



(21) 申请号 202410094298.0

(22) 申请日 2024.01.23

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 117982425 A

(43) 申请公布日 2024.05.07

(73) 专利权人 瑞先农佐海生物科技(北京)有限公司

地址 101200 北京市平谷区中关村科技园
区平谷园兴谷A区平和街39号院34号
楼A区、13号楼B区

(72) 发明人 刘金祥 纪红梅

(74) 专利代理机构 北京维正专利代理有限公司
11508

专利代理师 尚晓芹

(51) Int.Cl.

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/44 (2017.01)

A61K 47/69 (2017.01)

A61K 31/7036 (2006.01)

A61K 39/245 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/22 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 103340882 A, 2013.10.09

EP 2649989 A1, 2013.10.16

审查员 张影

权利要求书1页 说明书9页

(54) 发明名称

一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂及其制备方法与应用

(57) 摘要

本申请涉及医药技术领域,具体公开了一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂及其制备方法与应用。本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂包括以下重量份的组分:硫酸庆大霉素30-50份、羟丙基 β 环糊精10-30份和一水蔗糖酯15-35份;进一步地,所述硫酸庆大霉素可溶性粉剂还包括助溶剂10-20份、增溶剂10-20份;本申请还提供了上述硫酸庆大霉素可溶性粉剂的制备方法及包含上述硫酸庆大霉素可溶性粉剂的药物组合物。本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂能够与多种油性疫苗联合使用,并且将其与马利克疫苗联合使用时,不会影响马利克疫苗的效价。

1. 一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂,其特征在于,包括以下重量份的组分:硫酸庆大霉素30-50份、羟丙基 β 环糊精10-30份、一水蔗糖酯15-35份、助溶剂10-20份和增溶剂10-20份。

2. 根据权利要求1所述的硫酸庆大霉素可溶性粉剂,其特征在于,所述硫酸庆大霉素可溶性粉剂包括以下重量份的组分:硫酸庆大霉素30-50份、羟丙基 β 环糊精20-30份和一水蔗糖酯20-30份。

3. 根据权利要求1所述的硫酸庆大霉素可溶性粉剂,其特征在于,所述助溶剂选自蔗糖、苯甲酸钠和水杨酸钠中的一种或多种;所述增溶剂选自吐温20、吐温40、聚氧乙烯蓖麻油、泊洛沙姆和失水山梨醇脂肪酸酯中的一种或多种。

4. 根据权利要求1所述的硫酸庆大霉素可溶性粉剂,其特征在于,所述增溶剂为吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的混合物。

5. 根据权利要求4所述的硫酸庆大霉素可溶性粉剂,其特征在于,所述吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的重量比为2:(0.8-1.7)。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的硫酸庆大霉素可溶性粉剂的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

首先将硫酸庆大霉素溶于水中,然后加入其他组分搅拌均匀,完全乳化后,加入pH调节剂,调节pH值为6.9-7.0,经过真空干燥、粉碎,得到粒径为400-500目的硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

7. 根据权利要求6所述的硫酸庆大霉素可溶性粉剂的制备方法,其特征在于,所述真空干燥的工艺参数为:温度为50-70℃、时间3-5h。

8. 一种药物组合物,其特征在于,包括权利要求1-5中任一项所述的硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

9. 根据权利要求8所述的药物组合物,其特征在于,所述药物组合物还包括抗菌药物或疫苗;所述疫苗为马立克疫苗或油性疫苗。

一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂及其制备方法与应用

技术领域

[0001] 本申请涉及医药技术领域,具体涉及一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂及其制备方法与应用。

背景技术

[0002] 在禽类养殖行业,养殖户在对家禽接种疫苗的同时通常会向疫苗中添加抗生素等抗菌药物,一方面能够防止因接种疫苗引起家禽机体抵抗力降低而继发感染细菌性疾病,另一方面能够减少注射次数,减少家禽的应激反应。马立克氏病(Marek's disease,MD)是一种由于鸡感染致病型马立克氏病病毒而引起的高度传染性、高致病性、淋巴组织增生性病毒性肿瘤病。目前针对马立克氏病主要采用马立克疫苗进行预防,而马立克疫苗对pH值及渗透压影响较敏感,将其与其它药物(多数偏酸性,少数碱性)联用时效价容易受影响,导致免疫失败,其目前只能和头孢类抗生素联用。

[0003] 硫酸庆大霉素是一种氨基糖苷类抗生素,对多种革兰阴性菌和阳性菌均有较强的抑杀作用,对支原体也有一定作用。硫酸庆大霉素内服吸收很少,肌注吸收迅速而完全,生物利用度可达90%。然而目前硫酸庆大霉素的可溶性粉只溶于水、不溶于油,因此将无法将其与油性疫苗联合使用,这大大限制了其应用。

发明内容

[0004] 为了提高硫酸庆大霉素的油溶性,同时实现硫酸庆大霉素与马立克疫苗的联用,本申请提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂及其制备方法与应用。

[0005] 第一方面,本申请提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂,采用如下的技术方案:

[0006] 一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂,包括以下重量份的组分:硫酸庆大霉素30-50份、羟丙基 β 环糊精10-30份和一水蔗糖酯15-35份。

[0007] 本申请通过向硫酸庆大霉素中加入羟丙基 β 环糊精和一水蔗糖酯,制得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂既能溶于水、又能溶于油,因此该硫酸庆大霉素可溶性粉剂能够与油性疫苗联合使用;此外,将该硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗联合使用时,不会对马立克疫苗的效价造成影响。

[0008] 本申请中,羟丙基 β 环糊精在水中具有良好的溶解性,并且粘度小、流动性佳,将其与硫酸庆大霉素混合,一方面能够提高硫酸庆大霉素的水溶性,另一方面羟丙基 β 环糊精还能够增加硫酸庆大霉素的稳定性以及生物利用度。一水蔗糖酯中包含一个结晶水,并且分子链上含有酯基,因此一水蔗糖酯同时具备亲水、亲油性,将一水蔗糖酯添加至硫酸庆大霉素中,通过乳化作用,获得硫酸庆大霉素可溶性粉具备优异的油溶、水溶性。

[0009] 在一些实施方案中,所述羟丙基 β 环糊精的重量份可以为10-20份、10-25份、20-25份、20-30份或25-30份。

[0010] 在一个具体的实施方案中,所述羟丙基 β 环糊精的重量份还可以为10份、20份、25份或30份。

[0011] 在一些实施方案中,所述一水蔗糖酯的重量份可以为15-20份、15-25份、15-30份、20-25份、20-30份、20-35份、25-30份、25-35份或30-35份。

[0012] 在一个具体的实施方案中,所述一水蔗糖酯的重量份还可以为15份、20份、25份、30份或35份。

[0013] 可选地,所述硫酸庆大霉素可溶性粉剂包括以下重量份的组分:硫酸庆大霉素30-50份、羟丙基 β 环糊精20-30份和一水蔗糖酯20-30份。

[0014] 可选地,所述硫酸庆大霉素可溶性粉剂还包括助溶剂10-20份、增溶剂10-20份。

[0015] 可选地,所述助溶剂选自蔗糖、苯甲酸钠和水杨酸钠中的一种或多种;所述增溶剂选自吐温20、吐温40、聚氧乙烯蓖麻油、泊洛沙姆和失水山梨醇脂肪酸酯中的一种或多种。

[0016] 在一个具体的实施方案中,所述增溶剂可以为吐温20、聚氧乙烯蓖麻油或泊洛沙姆,还可以为吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的混合物、吐温20和泊洛沙姆的混合物、吐温20和失水山梨醇脂肪酸酯的混合物。

[0017] 可选地,所述增溶剂为吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的混合物。

[0018] 在一些实施方案中,所述吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的重量比可以为2:(0.5-0.8)、2:(0.5-1.2)、2:(0.5-1.7)、2:(0.8-1.2)、2:(0.8-1.7)、2:(0.8-2.0)、2:(1.2-1.7)、2:(1.2-2.0)或2:(1.7-2.0)。

[0019] 在一个具体的实施方案中,所述吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的重量比还可以为2:0.5、2:0.8、2:1.2、2:1.7或2:2.0。

[0020] 可选地,所述吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的重量比为2:(0.8-1.7)。

[0021] 第二方面,本申请提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂的制备方法,包括以下步骤:首先将硫酸庆大霉素溶于水中,然后加入其他组分搅拌均匀,完全乳化后,加入pH调节剂,调节pH值为6.9-7.0,经过真空干燥、粉碎,得到粒径为400-500目的硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0022] 可选地,所述真空干燥的工艺参数为:温度为50-70℃、时间3-5h。

[0023] 第三方面,本申请提供一种药物组合物,包含所述硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0024] 可选地,所述药物组合物还包括抗菌药物或疫苗;所述疫苗为马立克疫苗或油性疫苗。

[0025] 本申请中,硫酸庆大霉素可溶性粉剂一方面有很好的油溶性,能够与油性疫苗(ND、H9)互溶、且不出现分层;另一方面,将硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗联合使用时,不会对马立克疫苗的效价造成影响。

[0026] 综上所述,本申请具有以下有益效果:

[0027] 1.本申请利用硫酸庆大霉素、羟丙基 β 环糊精和一水蔗糖酯制备出一种既能溶于水、又能溶于油的硫酸庆大霉素可溶性粉剂,因此该硫酸庆大霉素可溶性粉剂能够与水性疫苗或油性疫苗联合使用;此外,将该硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗联合使用时,马立克疫苗的pH基本不发生变化,马立克疫苗的效价基本无影响。

[0028] 2.本申请进一步选用重量比为2:(0.8-1.7)的吐温20和聚氧乙烯蓖麻油作为增溶剂,获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗联合使用时,马立克疫苗的渗透压变化更小,疫苗效价影响更小。

具体实施方式

[0029] 本申请提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂,包括以下重量份的组分:硫酸庆大霉素30-50份、羟丙基 β 环糊精10-30份、一水蔗糖酯15-35份、助溶剂10-20份和增溶剂10-20份。进一步地,所述硫酸庆大霉素可溶性粉剂包括以下重量份的组分:硫酸庆大霉素30-50份、羟丙基 β 环糊精20-30份、一水蔗糖酯20-30份、助溶剂10-20份和增溶剂10-20份。

[0030] 其中,所述助溶剂选自蔗糖、苯甲酸钠和水杨酸钠中的一种或多种;所述增溶剂选自吐温20、吐温40、聚氧乙烯蓖麻油、泊洛沙姆和失水山梨醇脂肪酸酯中的一种或多种。进一步地,所述增溶剂为吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的混合物。再进一步地,所述吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的重量比为2:(0.8-1.7)。

[0031] 本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂的制备方法,包括以下步骤:首先将硫酸庆大霉素溶于水中,然后加入其他组分搅拌均匀,完全乳化后,加入pH调节剂,调节pH值为6.9-7.0,经过50-70℃真空干燥3-5h、粉碎,得到粒径为400-500目的硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0032] 本申请中,硫酸庆大霉素购自黑龙江格林赫思生物科技有限公司,羟丙基 β 环糊精的CAS号为12846-35-5;一水蔗糖酯购自江苏久佳生物科技有限公司,CAS号为37318-31-3;苯甲酸钠的CAS号为532-32-1;吐温20购自阿拉丁生化科技股份有限公司;聚氧乙烯蓖麻油为EL35,购自陕西唐尧生物科技有限公司;泊洛沙姆为泊洛沙姆407,购自西安天正药用辅料有限公司;失水山梨醇脂肪酸酯购自河南康之旺生物科技有限公司。本申请的其余原料、试剂、溶剂等均也可通过商购获得。

[0033] 以下结合实施例、性能检测试验对本申请作进一步详细说明。

[0034] 实施例1-8

[0035] 实施例1-8分别提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0036] 上述实施例的不同之处在于:硫酸庆大霉素可溶性粉剂中部分组分的添加量,具体如下表1所示。

[0037] 实施例1-8提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂的制备方法,包括以下步骤:首先将40g硫酸庆大霉素溶于20g水中,然后加入羟丙基 β 环糊精、一水蔗糖酯、助溶剂(苯甲酸钠)15g、增溶剂(吐温20)15g,充分搅拌均匀,完全乳化后,加入pH值调节剂(磷酸缓冲溶液),调节pH值为7.0,在温度为60℃的条件下真空干燥4h,然后用对喷式气流磨进行超微粉碎,得到粒径为400-500目的硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0038] 表1实施例1-8提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂中部分组分的添加量

实施例	硫酸庆大霉素可溶性粉剂部分组分及添加量 (g)	
	羟丙基 β 环糊精	一水蔗糖酯
[0039]	1	25
	2	
	3	
	4	
	5	15
	6	
	7	
	8	

[0040] 实施例9-17

[0041] 实施例9-17分别提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0042] 上述实施例与实施例3的不同之处在于：增溶剂的组分及配比，具体如下表2所示。

[0043] 表2实施例9-17提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂中的增溶剂

实施例	增溶剂的组分及重量比
[0044]	9 聚氧乙烯蓖麻油
	10 泊洛沙姆
[0045]	11 吐温 20：聚氧乙烯蓖麻油=2：0.5
	12 吐温 20：聚氧乙烯蓖麻油=2：0.8
	13 吐温 20：聚氧乙烯蓖麻油=2：1.2
	14 吐温 20：聚氧乙烯蓖麻油=2：1.7
	15 吐温 20：聚氧乙烯蓖麻油=2：2.0
	16 吐温 20：泊洛沙姆=2：1.2
	17 吐温 20：失水山梨醇脂肪酸酯=2：1.2

[0046] 对比例1

[0047] 对比例1提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0048] 上述对比例与实施例3的不同之处在于：硫酸庆大霉素可溶性粉剂中一水蔗糖酯的添加量为0。

[0049] 对比例2

[0050] 对比例2提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0051] 上述对比例与实施例3的不同之处在于：将硫酸庆大霉素可溶性粉剂中一水蔗糖酯替换为木糖醇酐单硬脂酸酯(购自重庆天润生物制品有限公司)。

[0052] 对比例3

[0053] 对比例3提供一种硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0054] 上述对比例与实施例3的不同之处在于：将硫酸庆大霉素可溶性粉剂中一水蔗糖酯替换为15-羟基硬脂酸聚乙二醇酯(HS15,购自西安天正药用辅料有限公司)。

[0055] 性能检测试验(一)将硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗联用,探究硫酸庆大霉素可溶性粉剂对马立克疫苗使用性能的影响。

[0056] 1.硫酸庆大霉素可溶性粉剂对马立克疫苗pH的影响

[0057] 用马立克疫苗稀释液(鸡马立克氏病冷冻疫苗专用稀释液,北京翎羽公司提供,包装:400mL/瓶)25mL溶解5g硫酸庆大霉素可溶性粉剂,震荡2-3min完全溶解,获得待测样,检测待测样的pH值,平行试验5次,取平均值;以鸡马立克氏病冷冻疫苗作为空白组,检测结果如表3所示。

[0058] 注:待测样的pH值在6.9-7.1之间时,符合规定,马立克疫苗的效价不受影响。

[0059] 2.硫酸庆大霉素可溶性粉剂对马立克疫苗渗透压的影响

[0060] 用马立克疫苗稀释液25mL溶解5g硫酸庆大霉素可溶性粉剂,震荡2-3min完全溶解,获得待测样;待测样采用CM320冰点渗透压测定仪检测渗透压,平行试验5次,取其平均值;以鸡马立克氏病冷冻疫苗作为空白组,结果如表3所示。

[0061] 注:待测样的渗透压在250-450mOsm/L之间时,符合规定,马立克疫苗的效价不受影响。

[0062] 3.疫苗细胞活力检测

[0063] (1)溶液配制:

[0064] 供试品溶液的制备:量取50mL马立克专用稀释液于250mL三角瓶中,加入准确称量的供试药品5g(本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂),加入马立克冷冻活疫苗(鸡马立克氏病冷冻疫苗,CVI 988Rupens株,包装:2000羽份/瓶)适量,终使细胞浓度为 10^5 - 10^6 /mL,摇匀,作用0h和1h进行测定。

[0065] 对照品溶液的制备:量取50mL马立克专用稀释液于250mL三角瓶中,加入马立克冷冻活疫苗适量,终使细胞浓度为 10^5 - 10^6 /mL,摇匀,作用0h和1h进行测定。

[0066] (2)测定:取供试品溶液6mL于离心管中,2000r/min,离心20min,弃掉上清液,加入3mL马立克专用稀释液,摇匀,取10 μ L加0.4%台盼蓝染色液10 μ L,混匀,吸取10 μ L混匀液加入一次性计数板中,水平静置30S,插入细胞计数仪对焦,并进行细胞计数和活性计算,记录读数并保存。同法测定对照品溶液。

[0067] (3)结果计算如下式计算,供试品溶液测定6次,以平均值计算结果。降解结果如下表3所示。

$$[0068] \quad \text{细胞活力} = \frac{\text{活细胞数}}{\text{总细胞数}} \times 100\%$$

$$\text{细胞活力比} = \frac{\text{供试品溶液细胞活力}}{\text{对照品溶液细胞活力}} \times 100\%$$

[0069] 表3实施例1-17与对比例1-3中的性能检测结果

项目		pH 值	渗透压 mOsm/L	不同作用时间时的细胞活力比		
				0h	1h	
[0070]	实 施 例	1	7.04	364	1	0.98
		2	7.03	343	1	1
		3	7.05	321	1	0.99
		4	7.05	336	0.99	0.98
		5	7.03	355	0.99	0.96
		6	7.06	328	1	0.98
[0071]		7	7.05	339	1	0.98
		8	7.04	367	0.99	0.97
		9	7.05	356	0.98	0.96
		10	7.05	333	0.99	0.95
		11	7.04	314	0.98	0.95
		12	7.05	293	0.98	0.96
		13	7.05	284	0.98	0.97
		14	7.06	289	0.98	0.97
		15	7.03	303	0.97	0.96
		16	7.04	320	0.99	0.97
		17	7.05	316	0.97	0.95
	对 比 例	1	7.04	437	0.97	0.89
		2	7.06	405	0.93	0.92
		3	7.04	420	0.95	0.94
	空白组		7.0	268	1	1

[0072] 根据表3的检测结果可知,实施例1-17获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,其pH值在6.9-7.1之间,渗透压范围值约在284-367mOsm/L之间,细胞活力比 ≥ 0.95 ;对比例1不添加一水蔗糖酯制得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,渗透压高达437mOsm/L,1h细胞活力比仅为0.89;对比例2采用木糖醇酐单硬脂酸酯制得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,渗透压高达415mOsm/L,1h,细胞活力比为0.92;对比例3采用木糖醇酐单硬脂酸酯制得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,渗透压高达430mOsm/L,1h细胞活力比为0.94;空白组的pH值在7.0,渗透压范围值约在268mOsm/L。因此,说明本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂对马立克疫苗的pH与渗透压影响不大,pH值与渗透压在合理范围内且更接近于空白组,说明本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂对马立克疫苗的效价不会产生影响。

[0073] 实施例1-7的检测结果可知,随着羟丙基 β 环糊精、一水蔗糖酯添加量的增加,制得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,pH值基本保持不变,而渗透压则呈现先降低后增加的趋势;尤其是实施例2-4、实施例6-7获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,渗透压 $<350\text{mOsm/L}$ 。因此,说明本申请将羟丙基 β 环糊精的添加量控制在20-30份之间、一水蔗糖酯的添加量控制在20-30份之间,能够获得对马立克疫苗的渗透压影响更小的硫酸庆大霉素可溶性粉剂,其与马立克疫苗联合使用不会影响其效价。

[0074] 实施例3、实施例9-17的检测结果可知,实施例3、实施例9-10仅采用一种仍溶剂获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,pH值为7.05、渗透压为321-356mOsm/L;实施例16采用重量比为2:1.2的吐温20和泊洛沙姆的混合物作为增溶剂,获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,pH值为7.04、渗透压为320mOsm/L;实施例17采用重量比为2:1.2的吐温20和失水山梨醇脂肪酸酯的混合物作为增溶剂,获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,pH值为7.05、渗透压为316mOsm/L;而实施例11-15采用重量比为2:(0.5-2.0)的吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的混合物作为增溶剂,获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,渗透压为284-314mOsm/L。说明本申请采用吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的混合物作为增溶剂,获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂对马立克疫苗的渗透压影响更小,联合使用不会影响疫苗效价。

[0075] 进一步对比发现,实施例12-14将吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的重量比控制为2:(0.8-1.7),获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂与马立克疫苗混合后,渗透压 $<300\text{mOsm/L}$,更接近于空白组的渗透压。因此,说明本申请进一步采用重量比为2:(0.8-1.7)的吐温20和聚氧乙烯蓖麻油作为增溶剂,能够获得对马立克疫苗疫苗效价影响更小的硫酸庆大霉素可溶性粉剂。

[0076] 综上所述,本申请将硫酸庆大霉素可溶性粉剂中各组分的重量份控制在以下范围内:硫酸庆大霉素30-50份、羟丙基 β 环糊精10-30份、一水蔗糖酯15-35份、助溶剂10-20份和增溶剂10-20份;能够获得与马立克疫苗联用、且不影响马立克疫苗效价的硫酸庆大霉素可溶性粉剂;进一步地,本申请选用重量比为2:(0.8-1.7)的吐温20和聚氧乙烯蓖麻油的混合物作为增溶剂,获得的硫酸庆大霉素可溶性粉剂对马立克疫苗的渗透压影响更小。

[0077] (二) 溶解性试验

[0078] (1) 首先取硫酸庆大霉素可溶性粉剂20g置于瑞先农佐海公司提供纳米分散液25mL中,震荡2-3min使其完全溶解,获得稀释液;稀释液静置4h不分层、无沉淀;

[0079] (2) 然后取步骤(1)获得的稀释液22mL加入到500mL ND新城疫灭活疫苗中,反复颠倒使其充分溶解,静置192h后,观察是否有分层、沉淀现象。结果如下表4所示。

[0080] 表4溶解性试验检测结果

检测对象		溶解性	检测对象		溶解性
[0081] 实 施 例	1	不分层、清澈无沉淀	实 施 例	12	不分层、清澈无沉淀
	2	不分层、清澈无沉淀		13	不分层、清澈无沉淀

[0082]		沉淀			
	3	不分层、清澈无沉淀		14	不分层、清澈无沉淀
	4	不分层、清澈无沉淀		15	不分层、清澈无沉淀
	5	不分层、清澈无沉淀		16	不分层、清澈无沉淀
	6	不分层、清澈无沉淀		17	不分层、清澈无沉淀
	7	不分层、清澈无沉淀	对比例	1	明显分层、有大量沉淀
	8	不分层、清澈无沉淀		2	未分层、但有少量浑浊与沉淀
	9	不分层、清澈无沉淀		3	微弱分层、有少量沉淀
	10	不分层、清澈无沉淀	空白组		不分层、清澈无沉淀
	11	不分层、清澈无沉淀	/		/

[0083] 根据表4的溶解性试验检测结果可知,本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂能够溶解于油性疫苗(ND新城疫灭活疫苗)中,并且静置192h后未出现分层、沉淀现象。

[0084] (三)将硫酸庆大霉素可溶性粉剂与油性疫苗联用,探究硫酸庆大霉素可溶性粉剂对油性疫苗效价的影响。

[0085] 1.配制注射液:

[0086] (1)首先用1瓶(25mL)纳米分散液(瑞先农佐海公司提供)溶解实施例13的硫酸庆大霉素可溶性粉剂20g,充分振荡3min,待完全溶解后,得到稀释药液。

[0087] (2)用注射器抽取上述稀释药液11mL注射到250mL ND新城疫灭活疫苗中,获得硫酸庆大霉素-ND联用注射液。

[0088] 用注射器抽取上述稀释药液11mL注射到250mL H9灭活疫苗中,获得硫酸庆大霉素-H9联用注射液。

[0089] 2.肉鸡试验

[0090] (1)在一标准化白羽肉鸡笼养场选取400只羽鸡,分为4组,每组100只。其中,1组羽

鸡颈皮下注射硫酸庆大霉素-ND联用注射液;1组羽鸡颈皮下注射硫酸庆大霉素-H9联用注射液;1组羽鸡颈皮下注射ND新城疫灭活疫苗;1组羽鸡颈皮下注射H9灭活疫苗;然后在相同的环境下进行相同条件的饲养。

[0091] (2) 分别在注射后的1d、7d、14d、21d、28d、35d、42d日龄采血,并标准抗原测定ND抗体、H9抗体以及H9的HI抗体,

[0092] 3.检测结果如下表5所示。

[0093] 表5油性疫苗效价检测结果

检测抗体	注射液	1d	7d	14d	21d	28d	35d	42d
ND	硫酸庆大霉素-ND联用注射液	8.5	5.3	3.1	1.35	4.53	5.85	6.17
	ND 新城疫灭活疫苗	8.5	5.3	3.5	1.42	4.76	6.24	6.26
H9	硫酸庆大霉素-H9联用注射液	10.5	5.6	2.9	1.54	4.12	5.35	5.94
	H9 灭活疫苗	10.5	5.6	2.7	1.47	4.55	5.67	6.11
HI	硫酸庆大霉素-H9联用注射液	10.5	5.6	2.6	1.41	4.61	5.71	6.17
	H9 灭活疫苗	10.5	5.6	2.4	1.51	4.76	5.78	6.25

[0095] 通过表5的检测结果可知,将本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂添加至ND新城疫灭活疫苗和H9灭活疫苗后,ND新城疫灭活疫苗和H9灭活疫苗效价基本无影响。因此,说明本申请提供的硫酸庆大霉素可溶性粉剂能够与多种油性疫苗联合注射使用,并且不会影响油性疫苗的效价。此外,上述联合使用能够减少对家禽的注射次数,从而减少应激反应。

[0096] 虽然,上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本发明作了详尽的描述,但在本发明基础上,可以对之作一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本发明要求保护的范围。