

ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКОВ И ВИДОСПЕЦИФИЧНОГО ИНТЕРФЕРОНА НА МИКРОБИОТУ КИШЕЧНИКА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ НА ФОНЕ ИММУНОДЕФИЦИТА

Резюме. Иммунодефицитные состояния у сельскохозяйственной птицы сопровождаются дисбиозом кишечника, снижением продуктивности и высокой восприимчивостью к инфекциям. В работе изучено влияние видоспецифичного интерферона и трех пробиотических штаммов (*Lactobacillus johnsonii*, *Pedococcus acidilactici*, *Ligilactobacillus salivarius*), на таксономический состав микробиоты кишечника цыплят-бройлеров с циклофосфамид-индуцированным иммунодефицитом. Методом ПЦР в реальном времени оценивали относительное содержание филумов *Verrucomicrobia*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, классов *Beta*, *Gamma* и *Epsilonproteobacteria*. Установлено, что все три пробиотика достоверно увеличивали долю *Bacteroidetes* и снижали содержание *Firmicutes*. Наиболее выраженный положительный эффект показал *L. salivarius*: рост *Verrucomicrobia* и *Actinobacteria*. Введение интерферона вызывало резкое увеличение *Gammaproteobacteria*, что указывает на потенциальный риск воспалительных реакций. Кормовые пробиотические добавки, особенно *L. salivarius*, эффективно корректируют микробиоту при иммунодефиците и могут рассматриваться как перспективные средства для повышения резистентности птицы.

Ключевые слова: иммунодефицит, интерферон, пробиотики, микробиота, цыплята-бройлеры, *Lactobacillus*, ПЦР-РВ, филумы бактерий.

EFFECT OF PROBIOTICS AND SPECIES-SPECIFIC INTERFERON ON THE GUT MICROBIOTA OF BROILER CHICKENS AGAINST A BACKGROUND OF IMMUNODEFICIENCY

Abstract. Immunodeficiency states in poultry are accompanied by intestinal dysbiosis, reduced productivity and high susceptibility to infections. This study examined the effect of species-specific interferon and three probiotic strains (*Lactobacillus johnsonii*, *Pedococcus acidilactici*, *Ligilactobacillus salivarius*) added to the feed on the taxonomic composition of the gut microbiota in broiler chickens with cyclophosphamide-induced immunodeficiency. Real-time PCR was used to assess the relative abundance of the phyla *Verrucomicrobia*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* and *Actinobacteria*, and of the classes *Beta*-, *Gamma*- and *Epsilonproteobacteria*. All three probiotics were found to significantly increase the proportion of *Bacteroidetes* and to reduce the abundance of *Firmicutes*. The most pronounced positive effect was shown by *L. salivarius*: an increase in *Verrucomicrobia* and *Actinobacteria*. Administration of interferon caused a sharp increase in *Gammaproteobacteria*, indicating a potential risk of inflammatory reactions. Probiotics, and *L. salivarius* in particular, effectively correct the microbiota under immunodeficiency and may be considered promising agents for enhancing the resistance of poultry.

Key words: immunodeficiency, interferon, probiotics, microbiota, broiler chickens, *Lactobacillus*, real time PCR, bacterial phyla.

УДК 619:616.34-008.87:636.5

Научная статья

DOI 10.69539/2413-287X-2026-09-4-286

ИЛЬЯ ОЛЕГОВИЧ КРУТОВ¹,

аспирант, младший научный сотрудник лаборатории инновационных препаратов рекомбинантной протеомики
ORCID: 0009-0007-5232-7186
E-mail: ilya.krutov.02@mail.ru

ЕВГЕНИЙ ВЛАДИМИРОВИЧ МИХАЙЛОВ¹,

кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом экспериментальной фармакологии и функционирования живых систем, заведующий лабораторией инновационных препаратов рекомбинантной протеомики
ORCID: 0000-0001-5457-1325
E-mail: voronezh81@rambler.ru

МИХАИЛ ЮРЬЕВИЧ СЫРОМЯТНИКОВ²,

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий
ORCID: 0000-0001-9028-0613
E-mail: mihan.vrn@mail.ru

ЕКАТЕРИНА ИГОРЕВНА ТРАПЕЗНИКОВА³,

ассистент каф. лесной генетики, биотехнологии и физиологии растений
ORCID: 0009-0003-7429-9551
E-mail: katena.trapeznikova.02@mail.ru

ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА ЗВЕРЕВА²,

старший преподаватель кафедры биохимии и биотехнологии
ORCID: 0000-0002-7051-9858
E-mail: bond.vrn15@yandex.ru

ОЛЬГА СЕРГЕЕВНА КОРНЕЕВА²,

доктор биологических наук, проректор по научной и инновационной деятельности, заведующая кафедрой биохимии и биотехнологии
ORCID: 0000-0002-2863-0771
E-mail: korneeva-olga@yandex.ru

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии»

394087, Россия, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 1146

²ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

394036, Россия, г. Воронеж, проспект Революции, 19

³ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г. Ф. Морозова»

394087, Россия, г. Воронеж, ул. Тимирязева, 8

Поступила в редакцию: 25.08.2026.

Одобрена после рецензирования: 02.09.2026.

Принята в публикацию: 04.09.2026

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект FZGW-2024-0003)

UDC 619:616.34-008.87:636.5

Research article

DOI 10.69539/2413-287X-2026-09-4-286

ILYA O. KRUTOV¹,

Postgraduate student and Junior Researcher at the Laboratory of Innovative Recombinant Proteomics Drugs
ORCID: 0009-0007-5232-7186
E-mail: ilya.krutov.02@mail.ru

EVGENIY V. MIKHAILOV¹,

PhD, Leading Researcher, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Functioning of Living Systems, Head of the Laboratory of Innovative Recombinant Proteomics Preparations
ORCID: 0000-0001-5457-1325
E-mail: voronezh81@rambler.ru

MIKHAIL YU. SYROMYATNIKOV²,

PhD, Leading Researcher at the Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnologies
ORCID: 0000-0001-9028-0613
E-mail: mihan.vrn@mail.ru

EKATERINA I. TRAPEZNIKOVA³,

Assistant, Department of Forest Genetics, Biotechnology, and Plant Physiology
ORCID: 0009-0003-7429-9551
E-mail: katena.trapeznikova.02@mail.ru

OLGA V. ZVEREVA²,

Senior Lecturer at the Department of Biochemistry and Biotechnology
ORCID: 0000-0002-7051-9858
E-mail: bond.vrn15@yandex.ru

OLGA S. KORNEEVA²,

PhD, Vice-Rector for Research and Innovation, Head of the Department of Biochemistry and Biotechnology
ORCID: 0000-0002-2863-0771
E-mail: korneeva-olgas@yandex.ru

¹ All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy
394087, Russia, Voronezh, st. Lomonosova, 114b

² Voronezh State University of Engineering Technologies
394036, Russia, Voronezh, Revolyutsii Prospekt, 19

³ Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G.F. Morozov
394087, Russia, Voronezh, st. Timiryazeva, 8

Received by editor office: 08.25.2026

Approved in revised: 09.02.2026

Accepted for publication: 09.04.2026

This work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project FZGW-2024-0003)

ВВЕДЕНИЕ

Интенсивное птицеводство сопровождается комплексом стресс-факторов, приводящих к развитию вторичных иммунодефицитов, которые вызывают снижение продуктивности, увеличение падежа и приводят к росту затрат на ветеринарные мероприятия [1]. Ключевую роль в поддержании гомеостаза и иммунной защиты играет кишечная микробиота. Дисбиоз, вызванный иммуносупрессией, способствует колонизации условно-патогенными бактериями и снижению конверсии корма [2].

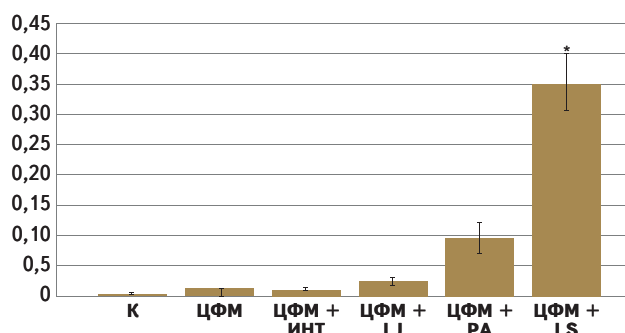
В последние годы активно изучаются возможности коррекции микробиоты с помощью пробиотиков и иммуномодуляторов. Пробиотические штаммы *Lactobacillus* и *Pediococcus* способны конкурировать с патогенами, укреплять кишечный барьер, а также модулировать врожденный и адаптивный иммунитет [3–5]. Видоспецифичные интерфероны, в свою очередь, активируют противовирусные и иммунорегуляторные пути, однако их влияние на структуру микробиоты остается недостаточно изученным [6, 7].

Микробиота кишечника кур на уровне филумов представлена преимущественно *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, тогда как *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Verrucomicrobia* составляют минорные, но функционально значимые группы [8]. Соотношение *Firmicutes* / *Bacteroidetes* рассматривается как интегральный показатель состояния микробного сообщества и связано с эффективностью использования питательных веществ [9]. Экспансия *Proteobacteria*, напротив, признана универсальным маркером дисбиоза и предшествует развитию воспалительных реакций в слизистой оболочке [10], а представители *Verrucomicrobia*, прежде всего *Akkermansia muciniphila*, участвуют в регуляции муцинового слоя и целостности эпителиального барьера [11]. Именно поэтому количественная оценка отдельных присутствующих филумов остается информативным и воспроизводимым подходом для сравнения эффектов кормовых добавок.

Цель настоящей работы заключалась в изучении изменений таксономического состава микробиоты кишечника цыплят-бройлеров на уровне филумов бактерий с экспериментальным иммунодефицитом под действием интерферона и трех пробиотических бактерий, добавленных в корм, с использованием молекулярно-генетических методов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

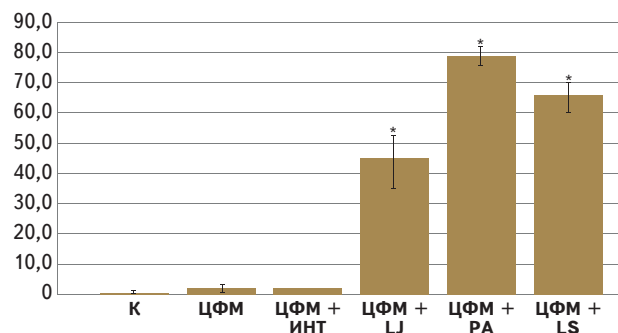
Объектом исследования служили цыплята-бройлеры в возрасте 14 суток, содержащиеся в стандартных условиях при температуре 25 °С, 12 часовом световом дне и относительной влажности воздуха не менее 40%. Для индукции иммунодефицита птицам внутримышечно вводили циклофосфамид в концентрации 20 мг/мл в объеме 500 мкл в течение первых трех суток эксперимента. Бройлеры были разделены на шесть групп (контроль, циклофосфамид, циклофосфамид + интерферон, циклофосфамид + *Lactobacillus johnsonii*, циклофосфамид + *Pediococcus acidilactici*, циклофосфамид + *Ligilactobacillus salivarius*). Контрольная группа получала обычный корм без инъекций; группа циклофосфамида служила моделью иммуносупрессии без коррекции; группе с интерфероном с 4-х по 14-е сутки ежедневно вводили видоспецифичный интерферон; три пробиотические группы на фоне той же схемы циклофосфамида получали с кормом соответствующие бактерии в концентрации 10⁸ КОЕ/г корма. Пробиотики вносили в виде суспензии по 60 мл на клетку, тщательно перемешивали с кормом в течение 2–3 минут и выдерживали 5 минут для равномерной пропитки, при этом все группы ежедневно получали свежую порцию корма из расчета 100 г на одного цыпленка. На 14-е сутки у птиц отбирали содержимое тощей кишки, из которого выделяли тотальную ДНК с использованием коммерческого набора реагентов «ПРОБА-ГС» (ДНК-технология, Россия) согласно протоколу производителя,



К — Контроль; ЦФМ — Циклофосфамид;
ЦФМ + ИНТ — Циклофосфамид + Интерферон;
ЦФМ + LJ — Циклофосфамид + *Lactobacillus johnsonii*;
ЦФМ + РА — Циклофосфамид + *Pediococcus acidilactici*;
ЦФМ + LS — Циклофосфамид + *Ligilactobacillus salivarius*

* — различия статистически достоверны относительно группы циклофосфамид ($p < 0,05$)

Рис. 1. Относительное количество бактерий филума *Verrucomicrobia*, %



К — Контроль; ЦФМ — Циклофосфамид;
ЦФМ + ИНТ — Циклофосфамид + Интерферон;
ЦФМ + LJ — Циклофосфамид + *Lactobacillus johnsonii*;
ЦФМ + РА — Циклофосфамид + *Pediococcus acidilactici*;
ЦФМ + LS — Циклофосфамид + *Ligilactobacillus salivarius*

* — различия статистически достоверны относительно группы циклофосфамид ($p < 0,01$)

Рис. 2. Относительное количество бактерий филума *Bacteroidetes*, %

включающему лизис, сорбционную очистку и элюцию. Количественную полимеразную цепную реакцию в реальном времени проводили на приборе Bio Rad CFX 96 (Bio Rad, США) с использованием реакционной смеси, содержащей 5X qPCRMix HS SYBR (Евроген, Россия), прямые и обратные праймеры и ДНК. Амплификацию выполняли по следующему протоколу: начальная денатурация при 95°C в течение 5 минут, затем 38 циклов, включающих денатурацию при 95°C — 20 с, отжиг праймеров при 56°C — 30 с и элонгацию при 72°C — 30 с. Для оценки относительного содержания основных филумов и классов бактерий (*Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Saccharibacteria*, *Deferribacteres*, *Tenericutes*, *Betaproteobacteria*, *Epsilonproteobacteria* и *Gammaproteobacteria*) использовали праймеры, описанные в работе Yun Wen Yang и соавт. (2015) [12]. Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения STATISTICA 12 (StatSoft Inc., США). Полученные результаты были представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Дисперсионный анализ (ANOVA) выполняли с пост-тестом Тьюки, рассматривающим $p < 0,05$ как статистически значимое.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В группе *L. salivarius* было отмечено статистически значимое увеличение филума *Verrucomicrobia* в 29,0 раз по сравнению с группой циклофосфамида (рис. 1).

В группе *L. salivarius* отмечено статистически значимое увеличение филума *Verrucomicrobia* в 29,0 раз по сравнению с группой циклофосфамида (рис. 1). Поскольку *Verrucomicrobia* включает род *Akkermansia* — ключевого продуцента муцина и регулятора слизистого барьера, данный результат свидетельствует о выраженном положительном эффекте этого пробиотика на защитные свойства кишечника [13, 14]. Кроме того, *Lactobacillus salivarius* обеспечивал рост филума *Actinobacteria* в 5,2 раза.

Все три пробиотика вызвали рост филума *Bacteroidetes*: в 22,1 (*L. johnsonii*), 38,3 (*P. acidilactici*) и 32,4 раза (*L. salivarius*) (рис. 2). Бактерии этого филума участвуют в ферментации сложных углеводов и продукции короткоцепочечных жирных кислот, что улучшает энергообеспечение энтероцитов и иммуномодуляцию [15, 16].

Содержание *Firmicutes* — доминирующего филума в норме — снижалось под действием всех пробиотиков: в 2,1; 5,5 и 3,2 раза соответственно (рис. 3).

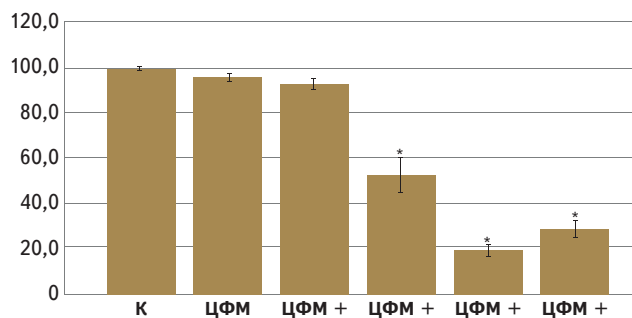
Это может быть расценено как положительный сдвиг, поскольку избыток *Firmicutes* ассоциирован с нарушениями обмена и повышенным риском ожирения [17, 18].

Интерферон, напротив, вызвал резкое увеличение класса *Gammaproteobacteria* (в 26,0 раз, рис. 4).

Гамма-протеобактерии включают многие условно-патогенные энтеробактерии и их чрезмерный рост обычно связан с воспалительными процессами в кишечнике. Таким образом, интерферон, несмотря на иммуностимулирующие свойства, может оказывать неблагоприятное влияние на баланс кишечной микробиоты [19].

Проведенное молекулярно-генетическое исследование показало, что введение пробиотических штаммов *Lactobacillus johnsonii*, *Pediococcus acidilactici* и *Ligilactobacillus salivarius* цыплятам-бройлерам с циклофосфамид-индуцированным иммунодефицитом сопровождается статистически значимой перестройкой таксономического состава кишечной микробиоты, характеризующейся увеличением относительного содержания бактерий филума *Bacteroidetes* и снижением численности филума *Firmicutes*. Это свидетельствует о формировании метаболически благоприятного профиля, ассоциированного с улучшением ферментации углеводов и снижением риска метаболических расстройств.

Наиболее выраженный положительный эффект зафиксирован для пробиотика *L. salivarius*, который обеспечивал рост филума *Verrucomicrobia* в 29,0 раза, филума *Actinobacteria* — в 5,2 раза, что указывает на укрепление

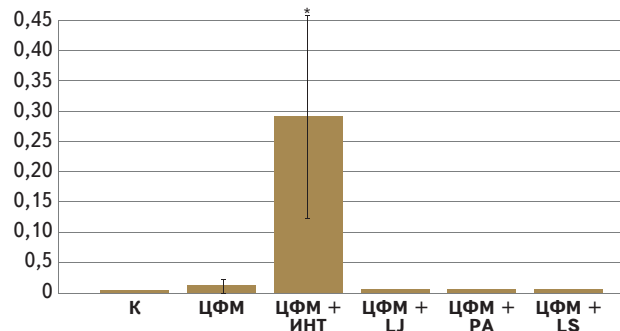


К — Контроль; ЦФМ — Циклофосфамид;
ЦФМ + ИНТ — Циклофосфамид + Интерферон;
ЦФМ + LJ — Циклофосфамид + *Lactobacillus johnsonii*;
ЦФМ + РА — Циклофосфамид + *Pediococcus acidilactici*;
ЦФМ + LS — Циклофосфамид + *Ligilactobacillus salivarius*

* — различия статистически достоверны относительно группы циклофосфамид ($p < 0,05$)

Рис. 3. Относительное количество бактерий филомы Firmicutes, %

слизистого барьера и повышение колонизационной резистентности. В отличие от пробиотиков, применение видоспецифичного интерферона вызывало резкий дисбаланс микробиоты, выражающийся в увеличении численности класса *Gamma proteobacteria* в 26,0 раз, что связано с повышенным риском воспалительных процессов и рассматривается как нежелательный эффект данного иммуномодулятора. Кроме того, все три пробиотика достоверно снижали относительное содержание класса *Beta proteobacteria*, что свидетельствует об их способности уменьшать пул потенциально патогенных микроорганизмов.



К — Контроль; ЦФМ — Циклофосфамид;
ЦФМ + ИНТ — Циклофосфамид + Интерферон;
ЦФМ + LJ — Циклофосфамид + *Lactobacillus johnsonii*;
ЦФМ + РА — Циклофосфамид + *Pediococcus acidilactici*;
ЦФМ + LS — Циклофосфамид + *Ligilactobacillus salivarius*

* — различия статистически достоверны относительно группы циклофосфамид ($p < 0,05$)

Рис. 4. Относительное количество бактерий класса Gamma proteobacteria филомы Proteobacteria, %

Таким образом, совокупность полученных данных позволяет заключить, что пробиотическая бактерия *L. salivarius* демонстрирует наиболее высокую эффективность в коррекции микробиоты при экспериментальном иммунодефиците.

В целом, пробиотики, особенно *L. salivarius*, могут рассматриваться в качестве перспективных средств повышения резистентности птицы при иммунодефицитных состояниях, тогда как интерферон в использованной схеме не рекомендуется для коррекции микробиоты из-за провокации дисбиотических сдвигов.

Литература/Literature

- Бакулин В. А. Этиология иммунодефицитов птиц // Птицеводство. — 2021. — № 3. — С. 52–56.
- Hoerr F. J. Clinical aspects of immunosuppression in poultry // Avian Diseases. — 2010. — Vol. 54, № 1. — P. 2–15.
- Jha, R. Probiotics (Direct-Fed Microbials) in poultry nutrition / R. Jha, R. Das, S. Oak, P. Mishra // Animals. — 2020. — Vol. 10, № 10. — P. 1863.
- Chaves, B. D. Applications and safety considerations of *Ligilactobacillus salivarius* / B. D. Chaves, M. M. Brashears, K. K. Nightingale // Journal of Applied Microbiology. — 2017. — Vol. 123. — P. 18–28.
- Zhang, Z. The effects of *Lactobacillus johnsonii* on diseases and its potential applications / Z. Zhang, L. Zhao, J. Wu [et al.] // Microorganisms. — 2023. — Vol. 11, № 10. — P. 2580.
- Abd El-Hack, M. E. Alternatives to antibiotics for organic poultry production / M. E. Abd El-Hack, M. T. El-Saadony, H. M. Salem [et al.] // Poultry Science. — 2022. — Vol. 101, № 4. — P. 101696.
- Lee, A. J. The dual nature of type I and type II interferons / A. J. Lee, A. A. Ashkar // Frontiers in Immunology. — 2018. — Vol. 9. — P. 2061.
- Broom L. J. The role of the gut microbiome in shaping the immune system of chickens / L. J. Broom, M. H. Kogut // Vet Immunol Immunopathol. — 2018. — 204:44–51.
- Xiao, Y. Microbial community mapping in intestinal tract of broiler chicken / Xiao Y., Y. Xiang [et al.] // Poult Sci. — 2017, May 1;96(5):1387–1393.
- Shin, N. R. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota / N. R. Shin, T. W. Whon, J. W. Bae. — Trends Biotechnol. — 2015, 33(9):496–503.
- Abbasi, A. A Critical Review on Akkermansia muciniphila: Functional Mechanisms, Technological Challenges, and Safety Issues / A. Abbasi, S. Bazzaz [et al.] // Probiotics Antimicrob Proteins. — 2024; 16(4):1376–1398.
- Yang, Y. W. Use of 16S rRNA Gene-Targeted Group-Specific Primers for Real-Time PCR Analysis of Predominant Bacteria in Mouse Feces. / Y. W. Yang, M. K. Chen [et al.] // Appl Environ Microbiol. — 2015; 81: 6749–6756.
- Geerlings, S. Y. Akkermansia muciniphila in the human gastrointestinal tract / S. Y. Geerlings, I. Kostopoulos, W. M. de Vos, C. Belzer // Microorganisms. — 2018. — Vol. 6, № 3. — P. 75.
- Rodrigues, V. F. Akkermansia muciniphila and gut immune system / Rodrigues V. F., Elias-Oliveira J., Pereira Í. S. [et al.] // Frontiers in Immunology. — 2022. — Vol. 13. — Art. 934695.
- Wexler, H. M. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty gritty / H. M. Wexler // Clinical Microbiology Reviews. — 2007. — Vol. 20, № 4. — P. 593–621.
- Włazlak, S. Modulation of the immune system of chickens — a review / S. Włazlak, E. Pietrzak [et al.] // Poultry Science. — 2023. — Vol. 102, № 8. — P. 102785.
- Дускаев, Г. К. Оценка микробного разнообразия слепого отдела кишечника цыплят-бройлеров при введении кумарина и кормового антибиотика / Г. К. Дускаев, К. С. Лазебник, Т. А. Климова // Вестник РУДН. Сер. Агрономия и животноводство. — 2022. — № 4. — С. 45–54.
- Guo, P. Clostridium species as probiotics: potentials and challenges / P. Guo, K. Zhang, X. Ma [et al.] // Journal of Animal Science and Biotechnology. — 2020. — Vol. 11. — Art. 24.
- Siegerstetter, S. C. Feed restriction modulates the fecal microbiota composition in chickens / S. C. Siegerstetter, R. M. Petri [et al.] // Frontiers in Microbiology. — 2018. — Vol. 9. — Art. 2698. ■