

動物用藥品檢驗標準部分條文修正條文

第二十九節 新城病不活化疫苗檢驗標準

第七十九條 本標準適用於新城病病毒（New castle disease virus）經人工感染之雞胚胎乳劑或組織細胞培養液，加適當防腐劑佐藥劑製成製劑之檢定。

第八十條 被檢新城病不活化疫苗須符合下列條件：

- 一、特性試驗：須具固有理學之性狀，且無異物及異常氣味。
- 二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。
- 三、防腐劑含有量試驗：甲醛（Formaldehyde）含有量須為〇·二%以下，硫柳汞（Thimerosal）須為〇·〇一%以下。
- 四、安全試驗：選二至六週齡新城病抗體陰性雞十二隻，隨機取二隻為對照，餘十隻分別肌肉注射一劑量經二週觀察，不得呈任何不良反應。
- 五、效力試驗：將前款安全試驗合格雞十隻及對照雞二隻，以免疫組及對照組雞隻分別採集血清進行紅血球凝集抑制試驗，免疫組雞隻抗體力價的幾何平均值需達十六倍以上，對照組雞隻需小於二倍。但試驗未符合檢驗標準時，以新城病強毒（佐藤株）一千MLD

(Minimal lethal dose) 肌肉注射攻擊，經二週觀察，免疫組雞隻需八十%以上不呈反應或呈輕微反應後耐過而健存，對照組雞隻二隻，須呈典型新城病症狀而斃死。

前項試驗確定困難時，應予複檢。

第一百六十條 被檢豬黴漿菌肺炎不活化菌苗須符合下列條件：

一、特性試驗：須具固有理學之性狀，且無異物及異常氣味。

二、無菌試驗：不得含有任何可檢出之活菌。

三、防腐劑含有量試驗：菌苗製程使用酚(Phenol)、甲醛(Formaldehyde)或硫柳汞(Thimerosal)者，酚含有量須為〇·五%以下；甲醛含有量須為〇·五%以下；硫柳汞含有量須為〇·〇一%以下。

四、安全試驗：依下列方法擇一試驗：

(一) 選體重十至十五公克健康小鼠十二隻，隨機取二隻為對照組，其餘十隻各以本劑腹腔或皮下注射四分之一劑量，觀察二週，均須無任何不良反應而健存。

(二) 選五週齡無特定病原 (Specific pathogen free, SPF) 小豬七頭，其中一頭肌肉注射本劑五劑量，另四頭依其用法用量免疫注射，其餘二頭注射等量磷酸緩衝液 (Phosphate buffered saline, PBS) 作為對照組，最後一次菌苗注射後觀察二週，供試驗豬隻均須無任何不良反應而健存。

五、效力試驗：

(一) 安全試驗選用小鼠者，依下列方法擇一試驗：

1. 抗原相對效價試驗：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，測試後之吸光值以計算抗原相對效價 (Relative Potency, RP) 值，RP 值須符合原廠廠規。

2. 間接血球凝集 (Indirect hemagglutination, IHA) 抗體力價試驗：經安全試驗通過

之小鼠，再補強免疫一次四分之一劑量，第二次免疫後二週採血，檢測血清中IHA抗體力價，免疫組七十五%以上須具有IHA抗體十六倍以上，而對照組須均為IHA抗體八倍以下。

3. 酵素連結免疫吸附分析法 (Enzyme-linked immunosorbent assay , ELISA) 抗體力價試驗：經安全試驗通過之小鼠，再補強免疫一次四分之一劑量，第二次免疫後二週採血，以ELISA檢測套組測定血清中豬肺炎黴漿菌抗體。依據套組內標準陰性血清、陽性血清與待測血清進行吸光值測定及計算，判定待測血清抗體力價，免疫組應至少有七十五%以上呈現抗體陽性，對照組須為陰性。

(二) 安全試驗選用小豬者，依下列方法擇一試驗：

1. IHA抗體力價試驗：經安全試驗通過之小豬四頭及對照組二頭，一次免疫後四週或補強後二週採血，檢測血清中IHA抗體，免疫組七十五%以上須具有IHA抗體十六倍以上，而對照組須均為IHA抗體八倍以下。
2. ELISA抗體力價試驗：經安全試驗通過之小豬四頭及對照組二頭，一次免疫後四週或補強後二週採血，以ELISA檢測套組測定血清中豬肺炎黴漿菌抗體。依據套組內標準陰性血清、陽性血清與待測血清進行吸光值測定及計算，判定待測血清抗體力價，免疫組應至少有七十五%以上呈現抗體陽性，對照組須為陰性。
3. 攻毒試驗：經安全試驗通過之小豬四頭及對照組二頭，一次免疫後四週或補強後二週，連同對照組，以每毫升含

1.0×10⁸ 至 2.0×10⁸ CCU 豬肺炎
黴漿菌強毒菌株，行氣管內接
種二·〇毫升，經四週後，試
驗豬進行病理解剖，檢查肺部
之病變，對照組與免疫組豬隻
之肺炎病變平均點數差，須大
於或等於四·〇。

前項試驗確定困難時，應予複檢。

第一百七十二條 被檢豬霍亂沙氏桿菌活菌苗須符合下列條件：

- 一、特性試驗：須具固有理學的性狀，無異物及異常氣味，加稀釋液溶解後須濃度均一。
- 二、純度試驗：本劑加所附稀釋液溶解後之培養不得含有豬霍亂沙氏桿菌疫苗株以外之雜菌。
- 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。但填充氮氣之製劑不受此項限制。
- 四、含濕度試驗：含濕度需為四％以下。

- 五、活菌數試驗：每劑須含 1×10^8 CFU 以上之豬霍亂沙氏桿菌疫苗株。
- 六、認定試驗：將本菌株在營養培養基生長二十四小時之菌落與 0.3% 奧黃 (auramine) 液在玻片上混合須有明顯的凝集，對照生理食鹽水組則較不明顯或無。
- 七、安全試驗：選四週齡健康小豬二頭，以本劑口服投予十劑量後觀察十四天，不得有任何臨床症狀，或僅前四天有輕微下痢及疲倦。
- 八、效力試驗：選體重十三至十五公克健康小白鼠四十隻，各以本劑 0.5 公撮腹腔注射，另取四十隻為對照；將免疫組小白鼠分成四組每組十隻，於疫苗注射後二週分別以豬霍亂沙氏桿菌強毒株培養液之 10^0 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每組十隻，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，然後二群分別依 Reed-Muench 法計算 LD_{50} ，結果免疫組防禦力價須大於對

照組 $10^{0.5}$ 倍以上。

前項試驗確定困難時，應予複檢。

第一百八十二條 被檢雞腫頭症活毒疫苗須符合下列條件：

- 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。
- 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，每劑量中所含非病原菌不得超過一個。
- 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。但填充氮之製劑，不在此限。
- 四、含濕度試驗：含濕度須為四%以下。
- 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。
- 六、安全試驗：選一日齡 無特定病原（Specific pathogen free, 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，疫苗接種後七日及十四日各剖檢

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。

七、力價試驗：選一日齡SPF小雞三十隻，隨機選十隻為對照，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、分離血清置五十六攝氏度非働化三十分鐘，以酵素連結免疫吸附分析法（Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）檢測套組測定雞腫頭症抗體。依據套組內標準陰性血清、陽性血清與待測血清進行吸光值測定及計算，判定待測血清抗體力價，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一〇〇TCID₅₀（50% Tissue culture infective doses）之雞腫頭症病毒液，置三十七攝氏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。

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，置於三十七攝氏度中和感作六十分鐘，然後以〇·二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。繼續於三十七攝氏度孵化七日，檢查胚胎應正常健存，其尿囊液須無紅血球凝集性。

前項試驗確定困難時，應予複檢。

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：

- 一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味。
- 二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。
- 三、防腐劑含有量試驗：甲醛（Formaldehyde）含有量須為〇·二%以下，硫柳汞（Thimerosal）須為〇·〇一%以下。
- 四、安全試驗：選用三至四週齡無特定病原（Specific pathogen

free, SPF) 豬二頭，以肌肉注射本疫苗二劑量，接種後觀察二十一日，須無任何不良反應而健存。

五、效力試驗：依下列方法擇一試驗：

(一) 抗原相對效價試驗：試驗方法依原廠提供酵素連結免疫吸附分析法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 抗原和程序製備測試盤，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 。

(二) 雞隻血清抗體力價試驗：
選用三至四週齡PCV2抗體陰性雞七隻進行試驗，隨機取五隻為免疫組，每隻於腿部肌肉注射 0.1 二五劑量，其餘二隻為對照組，於腿部肌肉注射等量之磷酸鹽緩衝生理鹽水（phosphate buffered saline, PBS），免疫後四週採血，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 $2^{4.5}$ 。

(三) 抗原含有量試驗：試驗方法依原廠提供ELISA或AlphaLISA immunoassay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，並以原廠所提供的軟體計算疫苗抗原量，每劑量之抗原含量不得低於該疫苗標示。

- (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，於腹腔注射等量之PBS。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 (Immunofluorescence assay, 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。

前項試驗確定困難時，應予複檢。

第一百八十二條之十八 被檢水禽雷氏桿菌不活化菌苗須符

合下列條件：

- 一、特性試驗：須具固有理學性狀，且無異物及異常氣味。
- 二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。
- 三、防腐劑含有量試驗：甲醛（Formaldehyde）含有量須為百分之〇·二以下，硫柳汞（Thimerosal）須為百分之〇·〇一以下。
- 四、安全試驗：選一週齡健康北京鴨、番鴨或白羅曼鵝五隻，每隻肌肉注射二劑量，觀察十四日，須無任何不良反應而健存。
- 五、效力試驗：依下列方法擇一試驗：
 - （一）死亡率計算法：選一週齡健康北京鴨、番鴨或白羅曼鵝二十隻，隨機取十隻為對照組，其餘十隻，每隻依用法肌肉

注射一劑量二次，每次間隔一週，並於第二次注射後二週，連同對照組，以與疫苗相同血清型（一、二或六型）之雷氏桿菌強毒株肌肉注射攻擊，連續觀察十四天，免疫組存活率須達百分之八十以上，對照組以血清型一、二型攻擊之死亡率須達百分之八十以上，以血清型六型攻擊之對照組之死亡率須達百分之五十以上。

（二）防禦力價計算法：選一週齡健康北京鴨、番鴨或白羅曼鵝三十隻，隨機取十五隻為對照組，其餘十五隻，每隻依用法肌肉注射一劑量二次，每次間隔一週；於第二次注射後二週，連同對照組，以與疫苗相

同血清型之雷氏桿菌強毒株，取三階段連續十倍稀釋之攻毒菌液，以肌肉注射攻擊，每階段菌液各攻毒五隻，連續觀察十四天，免疫組及對照組分別依Reed and Muench法計算LD₅₀（50% Lethal doses），防禦力價須為10^{0.5}以上。

前項試驗確定困難時，應予複檢。

第一百八十二條之三十四 被檢豬鼻黴漿菌不活化菌苗須符合下列條件：

- 一、特性試驗：須具固有理學之性狀，且無異物及異常氣味。
- 二、無菌試驗：不得含有任何可檢出之活菌。
- 三、防腐劑含有量試驗：菌苗製程使用酚（Phenol）、甲醛（Formaldehyde）或硫柳汞（Thimerosal）者，酚含有量須為〇·五%以

下；甲醛含有量須為○·五%以下；硫柳汞含有量須為○·○一%以下。

四、安全試驗：依下列方法擇一試驗：

- (一) 選體重十至十五公克健康 BALB/c 小鼠十二隻，隨機取二隻為對照組，其餘十隻各以本劑腹腔注射四分之一劑量，觀察二週，均須無任何不良反應而健存。
- (二) 選五週齡無特定病原 (Specific pathogen free, SPF) 小豬七頭，其中一頭肌肉注射本劑五劑量，另四頭依其用法用量免疫注射，其餘二頭注射等量PBS作為對照組，最後一次菌苗注射後觀察兩週，供試驗豬隻均須無任何不良反應而健存。

五、效力試驗：

(一) 安全試驗選用小鼠者，
依下列方法擇一試驗：

1. 間接血球凝集 (Indirect hemagglutination, IHA) 抗體力價試驗：經安全試驗通過之小鼠，再補強免疫一次四分之一劑量，第二次免疫後二週採血，檢測血清中 IHA 抗體，免疫組七十五% 以上須具有 IHA 抗體十六倍以上，而對照組須均為 IHA 抗體八倍以下。

2. 酵素連結免疫吸附分析法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 抗體力價試驗：經安全試驗通過之小鼠，再補強免疫一次四分

之一劑量，第二次免疫後二週採血，以ELISA檢測套組測定血清中豬鼻黴漿菌抗體。依據套組內標準陰性血清、陽性血清與待測血清進行吸光值測定及計算，判定待測血清抗體力價，免疫組應至少有七十五%以上呈現抗體陽性，對照組須為陰性。

(二) 安全試驗選用小豬者，依下列方法擇一試驗：

1. IHA抗體力價試驗：
經安全試驗通過之小豬四頭及對照組二頭，一次免疫後四週或補強後二週採血，檢測血清中IHA抗體，免疫組七十五%以上須具有IHA抗體

十六倍以上，而對照組須均為IHA抗體八倍以下。

2. ELISA 抗體力價試驗：經安全試驗通過之小豬四頭及對照組二頭，一次免疫後四週或補強後二週採血，以ELISA檢測套組測定血清中豬鼻黴漿菌抗體。依據套組內標準陰性血清、陽性血清與待測血清進行吸光值測定及計算，判定待測血清抗體力價，免疫組應至少有七十五%以上呈現抗體陽性，對照組須為陰性。

前項試驗確定困難時，應予複檢。

第一百零五節 馬立克病載體新城病、傳染性華氏囊病基因
改造活毒疫苗檢驗標準

第一百八十二條之四十九 本標準適用於應用基因重組技術以火雞疱疹病毒（Herpesvirus of turkeys, HVT）為載體，表現新城病病毒（Newcastle disease virus）之 F 基因及傳染性華氏囊病病毒（Infectious bursal disease virus）之 VP2 基因，以雞胚胎組織培養後加適當之抗凍劑及穩定劑，經凍結後製成製劑之檢定。

第一百八十二條之五十 被檢馬立克病載體新城病、傳染性華氏囊病基因改造活毒疫苗須符合下列條件：

- 一、特性試驗：須具固有理學的性狀，且無異物及異常氣味，加所附稀釋液混合後須濃度均一。
- 二、無菌試驗：不得含有任何可能檢出之活菌。
- 三、病毒含有量試驗：將本疫苗培養於雞胚胎纖維母細胞（Chicken embryo fibroblasts, CEF）五日後，觀察其細胞變性效應（Cytopathic

effect，CPE），並使用螢光抗體染色法（Immunofluorescence assay）偵測新城病病毒之 F 蛋白及傳染性華氏囊病毒 VP2 蛋白之表現，計算病毒斑形成單位（Plaque forming unit，PFU），每劑量 PFU 不可少於其疫苗標示。

四、安全試驗：選一日齡無特定病原（Specific pathogen free，SPF）雞十二隻，隨機取二隻為對照組，其餘十隻於背頸部皮下注射十劑量，疫苗接種後觀察三週，須無任何不良反應而健存。

前項試驗確定困難時，應予複檢。