

# 保健飼料添加物品質、安全性和功效性驗證平台指引

〈第一版〉

農委會補助計畫：108 農科-21.1.6-藥-P1



## FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL  
FEED ADDITIVE

行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 編印

中華民國 108 年 7 月

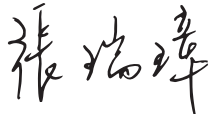


# FFA

## 保健飼料添加物 FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

### 序

本所因配合本會推動安全農業之使命與願景，協助執行各項有關安全農業政策計畫之研究、技術服務與安全評估等任務，其中為因應飼料中促進生長之抗生素逐步減用或禁用，具保健功效之飼料添加物成為維護畜禽健康與生產性能的重要防線。我國在 104 年 12 月飼料管理法中大幅增加飼料添加物的品項，但在一般飼料添加物與含藥物飼料添加物之間並沒有明訂保健飼料添加物的定義，仿間產品琳琅滿目，品質保證較闕如，因此亟須建立一套符合國際標準之保健飼料添加物標章驗證制度。本所於 107 年起參與由本會畜產試驗所在動物保健產業領域所統籌的「經濟動物與伴侶動物保健飼料添加物研發與商品化」項下之「推動動物保健飼料產品標章制度之產業加值鏈」計畫，執行至今已依期程完成規劃標章驗證需求，並廣納各界專家意見，擬定第一版本之「保健飼料添加物品質、安全性和功效性驗證平台指引」，以供業界、學術界和研發者等有意申請標章驗證者參考使用。期望透過一致性之驗證標準，協助符合國內法規要求，研發具功效性、安全性和品質有把關的經濟動物飼料添加物，以做為未來取得保健飼料添加物證明標章與持續運作的基石，使其產品與一般商品具區隔性，進而加值產品、提升產品競爭力和消費者信心，甚而朝與國際標準接軌，達成推動新興飼料添加物產業發展之終極目標。

行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 所長  謹識

中華民國 108 年 7 月



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

## 目 錄

- 保健飼料添加物標章申請之安全、品質和功效性驗證流程 ..... 1
- 附表一、保健飼料添加物之安全性驗證要項表 ..... 8
- 附表二、保健飼料添加物之品質驗證要項表 ..... 9
- 飼料添加物之實驗動物口服重複毒性試驗原則 ..... 10
- 飼料添加物之對象動物耐受性試驗原則 ..... 15
- 微生物性飼料添加物於禽類之耐受性和腸道菌叢影響試驗原則 ..... 22
- 保健飼料添加物功效性試驗之一般原則 ..... 29
- 保健飼料添加物功效性/安全性試驗之報告撰寫原則 ..... 36
- 附錄、微生物性飼料添加物於肉雞之生產性能、耐受性和腸道菌叢影響試驗報告（範例） ..... 40

## 保健飼料添加物標章申請之安全、 品質和功效性驗證流程

### 一、前言：

為加速保健飼料添加物標章申請驗證流程，爰制定此標準作業流程。

### 二、適用範圍：

本文所指之保健飼料添加物 (functional feed additive)，係指經中央主管機關公告可使用之飼料添加物，有益對象動物健康，但不具治療效果者。宣稱之功效可包括，但不限於下面所列項目：增加產能、增加屠體性狀/品質、增進產品品質、調節免疫力、調節消化道菌相、改善消化吸收、抗緊迫、提高抗氧化能力、降低糞尿臭味或降低黴菌毒素汙染。

### 三、名詞定義：

1. 飼料添加物：指經中央主管機關公告，為提高飼料效用，保持飼料品質，促進家畜、家禽、水產動物發育，保持其健康或其他用途，添加於飼料且不含藥品之非營養性物質。
2. 主要作用成分：係指對對象動物具有宣稱功效之物質，亦可作為指標成分。
3. 指標成分：係指用於檢視產品固定製程後之批次品質控管物質，該物質非必然為主要作用成分。

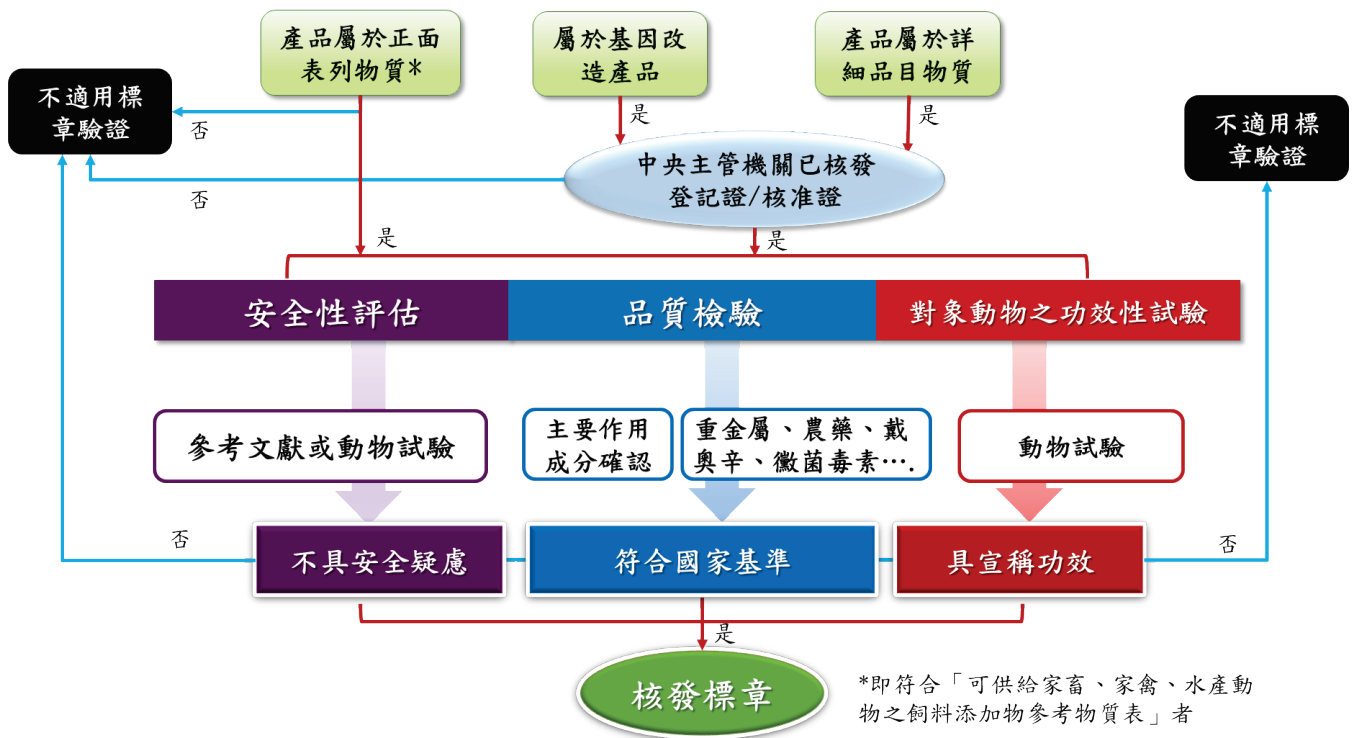


4. 產品：係指製程固定，經批次檢驗其主要作用成分或指標成分符合允收標準之最終可用於對象動物之物質。

5. 批次：在特定製程下，所生產的一批或特定數量之物質，這些同批次的物質被認定具有均一特性之產品。

#### 四、驗證標準作業流程：

相關作業流程如下圖，詳細內容分述如後：



#### 1. 產品特性確定

##### 1.1 產品主要作用成分和指標成分確認

(1) 確認產品主要作用成分及其歸類、純度和分析方法相關資料；確認指標成分、分析方法和批次控管相關資料。



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

- (2)產品依其特性可歸類為：微生物類、酵素類、益生素類、天然植物及其殘渣、植物萃取物及等同天然有效成分及其他。

## 1.2 法規符合性確認

- (1)申請標章驗證之產品原料或主要作用成分，應先確認是否符合我國飼料管理法公告可使用之飼料添加物。目前已公告品項請參照行政院農委會之飼料管理系統 (<https://permit.coa.gov.tw/Feed/Unlogin/index.action>) 上最新「可供給家畜、家禽、水產動物之飼料添加物參考物質表」和「飼料添加物詳細品目」。
- (2)若屬於「飼料添加物詳細品目」者，需確認是否已完成國內「飼料添加物製造許可登記證」申請。
- (3)若產品屬於我國定義之「基因改造微生物或含基因改造微生物產品」或「使用基因工程或分子生物技術生產且從未於國內供家畜、家禽、水產動物食用之胜肽或蛋白質」，確認是否已取得中央主管機關發給飼料用途許可證明文件。

## 1.3 對象動物確認

- (1)確認產品應用之對象動物，以利後續安全和功效檢驗項目確定。
- (2)每一件審查案件以單一對象動物分類為原則，其他對象動物分類應另案申請。



FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

(3)對象動物可包括，但不限於下面所列種類：

- 肉用家禽：白肉雞、有色肉雞、肉鴨、肉鵝等。
- 蛋用家禽：蛋雞、蛋鴨等。
- 豬：仔豬、肉用豬、種用豬。
- 乳用反芻動物：乳牛、乳羊等。
- 肉用反芻動物：肉牛、肉羊、鹿等。
- 水產動物：魚。

## 2. 產品對對象動物之安全性驗證

2.1 若主要作用成分有下列情形時，可判定不具安全性疑慮，毋需再繳交動物

試驗報告：

微生物類飼料添加物屬於歐洲食品安全局 (European food safety authority, EFSA) 認定之安全性 (qualified presumption of safety, QPS) 微生物且列於我國「可供給家畜、家禽、水產動物之飼料添加物參考物質表」者。

2.2 當文獻佐證資料符合下列情形時，毋須再繳交主要作用成分之動物試驗報

告：

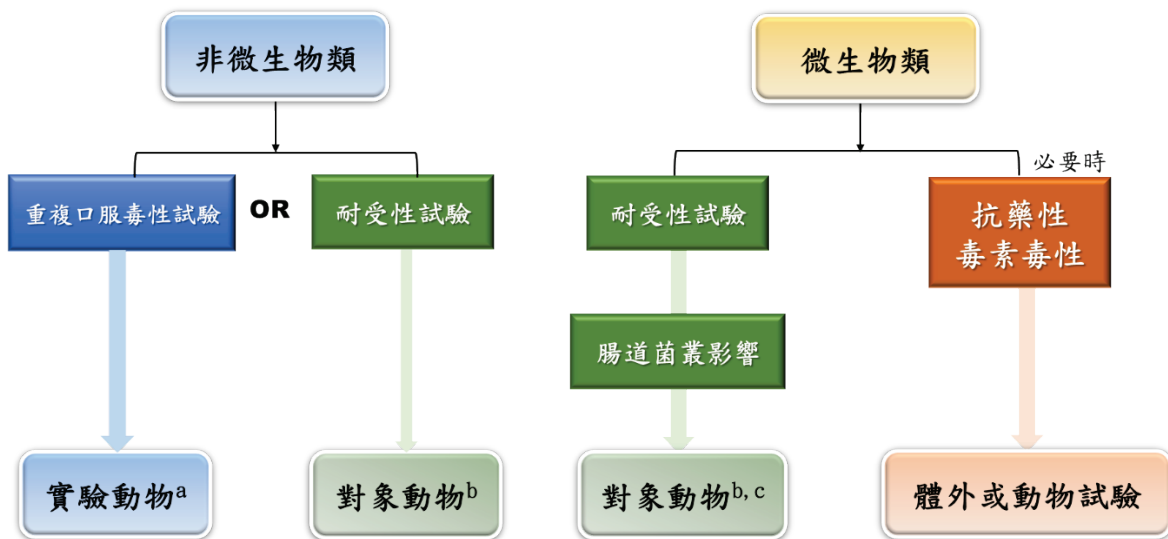
(1)主要作用成分於文獻中已確定其對對象動物之安全性；且

(2)主要作用成分於文獻中之使用濃度高於或等於產品之建議使用濃度；且

(3)文獻搜尋年份至少包含過去 20 年。

## 2.3 安全性試驗

(1)若產品的對象動物安全性無法以 2.1 和 2.2 確認時，需依產品種類要求繳交至少一場之完整動物試驗報告，需求項目請參考「附表一、保健飼料添加物標章安全性驗證要項」，報告內容可參考「保健飼料添加物功效性/安全性試驗之報告撰寫原則」。一般可粗略區分非微生物類和微生物類飼料添加物，如下：



a 可參考「飼料添加物之實驗動物口服重複毒性試驗原則」

b 可參考「飼料添加物之對象動物耐受性試驗原則」

c 可參考「微生物性飼料添加物於禽類之耐受性和腸道菌叢影響試驗原則」

(2)屬於微生物類產品需繳交對象動物之耐受性動物試驗外，另外需依菌種特性繳交腸道菌叢影響、毒素及其毒性和抗藥性等相關說明或試驗報告，可參考「微生物性飼料添加物於禽類之耐受性和腸道菌叢影響試驗原則」。

(3)屬於非微生物類產品可繳交實驗動物口服重複毒性試驗或對象動物耐受性試驗，擇一即可。



FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

(4)對象動物耐受性試驗內容和可外推動物種類可參照「飼料添加物之對象動物耐受性試驗原則」；實驗動物毒性試驗可參照「飼料添加物之實驗動物口服重複毒性試驗原則」。

### 3. 產品品質驗證

#### 3.1 產品品質確認

(1)須繳交至少一批次的產品品質報告，檢測項目請參考「附件二、保健飼料添加物標章品質驗證要項」。若產品原料為單一或固定來源，只需繳交一批次的產品品質報告一份；若產品原料來源不固定或是來源來自二處以上，須依不同來源繳交產品品質報告或提出不影響最終產品品質之說明。

(2)其檢測項目係參考國內飼料管理法所規定項目制定，其判定之限量基準為飼料添加物者，直接判定是否符合國家基準；判定之限量基準為配合飼料者，不經濃度換算，直接以飼料添加物檢測結果來判定是否符合國家基準。

#### 3.2 成品批次品質確認

需繳交至少三批次的產品主要作用成分分析報告，並訂立分析方法和允收標準。

### 4. 功效性驗證



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

- 4.1 功效性驗證必須繳交一份以「對象動物」進行之試驗報告來佐證主要作用成分之宣稱功效。其執行方法可參考「保健飼料添加物功效性試驗之一般原則」，撰寫報告之內容可參考「保健飼料添加物功效性/安全性試驗之報告撰寫原則」。
- 4.2 其結果須有使用適當之統計方法，且符合科學合理性。
- 4.3 為減少動物使用量，對象動物之功效性試驗可和耐受性試驗合併進行。

## 五、相關文件清單：

1. 飼料添加物之對象動物耐受性試驗原則。
2. 飼料添加物之實驗動物口服重複毒性試驗原則。
3. 保健飼料添加物功效性試驗之一般原則。
4. 微生物性飼料添加物於禽類之耐受性和腸道菌叢影響試驗原則。
5. 保健飼料添加物功效性/安全性試驗之報告撰寫原則。

## 六、參考文獻：

1. EFSA. 2017. Guidance on the assessment of the safety of feed additive for the target species. EFSA Journal 15 (10):5021.
2. EFSA. 2017. The 2016 updated list of QPS status recommended biological agents in support of EFSA risk assessments. EFSA Journal 15(7):4884.
3. EU. EU Regulation. Register of Feed additives pursuant to Regulation (EC) No 1831/2003.

## 七、附表：如後附件。

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**附表一、保健飼料添加物之安全性驗證要項表**

檢 驗 要 項	產 品 種 類						
	微 生 類	酵 素 類	益 生 類	天 然 植 物 殘 渣 及 其 天 成	植 物 萃 取 物 及 等 效 分	其 他	備 註
重複毒性試驗	×	●	●	●	●	△	1
耐受性試驗	●	●	●	●	●	●	1,2
腸道菌叢影響試驗	△	×	×	×	×	△	3
抗藥性試驗	●	×	×	×	×	△	4
毒素及其毒性試驗	△	×	×	×	×	△	5

●必備試驗資料 △視情況而定×不需檢送資料

**備註：**

1. 除微生物類飼料添加物只能進行對象動物耐受性試驗外，其他產品類別可選擇進行對象動物耐受性試驗或實驗動物的重複毒性試驗，擇一即可。
2. 對象動物耐受性試驗可與功效性試驗同時進行。
3. 腸道菌叢影響試驗可與耐受性檢驗或功效性試驗同時進行。
4. 應證明使用微生物不具抗藥性。
5. 所使用之微生物如為已知可生產毒素之菌株，則應檢測其毒素及其毒性。

**說明：**

- 基因改造飼料添加物應符合行政院農業委員會 105 年 1 月 4 日修正公告之「基因改造飼料或飼料添加物許可查驗辦法」法規要求。
- 飼料添加物應符合行政院農業委員會 104 年 7 月 14 日公告之「不得使用於飼料或飼料添加物之物質」法規要求。
- 產品不得產生抗生素或含抗生素。

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**附表二、保健飼料添加物之品質驗證要項表**

檢 驗 要 項	產 品 種 類						
	微 生 物 類	酵 素 類	益 生 素 類	天 然 植 物 及 其 殘 渣	植 物 萃 取 物 及 等 同 天 然 有 效 成 分	其 他	備 註
戴奧辛及戴奧辛類多氯聯苯	×	×	△	●	●	△	1
重金屬及無機鹽類、有機鹽類	×	×	△	●	●	△	2
黴菌毒素	●	×	△	●	●	△	3
農藥	×	×	△	●	●	△	4

●必備試驗資料 △視情況而定 ×不需檢送資料

**備註：**

1. 檢驗項目包含「戴奧辛」與「戴奧辛及戴奧辛類多氯聯苯」含量。
2. 檢驗項目至少為：鉛、砷、鎘、汞、銅、鋅、三聚氰胺。
3. 檢驗項目至少為：黃麴毒素。
4. 檢驗項目至少為：阿特靈，地特靈、蟲必死、加保利、陶斯松、滴滴涕、二溴乙烷、飛佈達、馬拉松。



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

## 飼料添加物之實驗動物口服重複毒性試驗原則

### 一、簡介：

飼料添加物對對象動物之安全性評估可以毒性或耐受性試驗作為主要代表，許多新研發之飼料添加物並無科學文獻，故得由直接試驗數據以評估其安全性，通常安全性評估以直接對對象動物進行相關試驗為首選，然而面臨的問題包括：(1) 功效試驗常為研發初期之必須，而試驗物於研發初期之量產常無法達成，因此無法直接進行試驗物量較多之對象動物試驗；(2) 飼料添加物之研發常已進行過功效試驗評估，而後續安全性評估如再以對象動物進行試驗，則成為資源重複及浪費；(3) 直接以對象動物常需大量時間及物力。因此可藉由以代表性實驗動物進行飼料添加物口服重複毒性試驗，以解決上述問題。

### 二、適用範圍：

除了含活的微生物 (viable microorganisms) 之飼料添加物外<sup>1</sup>，其他品項的對象動物安全性均可由實驗動物的口服重複毒性試驗結果做為佐證資料。

### 三、目的：

毒性試驗之目的為藉由連續投予大鼠試驗物 (即飼料添加物)，以了解試驗物對大鼠之亞急、亞慢性餵食毒性反應，並求得無可見危害劑量 (no-observed-

<sup>1</sup> 由於各種動物其腸道消化、代謝以及菌叢差異極大，因此針對微生物之感染性、免疫反應、菌叢影響亦具種別特异性，故微生物飼料添加物應以對象動物作為主要試驗對象，不適用以實驗動物口服重複毒性試驗結果做為佐證資料。

adverse-effect level, NOAEL) 或標竿劑量 (benchmark dose level)。最後依據此數據來推算對象動物之飼料中最高安全濃度 (maximum safe concentration in feed)。

#### 四、參考方法：

試驗方法建議參考經濟合作暨發展組織 (Organization for Economic Co-operation and Development, OECD) 試驗規範 407：Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents 或 409：Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents。

#### 五、試驗設計：

##### 1. 實驗動物：

年輕成年 (離乳到 9 週齡) 啮齒類動物為主，以大鼠為佳。雌鼠需未生育過或未懷孕者。

##### 2. 試驗組數

2.1 試驗組數至少需 3 組試驗組和 1 組對照組 (媒介物對照組)

2.2 亞急毒性 28 天試驗：每組 5 雄 5 雌共 10 隻，分籠時選擇體重不超過同性別平均體重 $\pm 20\%$ 。

2.3 亞慢毒性 90 天試驗：每組 10 雄 10 雌 20 隻，分籠時選擇體重不超過同性別平均體重 $\pm 20\%$ 。

##### 3. 試驗物製備

試驗物可直接使用，或是溶解或懸浮於適當媒介物後使用。媒介物以逆滲透



FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

去離子水或植物油（如玉米油）為之。

#### 4. 試驗物投予

4.1 試驗物可直接胃管灌注或混拌於飼料中投予。

4.2 以胃管給予試驗物，給予量為每隻動物 $\leq 10$  ml/kg 體積。如以水為媒介物，則可每隻動物 $\leq 20$  ml/kg 體積。

4.3 混拌於飼料給予時，需避免影響正常營養攝取量。

#### 5. 劑量選擇

5.1 最高劑量不超過 1000 mg/kg bw/d。

5.2 選擇呈現毒性反應但不造成死亡或嚴重痛苦症狀的劑量為最高劑量，其次劑量需包括輕微反應至無明顯作用危害劑量，劑量之間隔不超過 4 倍為原則。

#### 6. 試驗期間及試驗物給予天數

6.1 亞急毒性試驗期間為 28 天：試驗物給予天數為每周 7 天，連續 28 天。

6.2 亞慢毒性試驗期間為 90 天：試驗物給予天數為每周 7 天，連續 90 天

#### 7. 試驗觀察項目

包括體重、死亡、臨床症狀、飼料消耗量、尿液分析、血液及血清生化檢查及病理檢查。

#### 8. 試驗結果

將所得數據統計分析後，求得無明顯作用危害劑量 (no-observed-adverse-effect level, NOAEL) 值。

## 六、飼料中最高安全濃度 (maximum safe concentration in feed) 估算

1. 估算公式如下：

$$\text{Maximum safe concentration in feed} = \frac{\text{NOAEL}}{100 \times \text{FI}} \times 1000 \times 0.88 \text{ (或 } 0.945\text{)}$$

單位：試驗物/飼料乾物質, mg/g

FI (feed intake)：飼料取食估計值

100：10倍種間差異×10倍個體差異

1000：單位轉換(每公斤完全飼料中飼料添加物濃度)

0.88：假設完全飼料中的乾物質含量為88%

0.945：假設代奶粉的乾物質含量為94.5%

2. 飼料取食估計值 (FI 值) 參考表：

動物類別	FI (g 乾物質/kg 體重)	計算來源	
		體重 (kg)	飼料取食 (kg 乾物質/天)
肉雞	79	2	0.158
蛋雞	53	2	0.106
仔豬	44	20	0.88
肉豬	37	60	2.20
泌乳母豬	30	175	5.28
仔牛 (需代奶)	19	100	1.89
肉牛	20	400	8.0
乳牛	31	650	20.0
山羊/綿羊	20	60	1.2
觀賞魚	5	0.012	0.000054

## 七、参考文献

1. EFSA. 2017. Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the target species.
2. OECD. 2008. Guidance for the testing of Chemicals: Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents.
3. OECD. 2018. Guidance for the testing of Chemicals: Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents.

## 飼料添加物之對象動物耐受性試驗原則

### 一、簡介：

飼料添加物對對象動物之安全性評估可以毒性或耐受性試驗 (tolerance studies) 作為主要代表，許多新研發之飼料添加物並無科學文獻，故得由直接試驗數據以評估其安全性，通常安全性評估以直接對對象動物進行耐受性試驗為首選。

### 二、適用範圍：

所有品項的飼料添加物之安全性均可由對象動物的耐受性試驗結果來取得。

### 三、目的：

耐受性試驗的主要目的即是以短期毒性試驗來進行有限的評估，並且算出在對象動物的安全係數 (margin of safety，亦即最高可容許飼料內添加濃度和最高建議用量的比值)。一般建議與功效性試驗合併進行，若合併，則所有的試驗組均要包含在統計分析內。

### 四、參考方法：

試驗方法建議參考歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 發行之試驗指引「Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

target species」。

## 五、試驗設計：

### 1. 對象動物：

- 1.1 動物須健康且最好來源一致 (homogenous group)，飼育和動物舍要求要符合動物福祉 (最好經機構動物照顧與使用小組 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 許可)。
- 1.2 應避免在試驗開始前給予預防性的抗生素或抗微生物劑。在試驗期間使用抗生素或抗微生物劑須進行個案評估。所有治療性或預防性用藥不可與試驗物有相同的作用機制，且要個別紀錄。
- 1.3 對照組有異常高的死亡率時，不接受該試驗結果。
- 1.4 不同性別動物除了小豬外，均要分開飼養，分開統計。
- 1.5 應使用較敏感的族群進行試驗，建議如下：

動物種類	建議使用之較敏感族群
肉雞	使用雄性即可
蛋雞	使用處於前 1/3 產蛋期的母雞
乳牛	使用處於前 1/3 泌乳期的高產乳牛
生長期豬	已離乳的小公豬和小母豬
牛	已離乳且要進入肥育期的公小牛
鮭魚	幼年期



1.6 當飼料添加物的登記對象動物不只一種時，要求所有種類皆須進行耐受性試驗是不實際的，因此生理相關的物種可作為外推數據的來源如下表：

動物種類	可外推之動物種類
肉雞	其他肉用禽類，如：火雞、鴨、鵝、雉雞、鶇鶉、駝鳥等。
蛋雞	其他產蛋禽類，如：鴨、鵝、雉雞、鶇鶉、駝鳥等。
仔豬	其他豬科動物。
仔牛或肉牛	其他發育期相當之成長期反芻獸，如：綿羊、山羊或水牛等。
乳牛	其他泌乳之反芻獸，如：綿羊、山羊或水牛等。
鮭魚或鱒魚	觀賞魚

## 2. 試驗組數

須至少包含三組：

2.1 對照組 (control group)：一般指水中或飼料中不含試驗物的對照組。

2.2 使用組 (use-level group)：為試驗物的最高建議用量；若無設定，則以一般使用最高量為建議濃度。

2.3 耐受性劑量組 (overdose group with a multifold of the use-level)：

所需監測項目依其試驗濃度可區分為下列三種劑量範圍設計，依實驗需求選擇其中一項劑量範圍進行即可：

耐受性劑量組	所需監控項目
≥100 倍最高建議用量	定期監控用目視即可判定的臨床症狀和相關的產能特徵 (performance characteristics) 和產品品質 (product quality)。
10~100 倍最高建議用量	除了上述項目外，尚包括：血液學、血清生化學和其他與試驗物生理特性相關的參數。
≤10 倍最高建議用量	除了上述項目外，尚包括：肉眼病變和顯微病變。(有些物種因為現實上考量不進行剖檢，如：乳牛、種母豬、馬)

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

### 3. 試驗物投予

3.1 除了酵素或微生物建議使用濃縮狀態來執行外，其他飼料添加物則以預定應用狀態投予。

3.2 試驗物可添加在水或飼料中投予（依實際應用時狀態決定），試驗物在水中或飼料中的濃度須進行分析確認。

3.3 任何因實際施用時所造成的變異，均須評估確認。

3.4 需提供試驗物的成分分析報告。

### 4. 實驗期間

4.1 依其動物種類，建議最短實驗期間如下表：

動物種類	實驗起始	實驗期間
仔豬	離乳或離乳 7 天內	42 天 35 天 (如果生長速度 $\geq 0.5$ kg/day 時)
肉豬	20-35 kg 重	42 天
種母豬	授精或交配後	一個週期 (即授精到離乳後第一個發情期)
肉雞	孵化後	35 天
蛋雞	20 週齡	56 天
種母雞	25 週齡	56 天
仔牛	1 週齡	42 天
肉牛	反芻功能已成熟或小於 6 個月齡	42 天
乳牛	開始泌乳後 4 周	56 天
羔羊	1 到 4 週齡	42 天
乳羊	開始泌乳後 4 周	56 天
鮭魚或鱒魚	鮭魚：10 g 重 鱒魚：50 g 重	90 天
肉用魚	-	90 天



4.2 當已經有離乳小豬的耐受性試驗數據時，肉豬（肥育期）可不用進行。

4.3 仔牛和肉牛的耐受性試驗可以合併一起做，每個時期 28 天即可。

4.4 上表未列的非主流種類動物 (minor species) 應引用上述動物相似之生長階段。其他動物建議實驗期間：若為生長期動物為 42 天，成年動物為 56 天，最低觀察期不可少於 28 天。

## 5. 試驗觀察項目

包括一般要求、額外要求、血液及血清生化檢查及病理檢查。

5.1 一般要求，包括：飼料採食量、最初和最後體重、體增重、飼料換肉率和飲水量（試驗物放入水中投予）。臨床症狀包括：整體健康狀態、行為、發病率和死亡率。

5.2 額外要求，依動物種類有不同的額外要求項目如下：

動物種類	額外要求的量測項目
蛋雞	產蛋率 (laying rate)、蛋重、飼料換蛋重比例、蛋產量 (egg mass)
種雞	除了與蛋雞相同要求外，尚包含：受精率、孵化率和小雞存活率
產乳動物	產乳量 (含乳脂矯正乳 (fat corrected milk))、乳成分 (固形物量、蛋白質、脂肪、乳糖和尿素含量)、體細胞數、蛋白質、脂肪和乳糖
種母豬	產仔數、活仔數、窩產仔重和離乳窩重、離乳豬數、離乳至性成熟隻數
魚	特定生長速率 (specific growth rate)

5.3 血液學、血清生化學：

(1) 試驗結束時要採樣；若為肉牛、乳牛、種母豬或馬則在試驗開始前也須



採血。

(2)理想上，所有動物皆須採樣檢驗，但實際執行有困難時，則要每個欄（重複）隨機取相同數目動物來採樣。每個圍欄至少採樣 10%，且不可少於 2 隻動物。

(3)分析項目須包括：紅血球數、血容比、血紅素，平均血球容積 (MCV)、平均紅血球血紅素量 (MCH)、平均紅血球血紅素濃度 (MCHC)、白血球數及白血球分類、血小板、凝血酶原時間和纖維蛋白原（魚類最後兩項可不驗）。鈉、鉀、氯、鈣、磷、鎂、全蛋白、白蛋白、球蛋白、葡萄糖、尿素/尿酸（魚為非蛋白氮）、膽固醇、肌肝酸、膽紅素、急性期蛋白、澱粉酶、血清麩胺酸丙酮酸轉氨基酵素 (alanine aminotransferase, ALT)、麩胺酸苯醋酸轉氨基酵素 (aspartate aminotransferase, AST)、乳酸脫氫酵素 (lactate dehydrogenase, LDH)、麩胺轉酸酶 (gamma - glutamyltransferase,  $\gamma$  GT)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 和肌酸磷化酵素 (Creatine kinase, CK)。

#### 5.4 病理檢查：

(1)所有組別均須進行肉眼觀察和紀錄臟器重，也須採樣供顯微病變觀察。剖檢須包含以下臟器：肝、腎、脾、腎上腺、肺、胃、胰、小腸、大腸、直腸、胸腺、腎上腺、心臟、腸道淋巴結、卵巢/睪丸。若為魚類則需包

含：腎、肝、脾、胃、腸道、心臟、生殖腺、鰓、骨頭和眼睛。

(2)顯微病變檢查須在肉眼病變有發現時執行。

## 6. 實驗數據的統計考量

### 6.1 試驗設計：

若計算單位為每欄 (重複) 之總攝食量時,則計算單位不應該為單一動物,而為欄 (pen)。應確保欄的分配為隨機的,最好飼育員和觀察員不知道欄分配和處理的關係,以確保無先入為主的執行方式。

### 6.2 樣品大小：依統計需求設計。

### 6.3 統計方法：

建議使用一般線性模式 (generalized linear mixed models, GLMM) 分析,其中,變異數分析 (analysis of variance) 即為其中最簡單的模型,處理組和對照組間的比對要搭配 Scheffé, Dunnet, Tukey 或其他多重比較分析。

## 7. 試驗報告內容：

請參閱「保健飼料添加物之功效性/安全性試驗報告撰寫原則」

## 七、參考文獻

EFSA. 2017. Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the target species.

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

# 微生物性飼料添加物於禽類之耐受性和腸道菌叢 影響試驗原則

## 一、簡介：

飼料添加物對對象動物之安全評估主要可以毒性及耐受性作為代表，許多新研發之飼料添加物並無科學文獻，故得由直接試驗數據以評估其安全性，而安全性評估以直接對對象動物進行相關試驗為首選。由於各種動物其腸道消化、代謝以及菌叢差異極大，因此針對微生物之感染性、免疫反應、菌叢影響亦具種別特異性，故微生物飼料添加物應以對象動物作為主要試驗對象，以確保其安全性。

## 二、適用範圍：

1. 本試驗包含微生物性飼料添加物於禽類之耐受性及腸道菌叢影響。
2. 腸道菌叢影響並非必要進行項目，當有以下情況時才須進行：
  - 2.1 當耐受性試驗中顯示有消化道不良影響時，例如：糞便性狀變化很大或下痢等；或
  - 2.2 預期會對腸道菌叢會有不良影響的飼料添加物；或
  - 2.3 當腸道菌叢影響為宣稱的功效性之一時。

### 三、目的：

耐受性試驗之目標為求得高劑量微生物飼料添加物（試驗物）對禽類之健康影響；腸道菌叢影響試驗之目標則為確定該試驗物不會造成腸道病原菌增生。

### 四、參考方法：

試驗方法建議參考歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 發行之試驗指引：Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the target species 和 Microbial Studies: prepared by the panel on additives and products or substances used in animal feed。

### 五、試驗設計：

#### 1. 對象動物：

1.1 動物須健康且最好來源一致 (homogenous group)，飼育和動物舍要求要符合動物福祉（最好經機構動物照顧與使用小組 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 許可）。

1.2 應避免在試驗開始前給予預防性的抗生素或抗微生物劑。在試驗期間使用抗生素或抗微生物劑須進行個案評估。所有治療性或預防性用藥不可與試驗物有相同的作用機制，且要個別紀錄。

1.3 控制組有異常高的死亡率時，不接受該試驗結果。

1.4 應使用較敏感的族群進行試驗，建議如下：

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

動物種類	建議使用之較敏感族群
肉雞	使用雄性即可
蛋雞	使用處於前 1/3 產蛋期的母雞

1.5 生理相關的物種可作為外推數據的來源如下表：

動物種類	可外推之動物種類
肉雞	其他肉用禽類，如：火雞、鴨、鵝、雉雞、鶇鶉、駝鳥等。
蛋雞	其他產蛋禽類，如：鴨、鵝、雉雞、鶇鶉、駝鳥等。

## 2. 試驗組數

須至少包含三組：

2.1 對照組：一般指水中或飼料中不含試驗物的對照組。

2.2 使用組：為試驗物的最高建議用量；若無設定，則以一般使用最高量為建議濃度。

2.3 耐受性劑量組：

所需監測項目依其試驗濃度可區分為下列三種劑量範圍設計，依實驗需求選擇其中一項劑量範圍進行即可：

耐受性劑量組	所需監控項目
≥ 100 倍最高建議用量	定期監控用目視即可判定的臨床症狀和相關的產能特徵 (performance characteristics) 和產品品質 (product quality)。
10~100 倍最高建議用量	除了上述項目外，尚包括：血液學、血清生化學和其他與試驗物生理特性相關的參數。
≤ 10 倍最高建議用量	除了上述項目外，尚包括：肉眼病變和顯微病變。

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

### 3. 試驗物投予

3.1 建議使用濃縮狀態來執行。

3.2 試驗物可添加在水或飼料中投予 (依實際應用時狀態決定), 試驗物在水中或飼料中的濃度須進行分析確認。

3.3 任何因實際施用時所造成的變異, 均須評估確認。

3.4 需提供試驗物的成分分析報告。

### 4. 實驗期間

4.1 依其生產類型, 建議最短實驗期間如下表:

生產類型	實驗起始	實驗期間
肉雞	孵化後	35 天
蛋雞	20 週齡	56 天
種母雞	25 週齡	56 天

### 5. 試驗觀察項目

包括一般要求、額外要求、血液及血清生化檢查及病理檢查。

5.1 一般要求, 包括: 飼料攝取量、最初和最後體重、體增重、飼料換肉比例和飲水量 (試驗物放入水中投予)。臨床症狀包括: 整體健康狀態、行為、發病率和死亡率。

5.2 額外要求, 依生產類型有不同的額外要求項目如下:

動物種類	額外要求的量測項目
蛋雞	產蛋率、蛋重、蛋殼品質、飼料換蛋重比例、每日蛋重/母雞
種雞	除了蛋雞要求外, 尚包含: 生育力、孵化率和小雞存活率



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

### 5.3 血液學、血清生化學：

(1)試驗結束時要採樣。理想上，所有動物皆須採樣檢驗，但實際執行有困難時，則要每個圍欄隨機取相同數目動物來採樣。每個圍欄至少採樣10%，不可少於2隻動物。

(2)分析項目須包括：紅血球數、血容比、血紅素，平均血球容積 (MCV)、平均紅血球血紅素量 (MCH)、平均紅血球血紅素濃度 (MCHC)、白血球數及白血球分類和血小板。鈉、鉀、氯、鈣、磷、鎂、總蛋白、白蛋白、球蛋白、葡萄糖、尿酸、膽固醇、肌肝酸、膽酸、澱粉酶、血清麩胺酸丙酮酸轉氨基酵素 (alanine aminotransferase, ALT)、麩胺酸苯醋酸轉氨基酵素 (aspartate aminotransferase, AST)、乳酸脫氫酵素 (lactate dehydrogenase, LDH)、麩胺轉酸酶 (gamma -glutamyltransferase,  $\gamma$  GT)、鹼性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 和肌酸磷化酵素 (Creatine kinase, CK)。

### 5.4 病理檢查：

- (1)所有組別均須進行肉眼觀察和紀錄臟器重，也須採樣供顯微病變觀察。剖檢須包含以下臟器：肝、腎、脾、腎上腺、肺、胃、胰、小腸、大腸、直腸、胸腺、腎上腺、心臟、腸道淋巴結、卵巢/睪丸。
- (2)顯微病變檢查須在肉眼病變有發現時執行。



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

### 5.5 糞材菌種分離：

(1)試驗須採集糞便至少 3 次，包含實驗開始前、實驗期間和實驗結束之採集時間點。

(2)正常腸道菌叢相評估：

須評估細菌種類至少包括：

- a. 厭氧菌 (anaerobes) 和好氧菌 (aerobes) 全菌數。
- b. 腸桿菌科 (*Enterobacteriaceae*)：例如、大腸桿菌 (*E. coli*)。
- c. 腸球菌 (*Enterococcus spp.*)
- d. 乳酸菌 (*Lactobacillus spp.*)
- e. 梭狀芽胞桿菌 (*Clostridium spp.*)：例如、產氣莢膜梭狀芽胞桿菌 (*Clostridium perfringens*)。

(3)病原菌增殖或排毒增加評估：

須評估細菌種類至少包括下面菌種 (註：若是動物本身排菌量很少，可能考慮要人工感染)：

- a. 鼠傷寒沙門氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 或腸道沙門氏菌 (*Salmonella enteritidis*)。
- b. 曲狀桿菌屬 (*Campylobacter spp.*)。

### 6. 實驗數據的統計考量

### 6.1 試驗設計：

若計算單位為圍欄內總攝食量時，則計算單位不應該為單一動物，而為圍欄 (pen)。應確保圍欄的分配為隨機的，最好飼育員和觀察員不知道圍欄分配和處理的關係，以確保無先入為主的執行方式。

### 6.2 樣品大小：依統計需求設計。

6.3 統計方法：建議使用一般線性模式 (generalized linear mixed models, GLMM) 分析，其中，變異數分析 (analysis of variance) 即為其中最簡單的模型，處理組和控制組間的比對要搭配 Scheffé, Dunnet, Tukey 或其他多重比較分析。

### 7. 試驗報告內容：

請參閱「保健飼料添加物之功效性/安全性試驗報告撰寫原則」

## 七、參考文獻

1. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). 2017. Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the target species.
2. FEEDAP. 2018. Guidance on the assessment of the efficacy of feed additives.
3. FEEDAP. 2018. Guidance on the characterization of microorganisms used as feed additives or as production organisms.
4. Kupryś-Caruk M., Michalczuk M., Chabłowska B., Stefańska I., Kotyrba D. and Parzeniecka-Jaworska M. 2018. Efficacy and safety assessment of microbiological feed additive for chicken broilers in tolerance studies. J Vet Res 62: 57-64. DOI:10.2478/jvetres-2018-0008

## 保健飼料添加物功效性試驗之一般原則

### 一、簡介：

保健飼料添加劑 (functional feed additive) 對對象動物宣稱之功效，通常需以動物功效性試驗或搭配體外試驗來評估其功效性。本文以通則方式介紹功效性試驗的一般要求，供研發者參照使用。

### 二、適用範圍：

1. 本文所指之保健飼料添加物 (functional feed additive)，係指經中央主管機關公告可使用之飼料添加物，以促進對象動物發育，保持其健康或其他宣稱功效為目的，添加於飼料且不含藥品之非營養性物質。
2. 宣稱之功效可包括，但不限於下面所列項目：增加產能、增加屠體性狀/品質、增進產品品質、調節免疫力、調節消化道菌相、改善消化吸收、抗緊迫、提高抗氧化能力、降低糞尿臭味或降低黴菌毒素污染。
3. 對象動物可包括，但不限於下面所列種類：肉用家禽、蛋用家禽、仔豬、肉用豬、種用豬、乳用反芻動物、肉用反芻動物或水產動物 (如、魚)。

### 三、目的：

功效性試驗依照飼料添加劑的作用機制、用途及對象動物種類/品種進行試驗設計，其目的為驗證其最低推薦添加量所宣稱之功效性。依其作用機制和效果，可選擇進行短期或長期試驗。



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

#### 四、參考方法：

試驗方法建議參考歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA)

發行之試驗指引：Guidance on the assessment of the efficacy of feed additives。

#### 五、試驗設計：

##### 1. 對象動物：

1.2 動物須健康且最好來源一致 (homogenous group)，飼育和動物舍要求要符合動物福祉 (最好經機構動物照顧與使用小組 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 許可)。

1.2 應避免在試驗開始前給予預防性的抗生素或抗微生物劑。在試驗期間使用抗生素或抗微生物劑須進行評估。所有治療性或預防性用藥不可與試驗物有相同的作用機制，且要個別紀錄並說明。

1.3 控制組有異常高的死亡率時或生產性能異常 (例如：超過商用飼養手冊±20%) 時，應解釋試驗結果。

1.4 申請的添加物若只使用於一種對象動物，則只需完成單一動物種類之功效性測試。同一動物種類及生產類型可使用代表物種來外推到生理相關的物種，如下表：

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

動物類別	生產類型	代表物種	其他物種
家禽	肉用	白肉雞	肉用雞、鴨、鵝、火雞、雉、鶇鶉、珍珠雞、駝鳥、觀賞鳥及其他生長期禽類
	蛋用	產蛋雞	蛋用雞、鴨、鵝、火雞、雉、鶇鶉、珍珠雞、駝鳥及其他產蛋期禽類
豬科	肉用	離乳仔豬/ 肥育豬	其他生長期豬科
	種用	種母豬	其他種用豬科
反芻動物	肉用	犏牛、仔羊/ 肥育牛、羊	肉用綿羊、山羊、水牛及其他肉用反芻動物
	乳用	乳用牛、羊	乳用綿羊、山羊、水牛及其他乳用反芻動物

## 2. 試驗組數

至少包含空白對照組及推薦劑量組

2.1 空白對照組：一般指水中或飼料中不含試驗物的對照組，但是當試驗物屬

於營養性添加時，則要以最低建議量作為對照組。

2.2 推薦劑量組：飲水或飼料中需添加最低建議劑量。

2.3 適當時，可增加劑量組別或是正反應對照組。

## 3. 試驗物投予

3.1 試驗物（飼料添加物）應以預定應用狀態投予（包括：使用濃度、投予途

徑、投予頻率、投予期間）。

3.2 任何因實際施用時所造成的變異，均須評估確認並說明。

3.3 需提供試驗物的成分分析報告。

## 4. 實驗期間

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

#### 4.1 短期試驗：

(1)包括：生物利用性 (bioavailability)/生物等效性 (bioequivalence) 試驗、腸道消化吸收、營養代謝、評估適口性或畜產品之著色能力等。

#### (2)腸道消化試驗：

依動物種類，建議實驗期間如下：

動物種類	適應期 (天)	試驗前限飼 (天)	試驗期 (天)
家禽	≥3	≥1	3-4
豬	≥3	≥2	4-6
反芻動物	≥14	≥2	5-7

#### (3)適口性試驗：

試驗最少需進行兩個實驗週期，一個週期為 5 天，兩週期間提供空白飼料。

#### 4.2 長期試驗：

(1)依其動物種類，建議最短實驗期間如下表：

動物種類	實驗起始	實驗期間
仔豬	離乳 7 天內	42 天 35 天 (如果生長速度≥0.5 kg/day)
肉豬	≤35 kg 重	>70 天或到屠宰時
種母豬	授精或交配後	若效果在繁殖：2 個週期 (授精到離乳後第一個發情期) 若效果在仔豬：分娩前至少 2 周到仔豬離乳
肉雞	1 日齡	35 天
蛋雞	22~25 週齡	84 天

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

動物種類	實驗起始	實驗期間
仔牛	1~4 週齡	56 天
肉牛	反芻功能已成熟 但小於 6 個月齡	84 天
乳牛	產仔後 1~4 週	84 天
羔羊	1 到 4 週齡	56 天
乳羊	生產後 4 週	84 天
鮭魚或鱒魚	鮭魚：≥10 g 重 鱒魚：≥50 g 重	84 天

(2) 上表未列的非主流種類動物 (minor species) 應引用上述生理相關的動物資料。其他動物建議實驗期間：若為生長期動物為 42 天，成年動物為 56 天，最低觀察期不可少於 28 天。

## 5. 試驗觀察項目

試驗觀察項目包括一般要求和特定要求，一般要求為所有功效性試驗都要蒐集的數據；而特定要求則為依宣稱功效調整應蒐集的數據：

5.1 一般要求，包括：飼料採食量 (或消耗量)、試驗初始和結束體重、體增重、飼料轉換率 (或飼料效率) 和飲水量 (試驗物放入水中投予時)。臨床症狀包括：整體健康狀態、異常行為、發病率和死亡率。

### 5.2 特定要求：

依宣稱功效不同，有不同特定要求，舉例如下：

#### (1) 增加動物產能：

依動物種類有不同的額外要求項目如下：

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

動物種類	額外要求的量測項目
蛋雞	產蛋率 (laying rate)、蛋重、產蛋量 (egg mass)
種雞	產蛋率、受精率、孵化率和小雞存活率
產乳動物	產乳量 (含乳脂矯正乳 (fat corrected milk))、乳成分 (固形物量、蛋白質、脂肪、乳糖和尿素含量)、體細胞數、脂肪和乳糖
種母豬	產仔數、活仔數、窩仔重和離乳窩重、離乳豬數、離乳至性成熟隻數
魚	特定生長速率 (specific growth rate)

## (2)降低糞尿臭味

直接作用指標如：減少環境中甲烷、氨氣和二氧化碳逸散和減少臭味或臭味因子；間接性指標，如：增加動物營養利用率並減少氮、磷和硫的排泄。

## 6. 實驗數據的統計考量

### 6.1 試驗設計

- (1)試驗單位為給予處理/添加物的最小單位，如果一個組別飼養於同一欄位並共用飼料槽(即沒有獨立的飼料採食量數據)，則所有數據的試驗單位為「欄」，而非單一動物。
- (2)報告中需說明選擇試驗設計的原因，動物需隨機分配至試驗單位及各處理組，且同試驗中的處理組需接受相同的飼養條件 (光照、溫度、餵飼條件)；較大型的試驗設計可採用逢機區集設計 (randomized block design) 降低試驗位置或環境影響效應。

(3)若於動物間存在會顯著影響結果的差異 (可能包含：初始體重、性別、年齡、泌乳階段/期、產乳量、產蛋量、胎次)，可在隨機分配前先進行分層 (stratified)(例：區集設計)。

(4)試驗設計中可以適當利用 CRD 完全隨機設計，在處理間使用代號/編號，以確保試驗人員不受組別影響；若試驗終點需通過人為/專家的判斷 (例如：感官品評)，則必須進行盲樣試驗。

6.2 樣品大小：依統計需求設計。

6.3 統計方法：

建議使用一般線性模式 (generalized linear mixed models, GLMM) 分析，其中，變異數分析 (analysis of variance, ANOVA) 即為其中最簡單的模型，處理組和對照組間可搭配 Scheffé, Dunnet, Tukey 或其他方法進行比較分析。

7. 試驗報告內容：

請參閱「保健飼料添加物之功效性/安全性試驗報告撰寫原則」。

## 六、參考文獻

ESFA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). 2018. Guidance on the assessment of the efficacy of feed additives. EFSA Journal 16(5):5274

# 保健飼料添加物功效性/安全性試驗之報告撰寫原則

## 一、標題

須包含研究的簡述，包括研究類型、評估之飼料添加物及動物種類/類別。

## 二、摘要

應包括目標、材料與方法之簡述、重要結果及結論。

## 三、目的

應明確描述研究的目的。

## 四、試驗人員資訊

研究主持人（負責人）姓名和簽名、參與實驗人員及工作分配。

## 五、試驗期程資訊

實驗開始與完成的日期和報告的完成日期。

## 六、試驗物相關資訊（即檢測之飼料添加物）

1. 試驗物提供者名稱和地址。
2. 試驗物的名稱、代號、型態顏色、批號、製造日期、有效期限、接收日期、保存條件和穩定性 (stability) 等。
3. 試驗物中主要有效成分的分析證明和分析方式簡述。



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

## 七、材料與方法

### 1. 動物、畜舍及飼養環境：

1.1 動物：物種 (水生物種需提供拉丁文學名)、品種、品系、年齡 (或水生物種的大小/長度)、初始體重、性別和來源。

1.2 飼養殖條件：餵飼、養殖條件 (動物欄/飼養缸尺寸或飼養密度、溫度、濕度、照明等) 和疫苗施打情形；水生物種需提供水質相關資訊，如、水流量、水溫或鹽度等。若非環控動物舍時須提供氣候條件資料。

1.3 飼糧：飼料組成、重要營養成分濃度 (計算或分析的值)、飼料能量 (可消化能，可代謝能或淨能)。此外，對於酵素相關研究，應該分析飼料中相關成分 (例如：植酸酶應分析飼料中植酸磷含量)。

1.4 動物福祉道德聲明或實驗動物照護及使用委員會 (IACUC) 核准動物實驗證明。

### 2. 實驗規劃

2.1 實驗地點和動物房舍資訊。

2.2 研究設計類型方式 (例如：多因子，分層抽樣或交叉試驗) 以及採樣或分析措施 (例如：隨機分配或是盲樣設計 (blinding)) 及相關說明。

2.3 實驗分組：

(1)處理組和對照組的組數，每組的重複數 (實驗單位 (experimental unit))



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

須說明為個別動物或是欄) 和每個重複的動物數量。

(2)應說明每個測量點之單位基準，例如、蒐集每欄之飼料採食量或每隻動物之血液樣本等。

(3)重複數和動物數目合理性的說明及相對應的統計檢定力。

### 3. 實驗步驟

3.1 應詳細說明對不同實驗組進行的程序：包括測量的參數(終點)、測量之時間和方式及分析方法等相關資訊。

3.2 監測並記錄動物的健康狀況、發病率和死亡率 (包括剔除)。

3.3 應說明如何以死亡率 (包括剔除) 修正飼料轉換率的方法。

3.4 應定期分析飼料 (或水) 中主要有效成分。

### 4. 統計方法相關資訊：

4.1 分析數據所用的統計方法和統計檢定力分析。

4.2 描述數據在何種情況下符合統計假設的要求。

## 八、結果

1. 應提供研究中所有實驗數據之結果。測量結果應使用實驗單位 (experimental unit) 來表示數據。

2. 應使用表格來整理試驗結果，並提供描述性統計數據。屬於連續性數據者 (如、體重) 須提供平均值；屬於比例數據者 (例如、嚴重程度或死亡率) 須



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

提供中位數。所有數據應依據損失（死亡率或剔除）調整數據。

3. 動物的健康狀況記錄、發病率和死亡率（包括結果中不列入數據計算之動物）。

如有治療或預防性治療處理需紀錄。若動物死亡，最好由獸醫判定可能的死因並報告之。

4. 應定期分析飼料（或水）中主要有效成分並報告分析結果（測試文件附於附件）或提供合理性說明實驗期間主要有效成分的穩定性。

## 九、討論

1. 判讀實驗結果，並輔以相關參考文獻來說明結果是否符合研究目標和假設。
2. 應說明試驗中任何潛在的偏差來源以及動物模式的限制性。

## 十、結論

應該依據研究的目標、假設和研究結果，得出研究結論。

## 十一、參考文獻

## 附錄、微生物性飼料添加物於肉雞之生產性能、 耐受性和腸道菌叢影響試驗報告（範例）

報告編碼：  
研究編碼：  
報告頁數：ii + 19 頁  
列印序號：



研究報告標題

複方益生菌飼料添加物應用肉雞之功效性及  
耐受性試驗

(本範例為示範報告應有內容，數據部分為引用多份文獻模  
擬而成，非實際實驗數據，不合理處，還請見諒)

委託者

XXXXXXXXXX 有限公司

地址 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

試驗單位

XXXXXXXX 所

地址 XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

XXXX 年 X 月



### 試驗參與人員

研究主持人：董 XX \_\_\_\_\_(簽名)日期： \_\_\_\_\_

研究人員：

1. 董 XX：試驗設計、數據整理、統計分析及報告撰寫。
2. 黃 XX：負責動物飼養和臨床症狀觀察。
3. 林 XX：負責飼料和試驗物調配，飼料採樣。
- 4.
5. 飼料分析委託 XXX 單位進行。



**FFA**

**保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

## 報告目錄

研究參與人員.....	i
一、摘要.....	1
二、目的.....	2
三、試驗期程.....	2
四、試驗物.....	2
五、材料與方法.....	3
六、結果.....	7
七、討論.....	9
八、結論.....	11
九、參考文獻.....	12
表	
表 1、飼糧營養成分分析.....	14
表 2、飼糧中添加複方益生菌對肉雞生長性狀之影響.....	15
表 3、試驗期間之死亡率及剔除率.....	16
表 4、飼糧中添加複方益生菌對肉雞血液學之結果.....	17
表 5、飼糧中添加複方益生菌對肉雞血清生化學之結果.....	17
表 6、飼糧中添加複方益生菌對肉雞腸道菌相之結果.....	17
附表	
附表 1、基礎飼糧配方與營養成分.....	18
附表 2、各處理組之複方益生菌劑量及菌數與預估動物每日攝取劑量及菌數.....	19



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

## 複方益生菌飼料添加物應用於肉雞之功效性及耐受性試驗

### 一、摘要：

本試驗旨在評估使用複方益生菌 (*Lactobacillus plantarum* K KKP 593/p *Lactobacillus rhamnosus* KKP 825) 對肉雞生產表現及腸道菌相之影響，並以短期耐受性試驗評估其應用於肉雞飼養之安全性。實驗選用 1 日齡 Ross 308 品系之肉雞 480 隻，分為 4 個處理組，每處理組 6 重複，每重複 20 隻，處理組分為：空白對照組 (K)、最低建議劑量組 (Min)、最高建議劑量組 (Max) 及耐受性組 (10Max)，共進行 42 天。試驗結果顯示，添加複方益生菌可降低死亡率並抑制腸道中沙門氏菌 (*Salmonella*) 及產氣莢膜梭狀芽孢桿菌 (*Clostridium perfringens*) 之生長，各處理之體重、體增重、採食量及飼料轉換率皆無負面效應，於飼糧中添加最高建議劑量 10 倍之複方益生菌對於血液學及血液生化值無不良影響。

綜上所述，複方益生菌經評估為安全之飼料添加物，可用於改善肉雞腸道菌相以有效提升健康狀態。



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

## 二、目的：

本試驗於飼糧中添加不同劑量之複方益生菌 (*Lactobacillus plantarum* K KKP 593/p 及 *Lactobacillus rhamnosus* KKP 825) 評估此微生物性飼料添加物做為肉雞飼料添加物之功效性 (增加產能、改善腸道菌相) 及安全性。

## 三、試驗期程：

實驗開始日期：2017年11月15日  
(投藥開始)  
實驗完成日期：2017年12月19日  
報告完成日期：研究主持人簽署報告日

## 四、試驗物：

1. 委託者：XXXXXXXX 有限公司  
(住址：XXXXXXXX)
2. 中文名稱：複方益生菌
3. 英文名稱：*Lactobacillus plantarum* K KKP 529/p and *Lactobacillus rhamnosus* KKP 825
4. 代號：0228
5. 批號：486-243
6. 形態顏色：白色粉末
7. 來源：Institute of Agricultural and Food Biotechnology 發酵技術部



# FFA

# 保健飼料添加物 FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

# 保健飼料添加物 FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

(住址：XXXXXXXX)

8. 製造日期：2017 年 XX 月 XX 日
9. 有效日期：2019 年 XX 月 XX 日
10. 接收日期：2017 年 09 月 10 日
11. 儲存條件：室溫
12. 穩定性：在有效期限內視為穩定。
13. 主要做用成份及濃度：XXXX
14. 主要做用成份分析方法：xxxxxx.....

## 五、材料與方法：

### 1. 動物及飼養環境：

#### (1) 動物：

- a. 品種：Ross308 肉雞
- b. 來源：購自 XXXX 商業繁殖場 (地址：XXXX)
- c. 日齡：1 日齡
- d. 初始體重：平均體重為  $44.4 \pm 0.58$  g。
- e. 隻數：480 隻 (共 4 個處理組，每處理 6 重複(欄)，每重複 20 隻，公母各半)。
- f. 飼養環境：每重複雞飼養於同欄中，飼養密度為 11.4 隻/平方公尺，並鋪以稻稈作為墊料。試驗期間平均溫度為 22°C，相對溼度為 86.51%。
- g. 免疫情況：動物皆依照規定時程接種疫苗，1 日齡注射馬立克+傳



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

染性華氏囊炎（MD+IBD）混合疫苗（Vaxxitek IBD; Merial, Germany）並使用噴霧接種傳染性支氣管炎（IB）疫苗與新城雞瘟（ND）疫苗（Cevac Bron 120 L, Cevac Vitapest L; Ceva Animal Health, France），15 日齡接種 IB 疫苗（Nobilis 4/91; Intervet, Poland）。

(2) 飼糧：

試驗採三階段飼糧（1-21 日齡育雛期、22-35 日齡生長期及 36-42 日齡肥育期），各組皆餵飼以玉米、豆粉等原料組成之粉狀飼料，生長期及肥育期之飼糧另添加球蟲藥（Monteban; Elanco, USA），詳細之飼糧配方及營養成分如附表 1。

(3) 本試驗經 XXX 機關實驗動物照護及使用小組審核及同意後，依申請內容進行，IACUC 編號：1234567。

## 2. 實驗規劃

(1) 實驗地點和動物房舍資訊：本實驗在 Warsaw University of Life Sciences 內之飼養場進行。

(2) 實驗分組：採逢機試驗

- a. 空白對照組（K）：無添加試驗物之基礎飼糧；
- b. 低劑量組（Min）：飼糧中添加建議最低用量；
- c. 高劑量組（Max）：飼糧中添加建議最高劑量；
- d. 耐受性組（10Max）：飼糧中添加之 10 倍建議最高劑量。

(3) 預估投藥劑量：

添加之凍乾菌粉中活菌數含  $1.0 \times 10^9$  cfu/g，試驗組依照不同飼養階



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

段，於飼糧中添加之劑量、活菌數以及經由預估動物每日採食量換算之劑量、活菌數如附表 2。

### 3. 實驗步驟

#### (1) 飼糧成分分析：

一般成分之水分、粗蛋白、粗脂肪及灰分，依 AOAC (1990) 所述分析方法進行。

#### (2) 生長性狀測定：

試驗動物於 1、21、35 及 42 日齡皆進行稱重，並於 21、35 及 42 日齡時記錄各欄之採食量，計算其平均體重 (average body weight, ABW)、平均體增重 (average body weight gain, ADG)、飼料採食量 (average feed intake, AFI) 及飼料轉換率 (feed conversion rate, FCR)，並計算於試驗期間各組之死亡率 (mortality)。動物體重過低、健康異常或死亡者，移出時稱重，依在欄中飼養天數修正其飼料採食量及飼料轉換率。

#### (3) 採樣方式：

試驗結束後，每重覆取 2 隻雞進行採樣(符合採樣 10%動物數，且至少 2 隻雞之要求)，每重覆(欄)取同性別之體重中位數雞隻，每處理組取 12 隻雞 (6 公 6 母) 由翼靜脈採集血液後屠宰，並採集小腸進行後續微生物分析。採樣動物之血液及小腸樣品採個別分析。

#### (4) 血液學及血液生化分析：

##### a. 血液學之檢測項目如下：

以 Sysmex F-800 血液細胞計數器測定紅血球 (red blood cell, RBC)



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

總數、血紅素 (hemoglobin, Hb) 濃度及血容比 (packed cell volume; PCV) 值 (林等, 2017)。

- b. 血清生化學檢測如下：收集之血漿以全自動乾式生化分析儀 (FUJIFILM DRI-CHEM, Japan)，使用富士乾式試片 (Fuji Dri Chem Slide) 測定天冬氨酸氨基轉移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、肌酸激酶 (creatinase, CK)、總蛋白 (total protein)、尿酸 (uric acid) 和膽酸 (bile acids)。

(5) 腸道菌相分析：

將屠宰後採集之盲腸內容物收集並秤重，分別以無菌水稀釋 10 倍混和均勻後，再連續稀釋濃度至  $10^{-1}$  至  $10^{-5}$ ，取  $10^{-3}$  至  $10^{-5}$  倍數之樣品稀釋液 0.1 mL，分別以適當培養條件檢測 (各 3 重複) 如下：

- a. 腸桿菌 (*Enterobacteriaceae*)：使用 VRBG 培養基 (BioMérieux, France) 於 37°C 深層培養。
- b. 大腸桿菌 (*E. coli*)：使用 TBX 培養基 (Bio-Rad, France) 於 42°C 深層培養。
- c. 腸球菌 (*Enterococcus spp.*)：使用 Slanetz-Bartley 培養基 (Merck, Germany)，以 37°C、5% O<sub>2</sub> 之條件置於培養箱 (Cellhouse, Heto-holten, Denmark) 進行表面培養。
- d. 乳酸桿菌 (*Lactobacillus spp.*)：使用 MRS 培養基 (Sigma-Aldrich, USA) 於 37°C 深層培養。
- e. 產氣莢膜梭狀芽孢桿菌 (*Clostridium perfringens*)：使用 TSC 培養基 (Oxoid, U.K.) 於 37°C 深層培養。



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

f. 沙門氏菌 (*Salmonella*)：參考 PN-EN ISO 6579: 2003 之標準方法進行檢測，使用蛋白胨緩衝液稀釋 10 倍之腸道內容物後，於 37°C 培養 20 小時後，接種至經改良過的半固態 RV 沙門氏選擇增殖培養基 (Oxoid, U.K.) 以 41°C 培養 24 小時，之後將呈現陽性的樣品轉移至 Brilliance 產色培養基 (Oxoid, U.K.) 於 41°C 培養 20 小時後，使用 Api 20 E 鑑定套組 (BioMérieux, France) 判讀。

#### 4. 統計分析

統計分析計算試驗數據之平均值 (mean) 及標準偏差 (standard deviations, SD)，平均值之顯著性採 post-hoc Tukey test 進行變方分析 (ANOVA)，非常態分佈 (normality) 或不具符合同質性檢定 (variance homogeneity) 之數據，採 KruskalWallis test 進行變方分析 (ANOVA)。

### 六、結果：

#### 1. 飼糧成分分析

試驗飼糧之成分分析測定結果，列於表 1。結果顯示，試驗所配出之飼糧營養成分與配方相似，確認給予之飼糧符合雞隻營養需求。

#### 2. 生長性狀



# FFA

## 保健飼料添加物 FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

## 保健飼料添加物 FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

飼糧中添加複方益生菌，對 0-42 日齡肉雞體重、採食量、各階段平均體增重及飼料轉換率之影響，試驗結果如表 2 所示。

結果顯示，添加複方益生菌可增加 21 日齡之平均體重及顯著增加 Min 之體增重，且 42 日齡時 Min 及 10Max 之平均體重皆顯著高於對照組，生長期（22-35 日齡）及肥育期（36-42 日齡）各處理組之體增重皆不受試驗物影響，Min 之飼養全期體增重顯著高於對照組。

添加複方益生菌之組別試驗全期之飼料採食量皆有較好之趨勢，且 Max 組顯著高於對照組，飼料轉換率以育雛期（1-21 日齡）之 Max 組顯著高於對照組，其餘組別皆有較佳之趨勢。

### 3. 試驗全期之死亡率及剔除率及獸醫評估原因，如表 3 所示。

試驗過程中並無大量異常及死亡情形，故未進行額外獸醫師處方治療，結果顯示添加複方益生菌之組別，其死亡率及剔除率皆低於對照組；各處理組因體重過輕而剔除之隻數皆低於對照組。

死亡原因經獸醫師診斷包括：尿酸鹽沉著症（goat）、大腸桿菌症（colibacillosis）、壞死性腸炎（anaerobes enteritis）及膽囊發炎（inflammation of the gall bladder）。

### 4. 血液學及血液生化學

飼糧中添加複方益生菌，對於肉雞血液學及血液生化值之影響，試驗結果分別如表 4 和表 5 所示。

血液學檢測結果顯示皆未受到試驗物影響。雄性肉雞各處理組結果顯



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

保健飼料添加物  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

示血液生化值皆不受試驗物影響。雌性肉雞於添加 10xMax 劑量之 AST 值顯著高於對照組，Min 及 Max 之膽酸濃度受到試驗物影響而有顯著增加，且於 10xMax 有增加趨勢。

## 5. 腸道菌相

飼糧中添加複方益生菌，對於肉雞小腸微生物菌相之影響，試驗結果如表 6 所示。結果顯示大腸桿菌、腸桿菌、腸球菌及乳酸桿菌之數量皆未受到試驗物影響；對照組之沙門氏菌 (*Salmonella enterica subsp. Arizonae*) 和荚膜梭狀芽孢桿菌皆呈現陽性，而添加複方益生菌各組別在上述兩項細菌皆為陰性。

## 七、討論：

### 1. 安全性

*Lactobacillus plantarum* 及 *Lactobacillus rhamnosus* 皆為農委會 107.08.02 公告「可供給家畜、家禽、水產動物之飼料添加物參考物質表」正面表列之物質；並且為歐洲食品安全局 (European Food Safety Authority, EFSA) 之 (EC) No 429/2008 條例所述，具有安全菌株認可 (Qualified Presumption of Safety, QPS)，因此不須提供完整毒性試驗，僅需評估此菌株使用於對象動物之安全性。本試驗藉由餵飼肉雞最高建議添加量 10 倍之複方益生菌，確認生長性狀如飼料轉換率、死亡率及血液生化、血液學等健康指標之影響。檢測血液生化值可做為



# FFA

# 保健飼料添加物

FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

# 保健飼料添加物

FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

評估鳥禽類健康狀態之指標，影響的因素包括：飼糧組成、年齡、飼養模式、環境條件、性別等 (Albokhadaim *et al.*, 2012)，因此檢測結果較難與其他試驗進行比較，透過血液中特定酵素的測定，可以得知其對應細胞受損的程度並診斷相關疾病，例如 AST 目前被認為是具有非特异性且敏感的肝臟疾病指標，通常與肌酸激酶 (CK) 一起檢測以區分肝臟及肌肉之損傷，於本試驗結果中，所有組別之 CK 及 AST 數值皆高於正常範圍，且 AST 之濃度遠超出文獻之參考範圍 (Mazurkiewicz., 2015)，推測其原因為屠宰期間造成之緊迫導致增加 AST 及 CK 酵素釋放，而非受到添加物之影響。添加不同劑量之複方益生菌皆未影響肉雞血液中總蛋白、膽酸及尿酸濃度，血液學數值皆在正常範圍內，未受到添加物之影響，因此可確認此複方益生菌應用於肉雞並無安全性之疑慮。

## 2. 功效性

本試驗添加 *Lactobacillus rhamnosus* KKP 825 及 *Lactobacillus plantarum* K KKP 529/p 混和之複方益生菌，可提升育雛期 (1-21 日齡) 之生長性狀，包含體重、體增重及飼料轉換率，且可降低因疾病造成的死亡率，但對於飼養全期之生長性狀並無顯著影響。Brzóska *et al.* (2007) 添加 *Lactobacillus rhamnosus* KKP 825 與 *Lactobacillus paracasei* KKP 824、*Lactobacillus rhamnosus* KKP 826 混和之複方益生菌於 Ross308 品系肉雞，結果顯示對其體重亦無顯著提升，Olnood *et al.* (2015) 之結果亦顯示以不同方式 (飼料、飲水、噴灑於墊料及灌食法



# FFA

# 保健飼料添加物

FUNCTIONAL FEED ADDITIVE



# FFA

# 保健飼料添加物

FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

）給予 Cobb 肉雞益生菌 *Lactobacillus johnsonii*，對於體增重及飼料轉換率無正面影響。上述文獻顯示，添加益生菌對於肉雞生長表現之試驗結果並不一致，其效果可能受到添加形式（飲水/飼料）、給予時間（飼養階段）、混和配方（單方/複方）及菌株本身效果之影響。前人研究指出，添加益生菌於飼糧中可減少肉雞腸道中之壞菌含量，例如於 Cobb 肉雞之飼糧、飲水、墊料中直接添加或灌食 *L. johnsonii*，可顯著減少 21 日齡之腸道內產氣莢膜梭狀芽孢桿菌及腸桿菌之含量 (Olnood *et al.*, 2015)，添加含有 *L. crispatus*、*L. salivarius* 及 *L. johnsonii* 之複方益生菌可增加 Cobb 肉雞腸道中乳酸桿菌並減少腸桿菌之含量 (Olnood *et al.*, 2015)，於後續研究中 Olnood 等人 (2015) 使用沙門氏菌感染肉雞後，再使用灌食法給予益生菌 *L. johnsonii*，相較於對照組顯著降低腸道中沙門氏菌及產氣莢膜梭狀芽孢桿菌之含量。本試驗添加 *Lactobacillus rhamnosus* KKP 825 及 *Lactobacillus plantarum* K KKP 529/p 混和之複方益生菌同前人研究結果，可降低腸道中沙門氏菌及產氣莢膜梭狀芽孢桿菌之含菌量。

#### 八、結論：

經本研究評估，複方益生菌（*Lactobacillus plantarum* K KKP 593/p *Lactobacillus rhamnosus* KKP 825）為安全之飼料添加物，可用於改善肉雞腸道菌相。

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

#### 九、參考文獻：

1. 李冠汶，陳雅婷，謝豪晃。2016。肉雞飼糧中添加發酵綠豆殼對生長性能及腸道性狀之影響。中國畜牧學會會誌 45(3)：177~186
2. 林炳宏，劉秀洲，王淑音，陳盈豪。2017。產青殼蛋與產白殼蛋之褐色菜鴨在產蛋期紅血球相與白血球相之比較。畜產研究 50(3)：165-171。
3. 黃伯驥，余祺，陳靜宜，陳保基，李德南。2012。飼糧添加含可溶物玉米乾酒粕對不同性別白肉雞免疫反應之影響。中國畜牧學會會誌 41(2)：141~154。
4. Albokhadaim, I., T. Althnainan, and El-Bahr S. 2012. Investigation of selected biochemical parameters of local chickens with different age and sex in Al-ahsa, Saudi Arabia. Pakistan J. Biol. Sci. 15: 827–832.
5. Brzóška, F., S. Buluchevskij, K. Stecka, and B. Śliwiński. 2007. The effects of lactic acid bacteria and mannan oligosaccharide, with or without fumaric acid, on chicken performance, slaughter yield and digestive tract microflora. J. Anim. Feed Sci. 16: 241–251.
6. Kupryś-Caruk, M., M. Michalczuk, B. Chabowska, I. Stefańska, D. Kotyrba, and M. Parzeniecka-Jaworska. 2018. Efficacy and safety assessment of microbiological feed additive for chicken broilers in tolerance studies. J. Vet. Res. 62: 57-64.
7. Murshed, M. and A. Abudabos. 2015. Effects of the dietary inclusion of a

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

- probiotic, a prebiotic or their combinations on the growth performance of broiler chickens. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 17: 99-104.
8. Olnood, C., S. Beski, M. Choct, and P. Iji. 2015. Novel probiotics: their effects on growth performance, gut development, microbial community and activity of broiler chickens. *Anim. Nutr.* 1: 184-191.
  9. Olnood, C., S. Beski, P. Iji, and M. Choc. 2015. Delivery routes for probiotics: Effects on broiler performance, intestinal morphology and gut microflora. *Anim. Nutr.* 1: 192-202.
  10. Olnood, C., S. Beski, M. Choct, and P. Iji. 2015. Use of *Lactobacillus johnsonii* in broilers challenged with *Salmonella* sofia. *Anim. Nutr.* 1: 203-212.
  11. Timmerman, H., A. Veldman, E. van den Elsen, F. Rombouts, and A. Beynen. 2010. Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics. *Poul. Sci.* 85: 1383-1388.

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

表 1. 飼糧營養成分分析 (模擬)

Items	Treatment <sup>*</sup>			
	Con	FMBH 0.1	FMBH 0.2	FMBH 0.3
Starter, 0-14 days				
Dry matter, %	88.79	88.70	88.78	88.46
Crude protein, %	22.61	22.86	22.80	22.60
Crude fat, %	7.37	7.29	7.25	7.19
Ash, %	5.54	5.94	5.56	5.57
Grower, 15-28 days				
Dry matter, %	88.70	88.82	88.77	88.66
Crude protein, %	20.36	20.65	20.74	20.75
Crude fat, %	6.61	6.33	6.62	7.19
Ash, %	5.12	5.17	5.22	5.07
Finisher, 29-35 days				
Dry matter, %	88.53	88.38	88.52	88.53
Crude protein, %	18.61	18.88	18.44	18.04
Crude fat, %	6.76	6.88	7.09	6.75
Ash, %	4.98	4.96	5.20	5.46

<sup>\*</sup> Con = control.

FMBH 0.1 = basal diet + fermented mung bean hull 0.1%.

FMBH 0.2 = basal diet + fermented mung bean hull 0.2%.

FMBH 0.3 = basal diet + fermented mung bean hull 0.3%.

中文報告

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

表 2-1. 飼糧中添加複方益生菌對肉雞生長性狀(體重及體增重)之影響

Rearing period	K		Max		10Max		Min	
	Mean value	SD	Mean value	SD	Mean value	SD	Mean value	SD
	Body weight							
1 <sup>st</sup> day	44.9 <sup>b</sup>	3.39	44.7 <sup>b</sup>	3.25	43.6 <sup>a</sup>	2.57	44.6 <sup>b</sup>	2.74
21 <sup>st</sup> day	698.9 <sup>a</sup>	90.41	739.6 <sup>b</sup>	99.62	737.0 <sup>b</sup>	99.08	765.2 <sup>b</sup>	110.15
35 <sup>th</sup> day	1785.6 <sup>a</sup>	213.36	1811.0 <sup>a</sup>	251.62	1841.9 <sup>ab</sup>	234.33	1910.9 <sup>b</sup>	233.42
42 <sup>nd</sup> day	2428.8 <sup>a</sup>	272.71	2450.6 <sup>a</sup>	320.53	2563.1 <sup>b</sup>	314.74	2574.6 <sup>b</sup>	315.33
	Body weight gain							
1 <sup>st</sup> – 21 <sup>st</sup> day	656.7 <sup>a</sup>	22.79	696.3 <sup>ab</sup>	44.30	695.3 <sup>ab</sup>	33.25	727.3 <sup>b</sup>	7.97
22 <sup>nd</sup> – 35 <sup>th</sup> day	1083.8	17.27	1078.9	81.72	1105.3	57.86	1139.0	34.23
36 <sup>th</sup> – 42 <sup>nd</sup> day	646.6	27.88	636.0	32.64	719.9	65.4	673.1	79.64
1 <sup>st</sup> – 42 <sup>nd</sup> day	2387.1 <sup>a</sup>	21.12	2481.6 <sup>a</sup>	77.03	2450.2 <sup>a</sup>	153.5	2539.4 <sup>ab</sup>	68.43

<sup>a,b,ab</sup> – mean values (in rows) marked with various letters differ at significance level  $\alpha = 0.05$   
SD – standard deviation

表 2-2. 飼糧中添加複方益生菌對肉雞生長性狀(採食量及飼料轉換率)之影響

Feed	K		Max		10Max		Min	
	Mean value	SD	Mean value	SD	Mean value	SD	Mean value	SD
	Feed intake, kg per chicken							
Starter	1.36	0.06	1.46	0.06	1.4	0.08	1.47	0.09
Grower	2.15	0.22	2.21	0.15	2.06	0.2	2.08	0.13
Finisher	1.08	0.1	1.1	0.12	1.04	0.14	1.09	0.13
Total	4.28 <sup>a</sup>	0.22	4.88 <sup>b</sup>	0.31	4.45 <sup>ab</sup>	0.27	4.54 <sup>ab</sup>	0.23
	Feed conversion, kg kg <sup>-1</sup> of body weight gain							
Starter	1.96 <sup>a</sup>	0.2	2.48 <sup>b</sup>	0.3	2.09 <sup>ab</sup>	0.11	2.08 <sup>ab</sup>	0.13
Grower	1.98	0.2	2.06	0.23	1.83	0.2	1.81	0.12
Finisher	1.67	0.14	1.71	0.13	1.51	0.14	1.66	0.29
Total	1.89	0.13	1.97	0.1	1.81	0.13	1.84	0.08

<sup>a,b,ab</sup> – mean values (in rows) marked with various letters differ at significance level  $\alpha = 0.05$   
SD – standard deviation



表 3. 試驗期間之死亡率及剔除

Group	K	Max	10Max	Min
Mortality	3.2	1.6	1.6	2.4
*Culling rate	1.6	0.8	0.8	0.0
Total losses	4.8	2.4	2.4	2.4

\*Chickens with very low body weight

中文報告範例僅供參考

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

表 4. 飼糧中添加複方益生菌對肉雞血液學之結果

Group	Sex	Erythrocyte Total RBC (T L <sup>-1</sup> )	Lymphocyte (%)	Monocyte (%)	Leukocyte Total WBC (G L <sup>-1</sup> )	Haemoglobin (g dL <sup>-1</sup> )	Haematocrit PCV (%)	Heterophil (%)	Basophil (%)
K	♂	3.0±0.53	22.0±9.17	8.3±3.25	23.3±11.18	13.7±2.25	33.5±5.6	65.3±7.77	4.7±2.31
	♀	2.5±0.16	43.0±0.89	4.3±1.91	41.7±5.92	11.7±1.73	27.4±6.56	51.0±1.0	3.7±1.53
Max	♂	2.6±0.1	20.3±0.58	9.0±5.57	15.4±1.31	12.5±0.53	29.1±2.49	59.7±5.69	9.7±0.58
	♀	2.6±0.2	38.7±14.57	7.7±6.51	42.3±26.15	12.2±0.75	25.0±4.36	49.0±9.54	5.7±2.08
10Max	♂	2.4±0.14	35.3±7.02	9.0±7.55	30.9±21.92	11.8±0.6	27.6±4.36	53.3±1.15	2.3±0.58
	♀	2.8±0.28	39.0±7.0	2.3±1.15	19.1±6.1	13.3±1.56	30.9±3.21	51.7±6.51	7.0±3.61
Min	♂	2.8±0.42	22.7±7.09	13.0±2.65	25.7±5.49	13.3±2.26	33.9±7.23	58.7±8.33	11.7±2.08
	♀	2.7±0.04	39.3±14.47	14.3±2.08	24.3±5.41	12.6±0.46	29.1±1.44	51.3±11.5	3.3±1.53

± standard deviation

表 5. 飼糧中添加複方益生菌對肉雞血清生化學之結果

Group	Sex	AST (U L <sup>-1</sup> )	Total protein (G L <sup>-1</sup> )	CK (U L <sup>-1</sup> )	Bile acids (μmol L <sup>-1</sup> )	Uric acid (Mg dL <sup>-1</sup> )
K	♂	379.3 ± 61.82	55.6 ± 3.27	9187.5 ± 1704.24	11.0 ± 6.14	2.5 ± 0.93
	♀	406.1 ± 47.03 <sup>a</sup>	27.0 ± 1.41 <sup>ab</sup>	9481.4 ± 2086.87	6.96 ± 4.93 <sup>a</sup>	2.9 ± 1.12
Max	♂	451.0 ± 139.77	26.8 ± 2.71	10586.9 ± 1090.91	18.4 ± 2.98	7.7 ± 1.30
	♀	375.1 ± 95.7 <sup>a</sup>	29.8 ± 2.56 <sup>b</sup>	9272.8 ± 1489.16	14.9 ± 24.79 <sup>b</sup>	4.7 ± 2.13
10Max	♂	405.4 ± 150.41	24.8 ± 2.79	9062.0 ± 2338.61	17.05 ± 4.62	4.0 ± 0.72
	♀	563.5 ± 104.67 <sup>b</sup>	26.0 ± 1.67 <sup>a</sup>	11325.0 ± 602.84	13.67 ± 2.74 <sup>ab</sup>	4.4 ± 1.03
Min	♂	417.5 ± 8.55	25.0 ± 1.73	10355.9 ± 887.5	10.1 ± 2.9	2.1 ± 0.21
	♀	417.1 ± 91.2 <sup>ab</sup>	28.0 ± 2.58 <sup>ab</sup>	9953.6 ± 1654.55	15.25 ± 3.87 <sup>b</sup>	3.0 ± 0.95

<sup>a,b,ab</sup> – mean values for hens (in columns) marked with various letters differ at significance level  $\alpha = 0.05$   
± standard deviation

表 6. 飼糧中添加複方益生菌對肉雞腸道菌相之結果 (單位: cfu/g)

Group	<i>E. coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Lactobacillus</i> spp.
K	1.8 × 10 <sup>7</sup>	2.2 × 10 <sup>4</sup>	3.8 × 10 <sup>6</sup>	present	1.0 × 10 <sup>7</sup>	4.0 × 10 <sup>8</sup>
Max	5.2 × 10 <sup>7</sup>	not detected	7.3 × 10 <sup>6</sup>	not detected	1.3 × 10 <sup>7</sup>	2.1 × 10 <sup>8</sup>
10Max	1.0 × 10 <sup>7</sup>	not detected	2.3 × 10 <sup>6</sup>	not detected	4.6 × 10 <sup>7</sup>	8.4 × 10 <sup>8</sup>
Min	1.0 × 10 <sup>7</sup>	not detected	7.0 × 10 <sup>6</sup>	not detected	2.7 × 10 <sup>7</sup>	4.3 × 10 <sup>8</sup>

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

附表 1. 基礎飼糧配方與營養成分 (模擬)

Ingredients	Starter (0-14 days)	Grower (15-28 days)	Finisher (29-35 days)
	%		
Corn meal	50.05	56.16	62.23
Soybean meal, 44%	41.48	35.88	30.30
Dicalcium phosphate	1.77	1.58	1.45
Calcium carbonate	1.19	1.24	1.31
DL-Methionine	0.22	0.21	0.13
Soybean oil	4.82	4.46	4.11
Salt	0.20	0.20	0.20
Choline chloride, 50%	0.05	0.05	0.05
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.10	0.10	0.10
Mineral premix <sup>2</sup>	0.10	0.10	0.10
Clinacox	0.02	0.02	0.02
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>
<b>Calculated value</b>			
ME, Kcal/kg	3,050	3,100	3,150
Crude protein, %	22	20	18
Crude fat, %	6.73	6.56	6.40
Calcium, %	0.95	0.91	0.90
Total P, %	0.68	0.63	0.59
Available P, %	0.45	0.41	0.38
Methionine, %	0.58	0.54	0.44
Met+Cys, %	0.95	0.88	0.75
Lysine, %	1.24	1.10	0.97

<sup>1</sup> Vitamin premix(per kg of diet): vitamin A, 12,500 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2,500 IU; vitamin E, 20 IU; vitamin K<sub>3</sub>, 2.5 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 2 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 5 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.012 mg; niacin, 35 mg; pantothenic acid, 12 mg; folic acid, 1 mg.

<sup>2</sup> Mineral premix(per kg of diet): Fe, 70 mg; Zn, 90 mg; Cu, 10 mg; Mn, 80 mg; I, 1.2 mg; Se, 0.15 mg; Co, 0.2 mg.

**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE**FFA****保健飼料添加物**  
FUNCTIONAL FEED ADDITIVE

附表 2. 各處理組之複方益生菌劑量及菌數與預估動物每日攝取劑量及菌數

Experimental group	The amount in feed		Daily intake	
	Preparation (g kg <sup>-1</sup> )	Bacteria (cfu g <sup>-1</sup> )	Preparation (g piece <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )	Bacteria (cfu piece <sup>-1</sup> day <sup>-1</sup> )
Starter				
Max	1.0	1.0 × 10 <sup>6</sup>	0.035	3.5 × 10 <sup>7</sup>
10Max	10	1.0 × 10 <sup>7</sup>	0.350	3.5 × 10 <sup>8</sup>
Min	0.5	5.0 × 10 <sup>5</sup>	0.018	1.8 × 10 <sup>7</sup>
Grower				
Max	0.3	3.0 × 10 <sup>5</sup>	0.036	3.6 × 10 <sup>7</sup>
10Max	3.0	3.0 × 10 <sup>6</sup>	0.360	3.6 × 10 <sup>8</sup>
Min	0.15	1.5 × 10 <sup>5</sup>	0.018	1.8 × 10 <sup>7</sup>
Finisher				
Max	0.2	2.0 × 10 <sup>5</sup>	0.043	4.3 × 10 <sup>7</sup>
10Max	2.0	2.0 × 10 <sup>6</sup>	0.430	4.3 × 10 <sup>8</sup>
Min	0.1	1.0 × 10 <sup>5</sup>	0.021	2.2 × 10 <sup>7</sup>

【本頁以下空白】

中文報告範例僅供參考

# 保健飼料添加物品質、安全性和功效性 驗證平台指引（第一版）

---

發行人：張瑞璋

發行所：行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

地址：臺中市霧峰區舊正里光明路 11 號

網址：<http://www.tactri.gov.tw>

電話：(04) 23302101

編輯：李悅怡、陳綵慈、廖俊麟、蔡韋任、盧欣怡

編輯助理：賴家琦

展售書局：

1. 國家書局 — 臺北市松江路 209 號 1 樓 / (02) 25180207

網路書局 — <http://www.govbooks.com.tw>

2. 五南文化廣場 — 臺中市中山路 6 號 / (04) 22260330

網路書局 — <http://www.wuanbooks.com.tw>

印刷排版：海晴創意行銷有限公司

地址：臺中市霧峰區林森路 724 號

電話：04-23391116

出版日期：中華民國 108 年 7 月出版

版次：第一版

定價：350 元

G P N：1010801151

ISBN：978-986-05-9654-0

著作財產權人：行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

欲利用本書全部或部分內容者，須徵求著作財產權人同意。