

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet11524
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 636.5.033/591.13.316

Biochemical blood profile and retinol levels in liver broiler chickens with the use of probiotics

V. H. Yefimov¹✉, D. D. Bilyi¹, M. A. Lieshchova¹, D. F. Gufrij²

¹Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

²Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, Ukraine

Article info

Received 10.07.2024

Received in revised form

12.08.2024

Accepted 13.08.2024

Dnipro State Agrarian and
Economic University,
Serhiy Yefremov Str., 25,
Dnipro, 49600, Ukraine.
Tel. + 38-067-727-55-75
E-mail: yefimov.v.h@dsau.dp.ua

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.

Yefimov, V. H., Bilyi, D. D., Lieshchova, M. A., & Gufrij, D. F. (2024). Biochemical blood profile and retinol levels in liver broiler chickens with the use of probiotics. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 26(115), 175–180. doi: 10.32718/nvlvet11524

The use of antibiotics in poultry farming creates a number of risks associated with the development of antibiotic resistance in bacterial disease pathogens. Probiotics are a promising direction for replacing traditional antimicrobial agents. The aim of the work was to investigate the biochemical parameters of blood serum of broiler chickens and the content of vitamin A in the liver using commercial probiotic preparations TM Sviteco based on bacteria of the genus *Bacillus*. The studies were conducted at an industrial broiler breeding enterprise on Cobb 500 crossbred chickens in two poultry houses according to the principle of similar groups. Chickens in the control group were raised using traditional antimicrobial agents (control poultry house). Chickens raised using alternative technology without antibiotics (experimental poultry house) were daily added to the drinking water of Sviteco-PWC tilus at the rate of 200 ml per 1 ton of water. During the periods of vaccination and feed change, the drug Sviteco Mg+pro was added at the rate of 1 l per 1 ton of water. Aerosol disinfection was carried out using Sviteco-Multi daily at the rate of 1–1.5 l per day. Litter treatment was carried out on the 10th day of growing using Sviteco-MBT. Housing and feeding conditions, as well as veterinary treatment, were similar in both poultry houses. All probiotics contained bacteria of the genus *Bacillus*. Blood samples were collected from 44 day-old clinically healthy chickens (10 samples from each group). After slaughter on the 47th day, 5 livers were taken from control and experimental animals. Determination of biochemical parameters of blood serum was performed using the BA-400 BioSystems analyzer (Spain). The level of vitamin A in the liver was investigated by HPLC. In serum blood of broiler chickens grown with the use of probiotic preparations TM Sviteco, a significantly higher level of total protein was found. An increase in the content of globulin fractions of protein indicates an enhanced immune response. A tendency to reduce the activity of alkaline phosphatase and the content of inorganic phosphorus was found. A simultaneous increase in the level of total calcium is associated with better assimilation of minerals from the digestive tract. Under the action of probiotics in the liver of chickens, an increase in the level of vitamin A was noted. Therefore, the use of probiotic preparations based on *Bacillus* bacteria stimulates the immune response in chickens and increases the intensity of assimilation of minerals and vitamins from feed. This requires further study of the mechanisms of action of probiotics on the morpho-functional state of the intestine and its immune structures.

Key words: probiotics, blood biochemistry, chickens, blood proteins, vitamin A, liver.

Біохімічний профіль крові та рівень ретинолу в печінці курчат-бройлерів за використання пробіотиків

В. Г. Єфімов¹✉, Д. Д. Білий¹, М. О. Лещова¹, Д. Ф. Гуфрій²

¹Дніпровський державний аграрно-економічний університет, Дніпро, Україна

²Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Застосування антибіотиків у птахівництві створює низку ризиків, пов'язаних з розвитком антибіотикорезистентності у збудників бактеріальних захворювань. Пробиотичні препарати є перспективним напрямком заміни традиційних антимікробних засобів. За мету роботи було дослідити біохімічні показники сироватки крові курчат-бройлерів та вміст вітаміну А у печінці за використання комерційних пробиотичних препаратів ТМ Sviteco на основі бактерій роду *Bacillus*. Дослідження проводилися на підприємстві з промислового вирощування бройлерів на курчатах кросу Кобб 500 у двох пташниках за принципом аналогічних груп. Курчата контрольної групи вирощувалися із застосуванням традиційних антимікробних засобів (контрольний пташник). Курчатам, які вирощувалися за альтернативною технологією без антибіотиків (дослідний пташник) щоденно додавали у питну воду *Sviteco-PWC tilus* з розрахунку 200 мл на 1 т води. В періоди вакцинації та зміни корму додавався препарат *Sviteco Mg+pro* з розрахунку 1 л на 1 т води. Аерозольна дезінфекція проводилася із застосуванням *Sviteco-Multi* щоденно з розрахунку 1-1,5 л на добу. Обробку підстилки проводили на 10-у добу вирощування з використанням *Sviteco-MBT*. Умови утримання і годівлі, а також ветеринарні обробки були аналогічними в обох пташниках. Усі пробиотики містили бактерії р. *Bacillus*. На 44 добу життя проводився відбір проб крові від 10 клінічно здорових курчат з кожної групи. Після забою на 47-у добу відбирали по 5 печінок від контрольних і дослідних тварин. Визначення біохімічних показників сироватки крові проводили з використанням аналізатору BA-400 BioSystems (Іспанія). Рівень вітаміну А у печінці досліджували методом ВЕРХ. У сироватці крові курчат-бройлерів, вирощених із застосуванням пробиотичних препаратів ТМ Sviteco, встановлено вірогідно вищий рівень загального білка. Підвищення вмісту глобулінових фракцій білка вказує на посилення імунної відповіді. Виявлено тенденцію до зниження активності лужної фосфатази та вмісту неорганічного фосфору. Одночасне підвищення рівню загального кальцію пов'язане з кращою асиміляцією мінеральних речовин з травного каналу. За дії пробиотиків у печінці курчат відзначали підвищення рівню вітаміну А. Отже, застосування пробиотичних препаратів на основі бактерій р. *Bacillus* стимулює імунну відповідь у курчат та посилює інтенсивність асиміляції мінеральних речовин і вітамінів з кормів. Це потребує подальшого вивчення механізмів дії пробиотиків як на морфо-функціональний стан кишечника та його імунних структур.

Ключові слова: пробиотики, біохімія крові, курчата, білки крові, вітамін А, печінка.

Вступ

Сучасні умови ведення птахівництва характеризуються значними ризиками розвитку інфекційних хвороб та загибелі через високу концентрацію погнів'я та вплив інших технологічних чинників (Ogbuewu et al., 2022). Зважаючи на це, в умовах інтенсивного птахівництва раціональне використання антимікробних препаратів відіграє важливу роль у лікуванні та профілактиці бактеріальних захворювань (Liu et al., 2020; Kasabova et al., 2021). У той же час, тривале використання антибіотиків сприяло розвитку стійких до антибіотиків штамів бактерій як у птиці, так і у людини, створюючи глобальну загрозу громадському здоров'ю (Haque et al., 2020). Відсутність антибіотиків у схемах вирощування бройлерів, крім того, знаходить запит і у споживачів, що свідчить про стурбованість людей безпекою курятини (Jahanabadi et al., 2023).

На сьогоднішній день існує багато проблем, які необхідно подолати шляхом прийняття відповідних стратегій для виробництва м'яса бройлерів без антибіотиків щодо безпеки харчових продуктів і добробуту курчат (Haque et al., 2020; Iannetti et al., 2021). Однією зі стратегій боротьби з бактеріями у птахівництві є застосування органічних кислот, їх сумішей та похідних, які мають антибактеріальну дію та спричинюють позитивний вплив на функціональний стан кишечника (Ahafonov et al., 2018; Masiuk et al., 2024). Крім того, ферментні препарати та рослинні екстракти також можуть бути засобами заміни антибіотиків (Yang et al., 2024). Зокрема, в якості альтернативи антибіотикам наводяться антимікробні пептиди, бактеріофаги, пробиотики та наночастинки (Abreu et al., 2023).

Особливий інтерес становлять бактеріоциногенні пробиотики, які мають здатність прикріплюватися до слизової оболонки хазіяна, колонізувати, розмножуватися та виробляти корисні продукти, такі як бактеріоцини та коротколанцюгові жирні кислоти (Lone et al., 2021). Застосування пробиотичних препаратів

сприяє стабілізації складу мікрофлори, а також зменшується утворення токсичних продуктів у кишечнику, що досягається розмноженням пробиотичних штамів та "конкурентного витіснення" інших мікроорганізмів (Kytaieva & Petrov, 2020).

Bacillus subtilis є одним з найпопулярніших пробиотиків, що застосовуються у птахівництві, завдяки широкому сприятливому впливу, починаючи з точки зору антагонізму з патогенними мікроорганізмами, закінчуючи стимуляцією імунітету, росту і покращення здоров'я птиці (Chechet et al., 2022; Ningsih et al., 2023). Пробиотичний комплекс бактерій роду *Bacillus* spp. показав можливість використання на м'ясопереробних підприємствах для запобігання росту шкідливих мікробних біоплівки на м'ясних продуктах (Kolchuk et al., 2024).

Таким чином, альтернативні технології вирощування курчат-бройлерів без антибіотиків набувають значного поширення, а однією із основних стратегій є застосування пробиотичних препаратів. Водночас, актуальним залишається питання щодо встановлення біохімічного статусу курчат-бройлерів, вирощених за альтернативної технології із застосуванням культур бактерій роду *Bacillus*.

Мета досліджень

Мета досліджень дослідити біохімічні показники крові курчат-бройлерів та вміст вітаміну А у печінці за використання комерційних пробиотичних препаратів ТМ Sviteco на основі бактерій роду *Bacillus*.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводилися на підприємстві з промислового вирощування бройлерів у двох пташниках за принципом аналогічних груп з використанням курчат кросу Кобб-500. Курчата контрольної групи вирощувалися із застосуванням традиційних антимікробних засобів (контрольний пташник). Курчатам, які вирощувалися за альтернативною технологією без

антибіотиків (дослідний пташник) щоденно додавали у питну воду пробіотичний препарат Sviteco-PWC (комбінація 5 видів *Bacillus subtilis*) з розрахунку 200 мл на 1 т води. В періоди вакцинації та зміни корму додавався препарат Sviteco Mg+pro (комбінація біоффіту і пробіотичних культур *Bacillus*) з розрахунку 1 л на 1 т води. Аерозольна дезінфекція проводилася із застосуванням Sviteco-Multi в автоматичному режимі щоденно з розрахунку 1–1,5 л на добу. Обробку підстилки проводили на 10-у добу вирощування з використанням Sviteco-MBT – висококонцентрована комбінація бактерій р. *Bacillus* – 10 г на 1 т. Профілактичні щеплення, умови утримання і годівлі, а також проти-паразитарні обробки були аналогічними в обох пташниках. Усі пробіотики містили бактерії р. *Bacillus*.

На 44 добу життя проводився відбір проб крові від 10 клінічно здорових курчат з кожної групи для біохімічних досліджень. Після забою на 47-у добу відбирали по 5 печінок від контрольних і дослідних тварин. Лабораторні дослідження проводилися в НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК ДДАЕУ. Визначення загального білка, альбумінів, сечової кислоти, глюкози, загального кальцію, неорганічного фосфору і активності АСТ, АЛТ, лужної фосфатази в сироватці крові проводили з використанням автоматичного біохімічного аналізатору ВА-400 BioSystems (Іспанія) та готових до використання наборів реагентів цього ж виробника. Білковий коефіцієнт розраховували як співвідношення альбумінових фракцій білка до глобулінових. Визначення вмісту вітаміну А у печінці проводили методом ВЕРХ у відповідності до вимог ДСТУ EN 12823-1:2005.

Статистична обробка одержаних даних проводилася з використанням програми Microsoft Excel з розрахунком критерію t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено вірогідно вищий на 17,8 % ($P < 0,05$) рівень загального білка у курчат, вирощених за альтернативною технологією (табл. 1).

Таблиця 1

Показники білкового обміну у сироватці крові курчат-бройлерів за вирощування без традиційних антибактеріальних засобів ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Білок загальний, г/л	34,90 $\pm$ 1,75	41,10 $\pm$ 1,47*
Альбуміни, г/л	14,60 $\pm$ 0,40	15,80 $\pm$ 0,33
Глобуліни, г/л	20,30 $\pm$ 1,38	25,30 $\pm$ 1,08*
Білковий коефіцієнт, од.	0,76 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,05*

Примітки: * – $P < 0,05$ у відношенні до контрольної групи

Аналіз одержаних даних вказує, що збільшення рівню цього показнику відбувалося, у першу чергу, за рахунок його глобулінових фракцій. Їх рівень зріс на 24,6 % ($P < 0,05$). Як відомо, до складу глобулінових фракцій білка курчат входить низка протеїнів, серед яких провідне місце займають α_2 -глобуліни та γ -

глобуліни (Filipovic et al., 2007; Tothova et al., 2019). Водночас, Sirisawadi (2022) та Divya (2023) вказують, що основними глобуліновими фракціями у курчат є β - та γ -глобуліни. Фракція α_2 -глобулінів містить такі важливі білки, як церулоплазмін та гаптоглобін, β -глобуліни представлені транспортними білками (трансферин, ліпопротеїн) і білками системи комплементу, а γ -глобуліни – імуноглобулінами різних класів (Tothova et al., 2016). Враховуючи це, ми схилиємося до думки, що відзначене нами збільшення рівню глобулінових фракцій білка спричинюється підвищенням рівню гуморальних механізмів захисту організму. До подібних висновків приходять й інші дослідники (Shnurenko et al., 2021). Пробіотичні мікроорганізми здатні посилювати імунну відповідь за рахунок, зокрема, імунних структур кишечника і, в такий спосіб, стимулювати як поствакцинальний імунітет, так і відповідь на патогенну мікрофлору (Kazemifard et al., 2022).

Білковий коефіцієнт (співвідношення альбумінів до глобулінів) у курчат-бройлерів, вирощених за технологією без антибіотиків, вірогідно знижувався на 14,5 % ($P < 0,05$). Очевидно, такі зміни є наслідком підвищення вмісту глобулінів за, фактично, незмінного рівню альбумінів сироватки крові. Аналогічні до наших дані отримали й інші дослідники. Зокрема, Kairalla et al. (2023) вказують на зниження білкового коефіцієнту за рахунок глобулінів після згодовування порошку маринги, що супроводжувалося підвищенням приростів маси та виходу м'яса. Застосування пробіотиків також призводило до подібних змін загального білка та його основних фракцій (Bogatko, 2023).

Серед основних метаболітів обміну речовин та активності амінотрансфераз вірогідних змін встановлено не було (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст основних метаболітів та активність амінотрансфераз у сироватці крові курчат-бройлерів за вирощування без традиційних антибактеріальних засобів ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Сечова кислота, мкмоль/л	297,7 $\pm$ 31,14	326,3 $\pm$ 33,80
Креатинін, мкмоль/л	36,10 $\pm$ 2,74	33,20 $\pm$ 3,35
АСТ, Од/л	284,8 $\pm$ 13,28	300,6 $\pm$ 20,39
АЛТ, Од/л	13,50 $\pm$ 1,10	10,70 $\pm$ 1,35
Глюкоза, ммоль/л	13,30 $\pm$ 0,60	12,79 $\pm$ 0,47

Амінотрансферази, зокрема, АЛТ і АСТ, забезпечують взаємоперетворення амінокислот. АЛТ в печінці птиці має невелику концентрацію і, відповідно, невисоку активність цього ферменту у сироватці крові. Активність АСТ виявляється у різних тканинах птиці, включаючи печінку, серце та м'язи. Високі значення цього ферменту зазвичай пов'язується з ушкодженням печінки або м'язів (Arzour-Lakehal et al., 2021). Відсутність вірогідної різниці з боку активності обох досліджених трансаміназ, напевне, вказує на відсутність суттєвих змін цитолітичних процесів у

печінці та м'язовій тканині курчат-бройлерів, вирощених за різних технологій.

Основним продуктом азотистого обміну унаслідок розпаду тканинних білків у птиці є сечова кислота. Саме у вигляді сечової кислоти знаходиться 80 % загального залишкового азоту крові, і лише 1–10 % у вигляді сечовини (Al-Hatchami et al., 2023). Рівень креатиніну в плазмі пов'язаний зі швидкістю метаболізму у м'язовій тканині, а також функцією нирок (Brosnan & Brosnan, 2010). Використання пробіотичної добавки, що містить *Candida ethanolica*, *Monascus fumeus* та *Bacillus subtilis*, до кормів, не впливає на рівень креатиніну в сироватці крові бройлерів (Suprataman et al., 2020). Незмінним був уміст сечової кислоти за дії пробіотиків і в інших дослідженнях (Bogatko, 2023). Таким чином, вирощування курчат-бройлерів без застосування традиційних антимікробних препаратів не має негативного впливу на стан м'язової тканини, функціональну активність нирок та інтенсивність розпаду білків.

Удосконалення технології інтенсивного вирощування сприяло зростанню м'язової маси курчат-бройлерів. Проте, ріст м'язової маси призводить до того, що кістки ніг не здатні підтримувати масу тіла, тому проблема захворювань ніг стає актуальною. Пробіотичні засоби мають широкі перспективи застосування в профілактиці та лікуванні захворювань кісток у птиці (Chen et al., 2022). Наведені у табл. 3 дані свідчать, що вирощування курчат-бройлерів за технологією із застосуванням пробіотичних препаратів не має вірогідного впливу на вміст у сироватці крові загального кальцію, неорганічного фосфору та активність лужної фосфатази.

Таблиця 3

Показники кальцій-фосфорного обміну у сироватці крові курчат-бройлерів за їх вирощування із застосуванням ($M \pm m$, $n = 10$)

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Лужна фосфатаза, Од/л	4117,7 $\pm$ 393,4	3895,6 $\pm$ 576,5
Кальцій загальний, ммоль/л	2,41 $\pm$ 0,12	2,56 $\pm$ 0,08
Фосфор неорганічний, ммоль/л	3,89 $\pm$ 0,41	3,65 $\pm$ 0,23

Водночас, спостерігається загальна тенденція щодо покращення обміну кальцію і фосфору в організмі курчат дослідної групи – незначно нижча активність лужної фосфатази та неорганічного фосфору з одночасним підвищенням рівню загального кальцію. Подібні дані щодо зниження активності лужної фосфатази за дії пробіотиків наводяться в літературі (Islam et al., 2004; Banu et al., 2019). Водночас, Bogatko (2023) вказує на зниження рівню неорганічного фосфору при застосуванні *Bacillus subtilis* та *Bacillus licheniformis*. Відповідно, пробіотичні препарати мають здатність чинити позитивний вплив на кальцій-фосфорний обмін.

Вітамін А є важливим мікронутрієнтом, недостатність якого, зокрема, може призвести до зниження

продуктивності та підвищеної сприйнятливості до інфекційних захворювань у птиці (Shastak & Pelletier, 2024). Основним органом-депо ретинолу в організмі є печінка, яка містить за нормальних умов 80 % вітаміну А в організмі (Blomhoff & Wake, 1991). Вміст ретинолу в печінці може використовуватися як показник забезпеченості ним організму у птиці (Guo et al., 2023).

Вирощування курчат-бройлерів за альтернативною технологією із застосуванням пробіотичних препаратів, призводило до підвищення рівню ретинолу у їх печінці (рис. 1).

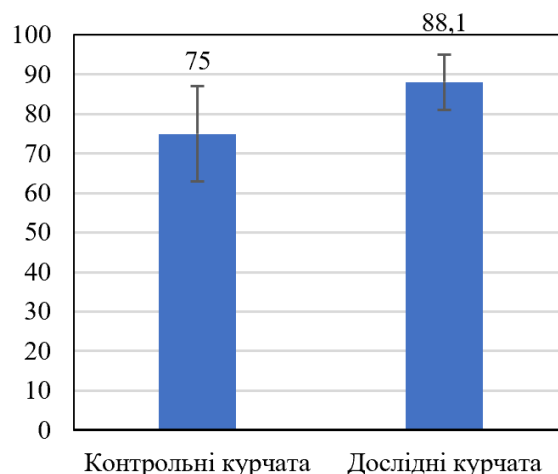


Рис. 1. Уміст ретинолу у печінці курчат контрольної та дослідної групи, мкг/г ($n = 5$)

Не зважаючи на вищий на 17,5 % вміст вітаміну А в печінці дослідної птиці, виявлені зміни не були вірогідними через значну індивідуальну варіабельність ($74,5 \pm 12,7$ та $88,1 \pm 9,1$ мкг/г у контрольної і дослідної птиці відповідно). Встановлений рівень ретинолу узгоджується з даними ($5,60 \pm 3,89$ мг на 100 г) та може вказувати на достатню забезпеченість курчат обох груп цим вітаміном (Majchrzak et al., 2006). Водночас, виявлена тенденція до наростання вмісту ретинолу в печінці курчат, вирощених за альтернативною технологією, може пояснюватися кращим засвоєнням ретинолу у кишечнику, адже пробіотичні засоби мають позитивний вплив як на його структуру, так і функції (Jha et al., 2020).

Висновки

У сироватці крові курчат-бройлерів вирощених за альтернативною технологією без традиційних антимікробних засобів із застосуванням пробіотичних препаратів ТМ Sviteco рівень загального білка у курчат був вірогідно вищим на 17,8 % ($P < 0,05$). Вірогідне підвищення вмісту глобулінових фракцій білка вказує на посилення імунної відповіді. Також встановлено оптимізацію показників кальцій-фосфорного обміну (зниження активності лужної фосфатази та вмісту неорганічного фосфору та підвищення рівню загального кальцію), що пов'язано з кращою асиміляцією мінеральних речовин з травного каналу. Вищий уміст ретинолу у печінці курчат також вказує на покращен-

ня засвоєння вітамінів у кишечнику курчат-бройлерів, вирощених за технологією застосування пробіотичних препаратів на основі бактерій р. *Bacillus*.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати свідчать про необхідність проведення досліджень, спрямованих на визначення впливу альтернативної системи вирощування курчат-бройлерів з використанням пробіотичних препаратів ТМ Sviteco на структурно-функціональну активність тонкого кишечника. Крім того, існує потреба впливу такої системи вирощування на імунні структури кишечника та їх вплив на формування механізмів імунологічної реактивності у курчат.

Відомості про конфлікт інтересів.

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Abreu, R., Semedo-Lemsaddek, T., Cunha, E., Tavares, L., & Oliveira, M. (2023). Antimicrobial Drug Resistance in Poultry Production: Current Status and Innovative Strategies for Bacterial Control. *Microorganisms*, 11(4), 953. DOI: 10.3390/microorganisms11040953.
- Ahafonov, I., Yefimov, V., & Sofonova, D. (2018). Blood parameters and productivity of cross Cobb-500 chicken broilers after adding feed supplement of calcium butyrate to the diet. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine*, 6(2), 19–24. URL: <https://bulletin-biosafety.com/index.php/journal/article/view/175>.
- Al-Hatchami, A. F., & Alshukri, A. Y. A. (2023). Effect of Diet Fortified with Okra Powder on Blood Quality in Broiler Chickens Under Heat Stress Conditions. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1262(7), 072060. DOI: 10.1088/1755-1315/1262/7/072060.
- Arzour-Lakehal, N., & Boudebza, A. (2021). Biochemical reference intervals in broiler chickens according to age and strain. *Agricultural Science and Technology*, 13(4), 357–364. DOI: 10.15547/ast.2021.04.058.
- Banu, L. A., Mustari, A., & Ahmad, N. (2019). Efficacy of probiotics on growth performance and hemato-biochemical parameters in broiler. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 6(1), 91–100. URL: <https://banglajol.info/index.php/RALF/article/view/41390>.
- Blomhoff, R., & Wake, K. (1991). Perisinusoidal stellate cells of the liver: important roles in retinol metabolism and fibrosis. *The FASEB Journal*, 5(3), 271–277. DOI: 10.1096/fasebj.5.3.2001786.
- Bohatko, A. (2023). Effect of probiotic biologics on morpho-biochemical parameters of broiler chicken blood. *Ukrainian Journal of Veterinary Sciences*, 14(3), 9–24. DOI: 10.31548/veterinary3.2023.09.
- Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E. (2010). Creatine metabolism and the urea cycle. *Molecular Genetics and Metabolism*, 100, S49–S52. DOI: 10.1016/j.ymgme.2010.02.020.
- Chechet, O. M., Kovalenko, V. L., Horbatiuk, O. I., Gaidei, O. S., Kravtsova, O. L., Andriyashchuk, V. O., Musiets, I. V., & Ordynska, D. O. (2022). study in vitro of antagonistic activity of *Bacillus* isolates and selection of promising probiotic strains. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 23(1), 219–227. DOI: 10.36359/scivp.2022-23-1.28.
- Chen, P., Xu, T., Zhang, C., Tong, X., Shaikat, A., He, Y., Liu, K., & Huang, S. (2022). Effects of Probiotics and Gut Microbiota on Bone Metabolism in Chickens: A Review. *Metabolites*, 12(10), 1000. DOI: 10.3390/metabo12101000.
- Divya, P. D. (2023). 4. Biochemical Assays for Monitoring General Health Status of Birds. *Advanced training in poultry production with special emphasis to recent techniques in antimicrobial resistance and food safety*, 30–36.
- Filipovic, N., Stojevic, Z., Milinkovic-Tur, S., Ljubic, B. B., & Zdelar-Tuk, M. (2007). Changes in concentration and fractions of blood serum proteins of chickens during fattening. *Veterinarski arhiv*, 77(4), 319–326. URL: <https://hrcak.srce.hr/24773>.
- Guo, S., He, L., Zhang, Y., Niu, J., Li, C., Zhang, Z., Li, P., & Ding, B. (2023). Effects of Vitamin A on Immune Responses and Vitamin A Metabolism in Broiler Chickens Challenged with Necrotic Enteritis. *Life*, 13(5), 1122. DOI: 10.3390/life13051122.
- Haque, Md. H., Sarker, S., Islam, Md. S., Islam, Md. A., Karim, Md. R., Kayesh, M. E. H., Shiddiky, M. J. A., & Anwer, M. S. (2020). Sustainable Antibiotic-Free Broiler Meat Production: Current Trends, Challenges, and Possibilities in a Developing Country Perspective. *Biology*, 9(11), 411. DOI: 10.3390/biology9110411.
- Iannetti, L., Romagnoli, S., Cotturone, G., & Podaliri Vulpiani, M. (2021). Animal Welfare Assessment in Antibiotic-Free and Conventional Broiler Chicken. *Animals*, 11(10), 2822. DOI: 10.3390/ani11102822.
- Islam, M., Rahman, W., Kabir, M. M., Kamruzzaman, S. M. L., & Islam, M. N. (2004). Effect of Probiotics Supplementation on Growth Performance and Certain Haemato-Biochemical parameters in Broiler Chicken. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 2, 39–43. DOI: 10.3329/bjvm.v2i1.1933.
- Jahanabadi, E. A., Mousavi, S. N., Moosavihaghighi, M. H., & Eslami, M. R. (2023). Consumers' willingness to pay for antibiotic-free chicken meat: application of contingent valuation method. *Environment, Development and Sustainability*, 26(10), 25151–25172. DOI: 10.1007/s10668-023-03674-3.
- Jha, R., Das, R., Oak, S., & Mishra, P. (2020). Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. *Animals*, 10(10), 1863. DOI: 10.3390/ani10101863.
- Kairalla, M. A., Alshelmani, M. I., & Imdakim, M. M. (2023). Effect of Diet Supplemented with Different Levels of Moringa Powder on Growth Performance, Carcass Characteristics, Meat Quality, Hematological Parameters, Serum Lipids, and Economic Efficiency of Broiler Chickens. *Archives of Razi Institute*, 1647–1656. DOI: 10.32592/ari.2023.78.5.1647.
- Kasabova, S., Hartmann, M., Freise, F., Hommerich, K., Fischer, S., Wilms-Schulze-Kump, A., Rohn, K., Käsbohrer, A., & Kreienbrock, L. (2021). Antibiotic

- Usage Pattern in Broiler Chicken Flocks in Germany. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. DOI: 10.3389/fvets.2021.673809.
- Kazemifard, N., Dehkohne, A., & Baradaran Ghavami, S. (2022). Probiotics and probiotic-based vaccines: A novel approach for improving vaccine efficacy. *Frontiers in Medicine*, 9, 940454. DOI: 10.3389/fmed.2022.940454.
- Kolchuk, O. V., Borovuk, I. V., Buzun, A. I., Illarionova, T. V., & Zazharska, N. M. (2024). Microorganisms' Growth Inhibition in Poultry Meat Using *Bacillus* spp. *World's Veterinary Journal*, 14(3), 424–434. DOI: 10.54203/scil.2024.wvj50.
- Kytaieva, D., & Petrov, R. (2020). The use of probiotics in the cultivation of turkeys. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 22(100), 23–27. DOI: 10.32718/nvlvet10004.
- Larsberg, F., Sprecher, M., Hesse, D., Loh, G., Brockmann, G. A., & Kreuzer-Redmer, S. (2023). Probiotic *Bacillus* Strains Enhance T Cell Responses in Chicken. *Microorganisms*, 11(2), 269. DOI: 10.3390/microorganisms11020269.
- Liu, Y., Dyall-Smith, M., Marenda, M., Hu, H.-W., Brown, G., & Billman-Jacobe, H. (2020). Antibiotic Resistance Genes in Antibiotic-Free Chicken Farms. *Antibiotics*, 9(3), 120. DOI: 10.3390/antibiotics9030120.
- Lone, A., Mottawea, W., Mehdi, Y., & Hammami, R. (2021). Bacteriocinogenic probiotics as an integrated alternative to antibiotics in chicken production - why and how? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(31), 8744–8760. DOI: 10.1080/10408398.2021.1932722.
- Majchrzak, D., Fabian, E., & Elmadfa, I. (2006). Vitamin A content (retinol and retinyl esters) in livers of different animals. *Food Chemistry*, 98(4), 704–710. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.06.035.
- Masiuk, D., Nedzvetsky, V., & Maksymchuk, Y. (2024). The current state and prospects for the use of organic acids and their compositions in poultry feed: A literature review. *Scientific Horizons*, 27(7), 148–157. DOI: 10.48077/scihor7.2024.148.
- Ningsih, N., Respati, A. N., Astuti, D., Triswanto, T., Purnamayanti, L., Yano, A. A., Putra, R. P., Jayanegara, A., Ratriyanto, A., & Irawan, A. (2023). Efficacy of *Bacillus subtilis* to replace in-feed antibiotics of broiler chickens under necrotic enteritis-challenged experiments: a systematic review and meta-analysis. *Poultry Science*, 102(10), 102923. DOI: 10.1016/j.psj.2023.102923.
- Ogbuewu, I. P., Mabelebele, M., Sebola, N. A., & Mba-jorgu, C. (2022). *Bacillus* Probiotics as Alternatives to In-feed Antibiotics and Its Influence on Growth, Serum Chemistry, Antioxidant Status, Intestinal Histomorphology, and Lesion Scores in Disease-Challenged Broiler Chickens. *Frontiers in Veterinary Science*, 9. DOI: 10.3389/fvets.2022.876725.
- Shastak, Y., & Pelletier, W. (2023). Delving into vitamin A supplementation in poultry nutrition: current knowledge, functional effects, and practical implications. *World's Poultry Science Journal*, 80(1), 109–131. DOI: 10.1080/00439339.2023.2250327.
- Shnurenko, E., Studenok, A., Karpovskiy, V., Trokoz, V., Guttyj, B., Torzhash, A., & Radchikov, V. (2021). Autonomous regulation of antioxidant protection and protein exchange in chickens. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 23(103), 43–50. DOI: 10.32718/nvlvet10307.
- Sirisawadi, S. (2022). Comparative serum protein electrophoresis patterns in dogs, cats, and chickens. *Thai J Vet Med.*, 52(Suppl.), 69–70. URL: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20220315534#page=116>.
- Suprataman, H., Ismiraj, R. M., & Mayasari, N. (2020). Effects of probiotic supplementation to diets on blood urea nitrogen and plasma creatinine in broiler chicken. *Lucrări Științifice - Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Seria Zootehnie*, 73, 23–27. URL: <https://repository.iuls.ro/xmlui/handle/20.500.12811/582>.
- Tothova, C., Nagy, O., & Kovac, G. (2016). Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: a review. *Veterinárni Medicina*, 61(9), 475–496. DOI: 10.17221/19/2016-vetmed.
- Tothova, C., Sesztakova, E., Bielik, B., & Nagy, O. (2019). Changes of total protein and protein fractions in broiler chickens during the fattening period. *Veterinary World*, 12(4), 598–604. DOI: 10.14202/vetworld.2019.598-604.
- Yang, W., Li, J., Yao, Z., & Li, M. (2024). A review on the alternatives to antibiotics and the treatment of antibiotic pollution: Current development and future prospects. *Science of The Total Environment*, 926, 171757. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2024.171757.