

Формулы Фармации. 2023. Т. 5, № 2. С. 65–69

АКТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА: ДИСКУССИОННАЯ ТРИБУНА

Краткое сообщение

УДК 579.64

DOI: <https://doi.org/10.17816/phf352544>

Микрофлора инкубационных яиц и пути ее формирования

© 2023. Е. П. Горфункель¹, Л. А. Ильина¹

¹Научно-производственная компания «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

Автор, ответственный за переписку: Елена Павловна Горфункель, elena@biotrof.ru

АННОТАЦИЯ. В данном исследовании были получены результаты, отражающие содержание генетического материала бактерий в инкубационных яйцах. Учитывая широкое применение куриных эмбрионов в медицине, ветеринарии и фармакологии, выявление и идентификация микроорганизмов является важной задачей. В ходе исследования был проведен количественный и качественный анализ состава бактерий в различных тканях инкубационных яиц. Были отобраны три среднесмешанные пробы каждой типичной категории: хорион-аллантаисная оболочка (ХАО) на 8-й день инкубации, желточные мешки на 13-й, 18-й и 20-й дни инкубации. Исследование проводилось с использованием метода ПЦР в реальном времени (real-time PCR). Сбор проб и подготовка образцов осуществляли в соответствии с установленными стандартами, что позволило обеспечить надежность и точность полученных данных.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: куриные эмбрионы; микрофлора; инкубационные яйца; полимеразная цепная реакция; органические кислоты

СОКРАЩЕНИЯ:

КЭ – куриные эмбрионы, ХАО – хорион-аллантаисная оболочка, ПЦР – полимеразная цепная реакция.

ВВЕДЕНИЕ

Куриные эмбрионы – уникальная биологическая модель, широко применяемая в медицине, фармакологии и ветеринарии. Куриные эмбрионы (КЭ) являются хорошо изученной системой часто применяемой для получения биопрепаратов, в т. ч. вакцин [1, 2]. В частности, использование этого объекта происходит для оценки механизмов действия, выявления свойств препаратов нового поколения, что связано с невероятно высокой чувствительностью зародыша к внешним воздействиям любого генеза [3–6]. Так же КЭ это основа для экспериментального изучения физиологии и патологии сердечно-сосудистой системы. Именно на КЭ изучались роль клеток эндокарда в закладке коронарных сосудов во время трабекуляции миокарда и механизм образования аорты, а так же формирование проэпикарда и эпикарда [7].

Такое широкое использование куриных эмбрионов в различных областях медицины и ветеринарии обусловлено рядом преимуществ, таких как: высокая чувствительность к широкому спектру вирусов; надежные защитные оболочки объекта – скорлупа и подскорлупная оболочка; КЭ легкодоступны и экономичны. К отрицательным сторонам относится нестерильность этого объекта и возможность присутствия в содержимом яиц патогенных агентов (вирусы инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни, гриппа, лейкоза), в том числе и микроорганизмов, что может явиться причиной искажения результатов исследования. Для определения наличия генетического материала бактерий в структурах инкубационных яиц и тканях зародыша в компании ООО «БИОТРОФ» были проведены молекулярно-генетические исследования куриных эмбрионов. В опыте были исследованы эмбрионы 8-, 13-, 18-, 20-суточного возраста.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании был проведен количественный и качественный состав бактерий в различных тканях инкубационных яиц. В опыте были отобраны по 3 среднесмешанные пробы: хорион-аллантаической оболочки (ХАО) от эмбрионов на 8 сутки инкубации, желточных мешков на 13, 18 и 20 сутки инкубации. Исследование проводили методом ПЦР в реальном времени (real-time PCR). Отбор проб и подготовку образцов осуществляли в соответствии с установленными правилами [8].

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Шмаров М. М., Логунов Д. Ю., Черенова Л. В., Пикер Е. Г. Технология получения рекомбинантных аденовирусов CEL0 в куриных эмбрионах в препаративных количествах // Биомедицина. – 200 – № 1 – С. 112–113.
2. Строганова И. Я. Куриные эмбрионы и их использование в вирусологии: метод. указания к лабораторным занятиям / И. Я. Строганова; Красноярский Государственный Аграрный Университет. – Красноярск, 2013. – 19 с.
3. Монстакова Т. В., Азарнова Т. О., Кочиш И. И. Перспективы и преимущества использования эмбрионов кур как модельных систем для фармацевтических исследова-

РЕЗУЛЬТАТЫ

Вне зависимости от срока инкубации во всех образцах были выявлены бактерии, характерные для микробного сообщества желудочно-кишечного тракта в количестве от $5,00 \times 10^4$ до $1,13 \times 10^5$ геном/г. На 8, 13, 20 сутки в образцах выявлены микроорганизмы, относящиеся к сем. *Veillonellaceae* до $2,5 \times 10^4$ геном/г, выполняющих трансформацию органических кислот. На всех сроках инкубации в исследуемых образцах был выделен генетический материал бактерий относящихся к сем. *Enterobacteriaceae* от $4,0 \times 10^4$ до $1,55 \times 10^5$ геном/г, *Bacteroides* от $6,3 \times 10^4$ до $3,52 \times 10^5$ геном/г, *Eubacteriaceae* от $4,0 \times 10^4$ до $1,5 \times 10^5$ геном/г и дрожжи *Candida spp* от $2,5 \times 10^4$ до 7×10^4 геном/г. Семейство энтеробактерий включает большое число представителей нормофлоры организма и, в то же время, значительное количество патогенных бактерий. Бактероиды вовлечены в процессы сбраживания углеводов, утилизации белков и биотрансформации желчных кислот.

В образцах желточного мешка на всех сроках инкубации, помимо представителей нормофлоры, были выявлены условно-патогенные микроорганизмы *Staphylococcus spp.* от $1,0 \times 10^4$ до $1,09 \times 10^5$ геном/г.

ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о наличии генетического материала микроорганизмов в глубинных структурах инкубационных яиц. Предположительно, попадание микроорганизмов в желточные фолликулы возможно еще в организме несушки благодаря механизму бактериальной транслокации. Проникновение бактерий в толщу скорлупы и на поверхность подскорлупной оболочки возможно в первые часы после снесения, в результате остывания яйца и образования воздушной камеры. Выбирая инкубационные яйца как биологическую модель для экспериментов необходимо принимать во внимание возможное наличие не только представителей облигатной микрофлоры ЖКТ, но и условно-патогенной и патогенной микробиоты внутри инкубационных яиц. Так же при выборе поставщика инкубационных яиц следует учитывать зоосанитарный статус птицеводческого предприятия.

ований на примере глициана кобальта // Ветеринарный фармакологический вестник – 2021 – № 2 – С. 84–91.

4. Нургазиев Р. З. Оработка оптимальных условий культивирования штамма вируса болезни Ньюкасла в развивающихся куриных эмбрионах / Р. З. Нургазиев, А. Р. Нургазиева, Е. Д. Крутская [и др.] // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2019. – № 1(50). – С. 148–152. – DOI: 10.31677/2072-6724-2019-50-1-148-152.
5. Князева В. А. Исследование влияния магнитного поля и лазерного излучения на развитие опорно-двигательного аппарата куриного эмбриона / В. А. Князева,

А. Г. Шутенков; науч. рук. Ф. И. Сулейманов // Молодежь – наука и практике АПК: материалы 102-й Международной научно-практической конференции студентов и аспирантов, Витебск, 29–30 мая 2017 г. / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск: ВГАВМ, 2017. – Ч. 1: Ветеринарная медицина и биологические науки. – С. 179.

6. Пяткина А. А, Предельные дозы пенициллина, стрептомицина и амфотерицина-в для SPF-эмбрионов кур, рекомендуемые для вирусологических работ / А. А. Пяткина, Н. В. Мороз, Т. Н. Зыбина [и др.] // Ветеринарная патология. – 2020. – № 4(74). – С. 5–12. – DOI: 10.25690/VETPAT.2020.51.32.005.

7. Каде А. Х. Куриный эмбрион как объект эксперимента для изучения развития сердечно-сосудистой системы / А. Х. Каде, А. И. Трофименко, А. Ю. Туровая [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2018. – Т. 26, № 4. – С. 538–546. – DOI: 10.23888/PAVLOVJ2018264538-546.

8. Пяткина А. А. Предельные дозы пенициллина, стрептомицина и амфотерицина-в для SPF-эмбрионов кур, рекомендуемые для вирусологических работ / А. А. Пяткина, Н. В. Мороз, Т. Н. Зыбина [и др.] // Ветеринарная патология. – 2020. – № 4(74). – С. 5–12. – DOI: 10.25690/VETPAT.2020.51.32.005.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Елена Павловна Горфункель – специалист по качеству научно-производственной компании «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, elena@biotrof.ru

Лариса Александровна Ильина – д-р биол. наук, начальник молекулярно-генетической лаборатории научно-производственной компании «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, biotrof@biotrof.ru

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 27.04.2023 г., одобрена после рецензирования 15.05.2023 г., принята к публикации 30.05.2023 г.

Microflora of hatching eggs and ways of its formation

© 2023. Elena P. Gorfunkel¹, Larisa A. Ilina¹

¹BIOTROPH Ltd, Saint Petersburg, Pushkin, Russia

Corresponding author: Elena P. Gorfunkel, elena@biotrof.ru

ABSTRACT. In this study, the results were obtained reflecting the content of the genetic material of bacteria in incubation eggs. Given the widespread use of chicken embryos in medicine, veterinary medicine and pharmacology, the identification and identification of microorganisms is an important task. In the course of the study, a quantitative and qualitative analysis of the composition of bacteria in various tissues of incubation eggs was carried out. Three average mixed samples of each typical category were selected: chorion-allantois shell (HAO) on the 8th day of incubation, yolk sacs on the 13th, 18th and 20th days of incubation. The study was conducted using real-time PCR (real-time PCR). The collection of samples and sample preparation were carried out in accordance with established standards, ensuring the reliability and accuracy of the obtained data.

KEYWORDS: chicken embryos; microflora; hatching eggs; polymerase chain reaction; organic acids

REFERENCES

1. Shmarov M. M., Logunov D. Yu., Cherenova L. V., Picker E. G. Technology for producing recombinant CELO adenoviruses in chicken embryos in preparative quantities // *Biomedicine*. – 200. – No. 1. – P. 112–113. (In Russ).
2. Stroganova I. Ya. Chicken embryos and their use in virology: method. instructions for laboratory classes / I. Ya. Stroganov; Krasnoyarsk State Agrarian University. – Krasnoyarsk, 2013. – 19 p. (In Russ).
3. Monstakova T. V., Azarnova T. O., Kochish I. I. Prospects and advantages of using chicken embryos as model systems for pharmaceutical research using the example of cobalt glycine // *Veterinary Pharmacological Bulletin*. – 2021. – No. 2. – P. 84–91. (In Russ).
4. Development of optimal conditions for cultivating the Newcastle disease virus strain in developing chicken embryos / R. Z. Nurgaziev, A. R. Nurgazieva, E. D. Krutskaya [et al.] // *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. – 2019. – No. 1(50). – pp. 148–152. – DOI: 10.31677/2072-6724-2019-50-1-148-152. (In Russ).
5. Knyazeva V. A. Study of the influence of a magnetic field and laser radiation on the development of the musculoskeletal system of a chicken embryo / V. A. Knyazeva, A. G. Shutenkov; scientific hands F. I. Suleymanov // *Youth-science and practice of the agro-industrial complex: materials of the 102nd International Scientific and Practical Conference of Students and Postgraduate Students, Vitebsk, May 29–30, 2017 / Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine*. – Vitebsk: VGAVM, 2017. – Part 1: Veterinary medicine and biological sciences. – P. 179 (In Russ).
6. Pyatkina A. A. Limit doses of penicillin, streptomycin and amphotericin-B for SPF chicken embryos, recommended for virological work / A. A. Pyatkina, N. V. Moroz, T. N. Zybina [et al.] // *Veterinary pathology*. – 2020. – No. 4(74). – P. 5–12. – DOI: 10.25690/VETPAT.2020.51.32.005. (In Russ).
7. Kade A. Kh. Chicken embryo as an experimental object for studying the development of the cardiovascular system / A. Kh. Kade, A. I. Trofimenko, A. Yu. Turovaya [et al.] // *Russian Medical and Biological Bulletin named after Academician I. P. Pavlova*. – 2018. – T. 26, No. 4. – P. 538–546. – DOI: 10.23888/PAVLOVJ2018264538-546. (In Russ).
8. Pyatkina A. A. Limit doses of penicillin, streptomycin and amphotericin-B for SPF chicken embryos, recommended for virological work / A. A. Pyatkina, N. V. Moroz, T. N. Zybina [et al.] // *Veterinary pathology*. – 2020. – No. 4(74). – P. 5–12. – DOI: 10.25690/VETPAT.2020.51.32.005. (In Russ).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Elena P. Gorfunkel – Quality Specialist of BIOTROPH Ltd, Saint Petersburg, Pushkin, Russia, elena@biotrof.ru

Larisa A. Ilyina – Doctor of Biological Sciences, Head of the Molecular Genetic Laboratory of BIOTROPH Ltd, Saint Petersburg, Pushkin, Russia, biotrof@biotrof.ru

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted April 27, 2023; approved after reviewing May 15, 2023;
accepted for publication May 30, 2023.