

魚用疫苗檢定設施之建立

張家禎^{1*}、許天來²、葉修如¹

¹行政院農業委員會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所

²行政院農業委員會動植物防疫檢疫局

摘要 為配合我國魚用疫苗產品上市所須執行魚用疫苗新藥登記委託試驗計畫之執行，以及魚用疫苗上市前之法定逐批檢定，家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所於民國97年完成魚用疫苗檢定設施之建置，以執行法定的疫苗各項檢定試驗。本文介紹設施建置之設計方法及其完成結果。

關鍵詞：魚用疫苗、疫苗檢定、設施

前言

目前我國仍未有已核准之魚用疫苗上市。但近年來，於行政院國家科學委員會、行政院農業委員會及其所屬的漁業署等科技經費項下，積極支持魚用疫苗之研究與發展，亦有一些生技公司加入魚用疫苗的開發，兩者皆有具體的成果，所開發的產品逐漸達到申請登記上市之階段。依據動物用藥品管理法及其子法之規定，廠商須提供其研發的魚用疫苗技術資料，申請動物用藥品檢驗登記，依程序須通過新藥之委託試驗及產品上市之逐批檢驗合格，方可上市銷售與推廣使用。目前已正著手申請新藥登記如「海鱷發光菌不活化疫苗」或其他擬申請輸入之魚用疫苗等已有數種，預估未來幾年內會有更多的水產魚用疫苗將申請量產上市。

本設施即是因應此一趨勢，依據動物用藥品管理法之規定，建置相關的法定檢定設施與檢定標準，以執行法定的疫苗各項檢定試驗。

設施規劃設計之依據

動物用藥品檢驗標準〔1〕

「動物用藥品檢驗標準」之第三章「動物用生物藥品檢驗標準」中，已明訂國內目前已核准上市之各種動物用生物藥品檢驗方法及規範。該檢驗方法主要分為一般試驗（包括特性試驗、無菌試驗、防腐劑含量試驗、真空試驗含濕度試驗等）、安全試驗、效力試驗，其中一般試驗之方法仍適用於魚用疫苗之檢測，且可在一般實驗室內進行。但涉及動物試驗之檢驗項目如安全試驗及效力試驗等，則仍必需具有蓄養魚類等實驗動物之相關設施來完成。

歐洲藥典〔4〕

歐洲藥典已訂有鮭魚癬瘡病不活化疫苗、鮭魚弧菌不活化疫苗及鮭魚冷水性弧菌不活化疫苗等三種魚用疫苗之檢驗標準。

其一般試驗項目與我國陸生動物用疫苗之檢驗

*抽印本索取作者

項目大致相同，安全試驗於免疫後需觀察21日，效力試驗所需實驗動物數量不可少於200尾，攻毒後試驗組及對照組需置於同一水槽中（共棲）觀察21日，以計算其相對存活率（Relative percentage survival; RPS）作為疫苗是否合格之判定標準。

日本農林水產省動物醫藥品檢查所 （National Veterinary Assay Laboratory; NVAL）動物用藥品檢驗法規〔3〕

日本NVAL已訂有13項魚用疫苗之檢驗標準，其一般試驗項目亦與我國陸生動物用疫苗之檢驗項目大致相同，但在動物試驗則與歐洲藥典則有所差異。其動物試驗之所有試驗組及對照組，全程均為單一獨立之循環養殖，安全試驗於免疫後需觀察14-21日之間，效力試驗所需實驗動物使用量為30-180尾，攻毒後觀察天數14日計算疫苗有效率，作為疫苗是否合格之判定標準。

美國農業部獸醫生物藥品中心（Center for Veterinary Biologics; CVB）動物用藥品檢驗 法規〔5,6〕

美國尚無魚用疫苗檢驗標準，僅有檢驗通則及備忘錄供參考。其內容大致為試驗動物之選用、效力試驗動物齡之建議及有關試驗不符合、試驗結果判定之原則。

檢定設施建置

容量之評估

本設施建立乃依據農委會指示，同時也評估台灣現有養殖之高價魚種以及其相關疫苗發展概況，以石斑魚、海鱺魚之疫苗技術研究為最可能量產上市之魚用疫苗。然疫苗之檢驗方法，會隨著國家不同的防疫政策、疫病傳播方式、抗原之種類、使用對象動物之生物特性、甚至於劑型的不同或生產廠商特有的專利技術等，而有不同的檢驗方法。就以效力試驗之攻毒設計而言，在「動物用生物藥品檢驗標準」中就有超

過10種以上的方法，每一種不同的試驗方法就有不同的實驗動物需要量，試驗所需之時間也各不相同，這都影響設施容量需求之規劃。

經參考現有疫苗檢驗標準，我們約略估計每批魚用疫苗動物試驗所需天數在28-42天之間，再加上試驗後的動物舍清洗、消毒及空舍時間約7-14天，每批疫苗檢驗使用單一檢疫動物舍約需60天。依此數值來評估魚用疫苗檢定動物舍之檢驗容量，並依據陸生動物檢定設施試驗動物統進統出之原則，估算每進行單一批次疫苗之檢驗，至少需有二間以上之動物舍，供每月輪換使用。

因此本設施檢驗容量預估以滿足未來每月5-10批之魚用疫苗逐批檢驗量，且同時以符合歐洲藥典（相同水體）及日本NVAL（單獨水體）之二種不同之魚用疫苗檢驗標準，分別設計符合檢驗要求的循環養殖設施。

動物舍

1. 動線規劃

世界動物衛生組織雖無明列相關人與魚類共通之傳染病，但參考本分所現有陸生動物疫苗檢定設施使用均為符合生物安全之防疫要求，魚用動物舍區亦規劃為密閉設計。動物舍前後區分有淨走道及污（回收）走道，所有單一動物舍由淨走道端之入口進入後，只可由污走道端之出口離開，且污走道所有出口只出不進以防止工作人員由污染區誤入試驗區，造成試驗區之交互污染。污走道後側出口通往焚化爐，用以處理廢棄物及試驗斃死或淘汰試驗魚，污走道前側則為清洗區，工作人員在此區清洗消毒器械及更換乾淨工作服後，由準備區可再進入淨走道至不同動物舍工作，或離開動物舍。其動線規劃如圖1。

2. 空調設備

魚用動物舍區皆為氣密設計，空調設備之容量需能使各區間造成壓差，如同動線規劃一般，使空氣之流動由淨走道進入每單一動物舍，然後進入污走道。同時依實驗需求可以空調系統溫度調節，輔助動物舍內養殖設施水溫維持恆定（20-25°C，養殖設施另有

自動溫控系統)。其氣流流向如圖2。

3. 檢疫舍

目前未有無特定病原 (SPF) 之實驗魚，因此所有進入動物舍之試驗魚，需於檢疫舍內進行檢疫測試及觀察至少14–21日，確認實驗魚健康無虞，始可進入檢定舍進行疫苗免疫試驗。依試驗動物統進統出原則，檢疫舍規劃為一間，每單一循環水槽為1.2噸共5組。

4. 檢定舍 (相同水體)

檢定舍以歐洲藥典標準，設立大型循環設施二座，每座循環設備均有10組0.5噸水槽。每組水槽容量至少可放養50尾30–50g海鱸魚(或200尾2–5g石斑魚)，於10組水槽滿載下，可維持正常運轉60天以上。若以動物試驗所需天數42–50日為基準，每月以二間檢定舍輪替使用，可提供至少4批同種魚用疫苗以歐洲藥典標準進行檢驗。

5. 檢定舍 (獨立水體)

檢疫舍以日本NVAL標準，設立獨立循環檢定舍六間，每間共設有5組獨立循環之0.5噸水槽，每組水槽容量至少可飼養50尾30–50g海鱸魚(或200尾2–5g石斑魚)60天以上。若以動物試驗所需天數28–42日為基準，每月以三間檢定舍輪替使用，每間可提供至少4批(單一試驗)或1批(三重覆試驗)魚用疫苗，可參照日本NVAL標準進行檢驗。

6. 循環養殖系統〔2,7〕

進水管設計為每組養殖槽具有單一進水口，並設控制閥，依需求調整水量；養殖槽排污設計為(中間集污雙套管)模式，可依需求切換下排水，排水管出口設二個控制閥，可獨立排水或連接系統循環水；系統排水以重力式出水，進入滴流槽下集污槽，再經過耐酸鹼無軸封泵浦抽至砂濾機進行粗過濾，攔截20 μ m粒徑以上顆粒，砂濾機形式為手動切換清洗，因考慮現場海水取得不易，清(逆)洗水源為淡水。

砂濾機過濾後經管路接至沉浸式生物濾床，底部為圓錐狀，並附有連接空壓機的高壓散氣管於底部，

以方便定期清洗，維持氨氮去除率，將溶解性有機物去除或轉換。

沉浸式生物濾床以底部連通管方式，定水位溢流至蛋白除沫機，可攔截20 μ m粒徑以下懸浮顆粒外，並可充分地做氣體交換；蛋白除沫機附內循環泵及文氏管，以內循環抽水經文氏管吸入臭氧機產生之臭氧，除製造大量微細泡沫顆粒外，並充分混合臭氧，提供滅菌消毒環境；出水口設有可調整水位裝置，避免虹吸作用使內部水位上下不定，降低除沫效果。

再以重力方式流至滴流集水槽內，滴流集水槽，分格二槽(一槽滴流，一槽集污)滴流槽上層為一均勻散水盤，以滴流方式流至下方集水槽；集污槽內設有水位控制器及淡、海水補水管路，以維持系統的水量及調整鹽度。

再以泵浦抽至紫外線殺菌機殺菌處理，將生菌數降至10000CFU/mL以下，預防疾病發生，並可將殘餘臭氧還原，確保養殖循環水無臭氧殘留，傷害養殖物。經紫外線殺菌機後的水由主幹管送至養殖槽，提供生物所需之穩定循環水質。

循環水維生系統設有打氣泵，其功用在於提供系統養殖槽增氧用；每組養殖槽設二孔供氣組，末端接金鋼砂曝氣石；其管路與其他供氣系統連結，可於緊急之需連結使用。循環養殖系統之設置如圖3。

水處理系統

1. 海水進水處理系統

參照中研院臨海研究站之設計，於室外設置20噸儲存槽，室內設置3組10噸海水緩衝槽。海水經砂濾機過濾後，以臭氧氣水混合機處理，導入室內3組緩衝槽內稍作停留，以使水溫保持恆定並以氧化還原電位測試計監測水中總殘餘氧化劑濃度含量至容許範圍後，再經過線流式紫外燈照射，供應各檢疫室及檢定室用水。處理流程如圖4。

2. 試驗廢排水臭氧滅菌處理系統

參照中研院臨海研究站之設計，於室外設置20噸廢排水儲存槽，所有魚用動物舍設施內之排水經袋

濾機過濾後，以高量臭氧進行氣水混合進行殺菌處理，暫存於排水集水槽中並以氧化還原電位測試計監測水中總殘餘氧化劑含量至容許範圍後，再予以排放至污水處理場。處理流程如圖5。

3. 淡水進水處理系統

設置曝氣設備，淡水經設備曝氣處理，進入室內淡水緩衝槽以使水溫恆定後，再經活性碳濾過及線流式紫外燈照射，供應各檢疫室及檢定室用水。

4. 污水處理系統

污水處理為環保署法規要求，所有魚用動物舍之廢排水經臭氧滅菌處理過程後，需進入污水處理場處理後，再予以排放。

未來展望

本魚用疫苗檢定設施於九十七年底全部完工，同時亦開始進行試驗魚之蓄養以測試設施之功能，目前養殖設施運轉測試條件為水循環速率為2次/小時，每週換水量1/2，魚飼育密度為1.5-2.5 kg/400L，另為測試設施水處理能力，將每日投餌量提高至魚總重之1/10。水溫 24 ± 2 °C，鹽度 31 ± 1 ppt，PH 7.8 ± 0.4 。並以行政院環境保護署環境檢驗所水質檢驗方法檢測水質，其水中氨氮濃度可維持在0.1-0.25 ppm，亞硝酸鹽氮濃度可維持在0.03-0.1 ppm。以此養殖條件已成功蓄養海鱸、石斑魚630天。同時也持續進行設施之安全評估，以符合魚用疫苗檢驗試驗之需求。

未來本設施將以符合我國魚用疫苗製造或輸入之檢定需要，執行法定檢定，以確保魚用疫苗之品質與效力，從而經由疫苗之供應而減少水產養殖業者因魚病所導致的經濟損失。且經由建置現代化之魚用疫苗檢定設施，可支援魚用疫苗有關的生技產業之發展，本設施亦可提供各廠商或魚用疫苗研發單位之試驗場所，以利魚用疫苗之開發。

參考文獻

1. 行政院農業委員會編印。1998。動物用藥品檢驗標準。
2. 行政院農業委員會水產試驗所編印。2003。海鱸養殖科技研發與產業發展研討會會議資料輯。
3. 日本農林水產省動物醫藥品檢查所。2008。動物用生物學的製劑基準。In <http://nval.go.jp/hourei/kijyun/seiken060816.htm>
4. Department for quality of medicines within the council of Europe, Strasbourg, 2009. European pharmacopoeia, 6th Edition.
5. USDA, APHIS, Center for Veterinary Biologics, 2006. Center for Veterinary Biologics Notices. In <http://www.aphis.usda.gov/vs/cvb/html/notices.html>
6. USDA, APHIS, Center for Veterinary Biologics, 2006. Veterinary Services Memorandums. In <http://www.aphis.usda.gov/vs/cvb/html/vsmemo s.html>
7. Angelidis P., 2006. Immersion booster vaccination effect on sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles. J. Animal Physiology and Animal Nutrition.90: 46-49.

魚用疫苗檢定設施之建立

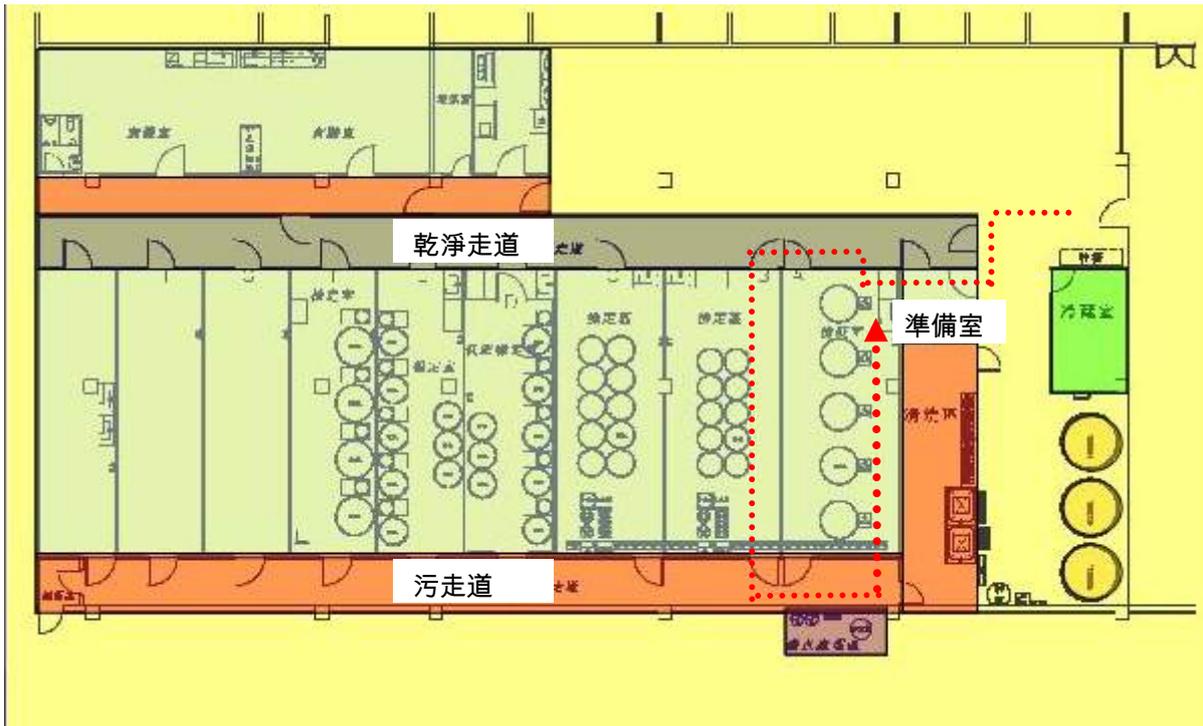


圖1、人員及物流動線

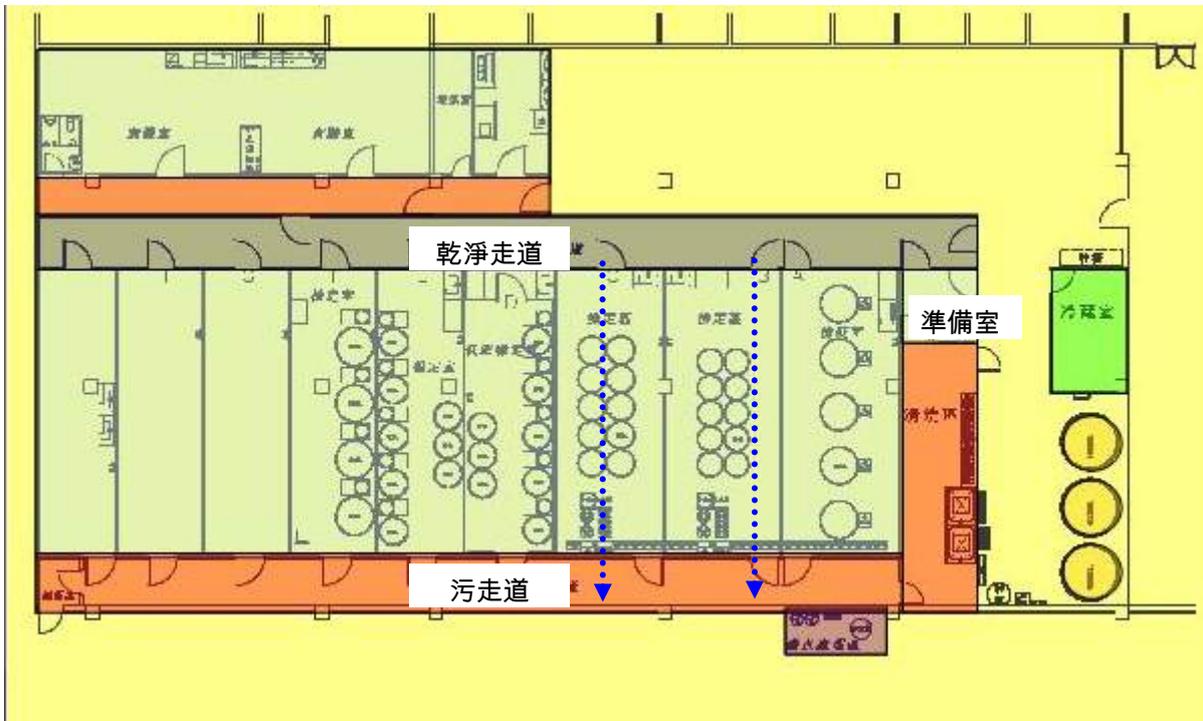


圖2、氣流流向圖

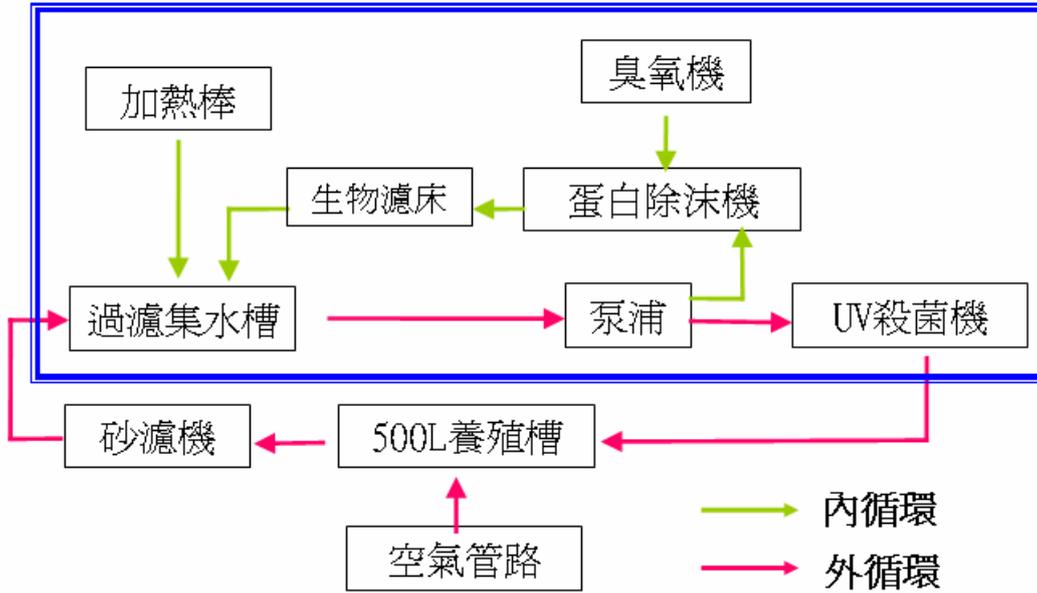


圖3、循環養殖系統圖示

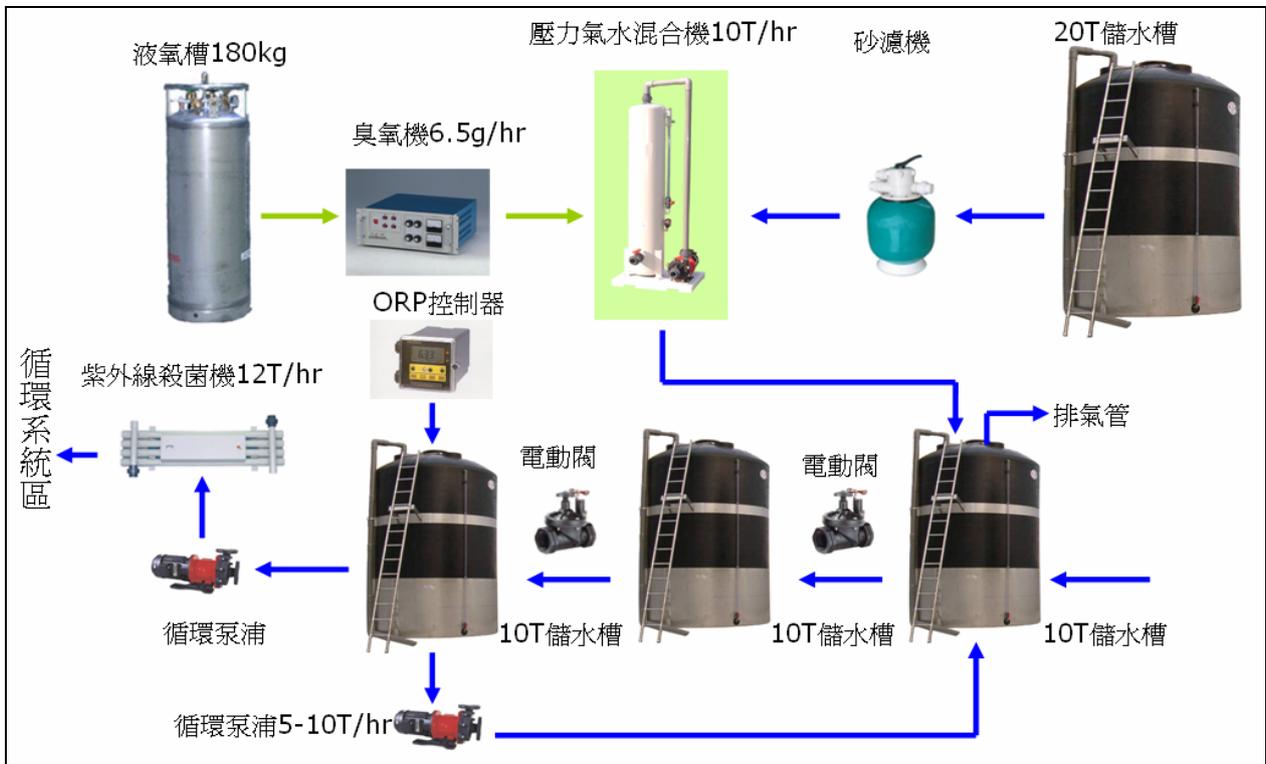


圖4、進水處理系統圖示

魚用疫苗檢定設施之建立

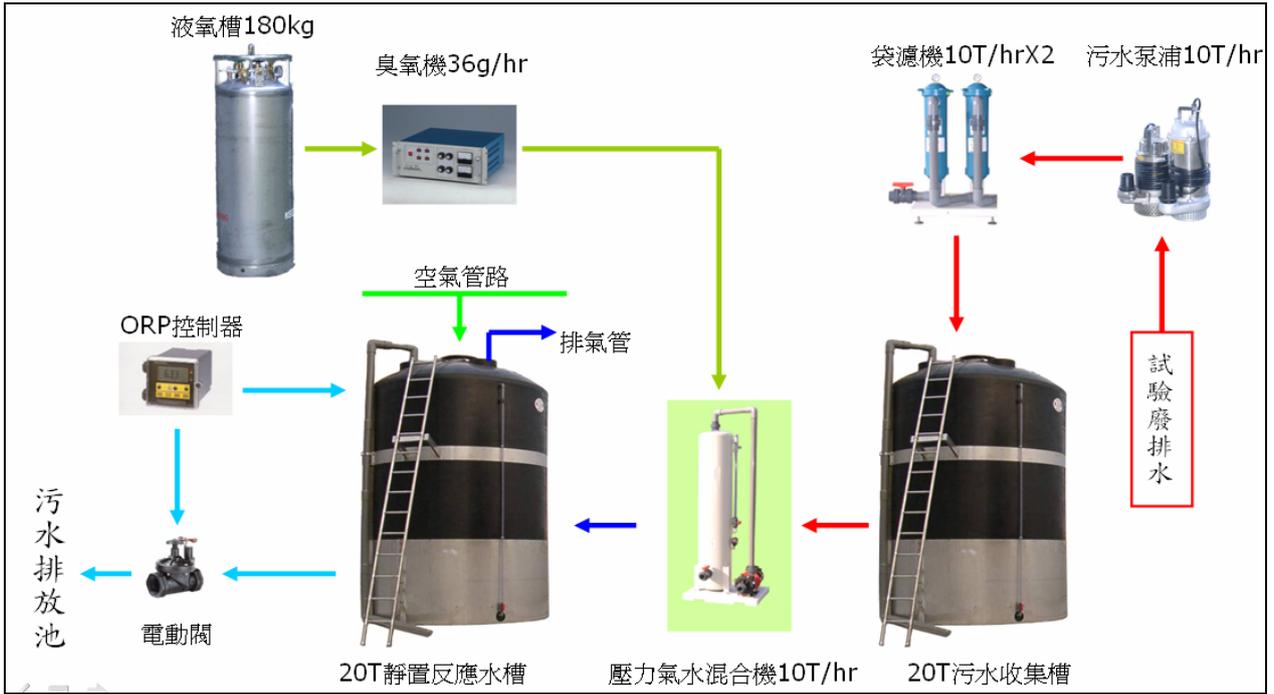


圖5、廢排水處理系統圖示

Establishment of Animal Drug Assay Facilities for Fish Vaccines

C. C. Chang ^{1*}, T. L. Hsu ², S. R. Yeh ¹

¹ Animal Drugs Inspection Branch, Animal Health Research Institute, COA, Executive Yuan

² Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, COA, Executive Yuan

Abstract Foreseeing the necessity of implementation of the official trial for new fish vaccines registration and inspection by batch prior to the market, the Animal Drugs Inspection Branch of Animal Health Research Institute has completed the establishment of an inspection facility for fish vaccines in 2008. This will be used for the official inspection of fish vaccines in the future. The design of, and methods used in the facility as well as final results of testing procedures are described in the following article.

Keywords: *fish vaccine; vaccine assay and inspection; facility*