C. Leblond, Y. Clermont // *Amer. J. Anat.* 1952. V.90. N2. P. 167—206.
5. *Oakberg E. A.* Description of spermatogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of the seminiferous epithelium and germ cell renewal / E. A. Oakberg // *Amer. J. Anat.* 1956. V.99. N3. P. 391—413.
6. *Сурикова К. К.* Цитохимическое изучение цикла семенного эпителия у белой мыши / К. К. Сурикова // *Докл. АН СССР.* 1957. Т. 112. N4. С. 756—759.
7. *Oud J. L., De Rooij D. G.* Spermatogenesis in the Chinese Hamster // *Anat. Rec.* 1977

8. *Clermont Y., Bustos-Obregon E.* Reexamination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted «in toto» // *Amer. J. Anat.* 1968. V.122. P. 237—248.
9. *Chowdhury A. K.* A study of germ cell morphology and duration of spermatogenic cycle in the baboon, *Papioanubis* / A. K. Chowdhury, E. Steinberger // *Anat. Rec.* 1976. V.185. P. 155—170.
10. *Бороздин Э. К.* Сперматогенез и цикл семенного эпителия у северного оленя / Э. К. Бороздин // *Арх. анат.* 19646. Т. 16. N5. С. 33—39.
11. *Orsi A. M.* Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the opossum (*Didelphis azarae*, Temminck 1825) / A. M. Orsi, A. L. Ferreira // *Acta anat.* 1978. V.100. P. 153—160.
12. *Osman D.* Histological observations on the testis of the camel with special emphasis on spermatogenesis / D. Osman, K. A. Moniem, M. D. Tingary // *Acta anat.* 1979. V. 104. P. 164—171.
13. *Иванова Т. М.* Годовая цикличность сперматогенного эпителия у речного бобра / Т. М. Иванова // *Тр. Воронежского гос. заповедника. Вып. XII. Воронежское кн. изд-во.* 1961. С. 117—138.
14. *Торгун П. М.* Цикл сперматогенного эпителия у речного бобра. Диагностика, лечение и профилактика болезней животных. / *Торгун П. М., Иванова Т. М., Болтнев А. И.* // Сб. Научных трудов факультета ветеринарной медицины, Воронежский государственный аграрный университет. Воронеж, 2004. с. 120—148.
15. *Торгун П. М.* Цикл сперматогенного эпителия у калана / П. М. Торгун, Н. А. Горшкова // *Морфология* 2010. Т. 137. № 4. с.191.
16. *Торгун П. М.* Цикл сперматогенного эпителия у норки / П. М. Торгун, Т. М. Иванова, О. В. Циряниди,

Т. Б. Алтунашвили // Научн. конф. Воронежск. аграрно-го универ. им К. Д. Глинки. 1997. Ч. 2. С. 109—118.

17. Лободин К. А. Цитологические исследования сперматид на различных этапах спермиогенеза у половозрелых быков симментальской породы / К. А. Лобо-

дин, Н. М. Лозовой, И. А. Ульянов, А. В. Ульянова, Е. Г. Лозовая, П. М. Торгун // В сб.: Сборник трудов Всероссийской (национальной) научно-практической конференции «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина». Москва, 2023. С. 109—111.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

А. Г. Ульянов — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры частной зоотехнии;

В. И. Котарев — доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник лаборатории гематологии и биохимии отдела клинико-лабораторных исследований;

И. А. Ульянов — аспирант 2 курса;

П. М. Торгун — доктор ветеринарных наук, профессор кафедры акушерства, анатомии и хирургии.

Статья поступила в редакцию 28.10.2025.

Original article

UDC 619:616—076:636.3

ELECTRON MICROSCOPIC AND MICROSCOPIC STUDIES OF SPERMATIDS AT VARIOUS STAGES OF SPERMIOGENESIS

Andrey Grigoryevich Ulyanov*, **Vyacheslav Ivanovich Kotarev****,
Ignatyi Andreevich Ulyanov***, **Petr Makarovich Torgun***

*Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, Voronezh, Russia, agu16@mail.ru

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

***Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko, Voronezh, Russia

Abstract. Spermiogenesis in rams includes four phases: 1 — Golgi phase; 2 — cap phase; 3 — acrosome phase; 4 — maturation phase. The Golgi phase includes the first three stages of spermiogenesis (1—3). In the cytoplasm of young spermatids, with the help of the Golgi complex, a proacrosomal vesicle is formed, in which PAS-positive material accumulates in the form of a large acrosomal granule. The next four stages of spermiogenesis (4—7) make up the cap phase. The acrosomal vesicle is located on the surface of the nuclear membrane in the form of a cap, covering its one-third. By the end of the cap phase, the acrosomal structure covers half of the nuclear surface. The nucleus acquires an oval shape and shifts to the anterior pole of the cell. During the acrosome phase (stages 8—11 of spermiogenesis), the acrosomal structure elongates, and an acrosomal cone with a sharp end is formed. During the final phase of maturation (stages 12—17), spermatids with an elongated acrosome approach the nucleus of Sertoli cells. Sertoli cells hypertrophy themselves, become perpendicular to the basement membrane and migrate toward the center of the seminiferous tubule. By the end of the maturation phase, the acrosomal cone disappears, and the spermatids transform into spermatozoa, which migrate into the epididymis.

Keywords: stages of spermiogenesis, phases: Golgi, cap, acrosomes, maturation

Studying spermatogenesis in various animals using light and electron microscopy allows to elucidate the complex processes of spermatogenic cell differentiation, as well as the functional characteristics of Leydig and Sertoli cells.

Currently, approximately 30 different types of spermatogenic cells can be identified in the testis of an adult animal, but no more than five cell types can be seen in a single cross-section of the convoluted seminiferous tubule. The number of cell associations of five cells may vary among different animal species, but the composition of each cell association is always constant for a given animal species.

Spermatogenic cells in each section of the convoluted tubule are constantly replacing one group of spermatogenic cells with another. The number of cell combinations found in the testis of a given animal species is limited and constant. One group of spermatogenic cells corresponds to one stage of the spermatogenic epithelial cycle, and the complete set of specific cell combinations represents the spermatogenic epithelial cycle.

The complete series of morphological changes that can be observed in one section of the seminifer-

ous tubule between the appearance of identical combinations of spermatogenic epithelial cells constitutes the spermatogenic epithelial cycle [1—4]. The existence of specific combinations of spermatogenic cells in the convoluted seminiferous tubules of the testis and the replacement of one combination with another were discovered as early as the late 19th century. However, a complete description of all cell combinations and the precise sequence of their replacement was not completed until the 1950s. In 1952, Leblond and Clermont [1—4] first described the spermatogenic epithelial cycle for a number of rodents, but the spermatogenic epithelial cycle has been studied in most detail in rats.

The use of the method proposed by Leblond and Clermont for studying the spermatogenic epithelial cycle made it possible to describe spermiogenesis in many mammals: mice [5, 6], hamsters [7], guinea pigs [8], Papio Anubis monkeys [9], reindeer [10], opossums [11], camels [12], European beavers [13,14], sea otters [15], minks [16] and bulls [17].

Differentiation of the morphological stages of the spermatogenic epithelium is necessary for a more in-depth analysis of the histogenetic processes occurring

in the seminiferous tubule, for elucidating the quantitative patterns of the spermatogenic process, and for standardizing material under experimental conditions and in the presence of pathological changes. The study of spermatogenesis in mammals must be conducted taking into account the stages of the spermatogenic epithelial cycle (SEC). Unfortunately, in the domestic literature only a few authors study spermatogenesis using the SEC stages [13—17].

This report objective is to study the various stages of spermiogenesis in mature rams.

Based on analysis of acrosomal structure, we identified 17 stages of spermatid development, the first 12 of which were used to identify 12 stages of the spermatogenic epithelial cycle in rams.

MATERIAL AND METHODS

The samples from 30 Russian Longwool rams aged 2—3 years were used. Testicular fragments were fixed in Stieve's solution. Paraffin sections were stained with hematoxylin and eosin and Heidenhain's azan. The Schick test and Trichrome-PAS staining were used.

For electron microscopy, testicular specimens were fixed in a 2.5 % glutaraldehyde and a 1 % osmium fixative. The sections were prepared on BS-490 and LKB-4800 ultramicrotomes. The sections were contrasted with uranyl acetate and lead citrate and examined under a Tesla BS-500 electron microscope.

STUDY RESULTS

As a result of the conducted studies, the following were identified in the ram testis: type A₀ stem spermatogonia, differentiating spermatogonia A₁, A₂, A₃ and A₄; intermediate spermatogonia, type B spermatogonia, primary spermatocytes at various stages of meiotic division (preleptotene, leptotene, zygotene, pachytene, diplotene, diakinesis); secondary spermatocytes and spermatids.

Sertoli cells (sustentocytes), 7 types of spermatogonia, and primary spermatocytes at the preleptotene, leptotene and zygotene stages are located on the basement membrane of the seminiferous tubule. In this work, we will not characterize spermatogonia, which are extremely difficult to identify even with the use of electron microscopy and modern markers, the specificity of which has not yet been fully studied.

This paper will focus on primary and secondary spermatocytes and spermatids at various stages of spermiogenesis. Primary spermatocytes at the preleptotene stage are smaller than type B spermatogonia. Chromatin in the nucleus of spermatocytes at the preleptotene stage is poorly defined.

Leptotene spermatocytes are characterized by the presence of thin chromosomal strands located in the center of the nucleus. In zygotene spermatocytes, chromosomes are densely packed.

They become thicker and are distinguished by their short length. Zygotene spermatocytes are characterized by the presence of a distinct chromatin "bouquet" figure.

This figure is pressed against the nuclear membrane, resulting in the stained portion of the nucleus taking on a crescent shape, while the rest of the nucleus remains empty. In zygotene spermatocytes, conjugation of homologous chromosomes results in the formation of bivalents, the number of which is equal to the haploid number of chromosomes. Bivalents are thicker than leptotene chromosomes.

At the end of the zygotene phase, spermatocytes gradually migrate to the second row of the seminiferous epithelium and become pachytene spermatocytes. Spermatocytes at the pachytene stage have the largest nuclei.

Meiotic prophase ends with the diplotene stage, which transitions into diakinesis. The nuclear membrane disappears, and the first meiotic division occurs, resulting in the formation of secondary spermatocytes.

After a short interphase, the second meiotic division of secondary spermatocytes produces spermatids, which then undergo spermiogenesis.

Spermiogenesis in rams consists of four phases: 1 — Golgi phase; 2 — cap phase; 3 — acrosome phase; 4 — maturation phase.

The first three stages of spermiogenesis (1—3) comprise the first phase of spermiogenesis — the Golgi phase. During the Golgi phase (Fig. 1, 2), hypertrophy of the Golgi complex, formation of the proacrosomal vesicle and accumulation of PAS-positive material in the form of a large acrosomal granule are observed.

The next four stages of spermiogenesis (4—7) comprise the cap phase. At the fourth stage, the acrosomal vesicle is positioned on the surface of the nuclear membrane as a cap. The acrosomal granule increases in volume and is positioned on the inner surface of the vesicle, adjacent to the nuclear membrane.

At the fifth stage of spermiogenesis, the acrosomal granule loses its rounded shape and flattens out on the surface of the nucleus.

At the sixth stage (Fig. 1, 3, 4) of spermiogenesis, the acrosomal structure covers more than one-third of the nuclear surface. A PAS-positive granule is located in the center of the acrosomal structure.

At the seventh stage, the acrosomal structure covers half the surface of the nucleus. The nucleus takes on

an oval shape and, together with the acrosomal structure, shifts toward the anterior pole of the cell. The anterior surface of the cap approaches the cell membrane.

The subsequent four stages of spermiogenesis (8—11) comprise the acrosomal phase. At the eighth stage of spermiogenesis, the acrosomal structure, in contact with the cell membrane, forms the anterior contour of the spermatid.

At the ninth stage of spermiogenesis, the spermatid nucleus shrinks and becomes elongated. The acrosomal structure covers almost two-thirds of the nuclear surface.

At the tenth stage (Fig. 1, 5, 6) of spermiogenesis, the spermatid nucleus elongates further, and the cytoplasm extends caudally. The acrosomal structure also elongates and becomes cone-shaped.

At the eleventh stage of spermiogenesis, the acrosomal structure elongates, forming an acrosomal cone with a pointed end. Spermatids are arranged in groups in the cytoplasm of Sertoli cells, with their apical portion facing the tubular basement membrane.

From the twelfth stage of spermiogenesis, the maturation phase begins, which includes the last six stages of spermiogenesis (12—17). At the twelfth stage of spermiogenesis (Fig. 1, 7, 8), the spermatid nucleus shrinks and the acrosomal portion enlarges. The head takes on the shape of an elongated cone, most of which is occupied by the acrosome.

At the thirteenth stage of spermiogenesis, the acrosomal structures of the spermatids move toward the Sertoli cell nuclei.

At the fourteenth stage of spermiogenesis, an elongated acrosomal process is revealed, somewhat thickened at the end and positioned as close as possible to the Sertoli cell nucleus.

At the fifteenth stage, the acrosomal process and conus involution occur. The spermatids move closer to the center of the tubules.

At the sixteenth stage (Fig. 1, 9, 10), the spermatid head decreases in size, and the tail is clearly defined.

At the seventeenth stage, spermatozoa are located on the surface of the spermatogenic layer of cells and migrate into the epididymal canal.

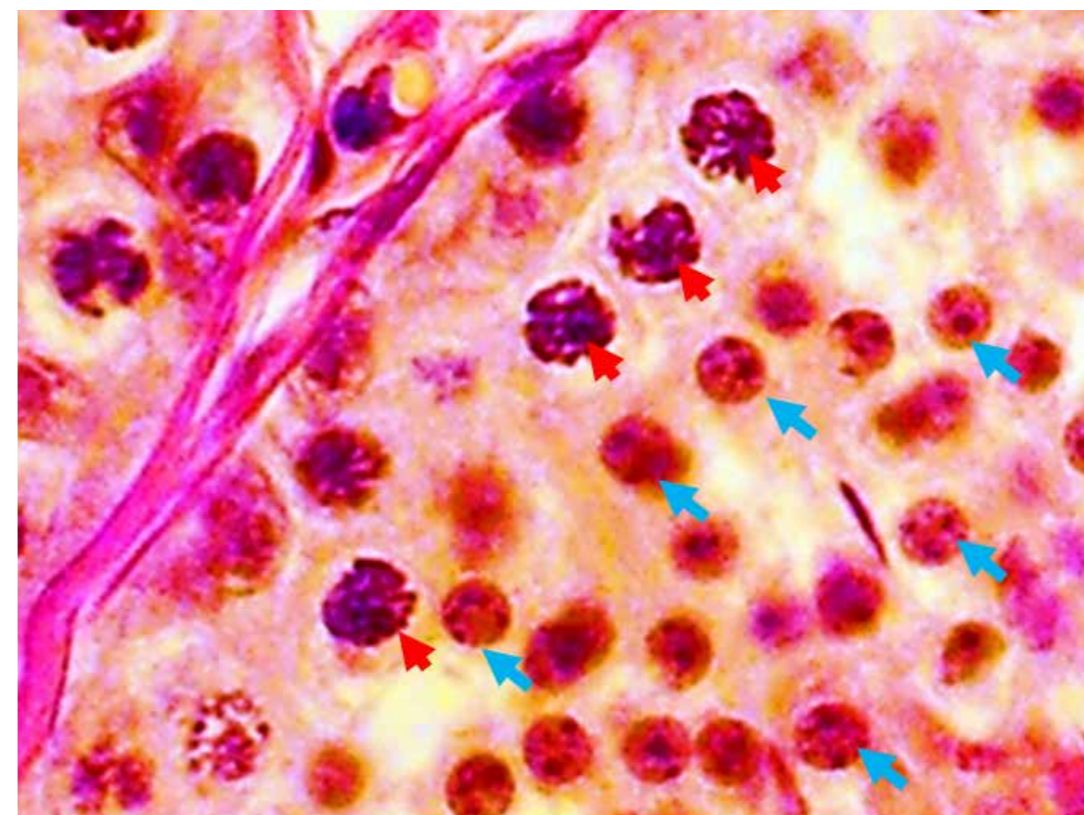


Fig. 2. Fragment of a seminiferous tubule. The light pink basement membrane is clearly visible; primary pachytene spermatocytes (red arrows) are located in the second row. Young spermatids of the first stage of spermiogenesis are visible closer to the center of the tubule (blue arrows). Stained with Trichrome-PAS. Fixation: Stieve's solution. Mag. 60x, ap. 10

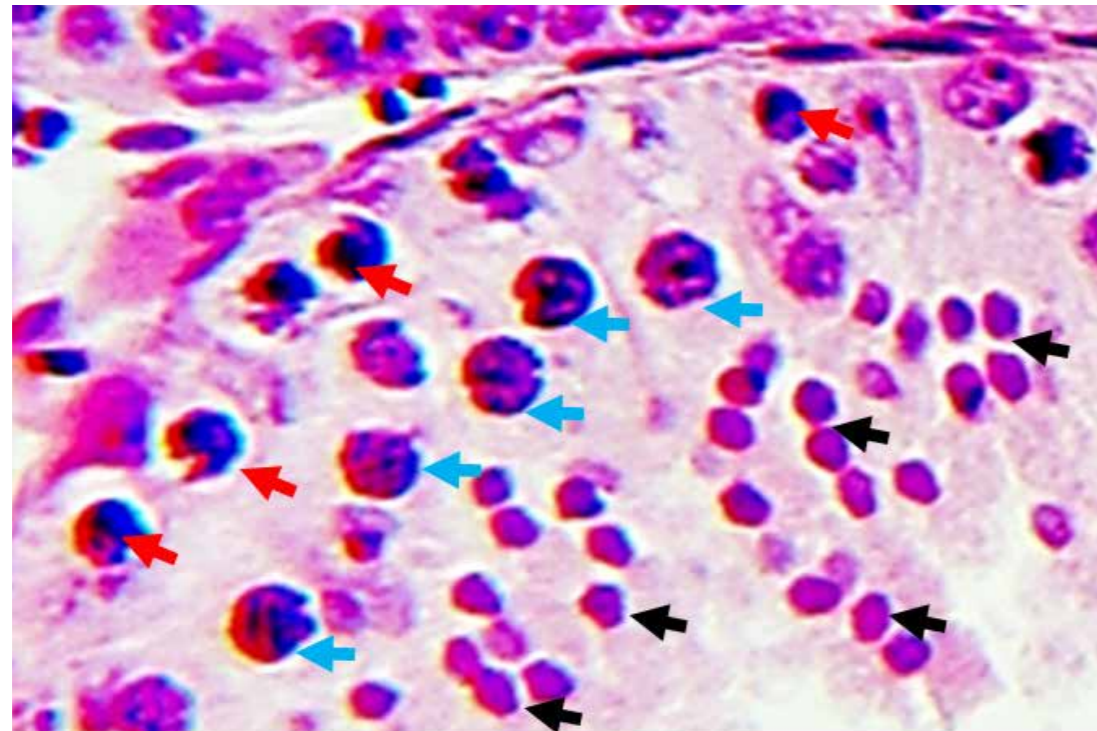


Fig. 3. Fragment of a seminiferous tubule. The basement membrane is located at the top, on which zygote primary spermatocytes are visible (red arrows). Large pachytene spermatocytes (blue arrows) are revealed in the second row. Spermatids of the sixth stage of spermiogenesis are visible closer to the center of the tubule (black arrows). Staining: PAS reaction, counterstaining with hematoxylin. Fixation: Stieve's solution. Mag. 60x, ap. 10

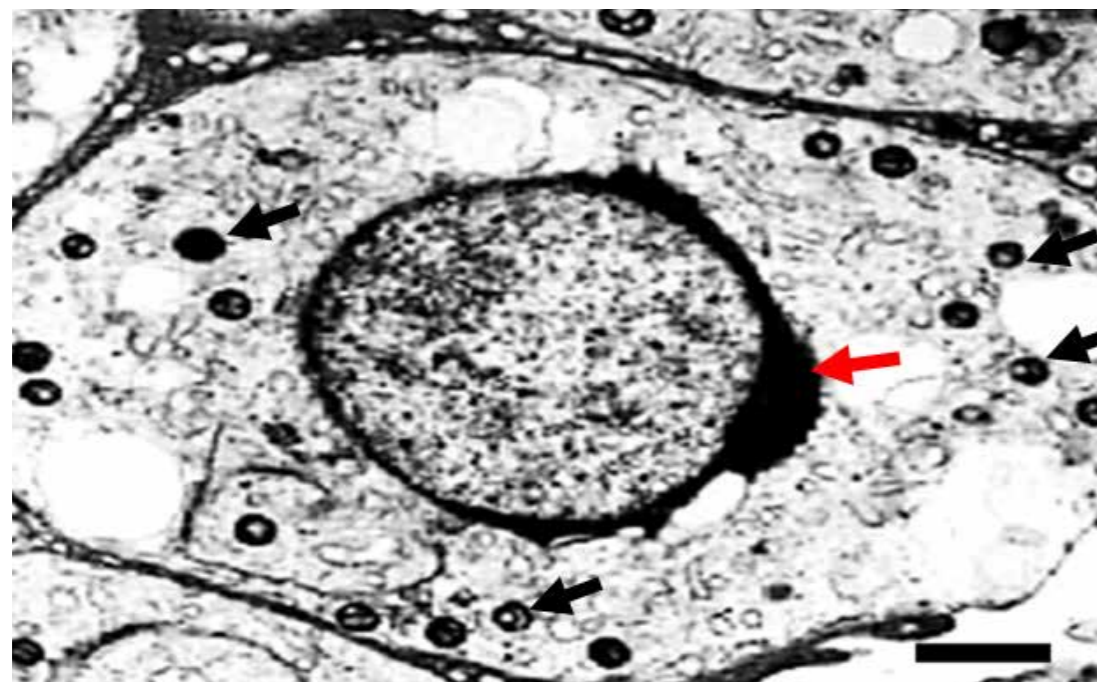


Fig. 4. Electron microscopy of spermatids at stage 6 of spermiogenesis. The nucleus is located in the center, and an acrosomal cap-shaped structure (red arrow) is adjacent to the nucleus on the right side. The central part of the acrosomal structure is thickened and contains an acrosomal granule. Electron-dense oval mitochondria (black arrows) are visible in the cytoplasm. Mag. 8000. Scale bar (bottom right) is 1 μ m

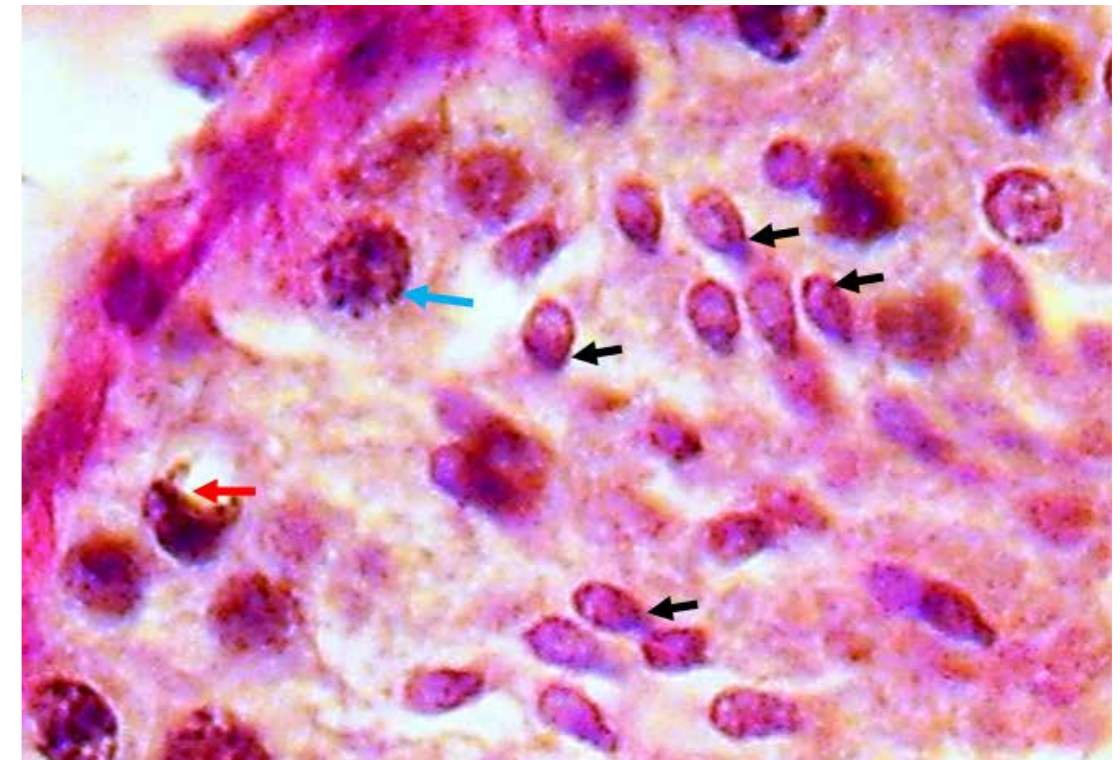


Fig. 5. Fragment of a seminiferous tubule. The basement membrane is visible at the top left. The first row contains a zygotene (red arrow) and leptotene spermatocyte (blue arrow). Closer to the center of the seminiferous tubule, elongated spermatids (black arrows) of the tenth stage of spermiogenesis are revealed. Some cells face the acrosomal structure toward the basement membrane, others — toward the center of the tubule. Staining: PAS reaction, counterstaining with hematoxylin. Fixation: Stieve's solution. Mag. 60, ap. 10

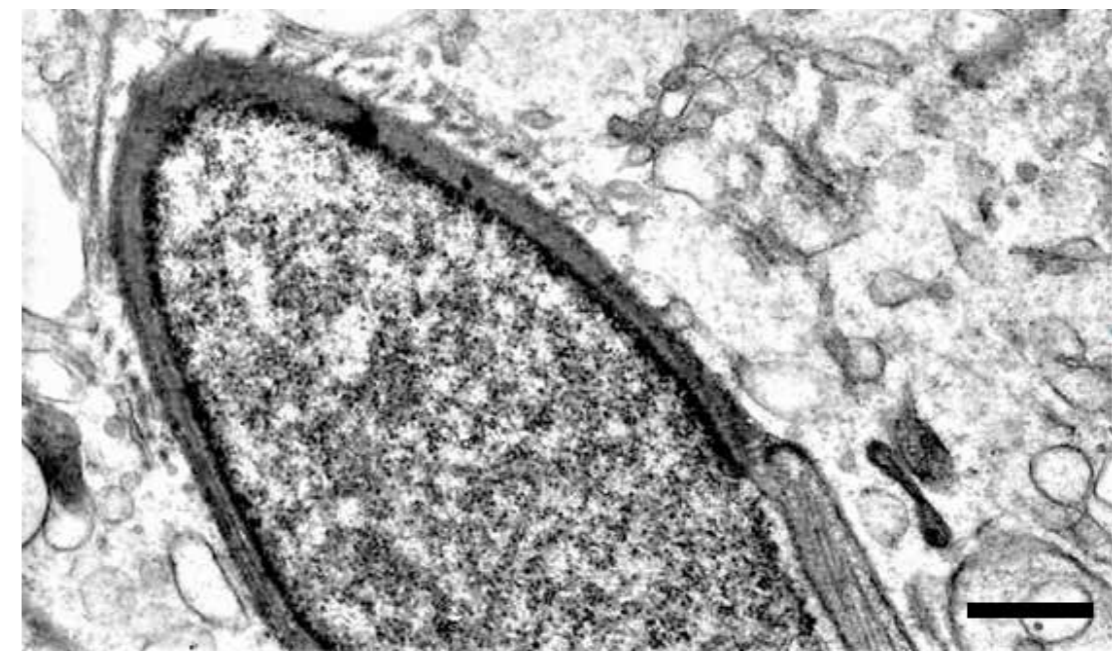


Fig. 6. Electron microscopy of a spermatid at stage 10 of spermiogenesis. The nuclei become elongated. The acrosomal structure covers more than half of the nuclear surface. Condensation of the nuclear chromatin is visible. The cytoplasm shifts toward the caudal part of the cell. Mag. 10 000. Scale bar (bottom right) is 1 μ m

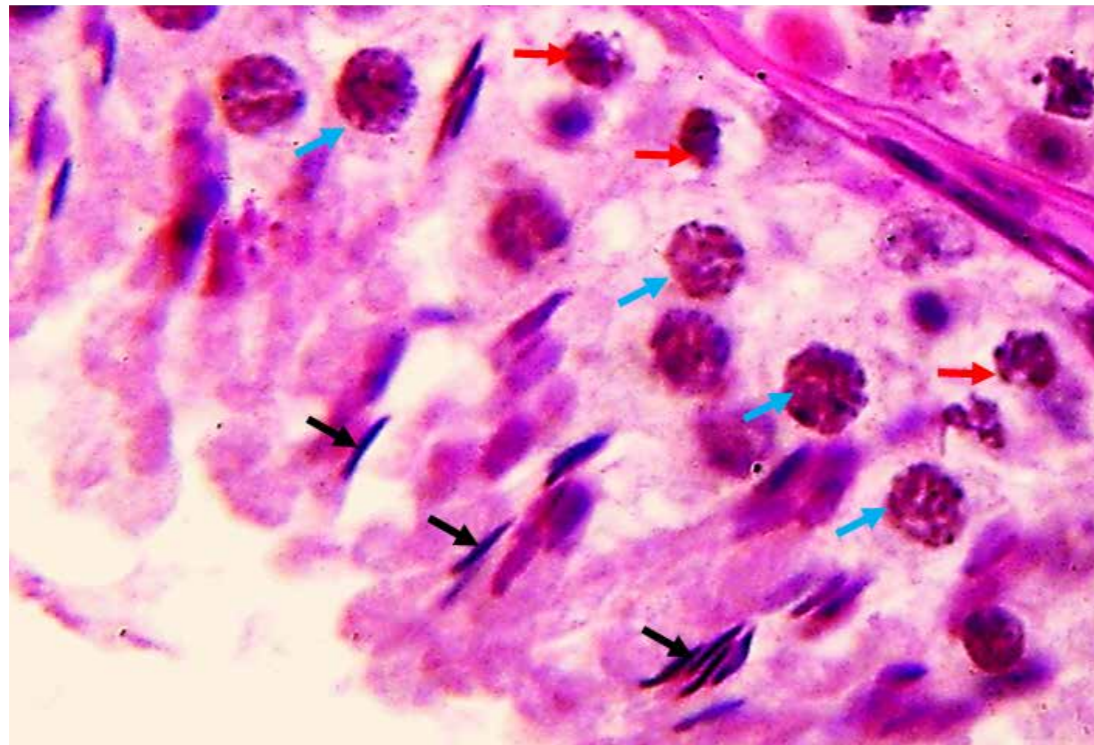


Fig. 7. Fragment of a seminiferous tubule. At the top right is the basement membrane, on which zygotene primary spermatocytes are visible (red arrows). In the second row are primary pachytene spermatocytes (blue arrows). Closer to the center of the tubule, elongated spermatids of the twelfth stage of spermiogenesis are revealed (black arrows). All spermatids with their acrosomal structure face the basement membrane. Staining: PAS reaction, counterstaining with hematoxylin. Fixation: Stieve's solution. Mag. 60, ap. 10

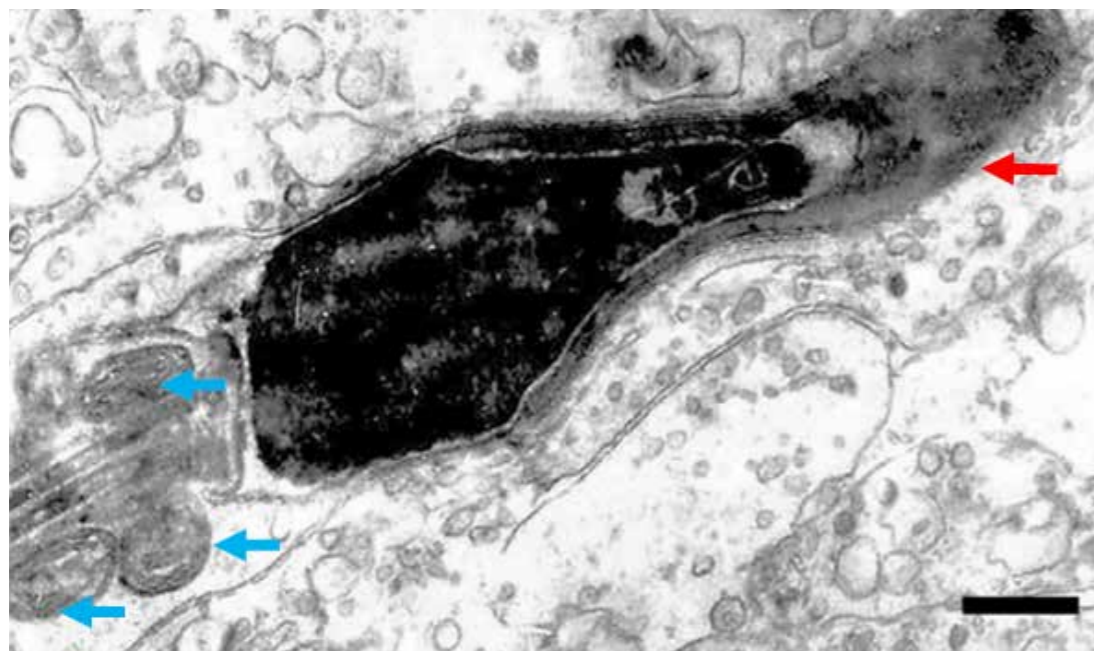


Fig. 8. Electron microscopy of spermatids at stage 12 of spermiogenesis (maturation phase). The nucleus is dark and elongated. The acrosomal structure is located anterior to the nucleus (red arrow). Marked chromatin condensation is noted in the nucleus. Mitochondria are visible in the connecting region (blue arrows). Mag. 10 000. Scale bar (bottom right) is 1 μ m

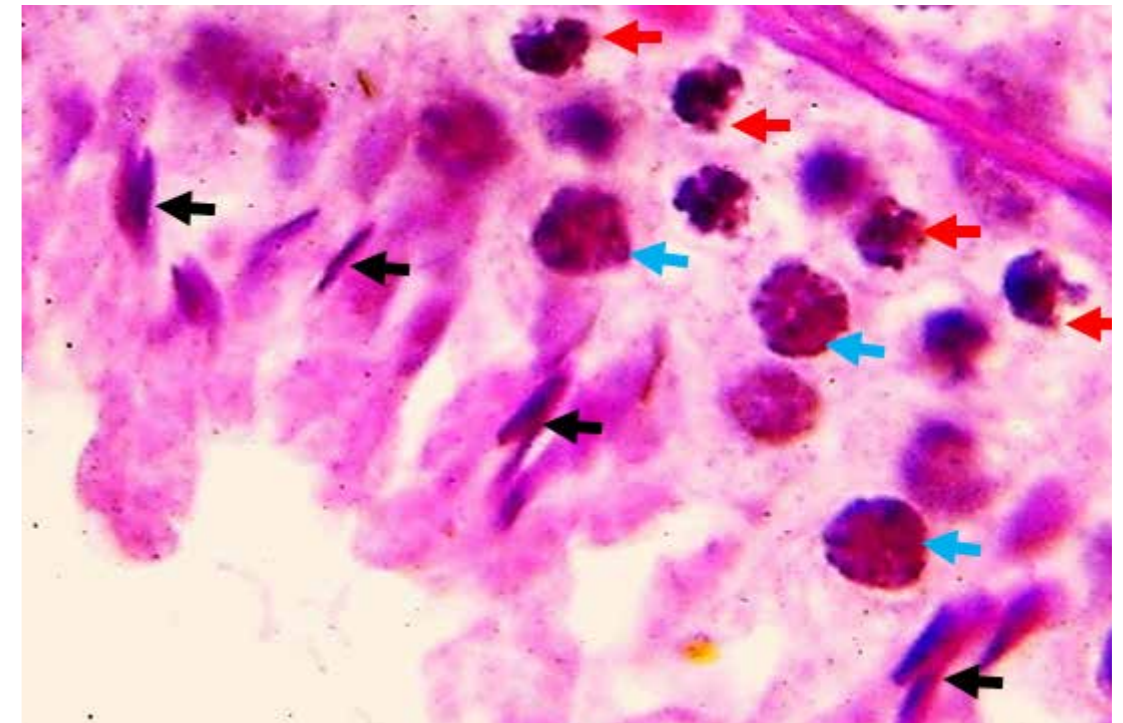


Fig. 9. Fragment of a seminiferous tubule. At the top right is the basement membrane, on which zygotene primary spermatocytes (red arrows) are visible. In the second row are large cells, primary pachytene spermatocytes (blue arrows). Closer to the center of the tubule are spermatids of the sixteenth stage of spermiogenesis (black arrows). Staining: PAS reaction, counterstaining with hematoxylin. Fixation: Stieve's solution. Mag. 60, ap. 10

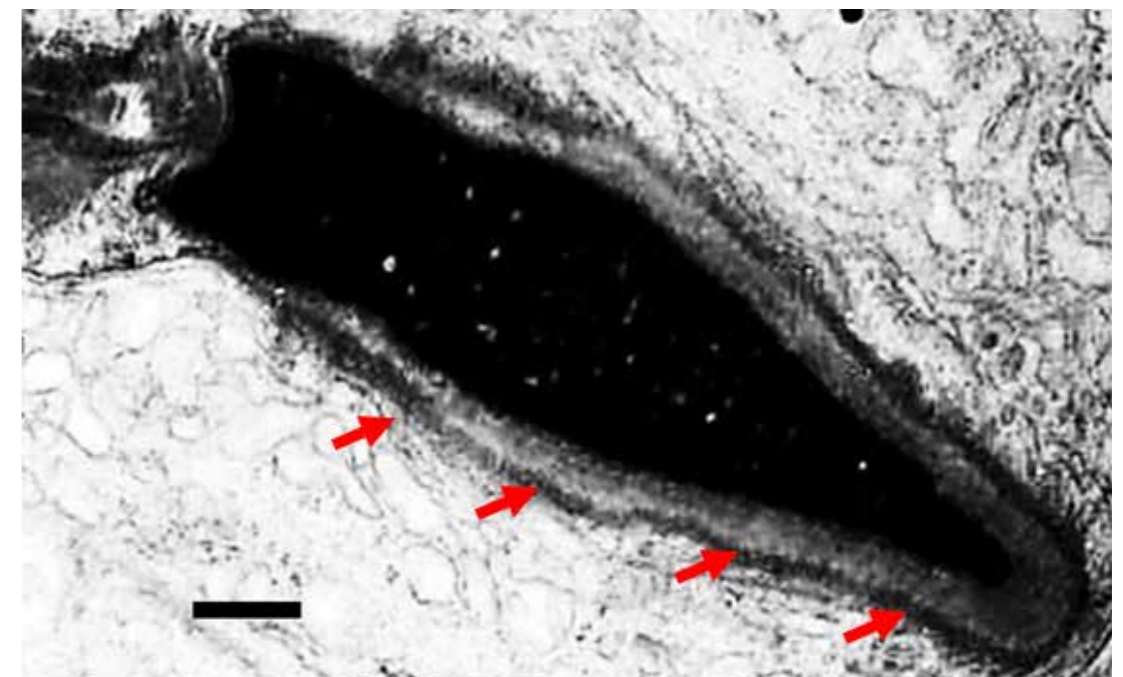


Fig. 10. Electron microscopy of spermatids at stage 16 of spermiogenesis (maturation phase). The nucleus is dark and elongated. The acrosome (red arrows) is located in front of the nucleus. Mag. 10 000. Scale bar (bottom left) is 1 μ m

CONCLUSION

Spermiogenesis in rams is characterized by the development of a well-defined acrosomal structure, the shape of which determines the stages of spermiogenesis. The number of stages of spermiogenesis is related to the characteristics of the spermatogenic epithelium cycle.

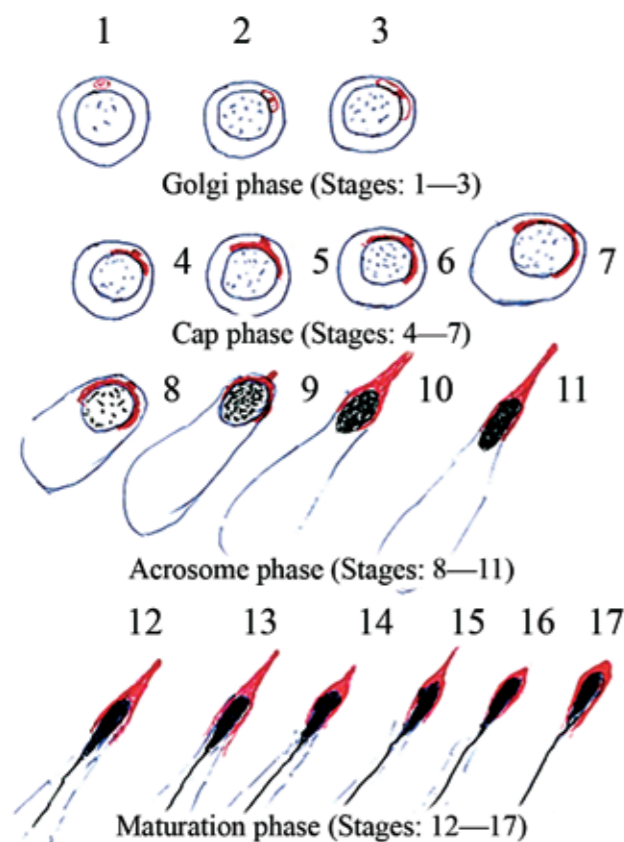


Fig. 1. Scheme of spermiogenesis in rams

REFERENCES

1. Clermont Y. Duration of the cycle of the seminiferous epithelium and the spermatogonial renewal in the monkey *Macaca arctoides* / Y. Clermont, M. Antar // *Amer. J. Anat.* 1973. V.136. N2. P. 153—165.
2. Clermont Y. Reexamination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto" / Y. Clermont, E. Bustos-Obregon // *Amer. J. Anat.* 1968. V.122. P. 237—248.
3. Leblond C. Definition the stages of the cycle the seminiferous epithelium in the rat / C. Leblond, Y. Clermont // *Ann. NJ Acad. sci.* 1952. V.55. N4. P. 548—573.
4. Leblond C. Spermatogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the periodic acid-fuchsin sulfuric acid technique / C. Leblond, Y. Clermont // *Amer. J. Anat.* 1952. V.90. N2. P. 167—206.

5. Oakberg E. A. Description of spermatogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of the seminiferous epithelium and germ cell renewal / E. A. Oakberg // *Amer. J. Anat.* 1956. V.99. N3. P. 391—413.

6. Surikova K. K. Cytochemical study of the seminiferous epithelium cycle in a white mouse / K. K. Surikova // *Reports of the USSR Academy of Sciences.* 1957. Vol. 112. No. 4. P. 756—759.

7. Oud J. L., De Rooij D. G. Spermatogenesis in the Chinese Hamster // *Anat. Rec.* 1977

8. Clermont Y., Bustos-Obregon E. Reexamination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto" // *Amer. J. Anat.* 1968. V.122. P. 237—248.

9. Chowdhury A. K. A study of germ cell morphology and duration of spermatogenic cycle in the baboon, *Papioanubis* / A. K. Chowdhury, E. Steinberger // *Anat. Rec.* 1976. V.185. P. 155—170.

10. Borozdin E. K. Spermatogenesis and the cycle of seminiferous epithelium in reindeer / E. K. Borozdin // *Arkh. anat.* 1964b. Vol. 16. N5. P. 33—39.

11. Orsi A. M. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the opossum (*Didelphis azarae*, Temminck 1825) / A. M. Orsi, A. L. Ferreira // *Acta anat.* 1978. V.100. P. 153—160.

12. Osman D. Histological observations on the testis of the camel with special emphasis on spermatogenesis / D. Osman, K. A. Moniem, M. D. Tingary // *Acta anat.* 1979. V.104. P. 164—171.

13. Ivanova T. M. Annual cyclicity of spermatogenic epithelium in the European beaver / T. M. Ivanova // *Proceedings of Voronezh State Reserve. Issue XII.* Voronezh Book Publishing House. 1961. P. 117—138.

14. Torgun P. M. Cycle of spermatogenic epithelium in the European beaver. Diagnostics, treatment and prevention of animal diseases. / Torgun P. M., Ivanova T. M., Boltnev A. I. // *Collection of research papers of the Faculty of Veterinary Medicine, Voronezh State Agrarian University.* Voronezh, 2004. P. 120—148.

15. Torgun P. M. Cycle of spermatogenic epithelium in the sea otter / P. M. Torgun, N. A. Gorshkova // *Morphology* 2010. Vol. 137. No. 4. p. 191.

16. Torgun P. M. Cycle of spermatogenic epithelium in mink / P. M. Torgun, T. M. Ivanova, O. V. Tsiryani, T. B. Altunashvili // *Scientific Conf. Voronezh Agrarian University named after K. D. Glinka.* 1997. Part 2. P. 109—118.

17. Lobodin K. A. Cytological studies of spermatids at different stages of spermiogenesis in mature Simmental bulls / K. A. Lobodin, N. M. Lozovoy, I. A. Ulyanov, A. V. Ulyanova, E. G. Lozovaya, P. M. Torgun // *In the collection of papers: Collection of works of the All-Russian Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA named after K. I. Skryabin*. Moscow, 2023. P. 109—111.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

A. G. Ulyanov — Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department of Special Zootechnics;
V. I. Kotarev — Doctor of Agricultural Sciences, Chief Scientific Associate of the Laboratory of Hematology and Biochemistry, Department of Clinical and Laboratory Studies;
I. A. Ulyanov — second-year Postgraduate Student;
P. M. Torgun — Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department of Obstetrics, Anatomy and Surgery.

The article was submitted 28.10.2025.

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 зооигиены, 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 («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».

