# (19) 中华人民共和国国家知识产权局





# (12) 发明专利申请

(10)申请公布号 CN 102225094 A (43)申请公布日 2011.10.26

(21)申请号 201110175846.5

*A61K 33/14* (2006. 01)

- (22)申请日 2011.06.28
- (71) 申请人 上海海洋大学 地址 201306 上海市浦东新区临港新城沪城 环路 999 号
- (72)发明人 许丹 吕利群 郭帅 王土
- (74) 专利代理机构 上海卓阳知识产权代理事务 所(普通合伙) 31262

代理人 曹翠娟

(51) Int. CI.

A61K 36/58 (2006.01)

**A61P 37/04** (2006. 01)

A61K 31/194 (2006.01)

*A61K 31/195* (2006. 01)

A61K 31/205 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页

#### (54) 发明名称

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂及其制备方法和应用

# (57) 摘要

本发明涉及一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,所述的复合免疫增强剂由以下重量百分比的各组分组成:小檗提取物20-40%, 苦楝叶提取物5-15%, 氯化钠25-40%, 柠檬酸6-17%, 氨基磺酸5-20%, 椰油酰胺丙基甜菜碱2-10%。本发明还提供了一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的应用及其制备方法。本发明优点在于:本发明原料简单易得,制备成本较低;本发明配制简单,使用方便,可以直接添加到黄颡鱼饲料中,口服投喂,也可以在水体中泼酒使用,便于黄颡鱼服用;本发明无毒副残留性、无抗药性、环保,对饲料适口性无任何不良影响。

- 1. 一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,其特征在于,所述的复合免疫增强剂由以下重量百分比的各组分组成:小檗提取物 20-40%, 苦楝叶提取物 5-15%, 氯化钠 25-40%, 柠檬酸 6-17%, 氨基磺酸 5-20%, 椰油酰胺丙基甜菜碱 2-10%。
- 2. 根据权利要求 1 所述的防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,其特征在于, 所述的复合免疫增强剂由以下重量百分比的各组分组成:小檗提取物 40%, 苦楝叶提取物 10%, 氯化钠 25%, 柠檬酸 6%, 氨基磺酸 10%, 椰油酰胺丙基甜菜碱 9%。
- 3. 根据权利要求 1 所述的防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,其特征在于, 所述的小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 80<sup>2</sup>90℃条件下烘干,将烘干后的小檗果 实粉碎后即为小檗提取物。
- 4. 根据权利要求 1 所述的防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,其特征在于, 所述的苦楝叶提取物的制备方法为:取新鲜苦楝叶,捣碎后放入容器中,注满清水后搅拌均 匀,阴凉处发酵 7 天,然后将残渣用 20 目筛网过滤,剩余液体在 50<sup>~</sup>60℃条件下烘干即成苦 楝叶提取物。
- 5. 根据权利 1-4 任一所述的防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,其特征在于,所述的复合免疫增强剂在制备防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂药物中应用。
- 6. 一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备方法,其特征在于,所述的制备方法包括以下步骤:
- (a)小檗提取物的制备:取小檗果实在80<sup>2</sup>90℃条件下烘干,将烘干后的小檗果实粉碎:
- (b) 苦楝叶提取物的制备:取新鲜苦楝叶,捣碎后放入容器中,注满清水后搅拌均匀,阴凉处发酵7天,然后将残渣用20目筛网过滤,剩余液体在50~60℃条件下烘干;
  - (c)将各组分混合均匀,完成制备。

# 一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂及其制备 方法和应用

# 技术领域

[0001] 本发明涉及一种复合免疫增强剂,具体地说,是一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂及其制备方法。

# 背景技术

[0002] 黄颡鱼在分类上隶属于鲶形目、黄颡鱼属,有黄颡鱼、江黄颡鱼(瓦氏黄颡鱼)、岔尾黄颡鱼、光泽黄颡鱼等4种,目前用于人工养殖的主要是黄颡鱼和江黄颡鱼。黄颡鱼虽然个体较小,但其肉味鲜美,营养丰富,很受消费者欢迎。目前,黄颡鱼的池塘集约式养殖在广东、四川、湖北、浙江等省都得到了较快的发展(刘兴旺和张海涛,2010)。但是,黄颡鱼养殖业在快速发展的同时也面临着相当严重病害危机。其中危害最为严重的是黄颡鱼出血性水肿病。据初步研究,病原系细菌性,主要症状为病鱼体表泛黄,黏液增多;咽部皮肤破损充血呈圆形孔洞;腹部膨大、肛门红肿、外翻;头部充血;背鳍肿大,胸鳍与腹鳍基部充血,鳍条溃烂,甚至腹部自胸鳍到腹鳍纵裂,胆汁外渗;腹腔淤积大量血水或黄色冻胶状物,胃、肠内无食,胃苍白,肠内充满黄色脓液,肝脏上有黄色斑块,脾坏死,肾脏上有霉黑点(李晓凤等,2003)。该病在苗种培育期间最易发生,死亡率高达80%。目前,关于此病的防治的方法多为水体泼洒强氯精等化学消毒剂或口服恩诺沙星等抗生素药物(郑夫跃,2008),存在药物残留的风险及对养殖鱼的次生损害。

[0003] 到目前为止,在黄颡鱼的研究中有人用芽孢杆菌、低聚糖复合制剂及中草药制剂作为饲料免疫增强剂,发现能够提高黄颡鱼的免疫水平并促进生长(朱浩等,2008),但专门针对黄颡鱼出血性水肿病的一种绿色环保的免疫类物质还没有见到。因此,研制一种复合免疫增强剂来提高黄颡鱼自身的免疫力,同时能够有效抑制黄颡鱼出血性水肿病病菌,从而提高黄颡鱼养殖过程出血性水肿病发病几率以提高养殖成活率具有十分重要的意义。

[0004] 中国专利文献 CN 101390925A,公开日 2009 年 3 月 25 日,发明名称为一种淡水鱼苗用复合免疫增强剂,该发明公开了一种淡水鱼苗用复合免疫增强剂,其特征是由 β - 葡聚糖、壳聚糖、枯草芽孢杆菌、维生素 C、柴胡、黄芪和杜仲所组成,它们的质量百分数范围分别为 25-35、20-30、15-25、10-15、8-13、7-11 和 5-8。该发明可以对淡水鱼苗起到一定的作用,提高鱼苗的免疫力,但是对于能够防治黄颡鱼的出血性水肿病的复合免疫增强剂,目前还未见报道。

#### 发明内容

[0005] 本发明的目的是针对现有技术中的空缺,提供一种能够防治黄颡鱼出血性水肿病的免疫增强剂。

[0006] 本发明的再一的目的是,提供一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的应用。

[0007] 本发明的另一的目的是,提供一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的

制备方法。

[0008] 为实现上述目的,本发明采取的技术方案是:一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,所述的复合免疫增强剂由以下重量百分比的各组分组成:小檗提取物20-40%,苦楝叶提取物5-15%,氯化钠25-40%,柠檬酸6-17%,氨基磺酸5-20%,椰油酰胺丙基甜菜碱2-10%。

[0009] 所述的复合免疫增强剂由以下重量百分比的各组分组成:小檗提取物 40%,苦楝叶提取物 10%,氯化钠 25%,柠檬酸 6%,氨基磺酸 10%,椰油酰胺丙基甜菜碱 9%。

[0010] 所述的小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在80<sup>9</sup>0℃条件下烘干,将烘干后的小檗果实粉碎后即为小檗提取物。

[0011] 所述的苦楝叶提取物的制备方法为:取新鲜苦楝叶,捣碎后放入容器中,注满清水后搅拌均匀,阴凉处发酵7天,然后将残渣用20目筛网过滤,剩余液体在50<sup>60</sup>℃条件下烘干即成苦楝叶提取物。

[0012] 为实现上述第二个目的,本发明采取的技术方案是:所述的复合免疫增强剂在制备防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂药物中应用。

[0013] 为实现上述第三个目的,本发明采取的技术方案是:一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备方法,所述的制备方法包括以下步骤:

- (a) 小檗提取物的制备:取小檗果实在80<sup>2</sup>90℃条件下烘干,将烘干后的小檗果实粉碎:
- (b) 苦楝叶提取物的制备:取新鲜苦楝叶,捣碎后放入容器中,注满清水后搅拌均匀,阴凉处发酵7天,然后将残渣用20目筛网过滤,剩余液体在50~60℃条件下烘干:
  - (c) 将各组分混合均匀,完成制备。

[0014] 本发明优点在于:

- 1、本发明原料简单易得,制备成本较低;
- 2、本发明配制简单,使用方便,可以直接添加到黄颡鱼饲料中,口服投喂,也可以在水体中泼洒使用,便于黄颡鱼服用;
  - 3、本发明无毒副残留性、无抗药性、环保,对饲料适口性无任何不良影响。

#### 具体实施方式

[0015] 下面结合实施例对本发明提供的具体实施方式作详细说明。

[0016] 实施例 1

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备(一)

取小檗提取物 40kg, 苦楝叶提取物 10kg, 氯化钠 25kg, 柠檬酸 6kg, 氨基磺酸 10kg, 椰油酰胺丙基甜菜碱 9kg, 混合均匀即可完成制备。其中所述小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 80℃条件下烘干,将烘干后的小檗果实粉碎后即得; 所述苦楝叶提取物的制备方法为:取新鲜苦楝叶 10kg, 捣碎后放入 20L 容器中, 注满清水后搅拌均匀, 阴凉处发酵 7 天, 然后将残渣用 20 目筛网过滤, 剩余液体在 50℃条件下烘干即得。

# [0017] 实施例 2

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备(二)

取小檗提取物 20kg, 苦楝叶提取物 6kg, 氯化钠 27kg, 柠檬酸 17kg, 氨基磺酸 20kg, 椰油

酰胺丙基甜菜碱 10kg,混合均匀即可完成制备。其中所述小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 90℃条件下烘干,将烘干后的小檗果实粉碎后即得;所述苦楝叶提取物的制备方法为:取新鲜苦楝叶 6kg,捣碎后放入 20L 容器中,注满清水后搅拌均匀,阴凉处发酵 7 天,然后将残渣用 20 目筛网过滤,剩余液体在 50℃条件下烘干即得。

## [0018] 实施例3

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备(三)

取小檗提取物 30kg, 苦楝叶提取物 10kg, 氯化钠 30kg, 柠檬酸 6kg, 氨基磺酸 20kg, 椰油酰胺丙基甜菜碱 4kg, 混合均匀即可完成制备。其中所述小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 85℃条件下烘干,将烘干后的小檗果实粉碎后即得; 所述苦楝叶提取物的制备方法为:取新鲜苦楝叶 10kg, 捣碎后放入 20L 容器中, 注满清水后搅拌均匀, 阴凉处发酵 7 天, 然后将残渣用 20 目筛网过滤, 剩余液体在 50℃条件下烘干即得。

# [0019] 实施例 4

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备(四)

取小檗提取物 20kg, 苦楝叶提取物 15kg, 氯化钠 25kg, 柠檬酸 10kg, 氨基磺酸 20kg, 椰油酰胺丙基甜菜碱 10kg, 混合均匀即可完成制备。其中所述小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 90℃条件下烘干, 将烘干后的小檗果实粉碎后即得; 所述苦楝叶提取物的制备方法为: 取新鲜苦楝叶 15kg, 捣碎后放入 20L 容器中, 注满清水后搅拌均匀, 阴凉处发酵 7天, 然后将残渣用 20目筛网过滤, 剩余液体在 55℃条件下烘干即得。

# [0020] 实施例 5

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备(五)

取小檗提取物 30kg, 苦楝叶提取物 5kg, 氯化钠 26kg, 柠檬酸 17kg, 氨基磺酸 20kg, 椰油酰胺丙基甜菜碱 2kg, 混合均匀即可完成制备。其中所述小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 80℃条件下烘干,将烘干后的小檗果实粉碎后即得; 所述苦楝叶提取物的制备方法为:取新鲜苦楝叶 5kg, 捣碎后放入 20L 容器中, 注满清水后搅拌均匀, 阴凉处发酵 7 天, 然后将残渣用 20 目筛网过滤, 剩余液体在 60℃条件下烘干即得。

#### [0021] 实施例 6

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备(六)

取小檗提取物 20kg, 苦楝叶提取物 10kg, 氯化钠 30kg, 柠檬酸 10kg, 氨基磺酸 20kg, 椰油酰胺丙基甜菜碱 10kg, 混合均匀即可完成制备。其中所述小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 85℃条件下烘干, 将烘干后的小檗果实粉碎后即得; 所述苦楝叶提取物的制备方法为: 取新鲜苦楝叶 10kg, 捣碎后放入 20L 容器中, 注满清水后搅拌均匀, 阴凉处发酵 7天, 然后将残渣用 20目筛网过滤, 剩余液体在 55℃条件下烘干即得。

# [0022] 实施例 7

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备(七)

取小檗提取物 20kg, 苦楝叶提取物 15kg, 氯化钠 40kg, 柠檬酸 10kg, 氨基磺酸 5kg, 椰油酰胺丙基甜菜碱 10kg, 混合均匀即可完成制备。其中所述小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 85℃条件下烘干, 将烘干后的小檗果实粉碎后即得; 所述苦楝叶提取物的制备方法为:取新鲜苦楝叶 15kg, 捣碎后放入 20L 容器中, 注满清水后搅拌均匀, 阴凉处发酵 7 天, 然后将残渣用 20 目筛网过滤, 剩余液体在 60℃条件下烘干即得。

# [0023] 实施例 8

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的制备(八)

取小檗提取物 20kg, 苦楝叶提取物 15kg, 氯化钠 25kg, 柠檬酸 15kg, 氨基磺酸 15kg, 椰油酰胺丙基甜菜碱 10kg, 混合均匀即可完成制备。其中所述小檗提取物的制备方法为:取小檗果实在 90℃条件下烘干, 将烘干后的小檗果实粉碎后即得; 所述苦楝叶提取物的制备方法为:取新鲜苦楝叶 15kg, 捣碎后放入 20L 容器中, 注满清水后搅拌均匀, 阴凉处发酵 7天, 然后将残渣用 20目筛网过滤, 剩余液体在 50℃条件下烘干即得。

## [0024] 实施例 9

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的生长实验

# 1、实验材料

材料选择:一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂 A(按实施例 1 制备所得), 黄颡鱼膨化饲料(浙江恒兴饲料有限公司生产)。

[0025] 动物选择:选择浙江湖州菱湖6口黄颡鱼养殖池塘作为实验对象,随机选择3口池塘作为实验组,另外三组作为对照组。

# [0026] 2、给药方法

将本发明一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂按照 1.5kg/吨的量添加到黄颡鱼膨化饲料中,作为实验组喂养饲料,对照组投喂等量的未添加本发明的黄颡鱼膨化饲料。投喂时间为 5 个月。

# [0027] 3、观察方法

投喂饲料 2 个月后,在 6 个池塘中分别取样 10 尾黄颡鱼,分别测定其肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性,养殖 5 个月后,将 6 口池塘清塘抓鱼计算亩产量。

# [0028] 4、实验结果

黄颡鱼生长实验结果参见表 1,由表 1 可以看出:

普通膨化饲料中添加本发明一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,黄颡鱼肝脏 SOD 活性提高了约 38%,平均体重提高了 21%,平均亩产提高了 23%。该试验结果说明:使用本发明的免疫增强剂能够有效提高黄颡鱼的免疫水平,并促进黄颡鱼的生长速度。

[0029] 表 1. 本发明对黄颡鱼免疫活性及体重和亩产的影响

	肝脏 SOD (U/mg)	平均体重(g)	亩产(kg)
对照组	57. 65	53	1832
实验组	85. 23	64	2245

#### 实施例 10

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的出血性水肿实验

#### 1、实验材料

材料选择:一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂 A(按实施例 1 制备所得)。 [0030] 动物选择:选择浙江湖州菱湖一口爆发黄颡鱼出血性水肿病的池塘作为实验对象。

#### [0031] 2、给药方法

实验初期阶段,在池塘中按照 0.3ppm 的浓度连续泼洒本发明一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂 3 天,3 天之后的后续养殖中,每 15 天使用该免疫增强剂一次,均按照 0.3ppm 浓度泼洒,泼洒时间至黄颡鱼清塘。

# [0032] 3、观察方法

在黄颡鱼清塘时,根据清塘所得黄颡鱼数量和鱼苗总量计算池塘总体养殖成活率。

## [0033] 4、实验结果

根据清塘之后所得鱼苗数量计算,该池塘总体养殖成活率86%,未因黄颡鱼出血性水肿病造成大规模死亡。该实验结果说明使用本发明的免疫增强剂在水体中泼洒能够有效治疗黄颡鱼出血性水肿病,降低因该病发生造成的黄颡鱼死亡。

# [0034] 实施例 11

一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂的感染实验

## 1、实验材料

材料选择:一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂 A(按实施例 1 制备所得), 发生出血性水肿病的黄颡鱼作为感染源。

[0035] 动物选择:选择水族箱中养殖的初始体重约为1.6g的黄颡鱼作为实验对象。

# [0036] 2、实验方法

按照质量比为 0.2%的添加量在黄颡鱼饲料中添加本发明一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂,在水族箱中养殖初始体重约为 1.6g的黄颡鱼 40 天,然后用发生出血性水肿病的黄颡鱼作为感染源,将病死的黄颡鱼粉碎后投喂给养殖 40 天的黄颡鱼,投喂时间为 6 天。

## [0037] 3、观察方法

观察水族箱中的黄颡鱼是否被感染。

# [0038] 4、实验结果

在投喂 6 天之后,水族箱中黄颡鱼未发现感染症状,结果表明本发明所述的免疫增强 剂能够有效提高黄颡鱼抗出血性水肿病的能力。

[0039] 综上所述,可见本发明一种防治黄颡鱼出血性水肿病的复合免疫增强剂不仅能够有效提高黄颡鱼的免疫水平,促进黄颡鱼的生长速度,还能够有效治疗黄颡鱼出血性水肿病,降低因该病发生造成的黄颡鱼死亡率,并且有效提高黄颡鱼抗出血性水肿病的能力,另外,本发明原料简单易得,制备成本较低,且配制简单,使用方便,可以直接添加到黄颡鱼饲料中,口服投喂,也可以在水体中泼洒使用,无毒副残留性、无抗药性、环保,对饲料适口性无任何不良影响,适合推广使用。

[0040] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员,在不脱离本发明方法的前提下,还可以做出若干改进和补充,这些改进和补充也应视为本发明的保护范围。