



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2008137793/21, 22.02.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.02.2007

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
23.02.2006 EP PCT/EP2006/060242

(43) Дата публикации заявки: 27.03.2010 Бюл. № 9

(45) Опубликовано: 10.06.2011 Бюл. № 16

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: EP 1297745 A1, 02.04.2003. RU 94028901
A1, 10.06.1996. RU 94035822 A1, 27.09.1996.
RU 94019739 A1, 27.03.1997.(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на
национальной фазе: 23.09.2008(86) Заявка PCT:
EP 2007/051736 (22.02.2007)(87) Публикация заявки PCT:
WO 2007/096417 (30.08.2007)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городиский и
Партнеры", пат.пов. А.В.Мишу, рег.№ 364

(72) Автор(ы):

МОРАН Леонард (IE)

(73) Патентообладатель(и):

**ОВЕЙДЖЕН ИНТЕРНЕСНЛ
ЛИМИТЕД (IE)****(54) СПОСОБ ИНКУБАЦИИ И ВЫВЕДЕНИЯ ЯИЦ**

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к способу инкубации и выведения незрелых яиц, в частности незрелых яиц, извлеченных в скорлупе из птицы до перехода незрелого яйца в клоаку птицы. Техническим результатом является достижение постоянного высокого показателя выводимости здоровых птиц из удаленных хирургическим путем незрелых яиц. Способ инкубации и выведения яиц включает предынкубационное хранение извлеченных хирургическим путем незрелых яиц. Производят размещение их в инкубационном

изоляторе, приспособленном для обеспечения изменяющегося положения яиц. Осуществляют контроль вентиляции в изоляторе. Взвешивают яйца для мониторинга потери массы. Снижают относительную влажность до уровня от около 15% до около 40% и изменяют температуру в инкубационном изоляторе во время фазы инкубации для получения целевой потери массы во время фазы инкубации. Контролируют во время фазы выведения относительную влажность и температуру в инкубационном изоляторе, повышают относительную влажность до уровня от

около 60 до 75% и прекращают поворачивание яиц. Содержат яйца в изоляторе в свободных от микроорганизмов условиях до выведения.

Способ включает также этап обеспечения птиц добавками к рациону. 2 н. и 12 з.п. ф-лы.

RU 2420063 C2

RU 2420063 C2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
A01K 41/00 (2006.01)
A01K 45/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2008137793/21, 22.02.2007**

(24) Effective date for property rights:
22.02.2007

Priority:

(30) Priority:
23.02.2006 EP PCT/EP2006/060242

(43) Application published: **27.03.2010 Bull. 9**

(45) Date of publication: **10.06.2011 Bull. 16**

(85) Commencement of national phase: **23.09.2008**

(86) PCT application:
EP 2007/051736 (22.02.2007)

(87) PCT publication:
WO 2007/096417 (30.08.2007)

Mail address:

**129090, Moskva, ul.B.Spaskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. A.V.Mitsu, reg.№ 364**

(72) Inventor(s):

MORAN Leonard (IE)

(73) Proprietor(s):

OVEJDZhEN INTERNESHNL LIMITED (IE)

(54) METHOD OF EGGS INCUBATION AND HATCHING

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: this invention relates to method of immature eggs incubation and hatching, in particular, for immature eggs removed in a shell from a bird, before an egg moves into a bird's cloaca. The method of eggs incubation and hatching includes pre-incubation storage of immature eggs removed in a surgical manner. They are placed into an incubation cage fit to ensure variable position of eggs. Ventilation is monitored in the cage. Eggs are weighed to monitor weight loss. Relative humidity is reduced to the level from around 15% to around 40%, and temperature is changed in the incubation cage

during the incubation phase to obtain the target loss of weight during the incubation phase. Relative humidity and temperature are monitored in the incubation cage in process of hatching phase, relative humidity is increased to the level from around 60 to 75 %, and eggs rotation is stopped. Eggs are kept in the cage in conditions free of microorganisms until hatched. The method also includes a stage to provide additives to birds' ration.

EFFECT: constantly high index of healthy birds hatchability from immature eggs removed by a surgical method.

14 cl, 6 ex

Область техники

Настоящее изобретение относится к способу инкубации и выведения незрелых яиц, в частности незрелых яиц, удаленных в скорлупе из птицы до перехода незрелого яйца в клоаку птицы.

Предшествующий уровень техники

В европейском патенте № 01650109 описывается способ разведения птицы со статусом незараженной специфическими инфекциями (свободной от микроорганизмов), включающий содержание птицы-родителя, извлечение незрелого яйца в скорлупе из птицы-родителя до перехода яйца в клоаку птицы, инкубацию незрелого яйца в скорлупе и выведение птенца для получения курицы-несушки.

Для процесса инкубации и выведения очень важны вентиляция, контроль температуры и влажности. Яичная скорлупа, в частности ее поры и надскорлупная оболочка, модулируют дыхательный обмен газов при дыхании и увлажнение развивающегося эмбриона. По существу, скорлупа яйца представляет собой воздухопроницаемую мембрану, и во время развития эмбриона скорлупа яйца позволяет выводить углекислый газ и воду из яйца, а кислороду проникать в яйцо. Поскольку эмбрион растет, ему требуется увеличение подачи кислорода. Кроме того, необходимо поддерживать подходящий уровень влажности в период выведения.

Хорошо известны условия, необходимые для успешной инкубации и выведения обычных яиц, отложенных естественным путем. Эти условия различны для каждого вида. Например, для домашней птицы, такой как куры, полный цикл занимает от 20 до 22 дней, как правило, 21 день, с созданием от 0 до 18 дня условий для инкубации и созданием с 18 по 21 день условий для выведения. Во время инкубации яйца должны быть расположены таким образом, чтобы куполообразное дно с воздушной полостью находилось вверх. Типичными условиями инкубации являются: температура воздуха 37,5°C, относительная влажность (ОВ) 50%, и регулярное поворачивание (периодическое изменение положения) яиц, таким образом, что продольная ось яйца медленно поворачивается на около 80° (40° в каждую сторону от вертикали) каждые 45-180 минут.

За 3 дня перед выведением, на 18 день или после 18 дня, эмбрион в яйце, как правило, перемещается в положение для выведения. На этом этапе яйца больше не поворачивают. С 19 до 21 дня относительная влажность должна быть повышена до от около 60% до 70%. Такой высокий уровень влажности снижает потерю влаги яйцом. Также важно поддерживать соответствующую вентиляцию на этапах инкубации и выведения для обеспечения нормальной концентрации углекислого газа и кислорода в воздухе при нормальном атмосферном давлении (760 мм рт.ст.).

Обычно во время инкубации яйца и перед выведением на 18 или 19 день яйца теряют около 13% от начальной массы. Такая потеря массы является существенной для правильного развития яйца.

В европейском патенте № 0 295 964 описывается технология культивирования *in vitro* птичьего эмбриона. В частности, описывается инкубация эмбриона в закрытом контейнере после удаления эмбриона из скорлупы. Используемым контейнером является предпочтительно часть скорлупы яйца, выбранного от того же вида, что и культивируемый, или в терминах данного изобретения от аналогичных кур.

Аналогично в европейском патенте № 0 511 431 описывается способ культивирования *in vitro* оплодотворенной яйцеклетки курицы, где эмбрион, который был только что оплодотворен, изымают из верхней расширенной части яйцевода курицы в течение часа или около того после откладки яйца и затем осуществляют

последующее культивирование. Оба этих изобретения просто раскрывают искусственное культивирование яиц, которые были удалены без скорлупы.

Настоящее изобретение относится к специальным технологиям инкубации и вывода извлеченных хирургическим путем незрелых яиц в скорлупе, в частности, таких как полученные способом, описанным в европейской патентной заявке № 01650109. Эти технологии дают улучшенные результаты по показателям выхода извлеченных хирургическим путем в скорлупе незрелых яиц по сравнению с традиционными технологиями инкубации и вывода яиц.

Краткое описание изобретения

В основном аспекте настоящее изобретение относится к способу инкубации и вывода незрелых яиц в скорлупе в стерильной среде, включающему этапы необязательного охлаждения и предынкубационного хранения яйца; помещения незрелого яйца в инкубационный изолятор, адаптированный для обеспечения изменяющегося положения яиц; мониторинга вентиляции и потери массы яйцами; снижения относительной влажности (ОВ) в изоляторе до уровня от около 15% до около 40% во время фазы инкубации; повышения относительной влажности (ОВ) до уровня от около 60% до 75% и прекращения поворачивания яиц во время фазы вывода; и содержания яиц в изоляторе до вывода.

Неожиданно требуемая относительная влажность в первые 18 дней фазы инкубации оказалась значительно ниже требуемой для обычных яиц. Использование такой низкой относительной влажности от 15 до 40% для вывода обычных/традиционных яиц (то есть, яиц которые созрели полностью в репродуктивных органах и отложены естественным путем через клоаку) может привести к очень низкому показателю выводимости (<40%), тогда как для незрелых яиц низкая относительная влажность является оптимальным уровнем влажности. Следовательно, применение таких низких уровней относительной влажности в инкубационной фазе расходится с известными способами предшествующего уровня техники.

В первом аспекте настоящее изобретение относится к способу инкубации и вывода извлеченных хирургическим путем незрелых яиц в скорлупе в стерильной среде, включающему следующие этапы:

- a. Предынкубационное хранение извлеченных хирургическим путем незрелых яиц;
- b. Помещение яиц в инкубационный изолятор, приспособленный для обеспечения изменяющегося положения яиц;
- c. Контроль вентиляции в изоляторе;
- d. Взвешивание яиц для мониторинга потери массы;
- e. Снижение относительной влажности до уровня от около 15% до около 40% и изменение температуры в инкубационном изоляторе во время фазы инкубации для получения целевой потери массы во время фазы инкубации;
- f. Контроль во время фазы вывода относительной влажности и температуры в инкубационном изоляторе и повышение относительной влажности до уровня от около 60 до 75% и прекращение поворачивания яиц; и
- g. Содержание яиц в изоляторе в стерильных условиях до вывода.

Согласно настоящему изобретению статус незараженного бактериями яйца, полученного хирургическим путем, сохраняется на протяжении всего способа.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способам инкубации и вывода извлеченных хирургическим путем незрелых яиц от необязательного этапа предынкубационного хранения до инкубации и вывода жизнеспособной птицы.

Яйца, извлеченные хирургическим путем (такие как полученные с использованием процедур по европейской патентной заявке № 01650109), по своей природе являются незрелыми. В некоторых случаях их развитие, например гастрюляция, может быть замедленным. Кроме того, возможно, что у незрелых яиц могут отсутствовать
5 определенные признаки доношенных отложенных естественным путем яиц, например, у них может быть уменьшена надскорлупная оболочка и может быть нарушено формирование пор скорлупы. Было обнаружено, что некоторые удаленные хирургическим путем яйца из-за незрелости формирования скорлупы яйца и
10 воздействия анестезии при проведении хирургического извлечения, применения эвтаназии и неточности времени определения откладки яйца могут иметь неадекватную потерю влаги и соответственно массы тела, которые необходимы для правильного развития эмбриона и жизнеспособности цыпленка. Следовательно, стандартный метод инкубации яиц, отложенных естественным путем, не подходит для
15 достижения оптимальной жизнеспособности извлеченных хирургическим путем незрелых яиц.

В одном варианте воплощения настоящее изобретение относится к способу инкубации и выведения извлеченных хирургическим путем незрелых яиц в скорлупе в
20 стерильной среде, включающему следующие этапы:

- a. Предынкубационное хранение извлеченных хирургическим путем незрелых яиц;
- b. Помещение яиц в инкубационный изолятор, приспособленный для обеспечения изменяющегося положения яиц;
- c. Контроль вентиляции в изоляторе;
- 25 d. Взвешивание яиц для мониторинга потери массы;
- e. Снижение относительной влажности до уровня от около 15% до около 40% и изменение температуры в инкубационном изоляторе во время фазы инкубации для получения целевой потери массы во время фазы инкубации;
- 30 f. Контроль во время фазы выведения относительной влажности и температуры в инкубационном изоляторе и повышение относительной влажности до уровня от около 60 до 75% и прекращение поворачивания яиц; и
- g. Содержание яиц в изоляторе в свободных от микроорганизмов условиях до выведения.

35 Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что традиционная технология инкубации не подходит для извлеченных хирургическим путем незрелых яиц. Новый способ потребовался специально для незрелых яиц для достижения постоянного высокого показателя выводимости здоровых птиц из таких удаленных
40 хирургическим путем незрелых яиц.

В частности, авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что инкубация удаленных хирургическим путем яиц при низкой влажности в течение определенного времени позволяет достичь лучших результатов по показателям жизнеспособности эмбрионов. Неожиданно в течение первых около 18 дней
45 инкубации использование ОВ (относительной влажности) (около 50% ОВ), подходящей для яиц, отложенных естественным путем, дало очень низкий показатель выводимости (<35% выводимости жизнеспособных цыплят) для незрелых яиц, в то время как показатель выводимости жизнеспособных цыплят для отложенных естественным путем яиц составил >85%. Следовательно, вопреки ожиданиям,
50 использование низкой ОВ (15-40%) в течение первых около 18 дней инкубации для яиц, отложенных естественным путем, дало очень низкий показатель выводимости (<40%), неожиданно дало хорошую выводимость для незрелых яиц (>70% выводимость

жизнеспособных цыплят). Содержание при таком низком уровне влажности имеет преимущество, поскольку обеспечивает требуемую потерю массы для гарантии выведения жизнеспособных птиц.

5 В идеале, удаленные хирургическим путем незрелые яйца в скорлупе незаражены микроорганизмами, и способ по настоящему изобретению осуществляют в стерильной атмосфере, чтобы гарантировать условия отсутствия заражения микроорганизмами во время выведения и инкубации.

10 В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения вентиляцию в инкубаторе контролируют. Для вентиляции используют комбинацию фильтрации воздуха через фильтры НЕРА и дополнительной подачи стерильного кислорода к стерильному воздуху, если это необходимо.

15 В другом варианте воплощения настоящего изобретения изолятор обеспечен устройством для взвешивания яиц. Это позволяет проводить непосредственный мониторинг массы яиц. Целевая потеря массы от начала инкубации до периода выведения для отдельных яиц составляет от около 10 до 15% начальной массы.

20 В другом предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения изолятор может включать один или более инкубаторов, таким образом, что каждый инкубатор может одновременно обеспечивать различные условия, в частности уровень относительной влажности, необходимый для оптимальной потери массы и жизнеспособности отдельных яиц. Раздельные инкубаторы могут быть использованы в ситуациях, когда ожидается широкое варьирование в потерях массы.

25 Инкубационный период определяют, как период времени от 0 до 18 дня в инкубаторе. Изменение положения яиц в этот период является жизненно важным. 0-й день соотносится с первым днем помещения яиц в инкубатор. Период выведения определяют как период времени от 19 до 21 дня. В этот период времени не требуется проводить поворачивание яиц.

30 Под нормальным уровнем относительной влажности в период инкубации и выведения понимается уровень относительной влажности от около 50% до 70%. Способ по настоящему изобретению направлен на изменение традиционной инкубации и создание метода инкубации, неизвестного из предшествующего уровня техники. Уникальные характеристики извлеченных хирургическим путем яиц требуют 35 специальных условий, которые традиционные технологии из предшествующего уровня техники не могут обеспечить с достижением требуемых показателей выводимости/жизнеспособности.

40 В предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения уровень относительной влажности снижают в фазе инкубации до от 15 до 35%, предпочтительно от 25 до 35%. Дополнительно температуру в фазе инкубации поддерживают от 36 до 38°C.

45 В другом, предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения уровень относительной влажности в фазе выведения повышают до от 60 до 75%, предпочтительно около 65%. Дополнительно температуру в фазе выведения поддерживают от 36 до 37,5°C. Фаза выведения (этап (e)) может начаться на 18 день или около этого времени.

50 Было установлено, что незрелые яйца по сравнению с яйцами, отложенными естественным путем, требуют значительно более низкой ОВ в течение первых 18 дней, для следующих 3 дней фазы выведения требуется ОВ, аналогичная такой, как для яиц, отложенных естественным путем.

Способ по настоящему изобретению осуществляют в инкубационном изоляторе.

Используемый инкубатор может представлять собой традиционный инкубатор, используемый при стандартном методе выведения, или может представлять собой инкубатор, адаптированный для поддержания стерильности при инкубации и выведении яиц, незараженных микроорганизмами, то есть, инкубационный изолятор.

В идеале, способ инкубации и инкубационный изолятор поддерживают стерильность и статус свободных от микроорганизмов незрелых яиц.

Инкубационный изолятор может быть обеспечен устройством для мониторинга и контроля показателей вентиляции для осушения воздуха и обогащения воздуха кислородом (21-23% при 760 мм рт.ст.). Следовательно, в идеале используют традиционный инкубационный изолятор, модифицированный и способный контролировать вентиляцию. Способ может дополнительно включать этап введения кислорода в инкубационный изолятор. Наиболее предпочтительно кислород вводят при пониженной влажности в инкубаторе.

Удаленные хирургическим путем яйца предпочтительно удаляют из хирургического изолятора, где проводилось хирургическое удаление, и помещают в инкубационный изолятор в течение короткого периода времени, например через 30 минут после хирургического удаления. Это предпочтительно, поскольку гарантирует яйцам вентилирование воздухом перед началом инкубации.

Способ инкубации также может включать дополнительный начальный этап охлаждения яиц после хирургического удаления из птицы-родителя. Он также может включать этап прединкубационного хранения, когда яйца хранят неповрежденными в течение, по меньшей мере, 24 часов, предпочтительно, не более чем в течение 72 часов. Как правило, прединкубационное хранение может составлять от 0 до 72 часов. Предпочтительными условиями хранения для незрелых яиц являются: фильтрация воздуха фильтрами HEPA, температура от 15°C до 23°C, относительная влажность от 50% до 75%, и при хранении следует избегать вибрации и внезапных сотрясений.

В другом варианте воплощения настоящего изобретения яйца могут быть инкубированы с использованием стерильного устройства и воздуха, незараженного специфическими инфекциями или незараженного микроорганизмами.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения способ включает следующие этапы: в течение первых 24 часов могут быть использованы стандартные условия инкубации для различных видов яиц. После этого каждое яйцо должно быть аккуратно исследовано на потерю веса, температуру инкубации, относительную влажность и соответствие газообмена для дыхания, в частности концентрации в воздухе углекислого газа и кислорода. Условия инкубации и выведения могут быть отрегулированы по настоящему изобретению. В идеале, потеря массы для 55 г удаленного хирургическим путем незрелого яйца составляет около 0,4 г/день. Температура инкубации около 37,2-37,6°C является предпочтительной от 0 до 18 дня инкубации, и последующая температура выведения составляет предпочтительно около 36,5-37,5°C. В начале относительная влажность может составлять около 40%, но должна регулироваться ежедневно по показателям вентиляции и ежедневной потери массы яиц вплоть до 18 дня, когда относительная влажность должна быть увеличена до около 65%.

В другом дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения хирургическая процедура извлечения незрелых яиц из матки птицы включает рассечение кожи птицы и манипуляции с маткой. Важно, чтобы яйцо не подверглось загрязнению отходами из кишечника птицы, и важно не повредить яйцо во время манипуляций. Яйцо может быть удалено из птицы, в интактной, в зашитой матке

(например, скрепленной) или прямым рассечением матки. Следует избегать каких-либо прямых контактов с текучими формами стерилизующих растворов во избежание риска снижения жизнеспособности эмбриона. Важно использование асептических технологий.

5 В качестве альтернативы хирургическое удаление включает:
нанесение лапаротомного рассечения и перерезание яйцевода птицы с обоих концов с наложением швов;
нанесение поперечного разреза на дистальные части яйцевода у каждого шва;
10 удаление яйца, заключенного в яйцевод;
стерилизацию яйцевода;
извлечение яйца; и
стерилизацию яйца.

15 Предпочтительно птицу подвергают анестезии, но в качестве альтернативы, птица может быть подвергнута эвтаназии или забита перед удалением яйца в скорлупе. Женская особь птицы-родителя может быть как живой, так и недавно забитой. Живая птица может быть в соответствии с этическими, юридическими и общепринятыми нормами обращения с животными полностью в сознании, находиться под
20 воздействием седативных средств или под анестезией. Яйца и яйцеклетки могут быть оплодотворенными и не оплодотворенными.

Предпочтительно яйцо удаляют максимально близко, как только возможно к расчетному времени естественного перехода яйца в клоаку птицы-родителя.

25 Удаленное хирургическим путем яйцо затем может быть помещено в стерильный контейнер и укупорено. Контейнер должен давать яйцу возможность охлаждаться и подходить по форме и размеру для хранения яйца. Стерильный контейнер представляет собой контейнер с 10-кратным объемом по отношению к яйцу, имеющий пластиковую раму для поддержки и защиты яйца, что гарантирует стабильность и
30 вентиляцию.

Сразу после выведения яиц подходящей средой для выведенных цыплят, выращиваемых птиц, откладывающих яйца и репродуктивно активных птиц является пластиковый изолятор с жесткими стенками с НЕРА фильтром для фильтрации
35 воздуха. Поддерживают положительное давление воздуха и воздухообмен с частыми интервалами (например, 10 раз в час для взрослых птиц, принимая во внимание кубатуру изолятора и плотность посадки). Площадь пола в идеале составляет 0,2-0,4 м² на птицу. Перчатки на входном отверстии защищены от повреждения птицами. Температура воздуха и контролируемая освещенность аналогичны таковым для
40 обычных птиц такого же вида и на том же этапе жизни.

В дополнительном варианте воплощения настоящего изобретения, сразу после выведения удаленного хирургическим путем яйца, полученную растущую и размножающуюся птицу для сохранения ее здоровья и продуктивности содержат в
45 среде, незараженной специфическими инфекциями или стерильной. Может потребоваться регулирование содержания нутриентов в рационе.

Органические микронутриенты, в частности, такие как жир- или водорастворимые витамины, могут быть введены для компенсации потерь из-за стерилизации рациона и
50 из-за отсутствия микроорганизмов-симбионтов. Рационы, стерилизованные гамма-излучением, имеют пониженную концентрацию жир- и водорастворимых витаминов. Кроме того, рацион, облученный гамма-излучением, имеет ограниченный срок годности и подвержен прогорканию жира.

Анализ состава рациона позволяет высчитать необходимые добавки для птиц в

соответствии с этапом жизненного цикла. В зависимости от конкретного нутриента они могут быть введены парентерально или перорально с кормом или с водой. Питьевая вода также должна быть подвергнута гамма-облучению (UV облученная вода может содержать споры бактерий).

5 В дополнительном варианте воплощения настоящее изобретение относится к способу выращивания и размножения из яиц, удаленных хирургическим путем, включающему введение антибиотиков in ova в извлеченные хирургическим путем незрелые яйца. Предпочтительно вводят перорально флюороквиналон, в качестве
10 подходящего антибактериального препарата для инактивации специфических микроорганизмов наряду с другими антимикробными агентами. Антибиотики уничтожают трансовиарные бактериальные и микоплазматические инфекции и оказывают положительное воздействие на жизнеспособность и стерильность
15 эмбрионов и цыплят. Антивирусные препараты, лекарственные препараты, малые молекулы, пептиды и моноклональные антитела также могут быть использованы для уничтожения или профилактики вирусных инфекций.

Следует понимать, что специальные условия, необходимые для инкубации и выведения яиц, варьируют в зависимости, например, от вида и этапа развития, на
20 котором яйцо было удалено из птицы-родителя.

Несмотря на то, что приведенное выше описание относится полностью к домашней птице и, в частности, к курам, следует понимать, что настоящее изобретение может быть осуществлено и на других птицах.

В случае, когда для получения потомства или птиц, получаемых искусственным
25 путем, используют оплодотворенные яйца, они затем могут быть выведены, выращены, содержаться и размножаться в традиционных системах сельского хозяйства, системах, незараженных микроорганизмами, или в изоляторах для контроля проникновения микроорганизмов.

В соответствии с настоящим изобретением для максимальной степени свободы от
30 микроорганизмов, яйца предпочтительно получают асептически от женских особей (кроме того, они также не заражены бактериями), и жизненный цикл должен полностью проходить в изоляторах. Жизненный цикл может полностью проходить вне изоляторов, при условии, что получают яйца и птиц, незараженных
35 микроорганизмами.

Используемые термины «содержат», «содержит», «содержащий» и «включают», «включает», «включающий» или их варианты являются взаимозаменяемыми и их следует интерпретировать в наиболее широком смысле.

40 Настоящее изобретение проиллюстрировано следующими не ограничивающими примерами.

Пример 1

Материалы и методы:

45 Незрелые яйца в скорлупе получали от птиц-родителей по технологиям, описанным в европейской патентной заявке № 01650109.

Незрелые яйца охлаждали после их хирургического удаления из птицы-родителя. Их хранили в покое, по меньшей мере, 24 часа, но не более чем 72 часа. Хранение проводили при следующих условиях: фильтрация воздуха фильтрами HEPA,
50 температура от 15 до 23°C, относительная влажность от 50 до 75%, и яйца хранили, избегая вибрации и внезапных сотрясений.

Яйца инкубировали с использованием стерильного устройства и незараженного воздуха.

В первые 24 часа использовали стандартные условия инкубации, затем для каждого яйца аккуратно проводили мониторинг потери веса, температуры инкубации, относительной влажности и соответствия газообмена для дыхания, в частности концентрации в воздухе углекислого газа и кислорода. В соответствии с этим были отрегулированы условия инкубации и выведения. Например, для снижения концентрации углекислого газа увеличивали скорость вентиляции в инкубационном изоляторе и воздух, поступающий в изолятор, осушали, если он имел повышенную температуру и относительную влажность, что гарантирует поддержание относительной влажности около 25%.

С 1 по 20 день влажность в изоляторе снижали с 40% до 25% для увеличения потери влаги через скорлупу яйца. Такой уровень влажности поддерживали вплоть до 13 дня и затем повышали до 40% с 14 по 18 день с получением общей потери массы 13% с 0 по 18 день. После 18 дня влажность увеличивали до нормального для выведения уровня 65%. Сразу после выведения яиц, подходящей средой для выведенных цыплят, выращиваемых птиц, откладывающих яйца и репродуктивно активных птиц, является пластиковый изолятор с жесткими стенками с НЕРА фильтром для фильтрации воздуха. Поддерживают положительное давление воздуха и воздухообмен с частыми интервалами (например, 10 раз в час для взрослых птиц, принимая во внимание кубатуру изолятора и плотность посадки). Площадь пола составляет 0,2-0,4 м² на птицу. Перчатки на входном отверстии защищены от повреждения птицами. Температура воздуха и контролируемая освещенность аналогичны таковым для обычных птиц такого же вида и на том же этапе жизни.

Результаты:

Определялось воздействие времени прединкубационного хранения (от 0 до 5 дней) и условий, (температура, влажность, ориентированность яйца, вентиляция, вибрация), условий инкубации (температура, влажность, ориентированность яйца, вентиляция, потеря массы), условий содержания и выведения на жизнеспособность эмбриона.

Время хранения:

- 0 дней - выводимость составила 90%;
- 1-3 дня - выводимость составила 90%;
- 4-5 дней - выводимость составила 60%.

Температура, вентиляция/вибрация: при хранении в течение 3 дней:

- около 25°C с вибрацией/вентиляцией - выводимость составила 60%.
- Около 20°C без вибрации/вентиляции - выводимость составила 80%.

Ориентирование яиц и потеря массы:

- яйцо на пологой стороне - потеря массы 7,8%, выводимость 30%,
- яйцо куполообразным концом вверх - потеря массы 10,2-13,1%, выводимость 80-90%.

Эти результаты показали отсутствие негативного воздействия на выводимость хранения вплоть до трех дней удаленных хирургическим путем яиц при наличии вибрации для изменения ориентирования и вентиляции. Также эти результаты подтверждают важность ориентирования яиц во время инкубации.

Пример 2

Воздействие антибиотиков (например, вводимый перорально флюороквиналон) на уничтожение трансовиарных бактериальных и микоплазматических инфекций и жизнеспособность, и стерильность эмбрионов и цыплят.

Результаты:

без антибиотиков - жизнеспособность 22-60% и стерильность 66-100%;

с антибиотиками: жизнеспособность 13-57% и стерильность 89-100%.

Эти результаты показывают полезность применения антибиотиков для удаления трансвариальной инфекции (например, Salmonella) и отсутствие вредного воздействия на жизнеспособность удаленных хирургическим путем яиц.

5 Пример 3

Поддержание здоровья и репродуктивной эффективности при использовании микронутриентных добавок в рационах (включая витамины А, С, Е и К, В, витаминный комплекс).

10 **Результаты:**

в коммерческих рационах, подвергшихся облучению 25 рад, самыми большими были потери витаминов (около 50%) А и В₆. Нормальное состояние здоровья поддерживали рационами с дополнительными добавками. Подтверждается, что птицы, выведенные из удаленных хирургическим путем яиц, могут содержаться в течение полного жизненного цикла и продуцируют яйца с нормальной жизнеспособностью.

15 **Пример 4**

Воздействие обычного уровня ОВ (50%) по сравнению с очень низким уровнем ОВ (25%) в инкубационный период (около 18 дней) на выводимость удаленных хирургическим путем в скорлупе яиц.

Начальная масса яиц около 60г.

20 **Результаты:**

50% ОВ потеря массы яйца во время инкубации 5-9%, выводимость 33%.

25% ОВ потеря массы яйца во время инкубации 8-13%, выводимость 73%.

Эти результаты подтвердили улучшенную выводимость при контролируемой потере массы/потере влаги за счет более низкой ОВ.

25 **Пример 5.**

30 Воздействие анестезии или эвтаназии на показатель выводимости удаленных хирургическим путем яиц.

Воздействие эвтаназии и удаления яйца через 30 минут по сравнению с анестезией в течение 30 минут и воздействие 8-часового хранения по сравнению с 32-часовым предынкубационным хранением.

35 **Результаты:**

эвтаназия: выводимость составила 25% (яйца хранили в течение 32 часов).

Анестезия: выводимость составила 75% (яйца хранили в течение 32 часов).

Выводимость составила 0% (яйца хранили в течение 8 часов).

40 Анестезию проводили смесью кислорода и изофлюрана.

Пример 6

Материалы и методы

Пять взрослых самок и пять взрослых самцов кур со статусом SPF содержали на выбранном рационе и размножали естественным способом.

45 Для определения оптимального времени удаления яиц из брюшной полости птиц-родителей использовали комбинацию определения времени откладки яиц наблюдением и пальпации.

50 Для проведения этой процедуры птиц подвергли эвтаназии смещением шейных позвонков и вскоре после этого проводили процедуру. С передней части и брюшной части удаляли перья и проводили стерилизацию кожи 50% спиртовым раствором йода, нагретым до температуры 37°C. Затем каждую птицу помещают в специально адаптированный хирургический изолятор, стерилизованный 5% раствором

перуксусной кислоты и содержащий стерильные инструменты. Птицу покрывают стерильной хирургической салфеткой, и затем стерильное входное отверстие изолятора закрывают стерильной салфеткой. Наносят лапаротомное рассечение и далее делают аккуратное рассечение и удаляют яйцо из матки/дистальной части репродуктивных органов и проксимально к клоаке. Затем яйцо перемещают в условиях отсутствия заражения бактериями в изолятор, адаптированный, как инкубатор для выведения.

Всего было удачно извлечено сорок одно яйцо через 15-22 минуты после проведения эвтаназии, которые были признаны подходящими для инкубации.

После хранения в течение около 24 часов при температуре 18-20°C без вибрации в вентилируемых пластиковых поддонах для яиц, яйца взвешивали и затем 40 яиц случайным образом помещали от 1 до 4 в маленькие инкубаторы-качалки. В двух инкубаторах поддерживали ОВ от около 16 до 29% (номинальная ОВ 25%) и в двух инкубаторах поддерживали ОВ от около 43 до 54% (номинальная ОВ 50%). Яйца держали воздушной полостью вверх, взвешивали по отдельности на 0, 7 и 18 день инкубации. На 18 день на всех инкубаторах устанавливали показатель относительной влажности около 55-71%. Записывали количество проклюнувшихся яиц и живых цыплят.

В возрасте 1 дня выведения живых цыплят удаляют из изолятора для выведения и перемещают в два больших изолятора для выращивания, подходящие для выращиваемых групп молодых цыплят. Цыплят выращивали на коммерческом рационе, простерилизованном ионизирующим излучением.

В возрасте 18 дней из каждого изолятора для выведения удалили по пять цыплят, подвергли их эвтаназии и взяли образцы для бактериологического исследования на аэробные и анаэробные культуры. Образцы включают печень, легкие, сердечную кровь, влагилице/клоаку, содержимое слепой кишки и тонкого кишечника и фекалии.

Кроме того, 100 яиц, отложенных естественным путем 50 самками, отобранными для хирургического удаления, инкубировали в стандартных условиях выведения (дни с 0 по 18; ОВ около 50%; дни 18-21, ОВ 65%) в качестве контроля. Все яйца инкубировали при температуре 37,4°C.

Результаты

Из искусственно удаленных яиц успешно были выведены жизнеспособные цыплята. В образцах, взятых у цыплят, не было обнаружено ни анаэробных, ни аэробных бактерий.

Для яиц, отложенных естественным путем, выводимость жизнеспособных цыплят составила 91%. Это подтверждает нормальный или высокий уровень естественной оплодотворенности яиц, полученных от самок.

Значительно более высокая выводимость незрелых яиц (удаленных хирургическим путем) была достигнута при инкубации в первые 18 дней при ОВ 25% по сравнению с яйцами, инкубированными при ОВ 50% (73% по сравнению с 33% выводимости жизнеспособных цыплят, соответственно) ($P < 0,05$).

Заключение

Был подтвержден безопасный способ искусственного получения оплодотворенных незараженных яиц от кур. Яйца были жизнеспособны, и полученные из них цыплята также были жизнеспособны и успешно содержались в изоляторах. Однако для достижения показателей выводимости жизнеспособных цыплят, близких к показателям для яиц, отложенных естественным путем, требуется использование аномально низкого уровня относительной влажности. В частности, при

использовании обычной ОВ (50%) уровень выводимости яиц составляет <35% по сравнению с >90% для яиц, отложенных естественным путем и с >70% для удаленных хирургическим путем незрелых яиц. Это противоречит общеизвестным результатам для обычных яиц, где ОВ составила менее чем 40%, подтверждающим низкую выводимость, и контрастирует с повышенной выводимостью, выявленной для незрелых яиц, инкубированных при 25% по сравнению с 50% ОВ. Возбудители инфекции, которые могут контролироваться настоящим изобретением, включают организмы, являющиеся патогенами или не патогенами для соответствующих видов. Они включают виды птичьих (как правило, куры, дикie птицы и индейки), людей и других млекопитающих (как правило, собаки, кошки, лошади, крупный рогатый скот, свиньи, овцы, козы, крысы и мыши). Для целей настоящего изобретения, микроорганизмы включают паразитов, бактерии (включая анаэробные и аэробные виды, виды симбионты и виды, связанные с кишечником), микоплазм, вирусы (включая ретровирусы), прионы, грибки, дрожжи, плесени и фрагменты ДНК и РНК.

В соответствии с настоящим изобретением асептически полученные яйца, если они предназначены для выведения, выращивания, сохранения и размножения птиц, могут быть использованы в комбинации с другим способом контроля микробиологического загрязнения. Такие способы включают дезинфицирующие средства, антимикробные препараты, антибиотики, противовирусные агенты, антипаразитарные средства, иммуномодуляторы и вакцины.

Следует понимать, что согласно настоящему изобретению термин "полученные искусственным путем или удаленные хирургическим путем яйца" означает яйца, удаленные хирургическим путем из птицы-родителя перед переходом яйца в место потенциального заражения. В идеале, одну птицу выращивают в стерильной среде как птицу-родителя, вскармливая птицу стерильным кормом. Затем яйцо извлекают из птицы-родителя искусственно перед переходом яйца в зону потенциального заражения у птицы-родителя, и затем яйцо инкубируют и выводят птицу-несушку, содержащуюся в стерильной среде.

Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается вариантами и способами, описанными выше, но может быть изменено в пределах объема приведенной формулы изобретения.

Формула изобретения

1. Способ инкубации и выведения удаленных хирургическим путем незрелых яиц в скорлупе в стерильной среде, включающий следующие этапы:

- a. предынкубационное хранение извлеченных хирургическим путем незрелых яиц;
- b. помещение яиц в инкубационный изолятор, приспособленный для обеспечения изменяющегося положения яиц;
- c. контроль вентиляции в изоляторе;
- d. взвешивание яиц для мониторинга потери массы;
- e. снижение относительной влажности до уровня от около 15% до около 40% и изменение температуры в инкубационном изоляторе во время фазы инкубации для получения целевой потери массы во время фазы инкубации;
- f. контроль во время фазы выведения относительной влажности и температуры в инкубационном изоляторе и повышение относительной влажности до уровня от около 60 до 75%, и прекращение поворачивания яиц; и
- g. содержание яиц в изоляторе в свободных от микроорганизмов условиях до выведения.

2. Способ по п.1, где незрелые яйца извлечены хирургическим путем из птицы, предпочтительно курицы.

3. Способ по п.1, где изолятор снабжен одним или более инкубаторами, таким образом, что каждый инкубатор может одновременно обеспечивать различные уровни относительной влажности.

4. Способ по п.1, где этап (а) проводят в течение от 0 до 72 ч, предпочтительно, по меньшей мере, около 24 ч, но не более чем около 72 ч.

5. Способ по п.1, где инкубационный период составляет от 0 до 18 дней после начала инкубации.

6. Способ по п.1, где целевая потеря массы для яйца в период инкубации и до периода выведения составляет от около 8% до 15% от начальной массы яйца.

7. Способ по п.1, дополнительно включающий подачу кислорода в изолятор.

8. Способ по п.1, где влажность повышают до от 60% до 70% на этапе (f).

9. Способ по п.1, где этап (е) проводят при температуре от 36 до 38°C.

10. Способ по п.1, где этап (f) проводят при температуре от 36 до 37,5°C.

11. Способ по п.1, где инкубацию и выведение незрелых яиц проводят в стерильном устройстве с атмосферным воздухом с заданным загрязнением.

12. Способ по п.1, где антимикробный препарат вводят in ova в извлеченное хирургическим путем незрелое яйцо.

13. Способ разведения выведенных птиц, полученных способом по любому из предшествующих пунктов, включающий этап обеспечения птиц добавками к рациону.

14. Способ по п.13, где добавки выбирают из жирорастворимых витаминов.