

動物用藥品檢驗標準部分條文修正草案總說明

動物用藥品檢驗標準(以下簡稱本標準)於六十四年十一月二十一日發布施行,期間歷經五十五次修正。因應豬胸膜肺炎放線桿菌不活化菌苗、豬環狀病毒感染症不活化疫苗及雞大腸桿菌基因缺損活菌苗檢驗需求,並配合國際間動物用疫苗無菌試驗規範修正,爰擬具「動物用藥品檢驗標準」部分條文修正草案,共計十四條,其修正要點如下:

- 一、配合疫苗製造方法發展,修正相關標準適用範圍。(修正條文第八十一條、第八十五條、第一百一十三條、第一百一十五條及第一百八十一條)
- 二、參考歐洲、美國、日本及世界動物衛生組織動物用疫苗無菌試驗相關規範,修正以胚胎蛋製造且以非注射方式(Non-Parenteral)投予疫苗之無菌試驗標準。(修正條文第八十二條、第八十六條、第一百一十四條、第一百一十六條及第一百八十二條)
- 三、基於動物保護精神,減少動物使用量,並兼顧豬胸膜肺炎放線桿菌不活化菌苗安全試驗及效力試驗準確性,修正以豬或小鼠擇一進行安全試驗,並減少試驗小鼠數量、修正小鼠接種方式及攻毒菌株型別。(修正條文第一百三十八條)
- 四、修正豬環狀病毒感染症不活化疫苗效力試驗合格標準,以適用新申請疫苗之檢驗。(修正條文第一百八十二條之六)
- 五、增訂雞大腸桿菌基因缺損活菌苗檢驗標準適用範圍及其檢驗合格標準。(修正條文第一百八十二條之三十一及第一百八十二條之三十二)

動物用藥品檢驗標準部分條文修正草案條文對照表

修 正 條 文	現 行 條 文	說 明
<p>第八十一條 本標準適用於弱毒新城病病毒(Attenuated Newcastle disease virus)培養於<u>胚胎蛋或組織培養細胞</u>後加適當乳劑，以真空冷凍乾燥方法製成製劑之檢定。</p>	<p>第八十一條 本標準適用於弱毒新城病病毒(Attenuated Newcastle disease virus)培養於<u>雞、鴨</u>胚胎組織細胞後加適當乳劑，以真空冷凍乾燥方法製成製劑之檢定。</p>	<p>配合疫苗製造方法發展，修正本標準適用範圍。</p>
<p>第八十二條 被檢乾燥新城病活毒疫苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學的性狀，且無異物及異常氣味。加所附稀釋液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。<u>但屬胚胎蛋製造且以非注射方式(Non-Parenteral)免疫者，每劑量所含非病原菌不得超過一個。</u></p> <p>三、真空試驗：於暗室距離<u>五毫米</u>以內，以Tesla Coil行無極放電時，瓶內須有放電。但填充氮之製劑，<u>不在此限。</u></p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為四%以下。</p> <p>五、安全試驗：選一週齡(中間毒時選四週齡)左右無抗體健康小雞<u>十五</u>隻，按其用量用法注射<u>十</u>隻，經三週觀察，均須無任何不良反應而健存，另混飼對照五</p>	<p>第八十二條 被檢乾燥新城病活毒疫苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學的性狀，且無異物及異常氣味。加所附稀釋液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。</p> <p>三、真空試驗：於暗室距離五公釐以內，以Tesla Coil行無極放電時，瓶內須有放電。但填充氮之製劑不受此項限制。</p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為四%以下。</p> <p>五、安全試驗：選一週齡(中間毒時選四週齡)左右無抗體健康小雞一五隻，按其用量用法注射一〇隻，經三週觀察，均須無任何不良反應而健存，另混飼對照五隻，不得有感染發病情事。</p> <p>六、效力試驗：選四至五週齡未經新城病疫苗免疫健康雞一二隻(但蛋</p>	<p>一、非注射方式(Non-Parenteral)免疫指靜脈、肌肉及皮下注射等方式以外之免疫方式，如點眼、點鼻、噴霧及飲水投予等免疫方式，因非屬直接侵入體內之投予方式，故國際間對該等疫苗無菌試驗要求較低，加上以胚胎蛋製造疫苗，實務上不易達到完全無菌，爰參考歐盟、美國、日本及世界動物衛生組織動物用疫苗無菌試驗相關規範，增列第一項第二款之但書規定。</p> <p>二、在科學研究方法上，「任取」之用語宜改為「隨機取」；增列MLD全名，以求明確，爰修正第一項第六款。</p>

<p>隻，不得有感染發病情事。</p> <p>六、效力試驗：選<u>四週齡至五週齡</u>未經新城病疫苗免疫健康雞<u>十二隻</u>（但蛋內注射用疫苗則按其用法選用適當日齡雞隻或胚胎），<u>隨機選二隻</u>為對照，試驗雞<u>十隻</u>按其用量、用法接種，經<u>十四日</u>後，連同對照雞二隻以新城病強毒（佐藤株）一、〇〇〇MLD（Minimal lethal dose）肌肉注射攻擊，經二週觀察。試驗雞須有<u>七十五%</u>以上，不呈反應或呈輕微反應後耐過而健存。對照雞二隻，須呈典型新城病病症而斃死。</p> <p>七、病毒含有量試驗：依規定將疫苗溶解後，以磷酸緩衝食鹽水行十進法稀釋後，各階稀釋液〇·二<u>毫升</u>，注射於九至<u>十一日</u>雞胚胎漿尿管內各五個，除<u>二十四</u>小時內斃死者不計算外算出EID₅₀，B₁株須在10⁵EID₅₀以上，TCND₅₀株須在10⁴EID₅₀以上。但添加中和抗體者免進行病毒含有量試驗。</p> <p>八、<u>病毒迷入</u>試驗：將新城病高度免疫哺乳動物血清與疫苗中病毒完全中和後之中和疫苗</p>	<p>內注射用疫苗則按其用法選用適當日齡雞隻或胚胎），任取二隻為對照，試驗雞一〇隻按其用量、用法接種，經一四日後，連同對照雞二隻以新城病強毒（佐藤株）一、〇〇〇MLD肌肉注射攻擊，經二週觀察。試驗雞須有<u>七十五%</u>以上，不呈反應或呈輕微反應後耐過而健存。對照雞二隻，須呈典型新城病病症而斃死。</p> <p>七、病毒含有量試驗：依規定將疫苗溶解後，以磷酸緩衝食鹽水行十進法稀釋後，各階稀釋液〇·二公撮，注射於九至一一日雞胚胎漿尿管內各五個，除二四小時內斃死者不計算外算出EID₅₀，B₁株須在10⁵EID₅₀以上，TCND₅₀株須在10⁴EID₅₀以上。但添加中和抗體者免進行病毒含有量試驗。</p> <p>八、<u>純潔試驗</u>：將新城病高度免疫哺乳動物血清與疫苗中病毒完全中和後之中和疫苗各〇·一公撮分別注射於孵化一〇日雞胚胎尿管內及一二日雞胚胎尿管膜上（各五個）注射於尿管腔內者繼續孵化八日，尿管膜上者</p>	<p>三、「<u>純潔試驗</u>」修正為「<u>病毒迷入試驗</u>」，以求用詞統一，爰修正第一項第八款。</p> <p>四、另現行條文第一項第三款、第五款至第八款，酌作文字修正。</p>
---	--	---

<p>各○·一毫升分別注射於孵化十日雞胚胎尿囊腔內及十二日雞胚胎漿尿膜上(各五個)注射於尿囊腔內者繼續孵化八日，漿尿膜上者再孵化五日觀察胎兒變化。各胚胎須正常發育且漿尿膜上均須不形成斑點。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	<p>再孵化五日觀察胎兒變化。各胚胎須正常發育且漿尿膜上均須不形成斑點。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	
<p>第八十五條 本標準適用於雞傳染性支氣管炎弱毒病毒 (Attenuated avian infectious bronchitis virus)培養於胚胎蛋或組織培養細胞後加適當乳劑以真空冷凍乾燥方法製成製劑之檢定。</p>	<p>第八十五條 本標準適用於雞傳染性支氣管炎弱毒病毒 (Attenuated avian infectious bronchitis virus)培養於雞胚胎或組織培養細胞後加適當乳劑以真空冷凍乾燥方法製成製劑之檢定。</p>	<p>配合疫苗製造方法發展，修正本標準適用範圍。</p>
<p>第八十六條 被檢雞傳染性支氣管炎活毒疫苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學的性狀，且無異物及異常氣味，加所附稀釋液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。但屬胚胎蛋製造且以非注射方式 (Non-Parenteral) 免疫者，每劑量所含非病原菌不得超過一個。</p> <p>三、真空試驗：於暗室距離五毫米以內，以Teslar Coil行無極放電時，瓶內須有放電。但填充氮</p>	<p>第八十六條 被檢雞傳染性支氣管炎活毒疫苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學的性狀，且無異物及異常氣味，加所附稀釋液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。</p> <p>三、真空試驗：於暗室距離五公釐以內，以Teslar Coil行無極放電時，瓶內須有放電，但填充氮之製劑不受此項限制。</p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為四%以下。</p> <p>五、安全試驗：選一○日齡以內SPF雞一五隻，任</p>	<p>一、非注射方式(Non-Parenteral)免疫指靜脈、肌肉及皮下注射等方式以外之免疫方式，如點眼、點鼻、噴霧及飲水投予等免疫方式，因非屬直接侵入體內之投予方式，故國際間對該等疫苗無菌試驗要求較低，加上以胚胎蛋製造疫苗，實務上不易達到完全無菌，爰參考歐盟、美國、日本及世界動物衛生組織動物用</p>

<p>之製劑，<u>不在此限</u>。</p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為<u>四%</u>以下。</p> <p>五、安全試驗：選<u>十日齡</u>以內SPF雞<u>十五隻</u>，<u>隨機選五隻</u>為對照，其餘<u>十隻</u>，依受測疫苗推薦用量、用法接種後觀察三週，不得呈任何不良反應。</p> <p>六、病毒含有量試驗：本劑以磷酸緩衝液，行<u>十倍</u>階段稀釋後，將各稀釋液<u>○·一毫升</u>，分別注射於各五個八日齡發育雞胚胎尿囊腔內，每日觀察繼續八日。除注射後<u>二十四</u>小時內死亡者不計外，死胎須檢查胚胎之變化，確認是否由本病毒致死。每一劑量須含有<u>三○○EID₅₀</u>以上。</p> <p>七、力價試驗：採取注射後三週之血清及對照雞血清於攝氏<u>五十六度三十</u>分鐘非<u>働化</u>；將中和試驗用病毒，以磷酸緩衝液<u>十倍</u>階段稀釋，將各階段稀釋液分為三群：第一群加入試驗群之混合血清、第二群加入對照混合血清及第三群加入磷酸緩衝液做為病毒對照，等量混合於攝氏四度感作<u>十八至二十四</u>小時；各取<u>○·一毫升</u>接種於五</p>	<p>取五隻為對照，其餘<u>一○隻</u>，依受測疫苗推薦用量、用法接種後觀察三週，不得呈任何不良反應。</p> <p>六、病毒含有量試驗：本劑以磷酸緩衝液，行<u>一○倍</u>階段稀釋後，將各稀釋液<u>○·一公撮</u>，分別注射於各五個八日齡發育雞胚胎尿腔內，每日觀察繼續八日。除注射後二四小時內死亡者不計外，死胎須檢查胚胎之變化，確認是否由本病毒致死。每一劑量須含有<u>三○○EID₅₀</u>以上。</p> <p>七、力價試驗：採取注射後三週之血清及對照雞血清於攝氏<u>五六度三○</u>分鐘非<u>働化</u>；將中和試驗用病毒，以磷酸緩衝液<u>一○倍</u>階段稀釋，將各階段稀釋液分為三群：第一群加入試驗群之混合血清、第二群加入對照混合血清及第三群加入磷酸緩衝液做為病毒對照，等量混合於攝氏四度感作<u>一八至二四</u>小時；各取<u>○·一公撮</u>接種於五個八日齡雞胚胎尿腔內，於攝氏<u>三七度</u>培養八日。除注射後二四小時內死亡者不計外，檢查胚胎之變化，計算中和</p>	<p>疫苗無菌試驗相關規範，增列第一項第二款之但書規定。</p> <p>二、在科學研究方法上，「任取」之用語宜改為「隨機取」，爰修正第一項第五款。</p> <p>三、另現行條文第一項第三款、第五款第六款、第七款及第八款，酌作文字修正。</p>
---	---	---

<p>個八日齡雞胚胎尿囊腔內，於攝氏<u>三十七度</u>培養八日。除注射後<u>二十四小時</u>內死亡者不計外，檢查胚胎之變化，計算中和指數。試驗組須為二·○以上，對照組為一·○以下。</p> <p>八、病毒迷入試驗：本劑與雞傳染性支氣管炎高度免疫血清等量混合，於攝氏<u>三十七度</u>感作一小時，取○·一<u>毫升</u>接種於五個八日齡雞胚胎尿囊腔內，於攝氏<u>三十七度</u>培養八日，除注射後<u>二十四小時</u>內死亡者不計外，檢查胚胎須無任何病變或死亡，尿囊液與等量<u>五%</u>新鮮雞紅血球液混合，須無平板凝集反應。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	<p>指數。試驗組須為二·○以上，對照組為一·○以下。</p> <p>八、病毒迷入試驗：本劑與雞傳染性支氣管炎高度免疫血清等量混合，於攝氏<u>三十七度</u>感作一小時，取○·一公撮接種於五個八日齡雞胚胎尿腔內，於攝氏<u>三十七度</u>培養八日，除注射後<u>二四小時</u>內死亡者不計外，檢查胚胎須無任何病變或死亡，尿囊液與等量<u>五%</u>新鮮雞紅血球液混合，須無平板凝集反應。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	
<p>第一百一十三條 本標準適用於雞喉頭氣管炎弱毒病毒 (<u>Attenuated Fowl Laryngotracheitis Virus</u>)培養於胚胎蛋或組織培養細胞，加適當乳劑，以真空冷凍乾燥法製成製劑之檢定。</p>	<p>第一百一十三條 本標準適用於弱毒雞喉頭氣管炎病毒 (<u>Fowl Laryngotracheitis Attenuated Viras</u>)，接種於雞胚胎或組織培養細胞，加適當乳劑，以真空冷凍乾燥法製成製劑之檢定。</p>	<p>配合疫苗製造方法發展，修正本標準適用範圍，並酌作文字修正。</p>
<p>第一百一十四條 被檢雞喉頭氣管炎活毒疫苗須符合左列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具有固有理學性狀，且無異物及異常氣味，加所附稀釋</p>	<p>第一百一十四條 被檢雞喉頭氣管炎活毒疫苗須符合左列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具有固有理學性狀，且無異物及異常氣味，加所附稀釋</p>	<p>一、非注射方式(Non-Parenteral)免疫指靜脈、肌肉及皮下注射等方式以外之免疫方式，如點眼、點鼻、噴霧</p>

<p>液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。<u>但屬胚胎蛋製造且以非注射方式 (Non-Parenteral) 免疫者，每劑量中所含非病原菌不得超過一個。</u></p> <p>三、真空試驗：於暗室距離<u>五毫米</u>以內，以<u>Teslar Coil</u>行無極放電時，瓶內須有放電。但填充氣之製劑，<u>不在此限。</u></p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為<u>四%</u>以下。</p> <p>五、安全試驗：選<u>三週齡至四週齡</u>健康，無雞傳染性喉頭氣管炎抗體小雞<u>五隻</u>，<u>被檢疫苗以所附稀釋液溶解後，調整為每十劑量〇·二毫升</u>，每隻雞氣管內接種<u>十劑量</u>疫苗，試驗雞經二週觀察，均須不得發生嚴重反應或斃死。</p> <p>六、效力試驗：選<u>三週齡至四週齡</u>健康無雞傳染性喉頭氣管炎抗體小雞<u>十五隻</u>，其中<u>十隻</u>按其用法用量接種。第十四日後，連同對照組以雞傳染性喉頭氣管炎強毒株一〇〇CID₅₀氣管內接種，經二週觀察，結果免疫組須<u>八十%</u>以上之健存，對照組須<u>八十%</u>以上之斃死或呈典型病狀。</p>	<p>液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。</p> <p>三、真空試驗：於暗室距離<u>五公釐</u>以內，以<u>TESLAR COIL</u>行無極放電時，瓶內須有放電。但填充氣之製劑不受<u>此項限制。</u></p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為<u>四%</u>以下。</p> <p>五、安全試驗：選<u>三—四週齡</u>健康無雞傳染性喉頭氣管炎抗體小雞<u>十五隻</u>，各氣管內接種<u>一〇劑量(〇·二公撮)</u>疫苗，試驗雞經二週觀察，均須不得發生嚴重反應或斃死。</p> <p>六、效力試驗：選<u>三—四週齡</u>健康無雞傳染性喉頭氣管炎抗體小雞<u>十五隻</u>，其中<u>十隻</u>按其用法用量接種。第十四日後，連同對照組以雞傳染性喉頭氣管炎強毒株一〇〇CID₅₀氣管內接種，經二週觀察，結果免疫組須<u>八〇%</u>以上之健存，對照組須<u>八〇%</u>以上之斃死或呈典型病狀。</p> <p>七、病毒含量試驗：被檢疫苗置攝氏<u>三七度</u>孵卵器感作七日，然後以<u>磷酸緩衝食鹽水</u>溶解成一劑量，再從一劑量行<u>十進稀釋法</u>稀釋，而每稀釋倍數各取其<u>〇·二</u></p>	<p>及飲水投予等免疫方式，因非屬直接侵入體內之投予方式，故國際間對該等疫苗無菌試驗要求較低，加上以胚胎蛋製造疫苗，實務上不易達到完全無菌，爰參考歐盟、美國、日本及世界動物衛生組織動物用疫苗無菌試驗相關規範，增列第一項第二款之但書規定。</p> <p>二、依疫苗製造方法，將病毒含有量檢驗分為胚胎蛋製成者及組織培養細胞製成者，以符合科學方法，爰修正第一項第七款。</p> <p>三、「純潔試驗」修正為「病毒迷入試驗」，以求用詞統一，爰修正第一項第八款。</p> <p>四、另現行條文第一項第三款、第五款、第六款、第七款及第八款，酌作文字修正。</p>
--	---	---

<p>七、<u>病毒含有量試驗</u>：</p> <p>(一)<u>以胚胎蛋製成者</u>：被檢疫苗以<u>磷酸緩衝液 (PBS)</u> 溶解成一劑量，再進行十倍稀釋，每稀釋倍數接種於<u>九至十一日齡雞胚漿尿膜</u>上，除接種<u>二十四小時內</u>斃死胚胎不列入計算，孵化<u>五至八日</u>後，接種漿尿膜上局部須呈白斑，並以<u>Reed and Muench</u> 法計算，每劑量之病毒含量須為 $10^{2.5} \text{EID}_{50}$ 以上。</p> <p>(二)<u>依組織培養細胞製成者</u>：被檢疫苗以<u>組織培養液</u> 溶解成一劑量，再進行十倍稀釋，每稀釋倍數接種於<u>雞腎初代細胞</u> 或其他同等可供檢測用細胞，接種後觀察細胞變性效應 (Cytopathic effect)，並以 <u>Reed and Muench</u> 法計算，每劑量之病毒含有量不可少於其疫苗標示之病毒量。</p> <p>八、<u>病毒迷入試驗</u>：被檢疫苗以所附稀釋液溶解，調整為每劑量<u>〇·二毫升</u>，各以一劑量接種於<u>五枚九至十日齡雞胚胎尿膜腔</u>內，另置五枚無接種者供為對照，經</p>	<p><u>公撮</u>，各接種<u>五枚數九至十一日齡雞胚漿尿膜</u>上，除接種<u>二四小時</u>斃死胚胎不列入計算，孵化<u>五至八日</u>後，接種漿尿膜上局部須呈白斑，結果以<u>雞胚製成疫苗</u>，其每劑量之病毒含量須為 $10^{2.5} \text{EID}_{50}$ 以上，<u>組織培養製成疫苗</u>，其每劑量之病毒含量須為 $10^{2.5} \text{EID}_{50}$ 以上。</p> <p>八、<u>純潔試驗</u>：被檢每瓶一、〇〇〇劑量疫苗，以所附溶解液<u>三〇公撮</u> 溶解後，各以<u>〇·二公撮</u> 接種於<u>五枚九至十日齡雞胚胎尿膜腔</u>內，另置五枚無接種者供為對照，經繼續孵化五日，分別採取尿液，各以<u>〇·五%</u> 健康雞紅血球，測定紅血球之凝集，結果紅血球之凝集須為陰性。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	
--	--	--

<p>繼續孵化五日，分別採取尿囊液，各以○·五％健康雞紅血球，測定紅血球之凝集，結果紅血球之凝集須為陰性。前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>		
<p>第一百一十五條 本標準適用於傳染性華氏囊病病毒 (Infectious bursal disease virus) 培養於胚胎蛋或組織培養細胞後加適當佐劑或添加華氏囊病病毒抗血清，以冷凍乾燥方法製成製劑之檢定。</p>	<p>第一百一十五條 本標準適用於傳染性華氏囊病病毒 (Infectious bursal disease virus) 培養於雞胚胎或組織培養細胞後加適當佐劑或添加華氏囊病病毒抗血清，以冷凍乾燥方法製成製劑之檢定。</p>	<p>配合疫苗製造方法發展，修正本標準適用範圍。</p>
<p>第一百一十六條 被檢傳染性華氏囊病活毒疫苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味，加所附稀釋液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。但屬<u>胚胎蛋製造且以非注射方式 (Non-Parenteral) 免疫者</u>，每劑量中所含非病原菌不得超過一個。</p> <p>三、真空試驗：於暗室距離<u>五毫米</u>以內，以 Teslar Coil 行無極放電時，瓶內須有放電。但<u>填充氮之製劑</u>，不在此限。</p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為四％以下。</p> <p>五、安全試驗：選二週齡至</p>	<p>第一百一十六條 被檢傳染性華氏囊病活毒疫苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味，加所附稀釋液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。</p> <p>三、真空試驗：於暗室距離五公釐以內，以 Teslar Coil 行無極放電時，瓶內須有放電，但填充氮之製劑不受此限。</p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為四％以下。</p> <p>五、安全試驗：選二至三週齡（如為種雞用疫苗則使用一日齡雞）SPF 雞或華氏囊病抗體陰性之健康雞十二隻，隨機選二隻為對照，其餘</p>	<p>一、非注射方式 (Non-Parenteral) 免疫指靜脈、肌肉及皮下注射等方式以外之免疫方式，如點眼、點鼻、噴霧及飲水投予等免疫方式，因非屬直接侵入體內之投予方式，故國際間對該等疫苗無菌試驗要求較低，加上以胚胎蛋製造疫苗，實務上不易達到完全無菌，爰參考歐洲美國、日本及世界動物衛生組織動物用疫苗無菌試驗相關規範，增列第一項第二款之但書規定。</p> <p>二、現行條文第一項</p>

<p>三週齡(如為種雞用疫苗則使用一日齡雛雞)SPF雞或華氏囊病抗體陰性之健康雞十二隻，隨機選二隻為對照，其餘十隻，每隻經口接種十劑量及肌肉注射十劑量，疫苗接種後三週全數剖檢觀察，剖檢之華氏囊鏡檢病變不得有濾泡空泡化或淋巴球減少數量在<u>五十%</u>以上。</p> <p>六、力價試驗：選<u>二週齡</u>至三週齡未經傳染性華氏囊病免疫之健康無抗體雞十隻，經口接種本劑一劑量，疫苗接種後，三至四週，採血、分離血清置攝氏五十六度非働化三十分鐘，然後以滅菌磷酸緩衝食鹽水行倍數稀釋：各稀釋階段血清加入等量一〇〇TCID₅₀之傳染性華氏囊病病毒，置攝氏三十七度中感作六十分鐘後，接種於雞胚胎纖維芽培養細胞行中和抗體價測定，結果試驗雞之平均中和抗體價須呈一百六十倍以上。</p> <p>七、病毒含有量試驗：依規定將疫苗溶解後，以組織培養液行十進法稀釋，並依下列任一之方法測定。但蛋內注射傳</p>	<p>十隻，每隻經口接種十劑量及肌肉注射十劑量，疫苗接種後三週全數剖檢觀察，剖檢之華氏囊鏡檢病變不得有濾泡空泡化或淋巴球減少數量在<u>百分之五十</u>以上。</p> <p>六、力價試驗：選二至三週齡未經傳染性華氏囊病免疫之健康無抗體雞十隻，經口接種本劑一劑量，疫苗接種後，三至四週，採血、分離血清置攝氏五十六度非働化三十分鐘，然後以滅菌磷酸緩衝食鹽水行倍數稀釋：各稀釋階段血清加入等量一百TCID₅₀之傳染性華氏囊病病毒，置攝氏三十七度中感作六十分鐘後，接種於雞胚胎纖維芽培養細胞行中和抗體價測定，結果試驗雞之平均中和抗體價須呈一百六十倍以上。</p> <p>七、病毒含有量試驗：依規定將疫苗溶解後，以組織培養液行十進法稀釋，並依下列任一之方法測定。但蛋內注射傳染性華氏囊病抗體結合活毒疫苗得免除本款試驗：</p> <p>(一)雞胚胎之測定：每稀釋單位接種於五枚十一日齡無抗體雞</p>	<p>第三款、第五款至第八款，酌作文字修正。</p>
--	--	----------------------------

<p>染性華氏囊病抗體結合活毒疫苗得免除本款試驗：</p> <p>(一) 胚胎蛋之測定：每稀釋單位接種於五枚十一日齡無抗體雞胚胎漿尿膜上，每枚接種○·二毫升，接種後置攝氏三十七度繼續孵化七日，然後檢查接種胚胎及漿尿膜之特異病變，並以 Reed and Muench 法計算，結果每劑量須為 $10^{2.0}$ EID₅₀ 以上。</p> <p>(二) 雞胚胎纖維芽細胞之測定：每稀釋單位接種於五隻雞胚胎纖維芽細胞，每支細胞接種○·一毫升，接種後觀察細胞變性效果，並以 Reed and Muench 法計算，結果每劑量須為 $10^{3.0}$ TCID₅₀ 以上。</p> <p>八、病毒迷入試驗：將具有五百一十二倍以上中和抗體價之傳染性華氏囊病免疫血清與疫苗等量混合後置攝氏三十七度中感作六十分鐘，然後接種於五枚十至十一日齡雞胚胎，置攝氏三十七度繼續孵化七日檢查胚胎之生死，胚胎與漿尿膜之病變，並抽取尿囊液○</p>	<p>胚胎漿尿膜上，每枚接種○·二公撮，接種後置攝氏三十七度繼續孵化七日，然後檢查接種雞胚胎及漿尿膜之特異病變，並以 Reed and Muench 法計算，結果每劑量須為 $10^{2.0}$ EID₅₀ 以上。</p> <p>(二) 雞胚胎纖維芽細胞之測定：每稀釋單位接種於五隻雞胚胎纖維芽細胞，每支細胞接種○·一公撮，接種後觀察細胞變性效果，並以 Reed and Muench 法計算，結果每劑量須為 $10^{3.0}$ TCID₅₀ 以上。</p> <p>八、病毒迷入試驗：將具有五百一十二倍以上中和抗體價之傳染性華氏囊病免疫血清與疫苗等量混合後置攝氏三十七度中感作六十分鐘，然後接種於五枚十至十一日齡雞胚胎，置攝氏三十七度繼續孵化七日檢查胚胎之生死，胚胎與漿尿膜之病變，並抽取尿液○·五公撮加入等量之○·五% 雞紅血球液，靜置室溫六十分鐘，檢查有無紅血球凝集性，結果雞胚胎須生存，雞胚胎與漿尿膜須無病變，且</p>	
---	--	--

<p>·五毫升加入等量之○·五%雞紅血球液，靜置室溫六十分鐘，檢查有無紅血球凝集性，結果雞胚胎須生存，雞胚胎與漿尿膜須無病變，且尿囊液須無紅血球凝集性。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	<p>尿液須無紅血球凝集性。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	
<p>第一百三十八條 被檢豬胸膜肺炎放線桿菌不活化菌苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味。</p> <p>二、純粹試驗：不得含有本菌以外之細菌。</p> <p>三、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。</p> <p>四、防腐劑含量試驗：<u>酚(Phenol)</u>之含有量須為○·五%以下；<u>甲醛(Formaldehyde)</u>之含有量須為○·五%以下；<u>硫柳汞(Thimerosal)</u>之含有量須為○·○一%以下。</p> <p>五、安全試驗：依下列方法擇一試驗：</p> <p>(一)選十公克至十五公克健康ICR小鼠十五隻，各以本劑於皮下或腹腔接種四分之一劑量，另取十五隻於相同部位接種等量生理食鹽水作為對照組。觀察二週，</p>	<p>第一百三十八條 被檢豬胸膜肺炎放線桿菌不活化菌苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味。</p> <p>二、純粹試驗：不得含有本菌以外之細菌。</p> <p>三、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。</p> <p>四、防腐劑含量試驗：石碳酸之含有量須為○·五%以下；蟻醛之含有量須為○·五%以下；Thimerosal之含有量須為○·○一%以下。</p> <p>五、安全試驗：</p> <p>(一)選十至十五公克健康ICR小白鼠四十隻，各以本劑於頸部及左、右腹部三區進行皮下接種，共接種○·五公撮，另取四十隻於相同部位接種等量生理食鹽水為對照。觀察二週，須無任何不良反應而健存。</p>	<p>一、依據中華藥典第八版，修正蟻醛、石炭酸及硫柳汞名稱，並增列英文名稱，爰修正第一項第四款。</p> <p>二、基於動物保護精神，減少動物使用量，並兼顧本疫苗安全試驗及效力試驗準確性，爰修正第一項第五款及第六款，以豬或小鼠擇一進行安全試驗，並減少試驗小鼠數量與修正小鼠接種方式及攻毒菌株型別。</p>

<p>須無任何不良反應而健存。</p> <p>(二)選胸膜肺炎放線桿菌抗體陰性(六至八週齡)小豬二頭,依用法各接種五劑量,觀察二週,須無任何不良反應而健存。</p> <p>六、效力試驗:<u>選十公克至十五公克健康ICR小鼠十五隻,各以本劑於皮下或腹腔接種四分之一劑量為試驗組,另取十五隻於相同部位接種等量生理食鹽水作為對照組。接種十四天後,各組分別以對應血清型取三階段連續十倍稀釋攻毒菌液,以腹腔注射○·五毫升進行攻毒。觀察一週,依Reed-Muench法計算LD₅₀,結果其防禦力價須大於十倍以上者為合格。</u></p> <p>前項試驗確定困難時,應予複檢。</p>	<p>(二)選胸膜肺炎放線桿菌抗體陰性(六至八週齡)小豬二頭,依用法各接種五劑量,觀察二週,須無任何不良反應而健存。</p> <p>六、效力試驗:將安全試驗後之免疫小白鼠,分成四組,各組分別以強毒菌株培養液之10⁰至10⁻³四階段稀釋菌液接種於腹腔內攻擊;對照小白鼠亦分成四組,各組分別以10⁻¹至10⁻⁴四階段稀釋菌液接種於腹腔內,觀察一週,依Reed-Muench法計算LD₅₀,結果其防禦力價須大於十倍(含)以上者為合格。</p> <p>前項試驗確定困難時,應予複檢。</p>	
<p>第一百八十一條 本標準適用於雞腫頭症病毒(Avian pneumovirus)<u>培養於人工感染之胚胎蛋或組織培養細胞,以冷凍乾燥方法製成製劑之檢定。</u></p>	<p>第一百八十一條 本標準適用於雞腫頭症病毒(Avian pneumovirus)以人工感染之胚胎乳劑或組織細胞培養液,以冷凍乾燥方法製成製劑之檢定。</p>	<p>配合疫苗製造方法發展,修正本標準適用範圍,並酌作文字修正。</p>
<p>第一百八十二條 被檢雞腫頭症活毒疫苗須符合下列條件:</p> <p>一、特性試驗:須具固有理學性狀,且無異物及異</p>	<p>第一百八十二條 被檢雞腫頭症活毒疫苗須符合下列條件:</p> <p>一、特性試驗:須具固有理學性狀,且無異物及異</p>	<p>一、非注射方式(Non-Parenteral)免疫指靜脈、肌肉及皮下注射等方式以外之免疫方式,如</p>

<p>常氣味，加所附稀釋液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。<u>但屬胚胎蛋製造且以非注射方式 (Non-Parenteral) 免疫者，每劑量中所含非病原菌不得超過一個。</u></p> <p>三、真空試驗：於暗室距離<u>五毫米</u>以內，以 Tesla Coil 行無極放電時，瓶內須有放電。但填充氣之製劑，不在此限。</p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為<u>四%</u>以下。</p> <p>五、病毒含量試驗：每劑病毒含有量不可少於其疫苗標示之病毒量。</p> <p>六、安全試驗：選一日齡 SPF 小雞二十一隻，隨機選六隻為對照，其餘十五隻，每隻經口接種本劑十劑量，疫苗接種後七天及十四天各剖檢五隻及對照組二隻，結果不得有鼻竇與氣管之肉眼或鏡檢病變，其餘雞隻於三週內不得有任何不良反應而健存。</p> <p>七、力價試驗：選一日齡 SPF 小雞三十隻，<u>隨機</u>選十隻為對照，其餘二十隻，每隻經口接種本劑一劑量，疫苗接種後三週，採血、分離血清</p>	<p>常氣味，加所附稀釋液溶解後須濃度均一。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。</p> <p>三、真空試驗：於暗室距離五公釐以內，以 Tesla Coil 行無極放電時，瓶內須有放電。但填充<u>氮氣</u>之製劑，不在此限。</p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為<u>百分之四</u>以下。</p> <p>五、病毒含量試驗：每劑病毒含有量不可少於其疫苗標示之病毒量。</p> <p>六、安全試驗：選一日齡 SPF 小雞二十一隻，隨機選六隻為對照，其餘十五隻，每隻經口接種本劑十劑量，疫苗接種後七天及十四天各剖檢五隻及對照組二隻，結果不得有鼻竇與氣管之肉眼或鏡檢病變，其餘雞隻於三週內不得有任何不良反應而健存。</p> <p>七、力價試驗：選一日齡 SPF 小雞三十隻，任選十隻為對照，其餘二十隻，每隻經口接種本劑一劑量，疫苗接種後三週，採血、分離血清置攝氏五十六度非動化三十分鐘，然後測定雞腫頭症 ELISA 抗體，免疫組應至少有<u>百分之七十</u>以上呈現抗體陽</p>	<p>點眼、點鼻、噴霧及飲水投予等免疫方式，因非屬直接侵入體內之投予方式，故國際間對該等疫苗無菌試驗要求較低，加上以胚胎蛋製造疫苗，實務上不易達到完全無菌，爰參考歐盟、美國、日本及世界動物衛生組織動物用疫苗無菌試驗相關規範，增列第一項第二款之但書規定。</p> <p>二、在科學研究方法上，「任取」之用語宜改為「隨機取」，爰修正第一項第七款。</p> <p>三、另現行條文第一項第三款、第四款、第七款及第八款，酌作文字修正。</p>
---	---	--

<p>置攝氏五十六度非働化三十分鐘，然後測定雞腫頭症ELISA抗體，免疫組應至少有七十%以上呈現抗體陽性，對照組須為陰性。或將血清以十倍序列稀釋後，各稀釋階段加入等量100TCID₅₀之雞腫頭症病毒液，置攝氏三十七度中和感作六十分鐘後，再接種於 Vero 細胞行中和抗體測試，其免疫組中和抗體價應達一百倍以上，對照組為陰性。</p> <p>八、病毒迷入試驗：將本劑與雞腫頭症高度免疫血清等量混合後，置於攝氏三十七度中和感作六十分鐘，然後以○·二毫升接種於五個十日齡SPF雞胚漿尿膜，另置五個無接種者供為對照。繼續於攝氏三十七度孵化七日，檢查胚胎應正常健存，其尿囊液須無紅血球凝集性。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	<p>性，對照組須為陰性。或將血清以十倍序列稀釋後，各稀釋階段加入等量100TCID₅₀之雞腫頭症病毒液，置攝氏三十七度中和感作六十分鐘後，再接種於 vero 細胞行中和抗體測試，其免疫組中和抗體價應達一百倍以上，對照組為陰性。</p> <p>八、病毒迷入試驗：將本劑與雞腫頭症高度免疫血清等量混合後，置於攝氏三十七度中和感作六十分鐘，然後以○·二公撮接種於五個十日齡SPF雞胚漿尿膜，另置五個無接種者供為對照。繼續於攝氏三十七度孵化七日，檢查胚胎應正常健存，其尿囊液須無紅血球凝集性。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	
<p>第一百八十二條之六 被檢豬環狀病毒感染症不活化疫苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有</p>	<p>第一百八十二條之六 被檢豬環狀病毒感染症不活化疫苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味。</p> <p>二、無菌試驗：不得含有</p>	<p>一、因應豬環狀病毒感染症不活化疫苗檢驗方法之發展及其計算方式之不同，爰修正第一項第五款第三目，以適用新申請</p>

<p>任何可能檢出之活菌。</p> <p>三、防腐劑含有量試驗：甲醛 (Formaldehyde) 含有量須為 $\frac{0.02}{100}$ 以下，硫柳汞 (Thimerosal) 須為 $\frac{0.01}{100}$ 以下。</p> <p>四、安全試驗：</p> <p>(一) 小鼠：選用十三公克至十五公克健康小鼠五隻，皮下注射十分之一劑量，接種後觀察十四天，不得有任何不良反應而健存。</p> <p>(二) 天竺鼠：選用二百五十公克至三百公克健康天竺鼠三隻，皮下注射一劑量，接種後觀察十四天，不得有任何不良反應而健存。</p> <p>(三) 豬：選用三週齡至四週齡 SPF 小豬三頭，取二頭以肌肉注射本疫苗二劑量，另一頭為對照組，接種後觀察二十一天，均須無任何不良反應而健存。</p> <p>五、效力試驗：依下列方法擇一試驗：</p> <p>(一) 抗原相對效價試驗：試驗方法依原廠提供 ELISA 抗原和程序製備測試盤，並依原廠提供之試劑、抗體</p>	<p>任何可能檢出之活菌。</p> <p>三、防腐劑含有量試驗：甲醛 (Formaldehyde) 含有量須為 0.2% 以下，硫柳汞 (Thimerosal) 須為 0.01% 以下。</p> <p>四、安全試驗：</p> <p>(一) 小鼠：選用十三公克至十五公克健康小鼠五隻，皮下注射十分之一劑量，接種後觀察十四天，不得有任何不良反應而健存。</p> <p>(二) 天竺鼠：選用二百五十公克至三百公克健康天竺鼠三隻，皮下注射一劑量，接種後觀察十四天，不得有任何不良反應而健存。</p> <p>(三) 豬：選用三週齡至四週齡無特定病原 (Specific pathogen free; SPF) 小豬三頭，取二頭以肌肉注射本疫苗二劑量，另一頭為對照組，接種後觀察二十一天，均須無任何不良反應而健存。</p> <p>五、效力試驗：依下列方法擇一試驗：</p> <p>(一) 抗原相對效價試驗：試驗方法依原廠提供 ELISA 抗原和程</p>	<p>疫苗之檢驗。</p> <p>二、本標準第九十四條第一項第五款已提及「無特定病原 (以下簡稱 SPF)」，爰修正第一項第四款第三目用詞為 SPF。</p> <p>三、另現行條文第一項第三款、第五款第二目至第四目的作文字修正。</p>
--	---	--

<p>、陰性對照品、陽性對照品與標準抗原進行測試，測試後之吸光值以 Relpot 4.0 軟體（ U. S. Department of Agriculture, Center for Veterinary Biologics Program' s Relative Potency Calculation Software, May 22, 2002）或最新版本軟體，計算 RP 值，RP 值必須 ≥ 1。</p> <p>(二)血清相對效價試驗：選用三週齡至四週齡SPF雞隻七隻進行試驗，免疫前先對雞隻採血確定試驗雞隻不具PCV2抗體。五隻雞為免疫組，每隻於腿部肌肉注射<u>○·○一二五</u>劑量。二隻雞為對照組，四週後採血，依原廠提供的ELISA檢測套組以及方法進行PCV2血清學檢測，並以原廠所提供的ELISA檢測試劑軟體計算抗體力價，抗PCV2 ORF2抗原之ELISA平均抗體力價須大於$2^{4.5}$。</p> <p>(三)抗原含有量試驗：試驗方法依原廠提供</p>	<p>序製備測試盤，並依原廠提供之試劑、抗體、陰性對照品、陽性對照品與標準抗原進行測試，測試後之吸光值以 Relpot 4.0 軟體（ U. S. Department of Agriculture, Center for Veterinary Biologics Program' s Relative Potency Calculation Software, May 22, 2002）或最新版本軟體，計算 RP 值，RP 值必須 ≥ 1。</p> <p>(二)血清相對效價試驗：選用三週齡至四週齡 SPF 雞隻七隻進行試驗，免疫前先對雞隻採血確定試驗雞隻不具 PCV2 抗體。五隻雞為免疫組，每隻於腿部肌肉注射 0.0125 劑量。二隻雞為控制組，四週後採血，依原廠提供的 ELISA 檢測套組以及方法進行 PCV2 血清學檢測，並以原廠所提供的 ELISA 檢測試劑軟體計算抗體力價，抗 PCV2 ORF2 抗原之 ELISA 平均抗體力價需大於 $2^{4.5}$。</p>	
---	--	--

<p>ELISA試劑和程序製備測試盤，依原廠提供之試劑與對照品進行測試，並以原廠所提供的ELISA檢測試劑軟體計算疫苗抗原量，每劑量須大於$10^{2.1}$ ELISA單位或大於二千八百二十八抗原單位（Antigen unit）。</p> <p>（四）抗體力價試驗：選用五週齡不具PCV2抗體小鼠十二隻進行試驗，隨機取六隻為免疫組，每隻於腹腔注射○·五毫升，另六隻為對照組。於免疫前及免疫後三週採血並分離血清，依原廠提供之檢測套組進行間接螢光抗體染色法（IFA）測定PCV2抗體力價。免疫後三週免疫組平均血清抗體力價須達八百倍以上，對照組血清抗體力價均須為陰性，且不得超過五十倍。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	<p>（三）抗原含有量試驗：試驗方法依原廠提供ELISA試劑和程序製備測試盤，依原廠提供之試劑與對照品進行測試，並以原廠所提供的ELISA檢測試劑軟體計算疫苗抗原量，每劑量需大於$10^{2.1}$ ELISA單位。</p> <p>（四）抗體力價試驗：選用五週齡不具PCV2抗體小鼠十二隻進行試驗，隨機取六隻為免疫組，每隻於腹腔注射0.5毫升，另六隻為對照組。於免疫前及免疫後三週採血並分離血清，依原廠提供之檢測套組進行間接螢光抗體染色法（IFA）測定PCV2抗體力價。免疫後三週免疫組平均血清抗體力價需達八百倍以上，對照組血清抗體力價均需為陰性，且不得超過五十倍。</p> <p>前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>	
<p>第九十六節 雞大腸桿菌基因缺損活菌苗檢驗標準</p>		<p>一、本節新增。</p> <p>二、因應雞大腸桿菌基因缺損活菌苗檢驗需要，爰增訂該類疫苗檢驗標準。</p>

<p>第一百八十二條之三十一</p> <p>本標準適用於經基因改造 <i>aroA</i> 基因缺損雞大腸桿菌 (<i>Escherichia coli</i>)，經培養後，冷凍乾燥製成製劑之檢定。</p>		<p>一、<u>本條新增</u>。</p> <p>二、明定本標準適用範圍。</p>
<p>第一百八十二條之三十二</p> <p>被檢雞大腸桿菌基因缺損活菌苗須符合下列條件：</p> <p>一、特性試驗：須具固有理學之性狀，且無異物及異常氣味。</p> <p>二、純度試驗：疫苗活菌於芳香族胺基酸 (Aromatic amino acid) 及對胺苯甲酸 (Para amino-benzoic acid) 缺乏之選擇性培養基中不得生長。</p> <p>三、真空試驗：於暗室距離五毫米以內，以 Teslar Coil 行無極放電時，本疫苗瓶內須有放電。但填充氮之製劑，不在此限。</p> <p>四、含濕度試驗：含濕度須為四%以下。</p> <p>五、活菌數試驗：每劑量本生菌數須達 6.5×10^6 CFU 以上。</p> <p>六、安全試驗：五日齡內 SPF 小雞十五隻，隨機取十隻為免疫組，經口服投予一百劑量之本疫苗，另五隻為對照組投予等量生理食鹽水，疫苗接種後觀</p>		<p>一、<u>本條新增</u>。</p> <p>二、規定檢驗雞大腸桿菌基因缺損活菌苗須符合之條件。</p>

<p>察三週，須無任何不良反應而健存，試驗期間不投予抗生素。 前項試驗確定困難時，應予複檢。</p>		
--	--	--