发明名称

一种球虫病疫苗助凝剂

摘要

本发明公开了一种球虫病疫苗助凝剂，其特征在于，该助凝剂是由羧甲基纤维素、低聚糖和干粉所构成，其组分含量（以助凝剂重量为100%计） ：羧甲基纤维素5%～20%，低聚糖0.5%～3%，其余为低聚糖。上述助凝剂具有能使球虫卵囊均匀地悬浮在饮水中并可维持6小时以上而不沉降。一方面，球虫病疫苗接种前无须先行停水，既省事又减少应激，避免出现抢水现象；另一方面，延长饮水时间，鸡只饮水量相对均匀；最终确保球虫病疫苗接种的均匀性，为球虫病疫苗的推广应用提供了简便可行的方案。
1、一种球虫病疫苗助悬剂，其特征在于，该助悬剂是由羧甲基纤维素、低聚糖和吹干粉所构成，其组分含量以助悬剂重量为 100% 计：羧甲基纤维素 5%~20%，吹干粉 0.5%~3%，其余为低聚糖。

2、根据权利要求 1 所述的球虫病疫苗助悬剂，其特征在于，所述低聚糖为低聚乳糖、低聚半乳糖、低聚果糖、低聚异麦芽糖、帕拉金糖、低聚龙胆糖、大豆低聚糖、棉籽糖、野芝麻四糖中的一种或几种的组合。
说明 书

一种球虫病疫苗助悬剂

技术领域：
本发明涉及本发明属于兽用疫苗免疫接种助悬剂，更确切地说，本发明是一种由多种成分组合而成的助悬效果长达 6 小时以上的球虫病疫苗助悬剂，使球虫病疫苗免疫接种途径采用无须先行停水的饮水接种法成为可能。

背景技术：
鸡球虫病是危害集约化养鸡业最严重的疾病之一，其对鸡的危害与一些烈性传染病相当。迄今，鸡球虫病防制的主要手段是使用抗球虫药物进行化学防治。然而，随着抗球虫药物的广泛和连续使用，耐药性与药物残留两大问题日趋严重，通过免疫来预防鸡的球虫病的研究已经引起了广泛关注。免疫免疫效果的因素多样，而科学的免疫方法是确保诱发效果持久、均匀免疫力的必要保证。鸡球虫弱毒活卵囊疫苗的唯一免疫接种途径是口服，逐只滴服对鸡的应激大，且免疫时费时费力，球虫卵囊在干燥环境中很快死亡而不能拌入饲料中让鸡长时间采食；饮水免疫操作简单，对鸡群应激小，但因卵囊密度大，很快就沉入饮水器底部造成大部分疫苗不能发挥应有的作用，故免疫时必须加入一种能使卵囊漂浮在饮水中的助悬剂。据有关报道，目前所采用的助悬剂虽能使卵囊在一定时间内悬浮在饮水中，但维持时间很短，一般不超过 2 小时，为了让鸡群在 2 小时内将混有疫苗的水饮完，免疫前必须先行停水，这往往导致鸡群抢着喝水，一些强壮的鸡只饮得过多而部分体弱者饮得过少，甚至没有喝到，造成免疫
剂量不均均。当疫苗卵囊经鸡群繁殖后散播大量的子代卵囊于粪便和垫料中时，鸡群中漏免或免疫剂量不足的鸡只就会因缺少基础免疫或基础免疫不足而发生重度感染，从而出现血便和增重受阻，甚至死亡，严重影响鸡群的生产性能。

发明内容：

本发明的目的就是克服已有技术的一些缺点，探索一种助悬效果持久的球虫病疫苗助悬剂，达到免疫前无须先行停水而免疫接种剂量均匀的效果，以解决球虫病疫苗的免疫接种方法问题。

本发明是通过下述技术方案来实现的：本发明所述的助悬剂是由羧甲基纤维素、低聚糖和吹干粉所构成，其组分含量（以助悬剂重量为 100% 计）：羧甲基纤维素 5%～20%，吹干粉 0.5%～3%，其余为低聚糖。

羧甲基纤维素，又名 CMC（英文 Carboxy Methyl Cellulose 的缩写），是一种高分子阴离子型的纤维素醚。外观为白色或微黄色粉末，无臭、无毒、易吸潮、稍有咸味，其取代度大于 0.4 时为水性，随着取代度上升，水溶性的透明度相应改善，它不溶于酸、醇、醚、氯仿、苯等有机溶剂，但溶于水而形成稳定透明的胶体溶液。羧甲基纤维素具有增稠、悬浮、分散、乳化、粘结、保水、保护胶体等多种优异性能，可作为乳化剂、增稠剂、分散剂、稳定剂等，有“工业味精”之美称。

低聚糖又称寡糖，是指 2～10 个单糖以糖苷键连接的化合物的总称，主要包括：低聚乳糖、低聚半乳糖、低聚果糖、低聚异麦芽糖、帕拉金糖、低聚龙胆糖、大豆低聚糖、棉籽糖、野芝麻四糖等，最先是作为人的保健品进入市场。据报道，在饲料中添加适量的低聚糖，能改善家禽肠道内的
微生态环境，提高家禽的免疫力，促进生长，具有类似于益生素的作用。球虫病疫苗免疫后其免疫反应往往会对鸡肠道造成轻微的损伤作用，短期内影响鸡体的增重，在球虫病疫苗助悬剂中添加一定量的低聚糖，对克服该问题将有一定的帮助。另一方面，低聚糖是一种糖类物质，可作为分散助剂，增加分散介质的粘度，并被吸附于混悬微粒的表面增加其亲水性，有利于减小微粒的沉降速度和聚结，增加混悬剂的稳定性。

吹干粉是一种干燥剂，防止羧甲基纤维素和低聚糖在保存期间吸潮变质。

本发明通过将上述三种物质按一定比例组合而成的助悬剂，能使球虫卵囊均匀地悬浮在饮水中并可维持6小时以上而不沉降。一方面，球虫病疫苗接种前无须先行停水，既省事又减少应激，避免出现鸡群抢水现象；另一方面，延长饮水时间，鸡只饮水量相对均匀。这最终确保球虫病疫苗接种的均匀性，为球虫病疫苗的推广应用提供了简便可行的方案。

具体实施方式

本发明的助悬剂由15%羧甲基纤维素、83%低聚糖和2%吹干粉经混合构成（以助悬剂重量为100%计）。

下面用实例进一步说明本发明的效果：

例1卵囊沉降静态测定试验

1材料与方法：
1.1球虫卵囊混合液：含柔嫩艾美耳球虫（Eimeria tenella）、毒害艾美耳球虫（E. necatrix）、巨型艾美耳球虫（E. maxima）和堆型艾美耳球虫（E. acervulina）4个种，以1:1:1:1比例混匀，用2.5%重铬酸钾溶
液配成 100 万个卵囊/ml 的球虫病疫苗液。

1.2 试验分组与处理:

一组：将球虫卵囊混合液充分摇匀，吸取 2ml 加入到 1000ml 饮水中，从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌均匀；称取本发明助悬粉 7g，缓缓加入上述球虫卵囊液中，边加边从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌，直至助悬剂完全溶解，球虫卵囊液呈糊状。

二组：按使用说明称取某公司出售的球虫病疫苗助悬剂 20g，缓缓加入到 1000ml 饮水中，从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌均匀，直至助悬剂完全溶解；将球虫卵囊混合液充分摇匀，吸取 2ml 加入到上述溶液中，从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌均匀。

三组（空白对照组）：将球虫卵囊混合液充分摇匀，吸取 2ml 加入到 1000ml 饮水中，从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌均匀。

分别于 0h、1h、2h、4h、6h、10h 用移液枪吸取每组上层液体 15μl，置于血球计数板中进行卵囊计数，每组每次从 6 个取样点吸液计数，取其平均值。

2 结果

本发明助悬粉能使球虫卵囊均匀地悬浮在饮水中并可维持 6h 以上而不沉降；而某公司出售的球虫病疫苗助悬剂到 2h 时卵囊已下降了 67.1%。
具体数据见表 1:
表 1  球虫病疫苗助涂料实验室静态测定试验结果

<table>
<thead>
<tr>
<th>组别</th>
<th>时间（h）</th>
<th>实测数据（个卵囊/15μ1）</th>
<th>平均数（个卵囊/15μ1）</th>
<th>比例（%）</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>第一组</td>
<td>0</td>
<td>28,32,30,26,29,33</td>
<td>29.7</td>
<td>100</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1</td>
<td>30,32,29,28,31,27</td>
<td>29.5</td>
<td>99.3</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>2</td>
<td>28,27,30,31,28,32</td>
<td>29.3</td>
<td>98.7</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>4</td>
<td>25,29,30,26,29,33</td>
<td>28.7</td>
<td>96.6</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>6</td>
<td>29,23,29,26,31,32</td>
<td>28.3</td>
<td>95.3</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>10</td>
<td>26,24,29,22,27,20</td>
<td>24.7</td>
<td>83.2</td>
</tr>
<tr>
<td>第二组</td>
<td>0</td>
<td>27,29,32,31,29,29</td>
<td>29.5</td>
<td>100</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1</td>
<td>13,17,11,19,16,21</td>
<td>16.2</td>
<td>54.9</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>2</td>
<td>7,10,11,8,13,9</td>
<td>9.7</td>
<td>32.9</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>4</td>
<td>2,5,1,4,4,6</td>
<td>3.7</td>
<td>12.5</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>6</td>
<td>0,1,1,0,2,3</td>
<td>1.2</td>
<td>4.1</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>10</td>
<td>0,0,0,0,0,0</td>
<td>0</td>
<td>0</td>
</tr>
<tr>
<td>第三组</td>
<td>0</td>
<td>30,28,32,26,32,33</td>
<td>30.2</td>
<td>100</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1</td>
<td>3,1,3,2,2,4</td>
<td>2.5</td>
<td>8.3</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>2</td>
<td>0,1,1,0,0,0</td>
<td>0.3</td>
<td>1.0</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>4</td>
<td>0,0,0,0,0,0</td>
<td>0</td>
<td>0</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>6</td>
<td>0,0,0,0,0,0</td>
<td>0</td>
<td>0</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>10</td>
<td>0,0,0,0,0,0</td>
<td>0</td>
<td>0</td>
</tr>
</tbody>
</table>

例 2  鸡球虫病弱毒疫苗不同免疫接种方法的效果比较试验

1 材料与方法：

1.1 试验雏鸡

3000 只 1 日龄石歧杂商品鸡苗，购自高明墟岗鸡场，采用地面垫料平养，自由采食。
1.2 鸡球虫病弱毒活卵囊四价疫苗（正典球苗--COVAC）

由本单位研制，含柔嫩艾美耳球虫（Eimeria tenella）、毒害艾美耳球虫（E. necatrix）、巨型艾美耳球虫（E. maxima）和雏型艾美耳球虫（E. acervulina）4 个种，免疫剂量为 1200 个卵囊/鸡。

1.3 饲料

由广东省广弘九江饲料有限公司提供，为全价料，不添加任何抗球虫药物。

1.4 试验设计

将上述 3000 只试验雏鸡随机分成 3 组，每组 1000 只。第 1 组为停水饮水免疫组，第 2 组为不停水饮水免疫组，第 3 组为潜制免疫组，每组于 4 日龄时进行免疫接种。具体处理如下：

第 1 组：免疫前先停水 2h，再进行饮水免疫接种球虫病疫苗。先按每只鸡制水后 2 小时内需要饮用的水量约 5ml 称量本组所需的水量即 5kg 水，按使用说明加入某公司出售的球虫病疫苗助悬剂 1 包，从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌均匀，再加入 1000 羽份正典球苗（用前充分摇匀），从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌均匀。将上述疫苗液均一地分配到 10 个饮水器中，均匀地放置入鸡舍内让鸡只自由饮用，直至全部饮完再换饮清水。

第 2 组：免疫前不须停水，直接进行饮水免疫接种球虫病疫苗。先按每只鸡平时 4～6 小时内需要饮用的水量约 6ml 称量本组所需的水量即 6 kg 水，再加入 1000 羽份正典球苗（用前充分摇匀），从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌均匀，然后慢慢倒入 50g 本发明助悬粉，边倒边
从不同方向（顺时针、逆时针、上下）反复搅拌，直至助悬粉完全溶解，疫苗液呈糊状。将上述疫苗液均一地分配到 10 个饮水器中，均匀地放置入鸡舍内让鸡只自由饮用，直至全部饮完再换饮清水。

第 3 组：逐只鸡滴嘴免疫正典球苗，按 1 瓶 80ml（1000 羽份/瓶）计算每羽滴 2 滴（0.04ml/滴）。

1.5 观察指标

1.5.1 临床观察

整个试验期间，每天做好详细记录，包括鸡群的健康状况，发病、死亡的鸡数，诊断结果，药耗费用，用料量等。

1.5.2 粪便检查

分别于 10、20、30、40 日龄时从每组鸡舍地面的多个部位采集新鲜粪便样品各 20 份，进行克粪便球虫卵囊计数（OPG），以监测卵囊排出情况。

1.5.3 体重比较

每隔 2 周各组随机抽取 30～60 只鸡逐只称量体重，采用 SPSS 软件对数据进行统计分析。

1.5.4 成活率及料肉比的统计

试验结束后，统计各组鸡的成活率和料肉比。

2 结果

2.1 试验全期各组临床表现

免疫后第 13～14 天，3 组鸡只均出现不同程度的血便，尤以第 1 组最严重，每平方米面积约有 10～15 堆，死鸡 9 只；而第 2 组和第 3 组症状较轻，每平方米面积仅有 1～3 堆血便。立即应用球速克进行治疗，到免疫后
第15天时情况已基本好转，球虫病得到控制，以后再未发现有临床球虫病。

2.2 各组死亡、成活情况

试验期间，各组均有鸡只死亡，经剖检鉴定，第1组因球虫死亡率为0.9%；而第2组和第3组均为非球虫病致死。具体情况见表2。

表2 各组死亡情况统计

<table>
<thead>
<tr>
<th>组别</th>
<th>原始只数</th>
<th>非球虫死亡情况</th>
<th>因球虫死亡情况</th>
<th>成活率（%）</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td>死亡数</td>
<td>死亡率（%）</td>
<td>死亡数</td>
</tr>
<tr>
<td>第1组</td>
<td>1000</td>
<td>18</td>
<td>1.8</td>
<td>9</td>
</tr>
<tr>
<td>第2组</td>
<td>1000</td>
<td>19</td>
<td>1.9</td>
<td>0</td>
</tr>
<tr>
<td>第3组</td>
<td>1000</td>
<td>16</td>
<td>1.6</td>
<td>0</td>
</tr>
</tbody>
</table>

2.3 各组粪便中球虫卵囊排出情况

各组粪便中球虫卵囊排出情况见表3。

表3 各组鸡的球虫检出率及克粪便卵囊计数（OPG）

<table>
<thead>
<tr>
<th>组别</th>
<th>10日龄</th>
<th>20日龄</th>
<th>30日龄</th>
<th>40日龄</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td>检出率</td>
<td>OPG</td>
<td>检出率</td>
<td>OPG</td>
</tr>
<tr>
<td>第1组</td>
<td>100%</td>
<td>14221±5993</td>
<td>100%</td>
<td>5614±3652</td>
</tr>
<tr>
<td>(20/20)</td>
<td></td>
<td></td>
<td>(20/20)</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>第2组</td>
<td>100%</td>
<td>31745±1025</td>
<td>95%</td>
<td>1460±541</td>
</tr>
<tr>
<td>(20/20)</td>
<td></td>
<td></td>
<td>(19/20)</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>第3组</td>
<td>100%</td>
<td>7425±1167</td>
<td>100%</td>
<td>3925±2988</td>
</tr>
<tr>
<td>(20/20)</td>
<td></td>
<td></td>
<td>(20/20)</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

注：采用SPSS软件的S-N-K法（即q检验法），*表示第2组与第1组、第3组相比差异显著（P<0.05）。

从表3可见，3组均于10d时卵囊数最高，以后迅速下降，30d降到最低点，到40d时略有回升。这种变化趋势尤以第2组（不停水饮水免疫组）最明显，10d其OPG值达31745±1025，显著高于第1组和第3组（P<0.05），20d时迅速降为1460±541，至30d时其OPG值更低，只有90±49。
2.4 各组各个生长阶段的平均体重

从表4可见，于14d时以第1组（停水饮水免疫组）的平均体重较低，于28d、42d时则以第3组（滴嘴免疫组）均重较低，其余各日龄内组均重差异不显著。

表4 各组各个生长阶段的平均体重

<table>
<thead>
<tr>
<th>组别</th>
<th>14d</th>
<th>28d</th>
<th>42d</th>
<th>52d</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>第1组</td>
<td>198.90±3.44&quot;</td>
<td>619.36±7.25&quot;</td>
<td>1309.56±17.74&quot;</td>
<td>1723.70±18.10‡</td>
</tr>
<tr>
<td>第2组</td>
<td>206.80±3.94</td>
<td>626.35±7.31</td>
<td>1325.28±19.32</td>
<td>1725.42±24.52</td>
</tr>
<tr>
<td>第3组</td>
<td>216.30±2.87</td>
<td>604.02±6.49</td>
<td>1244.30±16.63</td>
<td>1681.38±20.04</td>
</tr>
</tbody>
</table>

注：采用SPSS软件的S-N-K法（即q检验法），上标相同的组间或同组不同日龄间差异不显著（P＞0.05），上标不同的组间或同组不同日龄间差异显著（P＜0.05）。

2.5 试验全期的饲料报酬

从表5可见，第3组试验全期其料肉比无明显差异。

表5 试验全期各组饲料转化率

<table>
<thead>
<tr>
<th>组别</th>
<th>总增重（kg）</th>
<th>总耗料（kg）</th>
<th>料肉比</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>第1组</td>
<td>1721.2</td>
<td>3774.5</td>
<td>2.19</td>
</tr>
<tr>
<td>第2组</td>
<td>1747.1</td>
<td>3780.0</td>
<td>2.16</td>
</tr>
<tr>
<td>第3组</td>
<td>1691.6</td>
<td>3672.5</td>
<td>2.17</td>
</tr>
</tbody>
</table>

3 结论

从上述各项指标来看，第2组不停水免疫的接种方法的免疫结果较为理想，并且采取不停水饮水免疫，使鸡只免受因停水、捉鸡的应激。