

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

СПОСОБ СОХРАНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КУРИНОГО ЭМБРИОНА С ДЕФЕКТОМ СКОРЛУПЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Пахомова Н.Ю.¹,
Строкова Е.Л.¹,
Мелешко Е.М.²,
Корель А.В.¹,
Гусев А.Ф.¹,
Зайдман А.М.¹

¹ ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России (630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, Россия)

² МУП «Новосибирский зоопарк имени Р.А. Шило» (630001, г. Новосибирск, ул. Тимирязева, 71/1, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Гусев Аркадий Фёдорович,
e-mail: agusev@niito.ru

РЕЗЮМЕ

*Яйцо всегда было и остаётся идеальным объектом для проведения различных научных изысканий. Яйцо – это изолированная яйцеклетка вне материнского организма, поэтому является идеальным объектом для изучения эмбриогенеза и проведения различных манипуляций в процессе эмбриогенеза и до рождения жизнеспособного организма. Существующие методы позволяют проводить экспериментальные манипуляции с зародышем *in situ*, внутри яйцевых оболочек без их повреждения. Однако достижение идеальных параметров закрытия дефекта скорлупы оплодного яйца в эксперименте – залог удачного завершения эксперимента. Периоды эмбриогенеза, особенно на последней стадии, когда происходит остеогенез, требуют присутствия в метаболизме развивающегося цыплёнка достаточного количества ионов кальция, которые жизненно необходимы для формирования полноценного цыплёнка.*

Цель исследования: разработать оптимальный способ закрытия дефекта и фиксации скорлупы яйца после манипуляций или в процессе эксперимента.

Материалы и методы. Эксперимент проводили на фертильных яйцах кур мясной породы бройлеров Росс-308 (ROSS-308) (ЗАО Птицефабрика «Ново-Барышевская», пос. Кольцово, Новосибирская область). В эксперименте было использовано 120 оплодотворённых яиц. Яйца массой 60–70 г инкубировали при температуре 37,5–38 °С и при влажности 50–55 %. Сравнительные анатомо-физиологические параметры оценивали на 7-й, 14-й, 20-й день инкубации и на 1-е сутки постнатального периода. В экспериментальной группе дефект скорлупы закрывали фрагментом скорлупы яйца-донора. Инкубирование проводили в инкубаторе (бытовой инкубатор «Несушка»).

Результаты. Предложенный способ фиксации и закрытия дефекта скорлупы оплодного яйца исключает использование инородных материалов, которые оказывают неблагоприятное воздействие на развитие эмбриона. Уптенцов группы исследования не выявлено анатомо-физиологических отклонений при сравнении показателей с параметрами в группе сравнения в соответствии с классификацией Гамбургера – Гамильтона.

Ключевые слова: развитие куриного эмбриона, дефект скорлупы яйца, эмбриогенез, способ закрытия дефекта скорлупы яйца

Статья поступила: 12.04.2021

Статья принята: 04.10.2021

Статья опубликована: 17.11.2021

Для цитирования: Пахомова Н.Ю., Строкова Е.Л., Мелешко Е.М., Корель А.В., Гусев А.Ф., Зайдман А.М. Способ сохранения жизнеспособности куриного эмбриона с дефектом скорлупы в эксперименте. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(5): 237-244. doi: 10.29413/ABS.2021-6.5.23

METHOD FOR PRESERVING THE VIABILITY OF A CHICKEN EMBRYO WITH A SHELL DEFECT IN EXPERIMENT

Pakhomova N.Yu.¹,
Strokova E.L.¹,
Meleshko E.M.²,
Korel A.V.¹,
Gusev A.F.¹,
Zaydman A.M.¹

¹ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics (Frunze str. 17, Novosibirsk 630091, Russian Federation)

² Rostislav Shilo Novosibirsk Zoo (Timiryazeva str. 71/1, Novosibirsk 630001, Russian Federation)

Corresponding author:
Arkady F. Gusev,
e-mail: agusev@niito.ru

ABSTRACT

The egg has always been and remains an ideal object for conducting various scientific research. An egg is an isolated egg cell outside the mother's body. Therefore, it is an ideal object for studying embryogenesis and performing various manipulations during embryogenesis and before the birth of a viable organism. The existing methods allow conducting experimental manipulations with the embryo in situ, inside the egg shells without damaging them. However, the achievement of ideal parameters for closing the defect of the fertilized egg shell in the experiment is the key to the successful completion of the experiment. Periods of embryogenesis, especially at the last stage, when osteogenesis occurs, require the presence of a sufficient amount of calcium ions in the metabolism of the developing chicken, which are vital for the formation of a full-fledged chicken.

The aim: to develop an optimal method for closing the defect and fixing the egg shell after manipulation or during the experiment.

Materials and methods. The experiment was carried out on fertile eggs of the breed of chickens – meat breed of broilers Ross-308 (ROSS-308), JSC Poultry Farm “Novo-Baryshevskaya” (Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation). In the experiment, 120 fertilized eggs were used. Eggs weighing 60–70 g were incubated at a temperature of 37.5–38.0 °C and 50–55 % humidity. Comparative anatomical and physiological parameters were evaluated on the 7th, 14th, 20th day of incubation and on the 1st day of the postnatal period. In the experimental group, the shell defect was covered with a fragment of the egg shell of the donor. Incubation was carried out in an incubator – a household incubator “Nesushka” (Novosibirsk, Russian Federation).

Results. The proposed method of fixing and closing the defect of the fertilized egg shell excludes the use of foreign materials that have an adverse effect on the development of the embryo. There were no anatomical and physiological deviations in the chicks of the study group when comparing the indicators with the parameters in the comparison group and the Hamburger – Hamilton classification.

Key words: development of a chicken embryo, eggshell defect, embryogenesis, method of closing an eggshell defect

Received: 12.04.2021
Accepted: 04.10.2021
Published: 17.11.2021

For citation: Pakhomova N.Yu., Strokova E.L., Meleshko E.M., Korel A.V., Gusev A.F., Zaydman A.M. Method for preserving the viability of a chicken embryo with a shell defect in experiment. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(5): 237-244. doi: 10.29413/ABS.2021-6.5.23

ВВЕДЕНИЕ

Яйцо всегда было и остаётся идеальным объектом для проведения различных научных изысканий, начиная со времён Аристотеля. По своей сути яйцо является изолированной яйцеклеткой вне материнского организма. Поэтому оно является идеальным объектом для изучения эмбриогенеза и проведения различных манипуляций в процессе эмбриогенеза и до рождения жизнеспособного самостоятельного организма. В экспериментальных исследованиях куриный эмбрион является объектом изучения закономерностей эмбрионального развития. Исследование куриного зародыша имеет свои уникальные особенности: это доступная и управляемая система; манипуляции с куриным эмбрионом могут быть проведены на любом этапе онтогенеза. Эмбрион является максимально изолированным от внешней среды объектом, что уменьшает спонтанную вариабельность воздействия экзогенных факторов в процессе эксперимента. Воздействие экзогенных факторов на зародыш в процессе его онтогенеза в основном проводится в условиях искусственной инкубации. При этом сам процесс инкубации как основной способ получения экспериментальной эмбриональной модели сопровождается неизбежными потерями. В связи с этим, эксперименты с куриными эмбрионами не противоречат принципам биоэтики [1]. Идеальные параметры сочетания биологических сред – белок, желток – делают яйцо универсальной средой для выращивания и анализа микроорганизмов. В микробиологии и вирусологии куриный эмбрион используется для определения патогенности и степени вирулентности микроорганизма, в иммунологии – для изучения толерантности, аллореактивности, онтогенеза В- и Т-лимфоцитов и пр. [2, 3].

Существующие методы позволяют проводить экспериментальные манипуляции с зародышем *in situ*, внутри яйцевых оболочек без их повреждения. Однако достижение идеальных параметров закрытия дефекта скорлупы оплодного яйца в эксперименте – залог удачного завершения эксперимента. Периоды эмбриогенеза, особенно на последней стадии, когда происходит остеогенез, требуют присутствия в метаболизме развивающегося цыплёнка достаточного количества ионов кальция, которые жизненно необходимы для формирования полноценного цыплёнка.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать оптимальный способ закрытия дефекта и фиксации скорлупы яйца после манипуляций или в процессе эксперимента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Разработка проводилась в ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России совместно с Новосибирским

зоопарком им. Р.А. Шило. Работа была одобрена локальным этическим комитетом ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России (выписка из протокола № 006/20 от 10.02.2020).

Эксперимент проводили на фертильных яйцах породы кур – мясная порода бройлеров Росс-308 (ROSS-308) (ЗАО Птицефабрика «Ново-Барышевская»). В эксперименте было использовано 120 оплодотворённых яиц. Яйца массой 60–70 г инкубировали при температуре 37,5–38 °С и влажности 50–55 %. Сравнительные анатомо-физиологические параметры оценивали на 7-й, 14-й и 20-й день инкубации и 1-е сутки постнатального периода. В экспериментальной группе дефект скорлупы закрывали фрагментом скорлупы яйца-донора. Для нивелирования погрешностей соприкосновения поверхности экспериментального яйца и крышечки на края дефекта наносили крошку скорлупы, разведённую в белке. В группе сравнения были также использованы яйца породы кур – мясная порода бройлеров Росс-308 (ROSS-308) (ЗАО Птицефабрика «Ново-Барышевская»), но без дефекта скорлупы. Инкубирование эмбрионов проводилось при тех же параметрах в бытовом инкубаторе «Несушка». В группе сравнения было семь яиц.

Методы статистического анализа

Представленное экспериментальное исследование было спланировано как пилотное гипотезопорождающее исследование в изучаемых группах. Учитывая поисковый гипотезопорождающий характер исследования, нулевую гипотезу исследования не формулировали. Для описания показателей, полученных в ходе эксперимента, была использована только описательная статистика. Меж- и внутригрупповых сравнений интервальных и номинальных переменных, с учётом характера исследования, не проводили.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В доступной литературе не найдено способов, которые могут быть использованы исследователями для закрытия дефекта скорлупы оплодного яйца птицы с целью дальнейшего наблюдения за развивающимся эмбрионом вплоть до его вылупления.

Способ, который применяется для экспериментального заражения куриных эмбрионов в микробиологии, позволяет наблюдать за эмбрионом не более 48 часов [4].

С учётом поставленной цели исследования, авторами статьи были предприняты многочисленные попытки разработать оптимальный способ закрытия дефекта скорлупы, в том числе был разработан оригинальный способ анализа и/или обработки оплодотворённого яйца [5], при котором экспериментальное отверстие скорлупы оплодотворённого яйца закрывалось силиконовой крышечкой. Однако оказалось, что закрытие более чем 10 % скорлупы силиконовой крышечкой (непроницаемой для воздуха) в оплодотворённом яйце

приводит к развитию гипоксии эмбриона и, как следствие, его нежизнеспособности [6].

В настоящее время авторам всё же удалось найти оптимальный способ, который полностью восстанавливает физические параметры скорлупы экспериментального яйца с сохранением гомеостаза.

Способ закрытия дефекта оплодотворенного яйца при создании экспериментальной модели имеет следующие особенности: яйцо должно находиться в горизонтальном положении (зародышем вверх); отверстие в скорлупе должно быть сформировано сверху со стороны зародыша; оценка жизнеспособности эмбриона (пульсация «S-shaped heart» – S-образного сердца); герметичное закрытие дефекта в скорлупе. Согласно предложенному способу для закрытия дефекта скорлупы используется фрагмент скорлупы яйца-донора. Из скорлупы интактного яйца вырезается фрагмент, например, на 5–8 % больше экспериментального отверстия, причём фрагмент скорлупы должен быть вырезан вместе с подскорлуповой оболочкой. Интактное яйцо, так же, как и яйцо, участвующее в эксперименте, обрабатывается дезинфицирующими средствами. После проведения эксперимента на курином эмбрионе отверстие скорлупы яйца закрывается донорским фрагментом и фиксируется, например, размягчённым воском. Применяемый способ закрытия дефекта скорлупы оплодотворенного яйца для проведения экспериментальных исследований подтверждён патентом (Патент на изобретение № 2729370 от 06.08.2020) [7].

В последующем процесс фиксации крышечки-донора был доработан следующим образом: на края дефекта экспериментального яйца наносилась «замазка», полученная из крошки скорлупы, разведённой в яичном белке; далее экспериментальное яйцо находилось вне инкубатора несколько минут при комнатной температуре, после чего его помещали в инкубатор; ротация осуществлялась в обычном режиме, также, как и в группе сравнения.

Предлагаемый способ закрытия и фиксации дефекта скорлупы оплодотворенного яйца в эксперименте полностью основан на использовании видовых биологических материалов. Физические методы соответствуют физиологическим параметрам – фиксация происходит при комнатной температуре, что согласуется с периодом, которому подвергается оплодотворенное яйцо при его естественном инкубировании (переворачивание яйца курицей при высиживании).

Сравнительную анатомо-физиологическую оценку экспериментальной группы и группы сравнения проводили в установленные сроки – 7, 14 и 20 дней инкубационного периода и 1-е сутки постнатального периода (вылупившийся птенец). Для оценки временных параметров развития применяли классификацию Гамбургера – Гамильтона [8]. Для наглядности полученных данных анатомо-физиологические параметры куриных эмбрионов по группам сравнения представлены в табличном варианте (табл. 1–3). Анатомо-физиологические параметры цыплят в первые сутки после вылупления представлены в таблице 4.

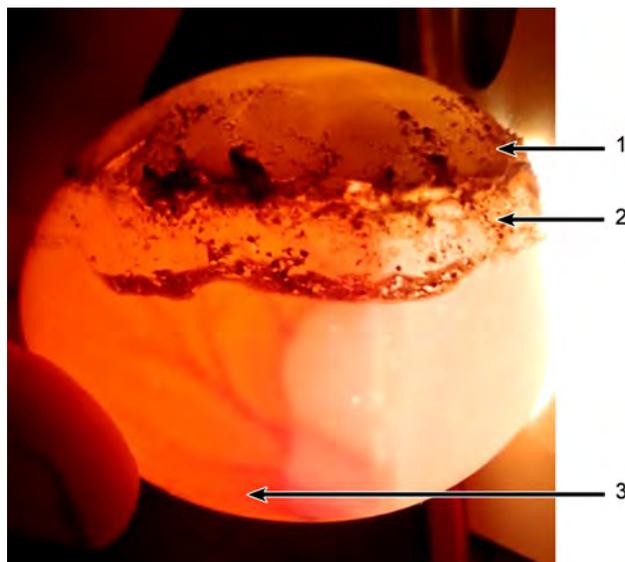


РИС. 1.

Фотография оплодотворённого куриного яйца экспериментальной группы после закрытия и фиксации дефекта скорлупы (на 3-и сутки инкубирования или 13-й стадии по классификации Гамбургера – Гамильтона): экспериментальное яйцо закрыто крышечкой из скорлупы яйца донора (1), которая фиксирована крошкой скорлупы донора, разведённой в белке яйца донора (2); на фотографии наблюдается развивающийся эмбрион (3) и разветвлённая сеть питающих его сосудов хорион-аллантоисной оболочки (фотография яйца сделана под овоскопом ОВ-6)

FIG. 1.

Photo of a fertilized chicken egg of the experimental group after the closure and fixation of the shell defect (on the 3rd day of incubation or stage 13 according to the Hamburger – Hamilton classification): the experimental egg is closed with a lid from the donor's egg shell (1), which is fixed with a crumb of the donor's shell diluted in the donor's egg white (2); the photograph shows a developing embryo (3) and a branched network of vessels feeding it in the chorioallantoic membrane (the photograph of the egg was taken under an OV-6 ovoscope).

Как видно из представленных таблиц, в эмбриональном периоде развития (на 7-е, 14-е, 20-е сутки) анатомо-физиологических различий эмбрионов экспериментальной группы и эмбрионов группы сравнения не выявлено. Анатомо-физиологические критерии обеих групп оказались сопоставимы с критериями, представленными в классификации Гамбургера – Гамильтона, что свидетельствует о физиологическом течении процесса эмбриогенеза.

Яйца группы сравнения и экспериментальной группы размещались в одном инкубаторе, и в процессе инкубирования также подвергались физиологическому процессу ротации, как и яйца группы сравнения. В ходе проведения эксперимента не было выявлено протекания жидкой фракции белка в экспериментальной группе, что свидетельствует о надёжной и герметичной фиксации дефекта скорлупы и сохранении физиологических условий для развития эмбриона.

ТАБЛИЦА 1
СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ
КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ НА 7-Е СУТКИ ЭМБРИОГЕНЕЗА

TABLE 1
COMPARATIVE INDICATORS OF ANATOMICAL
AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF CHICKEN
EMBRYOS ON THE 7TH DAY OF EMBRYOGENESIS

Анатомо-физиологические параметры	Классификация Гамбургера – Гамильтона (30-я стадия, HH30)	Группа сравнения (n = 7)	Экспериментальная группа (n = 120)
Наглядная информация			
Яичный клюв	клюв сформирован	клюв сформирован	клюв сформирован
Верхние и нижние конечности	дифференциация между крылом и лапой	дифференциация между крылом и лапой	дифференциация между крылом и лапой
Кожный покров	сформирован	сформирован	сформирован
Физиологические параметры (шевеление конечностями)	спонтанные движения верхними и нижними конечностями	спонтанные движения верхними и нижними конечностями	спонтанные движения верхними и нижними конечностями
Имитация дыхательных движений	неиндуцированные движения грудной клетки	неиндуцированные движения грудной клетки	неиндуцированные движения грудной клетки

ТАБЛИЦА 2
СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ
КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ НА 14-Е СУТКИ ЭМБРИОГЕНЕЗА

TABLE 2
COMPARATIVE INDICATORS OF ANATOMICAL
AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF CHICKEN
EMBRYOS ON THE 14TH DAY OF EMBRYOGENESIS

Анатомо-физиологические параметры	Классификация Гамбургера – Гамильтона (37-я стадия, HH37)	Группа сравнения (n = 7)	Экспериментальная группа (n = 120)
Наглядная информация			
Яичный клюв	клюв сформирован полностью	клюв сформирован полностью	клюв сформирован полностью
Верхние и нижние конечности	полностью сформированы	полностью сформированы	полностью сформированы
Кожный покров	отмечается появление зачатков пуха	отмечается появление зачатков пуха	отмечается появление зачатков пуха
Физиологические параметры (шевеление конечностями)	активные движения нижними конечностями	активные движения нижними конечностями	активные движения нижними конечностями
Имитация дыхательных движений	неиндуцированная экскурсия грудной клетки	неиндуцированная экскурсия грудной клетки	неиндуцированная экскурсия грудной клетки

ТАБЛИЦА 3
СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ
КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ НА 20-Е СУТКИ ЭМБРИОГЕНЕЗА

TABLE 3
COMPARATIVE INDICATORS OF ANATOMICAL
AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF CHICKEN
EMBRYOS ON THE 20TH DAY OF EMBRYOGENESIS

Анатомо-физиологические параметры	Классификация Гамбургера – Гамильтона (44-я стадия, НН44)	Группа сравнения (n = 7)	Экспериментальная группа (n = 120)
Наглядная информация			
Яичный клюв	клюв сформирован полностью	клюв сформирован полностью	клюв сформирован полностью
Верхние и нижние конечности	полностью сформированы	полностью сформированы	полностью сформированы
Кожный покров	кожные покровы полностью покрыты пухом	кожные покровы полностью покрыты пухом	кожные покровы полностью покрыты пухом
Физиологические параметры (шевеление конечностями)	активные движения верхними и нижними конечностями	активные движения верхними и нижними конечностями	активные движения верхними и нижними конечностями
Имитация дыхательных движений	отмечается экскурсия грудной клетки	отмечается экскурсия грудной клетки	отмечается экскурсия грудной клетки

ТАБЛИЦА 4
СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ЦЫПЛЯТ,
ПЕРВЫЕ СУТКИ

TABLE 4
COMPARATIVE INDICATORS OF ANATOMICAL
AND PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF CHICKENS,
THE FIRST DAY

Анатомо-физиологические параметры	Группа сравнения (n = 7)	Экспериментальная группа (n = 120)
Наглядная информация		
Яичный клюв	клюв сформирован полностью	клюв сформирован полностью
Верхние и нижние конечности	полностью сформированы	полностью сформированы
Кожный покров	кожные покровы полностью покрыты пухом	кожные покровы полностью покрыты пухом
Физиологические параметры (шевеление конечностями)	активные движения верхними и нижними конечностями	активные движения верхними и нижними конечностями
Имитация дыхательных движений	отмечается экскурсия грудной клетки	отмечается экскурсия грудной клетки

Основные процессы жизнедеятельности цыплят экспериментальной группы и группы сравнения в первые сутки жизни также не отличались (двигательная активность, употребление корма, воды, дефекация).

ВЫВОДЫ

Предложенный способ фиксации и закрытия дефекта скорлупы оплодотворённого яйца исключает использование инородных материалов, которые оказывают неблагоприятное воздействие на развитие эмбриона. У птенцов группы исследования не выявлено анатомо-физиологических отклонений при сравнении показателей с параметрами в группе сравнения и классификацией Гамбургера – Гамильтона.

Благодарности

Авторский коллектив выражает благодарность директору Новосибирского зоопарка Шило Андрею Ростиславовичу и всем привлечённым сотрудникам зоопарка за помощь при проведении данного исследования.

Финансирование

Бюджетное финансирование осуществлялось в рамках выполнения поискового экспериментального исследования на тему: «Создание экспериментальной модели идиопатического сколиоза на курином эмбрионе путём ингибирования гена *PAX3* липофильными интерферирующими siРНК».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Трунова А.П. *Особенности развития и иммуногенез куриного эмбриона под влиянием амброзийного антигена*: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Ставрополь; 2008: 22.
2. Баррет Т., Берд П., Клегг Дж., Гулд Э., Халл Р., Инглис С., и др. *Вирусология. Методы*. М.: Мир; 1988.
3. Тимченко Л.Д., Косик Н.В., Ржепаковский И.В., Булгакова И.В. Использование препарата СТЭМБ-М1 для стимуляции роста *Listeria Monocytogenes*. *Экология. Культура. Образование*. 2003; (10-11): 48-49.
4. *Методы экспериментального заражения куриных эмбрионов*. URL: [https://studopedia.ru/2_122933_metodi-](https://studopedia.ru/2_122933_metodi-eksperimentalnogo-zarazheniya-kurinih-embriionov.html)

[eksperimentalnogo-zarazheniya-kurinih-embriionov.html](https://studopedia.ru/2_122933_metodi-eksperimentalnogo-zarazheniya-kurinih-embriionov.html) [дата доступа: 29.09.2020].

5. Зайдман А.М., Пахомова Н.Ю., Строкова Е.Л., Базлов В.А., Мамуладзе Т.З. *Способ анализа и/или обработки оплодотворённого яйца*: Патент № 2665136 Рос. Федерация; МПК G01N 33/08 (2006.01); заявитель и патентообладатель ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России. № 2017144144; заявл. 15.12.2017; опубл. 28.08.2018. 2018; (25).

6. Коростышевская И.М., Максимов В.Ф. Как выживает куриный эмбрион после закрытия половины скорлупы? *Онтогенез*. 2009; 40(2): 136-147.

7. Пахомова Н.Ю., Строкова Е.Л., Зайдман А.М. *Способ закрытия дефекта оплодотворённого яйца при создании экспериментальной модели*: Патент № 2729370. Рос. Федерация; МПК А01К 45/00 (2006.01), G01N 33/08 (2006.01); заявитель и патентообладатель ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России. № 2019115396; заявл. 20.05.2019; опубл. 06.08.2020. 2020; (22).

8. Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J Morphol*. 1951; 88(1): 49-92.

REFERENCES

1. Trunova AP. *Features of development and immunogenesis of a chicken embryo under the influence of ragweed antigen*. Abstract of the Dissertation Thesis for Cand. Sc. (Biol.). Stavropol; 2008: 22. (In Russ.).
2. Barret T, Berd P, Klegg Dzh, Guld E, Xall R, Inglis S, et al. *Virology. Methods*. Moscow: Mir; 1988. (In Russ.).
3. Timchenko LD, Kosik NV, Rzhepakovskij IV, Bulgakova IV. Use of STEMБ-M1 preparation to stimulate the growth of *Listeria Monocytogenes*. *Ekologiya. Kul'tura. Obrazovanie*. 2003; (10-11): 48-49. (In Russ.).
4. *Methods of experimental infection of chicken embryos*. URL: https://studopedia.ru/2_122933_metodi-eksperimentalnogo-zarazheniya-kurinih-embriionov.html [date of access: 29.09.2020]. (In Russ.).
5. Zaydman AM, Pakhomova NYu, Strokova EL, Bazlov VA, Mamuladze TZ. *Method of analysis and/or processing of fertilized egg*. Patent N 2665136 of the Russian Federation. 2018; (25). (In Russ.).
6. Korostyshevskaya IM, Maksimov VF. How chicken embryo survives after half of shell is sealed? *Russian Journal of Developmental Biology*. 2009; 40(2): 136-147. (In Russ.).
7. Pakhomova NYu, Strokova EL, Zaydman AM. *Method for closing a defect in a fertilized egg when creating an experimental model*. Patent N 2729370 of the Russian Federation. 2020; (22). (In Russ.).
8. Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J Morphol*. 1951; 88(1): 49-92.

Сведения об авторах

Пахомова Наталья Юрьевна – кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела организации научных исследований, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: NPahomova@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9575-4096>

Строкова Елена Леонидовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник научно-исследовательского отдела организации научных исследований, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: EZavyalova@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5789-6982>

Мелешко Елена Михайловна – заведующая сектором попугаев, певчей и куриной птицы, МУП «Новосибирский Зоопарк им. П.А. Шило», e-mail: elenamelesko555@gmail.com

Корель Анастасия Викторовна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела организации научных исследований, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: akorel@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2945-3658>

Гусев Аркадий Федорович – кандидат медицинских наук, учёный секретарь, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: agusev@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1572-0089>

Зайдман Алла Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательского отдела организации научных исследований, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: zaydmanam@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6613-1615>

Information about the authors

Natalya Y. Pahomova – Cand. Sc. (Med.), Docent, Senior Research Officer at the Department of Research Organization, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: NPahomova@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9575-4096>

Elena L. Stroikova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Department of Research Organization, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: EZavayalova@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5789-6982>

Elena M. Meleshko – Head of the Department of Ornithology, Rostislav Shilo Novosibirsk Zoo, e-mail: elenamelesko555@gmail.com

Anastasya V. Korel – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Department of Research Organization, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: akorel@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2945-3658>

Arkady F. Gusev – Cand. Sc. (Med.), Scientific Secretary, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: agusev@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1572-0089>

Alla M. Zaydman – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer at the Department of Research Organization, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: zaydmanam@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6613-1615>

Вклад авторов

Пахомова Н.Ю. – проведение исследования, идея, обсуждение концепции, апробация методики, подборка и анализ материала, формулирование выводов, формирование текста статьи, редакция.

Строикова Е.Л. – проведение исследования, обсуждение концепции и анализ материала, редакция.

Мелешко Е.М. – участие в проведении исследования (наблюдение и содержание лабораторных животных), участие в обсуждении концепции и анализе материала.

Корель А.В. – участие в обсуждении концепции и анализе материала, редактирование.

Гусев А.Ф. – участие в обсуждении концепции и анализе материала, редактирование.

Зайдман А.М. – научный руководитель проекта, организация проведения исследования, идея, обсуждение концепции, редактирование.