

家禽重組疫苗發展及國內疫苗檢驗現況

張家嘉*、柯依廷、張家禎

農業部獸醫研究所

摘要 用於防治家禽傳染病的疫苗除了以傳統的死毒（菌）及活毒（菌）疫苗製造外，重組 DNA 技術已被應用於生產許多新型家禽疫苗。禽痘病毒（fowlpox virus）和火雞疱疹病毒（turkey herpesvirus）是目前常用於構建家禽重組疫苗的兩種主要載體。目前國際間已有許多家禽重組疫苗產品登記上市，用於預防雞痘、馬立克病、新城病、傳染性喉頭氣管炎、傳染性華氏囊病或家禽流行性感冒等疾病。本報告簡介家禽重組疫苗發展現況，並介紹國內家禽重組疫苗檢驗登記、產品使用情形及檢驗標準。

關鍵詞：重組疫苗、雞痘病毒、火雞疱疹病毒、檢驗標準

緒言

病毒載體 (viral vectors) 是一種常使用於分子生物學研究的工具，為利用病毒作為基因傳遞工具或載體的一種技術。病毒載體可以被修改，使其攜帶和表現外源基因，並將其傳遞到目標細胞中。這些病毒載體被廣泛應用於基因治療、疫苗研發和生物醫學等研究領域。在家禽動物疫苗的應用上，目前最常做為家禽重組疫苗載體的兩種病毒是商業化的弱毒禽痘病毒 (fowlpox virus, FPV) [8] 和火雞疱疹病毒 (turkey herpesvirus, HVT) [33]。重組禽痘病毒疫苗 (recombinant fowlpox virus, rFPV) 和重組火雞疱疹病毒疫苗 (recombinant herpesvirus of turkey, rHVT) 相對於傳統疫苗具有其優勢，包括：表型穩定、不易產生接種後的副作用、不易恢復致病性，且很少發生水平傳播 [13, 14, 16]。

FPV 和 HVT 為大型雙股 DNA 病毒 [6, 7]，可以將具免疫原性病毒蛋白的外源基因嵌入並表現。許多家禽重要病毒疾病的免疫原蛋白已成功在 FPV 和 HVT 載體中表現，包括：(1) 血球凝集素 (hemagglutinin)，為家禽流行性感冒病毒 (avian influenza virus, AIV) 的主要免疫原蛋白，可誘導產

生抗血球凝集素的中和抗體，減少臨床症狀和死亡 [10]；(2) 新城病病毒 (Newcastle disease virus, NDV) 的血球凝集素神經氨酸酶 (hemagglutinin-neuraminidase, HN) 和融合蛋白 (fusion protein, F protein)，可抑制血球凝集素 (hemagglutination inhibition) 和誘導病毒中和抗體產生，避免家禽感染新城病 [22, 23, 25]；(3) 傳染性喉頭氣管炎病毒 (infectious laryngotracheitis virus, ILTV) 的醣蛋白 (glycoprotein) gB、gD 和 gI，可誘發家禽產生體液和細胞免疫，減少傳染性喉頭氣管炎的發生 [38, 39, 41]；以及 (4) 傳染性華氏囊病病毒 (infectious bursal disease virus, IBDV) 的結構蛋白 2 (viral protein 2, VP2)，可誘發中和抗體避免傳染性華氏囊病發生 [18]。

本篇研究整理目前國外已開發並登記上市之家禽重組疫苗 [31, 40]，並介紹國內家禽重組疫苗檢驗登記、產品使用情形及檢驗標準。

家禽重組疫苗發展簡介

一、國際間已上市之重組疫苗

目前家禽重組疫苗的開發商，主要為國際知名大

* 抽印本索取作者
農業部獸醫研究所

廠，包括百靈佳殷格翰動物事業股份有限公司 (Boehringer Ingelheim Animal Health)、默沙東動物保健公司 (Merck Animal Health)、西華動物用藥品股份有限公司 (Ceva Animal Health) 及碩騰公司 (Zoetis Inc)。所開發出的家禽重組疫苗可對抗的疾病包含雞痘、馬立克病、新城病、傳染性喉頭氣管炎、傳染性華氏囊病、雞敗血型黴漿菌病 (*Mycoplasma gallisepticum*, MG) 及家禽流行性感胃等。重組疫苗已發展至第三代，可同時預防 2~3 種疾病 [1, 2, 4, 5, 31, 40]。

二、第一代重組疫苗

早在 1990 年代中期，FPV 即開始被應用於做為表現禽類病原體免疫原的病毒載體 [9, 11, 19]。FPV 具有約 300 kbp 的雙股 DNA 基因體 [6]，目前已被用於表現新城病病毒、傳染性喉頭氣管炎病毒、家禽流行性感胃病毒和雞敗血型黴漿菌等病原體的免疫原 [13, 15, 19, 21, 35, 36, 40] (表 1)。

重組禽痘病毒疫苗 (rFPV) 通常是在雞隻 7 日齡 (或以上) 時，透過皮下注射或翼膜穿刺免疫 [15, 24, 40]。雖然大部分的研究，小雞的移行抗體不會影響 rFPV 疫苗整體的保護效果。但部分研究發現，當小雞因種母雞的接種計畫 (如接種新城病病毒死毒疫苗或家禽流行性感胃疫苗等) 具有較高的移行抗體時，若於 1 日齡時接種 rFPV 疫苗，移行抗體會對載體所插入的蛋白質誘發抗體反應產生一定的抑制作用 [30, 36]。故本類疫苗通常建議雞隻於 7 日齡 (或以上) 時再進行免疫。而且，重複接種 rFPV 疫苗並不會延長保護期，因此不建議為了延長對抗疾病的保護期而重複接種 rFPV 疫苗 [34]。

三、第二代重組疫苗

傳統的火雞疱疹病毒 (HVT) 疫苗最早於 1970 年代初引進，HVT 疫苗因為有安全及不會橫向傳播的優勢，早期用於預防強毒馬立克病 (virulent Marek's disease, vMD) 且成果顯著 [12, 28]。目前 HVT 疫苗較少單獨使用來預防馬立克病，通常會與馬立克病病毒 (MDV) 血清 1 型的 Rispens/CVI988 疫苗或血清 2 型的 SB-1 疫苗 [29, 37] 混合使用，以協同保護

雞隻免受極強毒 MDV (very virulent Marek's disease virus, vvMDV) 的攻擊。

重組火雞疱疹病毒疫苗 (rHVT) 於 1990 年代初開始發展 [26, 33]，並於 2007 年首次用於商業雞群。HVT 具有約 160 kbp 的雙股 DNA 基因組，目前已被用於表現新城病病毒、傳染性華氏囊病病毒、傳染性喉頭氣管炎病毒、家禽流行性感胃病毒等病原體的免疫原 [17, 20, 27] (表 2)。第二代 rHVT 疫苗是目前最廣泛使用的家禽重組疫苗，使用方式包含於 18 日齡胚胎蛋之蛋內接種免疫或於 1 日齡小雞皮下注射免疫。與 HVT 疫苗一樣，所有 rHVT 疫苗都以細胞依附型病毒的形式生產，需在液氮中儲存和運輸，溫度須維持在 -196°C 左右。

四、第三代重組疫苗

第三代 rHVT 載體疫苗大約於 2010 年代開始發展，其重組病毒可以嵌入 2 種以上的病毒蛋白基因，可同時預防 3 種以上的疾病，主要預防的病原包含馬立克病、新城病、傳染性華氏囊病及傳染性喉頭氣管炎 (表 3)。使用方法也是蛋內注射與皮下注射。

臺灣家禽重組疫苗登記及使用現況

在臺灣，家禽重組疫苗的檢驗登記和檢驗標準都受到相應的規範和管理。檢驗登記是確保疫苗符合品質及安全標準的重要過程，而檢驗標準則是後續用於評估每批疫苗的品質和效能的方法。

一、檢驗登記流程

臺灣對於使用基因改造方式生產的動物用生物藥品有嚴格的管制規範，在農業部公告「動物用藥品新藥試驗辦法」附件三的「基因改造動物用生物藥品新藥試驗規範」中指出 [3]，基因改造動物用生物藥品，依管制生物體之特性共分為三類，包括：(1) 第一類基因改造生物藥品，為經由生物技術衍生而來之死毒、死菌、次單位疫苗、單株抗體、基因重組蛋白質及不具複製能力之載體等產品。(2) 第二類基因改造生物藥品，為經由生物技術衍生而來並將基因剔除之活菌 (毒) 疫苗產品。(3) 第三類基因改造生物藥品，為經由生物技術衍生而來，帶有外源基因插入載體之

活菌(毒)疫苗產品。本文所討論的 rFPV 及 rHVT 皆屬於第三類基因改造生物藥品。

動物用藥品業者申請基因改造生物藥品檢驗登記時，須檢具相關資料，包括作為種株之管制生物體之特性及毒性資料，並提供與毒力有關之安全性數據及風險評估報告等文件。除第一類基因改造生物藥品，因風險相對較低，可由中央主管機關(農業部動植物防疫檢疫署)依學者專家及機關代表審議結果，決定是否進行基因改造生物藥品試驗外，第二、三類基因改造生物藥品均應執行基因改造生物藥品試驗。

首先，中央主管機關依業者檢附之資料及該產品之特性、用法與製造程序，進行初審；初審結果認有必要進行新藥試驗者，必須確定其進行之試驗項目，試驗內容須包括進行對象動物安全性、有效性、隔離試驗設施與管制生物體毒力有關之安全性及風險評估試驗之說明，報送中央主管機關審查通過後，始可委託經認可之機關(構)執行試驗。第二、三類基因改造生物藥品，因風險較大須分成實驗室試驗及田間試驗兩階段進行。實驗室試驗須委託經認可之基因改造生物藥品試驗機構，執行基因改造生物藥品試驗，待基因改造生物藥品實驗室試驗完成後，須先檢具試驗成績報告書，報中央主管機關審查通過後，始得進行基因改造生物藥品田間試驗。受委託之機關(構)完成田間試驗後，須在三個月內將試驗報告送中央主管機關審議。中央主管機關則依試驗報告內容，審酌是否同意進行檢驗登記程序 [3]。

二、臺灣禽類重組疫苗使用現況

臺灣最早登記上市的家禽重組疫苗，為 2013 年由臺灣龍馬躍股份有限公司(2019 年併入臺灣百靈佳股格翰動物事業股份有限公司)申請輸入的「威力克雞馬立克病載體傳染性華氏囊病基因改造活毒疫苗」(Vaxxitek HVT+IBD)。2020 年，西華動物藥品股份有限公司的「西華雞馬立克病載體新城病基因改造雙價活毒疫苗」(Vectormune HVT NDV)在臺登記上市，而臺灣英特威動物藥品股份有限公司申請輸入的「英諾威雞馬立克病載體新城病基因改造雙價活毒疫苗」(Innovax-ND)在隔(2021)年成為臺灣第三個上市的重組疫苗。2022 年第四個重組疫苗「英

諾威雞馬立克病載體喉頭氣管炎基因改造雙價活毒疫苗」(Innovax-ILT)也完成登記上市。

目前檢驗登記中的重組疫苗尚有雞馬立克病載體新城病、喉頭氣管炎基因改造活毒疫苗 (Innovax ND-IBD)、雞馬立克病載體傳染性華氏囊病基因改造活毒疫苗 (Procerta HVT-IBD)、雞馬立克病載體新城病基因改造活毒疫苗 (Procerta HVT-ND) 及雞痘載體喉頭氣管炎基因改造活毒疫苗 (Vectormune FP-LT)，顯示應用重組疫苗同時預防多項疾病已成為現今國際趨勢。

依據廠商產品的標籤仿單及委託試驗結果，目前在臺灣登記的馬立克病載體重組疫苗，可應用於 18 日齡胚胎蛋內注射及 1 日齡小雞皮下注射。對馬立克病毒的保護效果，約可於注射後 5 到 10 天產生，並一直持續到整個風險期。不過其他應用 HVT 載體表現的病原蛋白質，像新城病病毒的 F 蛋白、傳染性華氏囊病病毒的 VP2 蛋白及傳染性喉頭氣管炎病毒的 gI 及 gD 蛋白，則需至免疫後 3 到 4 週，才能出現良好的抗病毒能力。從疫苗仿單資料顯示，為保護 0 到 4 週齡雞隻面對不同病毒的攻擊，除了在免疫後維持良好的衛生管理外，部分重組疫苗產品會推薦畜主在免疫 1 日齡雞時，併用同品牌馬立克病毒血清型 1 型疫苗 (Rispen/CVI988 strain)，以保護雞隻免受 vMDV 的攻擊。同時為提供早期雞隻對新城病的保護力，某些產品已在仿單標註，可以在 1 日齡免疫時併用噴霧或點眼、點鼻的新城病活毒疫苗，約可在免疫後 2~3 週產生抗新城病的保護效果。

分析家禽重組疫苗在臺灣歷年進口總量，2020 年前只有「威力克雞馬立克病載體傳染性華氏囊病基因改造活毒疫苗」(Vaxxitek HVT+IBD)在臺銷售，進口量約在 1,200~7,197 萬劑之間。除 2019 年臺灣龍馬躍股份有限公司因公司整併至臺灣百靈佳股格翰動物事業股份有限公司，單年度策略性進口量較大外，其餘各年度家禽重組疫苗的進口量不一，未發現明顯趨勢。2021 年，隨著其他 2 家雞馬立克病載體新城病基因改造活毒疫苗陸續登記上市，臺灣家禽重組疫苗的進口總量達 9,689 萬劑，為歷年新高。2022 年後，3 家家禽重組疫苗的進口量漸趨於平均，各家進口劑量約在 1,400~2,300 萬劑間 (圖 1)。

三、家禽重組疫苗檢驗標準

目前在臺灣登記上市的馬立克病載體重組疫苗共計有 4 支，其所對應的動物用疫苗檢驗標準共有 3 節，包括第 90 節「馬立克病載體傳染性華氏囊病活毒疫苗檢驗標準」、第 99 節「馬立克病載體新城病基因改造活毒疫苗檢驗標準」及第 102 節「馬立克病載體傳染性喉頭氣管炎基因改造活毒疫苗檢驗標準」，其檢驗方法詳表 4。

由表 4 中，可一窺國內檢驗標準的訂定歷程及趨勢。以 2013 年公告的第 90 節「馬立克病載體傳染性華氏囊病活毒疫苗」為例，早期為確認疫苗確實具安全性且可預防多種疾病的有效性，在安全試驗部分需使用較多的雞隻（20 隻），效力試驗則需同時確認疫苗對馬立克病及傳染性華氏囊病的保護效果。由於雞隻受馬立克病毒攻毒後至病症發生所需時程較長，共需觀察 40 天，故國際間馬立克病疫苗批次檢驗皆未把攻毒試驗列入檢驗項目，而以檢測病毒含有量超過 1,000 PFU (plaque forming units) 以上，即可推論疫苗具良好的保護效果。至於抗傳染性華氏囊病的能力，則參考第 40 節「傳染性華氏囊病活毒疫苗檢驗標準」力價試驗方法，以免疫 10 隻試驗雞隻後監測中和抗體，免疫組的平均中和抗體力價須達 160 倍以上才具有保護效果，5 隻對照組雞隻的中和抗體則須皆為 5 倍以下。

近年因動物保護意識抬頭，實驗動物福祉也備受關注，我國動物用疫苗檢驗標準的研擬亦導入減量 (Reduction)、取代 (Replacement) 及精緻化 (Refinement) 的 3Rs 原則。由 2020 年公告的「馬立克病載體新城病基因改造活毒疫苗檢驗標準」可發現，疫苗的安全試驗使用的動物隻數已由原來的 20 隻減少至 7 隻，但抗新城病效力評估，則參照第 30 節「乾燥新城病活毒疫苗」效力試驗方法，仍需進行雞隻攻毒試驗進行保護效果評估。而在 2022 年公告的「馬立克病載體傳染性喉頭氣管炎基因改造活毒疫苗」檢驗標準，則直接以病毒含有量試驗結果取代傳染性喉頭氣管炎病毒的動物攻毒試驗，也就是當每劑疫苗中所測得的傳染性喉頭氣管炎病毒醣蛋白 (gI 或 gD) 量及病毒含有量超過疫苗仿單標示量時，即表示疫苗同時具抗馬立克病及傳染性喉頭氣管炎之效果，

不再執行效力試驗或力價試驗。

由國內針對家禽重組疫苗所制定的 3 個章節檢驗標準歷程可發現，現今動物疫苗檢驗標準研擬的方向，已朝向可將產品開發時期內部試驗資料及檢驗登記時疫苗委託試驗的效力試驗結果做為參考，若試驗結果通過取得動物用藥品許可證，後續逐批上市前的批次檢驗並不需要逐批使用動物驗證其效力，可檢驗每劑量的病毒含有量是否符合其產品所標示 (表 5) 以取代攻毒試驗驗證疫苗效力。不但可大幅減少試驗動物數量，也避免動物因攻毒試驗所造成之痛苦。這也是後續研擬其他動物用疫苗檢驗標準時的目標，除可把關疫苗本身安全性及效力，亦可與國際實驗動物應用之 3Rs 原則接軌。

結論

利用生物技術研製新型疫苗已成國際間重要發展趨勢，目前已成功開發出一系列的家禽重組疫苗，這些疫苗對於控制家禽疾病具有重要的價值，包含馬立克病、新城病、傳染性華氏囊病、傳染性喉頭氣管炎及家禽流行性感冒等。值得注意的是，這些應用 HVT 載體表現的病原蛋白質，如新城病病毒的 F 蛋白、傳染性華氏囊病病毒的 VP2 蛋白及傳染性喉頭氣管炎病毒的 gI 及 gD 蛋白，免疫對象動物 (target animal) 後需 3 到 4 週，動物才能出現抗病毒感染能力。因此從免疫後到動物產生達保護力之抗體力價前，維持家禽健康狀態及持續環境衛生管控為畜主須考量的議題。展望未來，期待藉助家禽重組疫苗的不斷發展和應用，進一步提高家禽健康狀態，確保全球食品供應的品質和穩定性。

表 1、以弱毒禽痘病毒 (fowlpox virus, FPV) 為載體的第一代家禽重組疫苗。

載體	插入之病毒株/徽漿菌株	插入基因	產品名稱	製造廠	國外取證年份	免疫方式
FPV	NDV*-Texas strain genotype IV	HN, F	Trovac-NDV	Boehringer Ingelheim Animal Health	1996	皮下注射
	AIV-A/turkey/Ireland/1378/83 (H5N8)	H5	Trovac AI H5	Boehringer Ingelheim Animal Health	1998	皮下注射 (於美國特定區域緊急授權使用)
	NDV-D26 genotype I	HN	Vectormunet FP-ND	Ceva Animal Health	2002	皮下注射、翼膜穿刺
	ILTV -field strain 632 (gB gene) and NS175 (UL-32 gene)	gB, UL-32	Vectormune FP-LT	Ceva Animal Health	2002	皮下注射、翼膜穿刺
	AIV-A/chicken/Guanajuato/15 (H7N3)	H7	Trovac Prime H7	Boehringer Ingelheim Animal Health	2018	皮下注射 (墨西哥)
	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	40k, mgc	Vectormune FP-MG	Ceva Animal Health	-	翼膜穿刺

* NDV: Newcastle disease virus, AIV: avian influenza virus, ILTV: infectious laryngotracheitis virus.

表 2、以火雞疱疹病毒 (turkey herpesvirus , HVT) 為載體的第二代家禽重組疫苗。

載體	插入之病毒株	插入基因	產品名稱	製造廠	國外取證年份	免疫方式
HVT	NDV*-D26	F	Vectormune HVT ND	Ceva Animal Health	2007	蛋內注射、皮下注射
	NDV-D26	F	Vectormune ND+Rispen	Ceva Animal Health	2007	蛋內注射、皮下注射
	NDV-C12:C22Clone 30 genotype II	F	Innovax ND	Merck Animal Health	2007	蛋內注射、皮下注射
	ILTV-USDA ILT 83-2	gD, gI	Innovax ILT	Merck Animal Health	2007	蛋內注射、皮下注射
	IBDV-Faragher 52/70	VP2	Vaxxitek HVT+IBD	Boehringer Ingelheim Animal Health	2007	蛋內注射、皮下注射
	NDV-Clone 30 genotype II	F	Innovax ND-SB	Merck Animal Health	2009	蛋內注射、皮下注射
	ILTV-USDA ILT 83-2	gD, gI	Innovax ILT-SB	Merck Animal Health	2009	蛋內注射、皮下注射
	ILTV type not available	gB	Vectormune HVT-LT	Ceva Animal Health	2009	蛋內注射、皮下注射
	AIV-A/Swan/Hungary/ 06 (H5N1 clade 2.2)	H5	Vectormune AI H5	Ceva Animal Health	2012	皮下注射 (最初於美國特定區域緊急授權使用，現於亞洲、中東及墨西哥使用)
	IBDV-Variant Delaware E	VP2	Vectormune IBD	Ceva Animal Health	2015	蛋內注射、皮下注射
	AIV-A/chicken/ Guanajuato/15 (H7N3)	H7	Vectormune AI H7	Ceva Animal Health	2017	皮下注射 (最初於美國特定區域緊急授權使用，現於墨西哥使用)
	NDV-Texas strain genotype IV	F	Newxxitek HVT+ND	Boehringer Ingelheim Animal Health	2018	蛋內注射、皮下注射
	NDV type not available	F	Procerta HVT-ND	Zoetis Inc	2019	蛋內注射、皮下注射
	IBDV-Faragher 52/70	VP2	Procerta HVT-IBD	Zoetis Inc	2020	蛋內注射、皮下注射

* NDV: Newcastle disease virus, ILTV: infectious laryngotracheitis virus, IBDV: infectious bursal disease virus, AIV: avian influenza virus.

表 3、以火雞疱疹病毒 (turkey herpesvirus , HVT) 為載體的第三代家禽重組疫苗。

載體	插入之病毒株	插入基因	產品名稱	製造廠	國外取證年份	免疫方式
HVT	NDV*-Clone 30 IBDV-Faragher 52/70	F/VP2	Innovax ND-IBD	Merck Animal Health	2017	蛋內注射、皮下注射
	NDV-D26 IBDV-Standard IBDV	F/VP2	Ultifend IBD ND	Ceva Animal Health	2018	蛋內注射、皮下注射
	NDV-D26 IBDV-Standard IBDV	F/VP2	Ultifend IBD ND+SB1	Ceva Animal Health	2019	蛋內注射、皮下注射
	NDV-genotype VII 1.1 IBDV-Faragher 52/70	F/VP2	Vaxxitek HVT+IBD+ ND	Boehringer Ingelheim Animal Health	2019	蛋內注射、皮下注射
	NDV-Clone 30 ILTV-ILT 83-2	F/gI- gD	Innovax ND-ILT	Merck Animal Health	2019	蛋內注射、皮下注射
	IBDV-Faragher52/70 ILTV-USDA challenge strain	VP2/ gD	Vaxxitek HVT+IBD+ ILT	FBoehringer Ingelheim Animal Health	2020	蛋內注射、皮下注射

* NDV: Newcastle disease virus, ILTV: infectious laryngotracheitis virus, IBDV: infectious bursal disease virus.

表 4、三種家禽基因改造活毒疫苗檢驗標準比較表。

節次	90	99	102
檢驗標準名稱	馬立克病載體傳染性華氏囊病活毒疫苗檢驗標準	馬立克病載體新城病基因改造活毒疫苗檢驗標準	馬立克病載體傳染性喉頭氣管炎基因改造活毒疫苗檢驗標準
公告年度	2013	2020	2022
特性試驗	須具固有理學之性狀，且無異物及異常氣味。	須具固有理學之性狀，且無異物及異常氣味。	須具固有理學之性狀，且無異物及異常氣味。
無菌試驗	不得含有任何可能檢出之活菌。	不得含有任何可能檢出之活菌。	不得含有任何可能檢出之活菌。
病毒含有量試驗	將本劑培養於雞胚胎組織細胞時，每劑量馬立克載體病毒須含有 1,000 PFU 以上。	將本疫苗培養於雞胚胎纖維母細胞 (chicken embryo fibroblasts, CEF) 時，每劑量病毒含有量不可少於其疫苗標示。	將本疫苗培養於雞胚胎纖維母細胞 (chicken embryo fibroblasts, CEF) 5 日後，觀察其細胞變性效應 (cytopathic effect)，並使用螢光抗體染色法 (immunofluorescence assay) 偵測傳染性喉頭氣管炎病毒之醣蛋白 D 或 I，每劑量病毒含有量不可少於其疫苗標示。
安全試驗	取 1 日齡 SPF 雞或華氏囊病抗體陰性雞 20 隻，於背頸部皮下注射本劑 10 劑量，疫苗接種後觀察 3 週，不得有任何顯著症狀或死亡。	選 1 日齡無特定病原 (specific pathogen free, SPF) 雞或新城病抗體陰性雞 7 隻，隨機取 2 隻為對照組，其餘 5 隻於背頸部皮下注射 10 劑量，疫苗接種後觀察 3 週，須無任何不良反應而健存。	選 1 日齡無特定病原 (specific pathogen free, SPF) 雞或傳染性喉頭氣管炎抗體陰性雞 7 隻，隨機取 2 隻為對照組，其餘 5 隻於背頸部皮下注射 10 劑量，疫苗接種後觀察 3 週，須無任何不良反應而健存。
效力試驗		選 1 日齡 SPF 雞或新城病抗體陰性雞 12 隻，隨機取 2 隻為對照組，其餘 10 隻於背頸部皮下注射 1 劑量為免疫組。免疫組雞隻於免疫後 4 週連同對照組雞隻以新城病強毒 (佐藤株) 1,000 MLD (minimal lethal dose) 肌肉注射攻擊，並觀察 2 週。結果免疫組雞隻須有 75% 以上，不呈反應或呈輕微反應後耐過而健存；對照組雞隻須呈典型新城病病症而斃死。	

表 4、三種家禽基因改造活毒疫苗檢驗標準比較表 (續)。

節次	90	99	102
力價 試驗	取 1 日齡 SPF 雞或華氏囊病 抗體陰性雞 15 隻，隨機取 10 隻於背頸部皮下注射本劑 1 劑 量為免疫組，其餘 5 隻為對照 組。疫苗接種後 4 週，採血、 分離血清經 56°C、30 分鐘非 動化，然後以滅菌磷酸鹽緩衝 液行倍數稀釋：各稀釋階段血 清加入等量 100 TCID ₅₀ 之傳 染性華氏囊病病毒，置 37°C 度 中感作 60 分鐘後，接種於雞 胚胎纖維芽培養細胞測定中和 抗體力價，結果免疫組之平均 中和抗體力價須呈 160 倍以 上，對照組須為 5 倍以下。		

表 5、臺灣四種馬立克病載體重組疫苗取證年份及每劑的病毒含量。

許可證號 (輸入)	取證年份	品名	英文名	病毒含有量 (PFU/dose)
06899	2013	威力克雞馬立克病載體傳染性華氏囊病基 因改造活毒疫苗	Vaxxitek HVT+IBD	3,880 以上
07325	2020	西華雞馬立克病載體新城病基因改造雙價 活毒疫苗	Vectormune HVT NDV	2,280 以上
07351	2021	英諾威雞馬立克病載體新城病基因改造雙 價活毒疫苗	Innovax-ND	1,810 以上
07408	2022	英諾威雞馬立克病載體喉頭氣管炎基因改 造雙價活毒疫苗	Innovax-ILT	2,248 以上

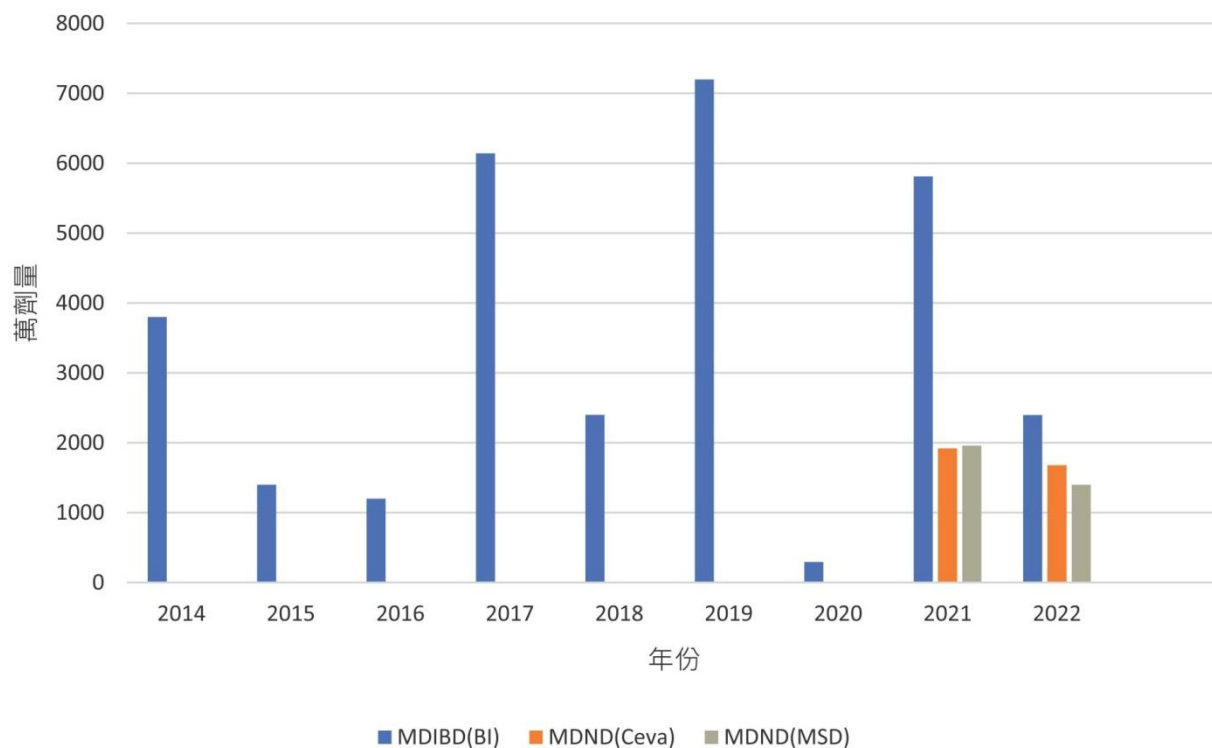


圖 1、各年度三種家禽基因改造活毒疫苗進口劑量。

(BI:Boehringer Ingelheim Animal Health ; Ceva : Ceva Animal Health ; MSD : Merck Animal Health)

參考文獻

1. 西華動物用藥品股份有限公司網站。
<https://www.thepoultrysite.com/focus/ceva/ceva-vectored-poultry-and-chicken-vaccines-from-ceva-sante-animale>
2. 百靈佳殷格翰動物事業網站。
<https://www.boehringer-ingelheim.com/animal-health/products?veterinary%5B0%5D=86>
3. 農業部主管法規查詢系統網站「動物用藥品新藥試驗辦法」附件三「基因改造動物用生物藥品新藥試驗規範」。
<https://law.moa.gov.tw/GLRSnewsout/LawContent.aspx?id=GL000231>
4. 碩騰公司網站。
<https://www.zoetisus.com/products/>
5. 默沙東動物保健公司網站。
<https://www.merck-animal-health-usa.com/products?species=poultry>
6. Afonso CL, Tulman ER, Lu Z, Zsak L, Kutish GF, Rock DL. The genome of fowlpox virus. *J Virol* 74: 3815–3831, 2000.
7. Afonso CL, Tulman ER, Lu Z, Zsak L, Rock DL, Kutish GF. The genome of turkey herpesvirus. *J Virol* 75: 971–978, 2001.
8. Boyle DB, Heine HG. Recombinant fowlpox virus vaccines for poultry. *Immunol Cell Biol* 71: 391–397, 1993.
9. Boyle DB, Coupar BEH. Construction of recombinant fowlpox viruses as vectors for poultry vaccines. *Virus Res* 10: 343–356, 1988.
10. Brugh M, Stone HD. Immunization of chickens against influenza with hemagglutinin-specific (H5) oil emulsion vaccine. *Avian Dis* 47: 283–292, 2003.
11. Boyle DB, Anderson MA, Amos R, Voysey R, Coupar BEH. Construction of recombinant fowlpox viruses carrying multiple vaccine antigens and immunomodulatory molecules. *Biotechniques* 37: 104–106, 2004.
12. Bublot M, Sharma J. Vaccination against Marek's disease. In: Davison F, Nair V, ed. *Marek's disease an evolving problem*. Elsevier Academic Press, London (U.K.), 168–185, 2004.
13. Bublot M, Pritchard N, Swayne DE, Selleck P, Karaca K, Suarez DL, Audonnet JC, Mickle TR. Development and use of fowlpox vectored vaccines for avian influenza. *Ann N Y Acad Sci* 1081: 193–201, 2006.
14. Calnek BW, Carlisle JC, Fabricant J, Murthy KK, Schat KA. Comparative pathogenesis studies with oncogenic and nononcogenic Marek's disease viruses and turkey herpesvirus. *Am J Vet Res* 40: 541–548, 1979.
15. Davison S, Gingerich EN, Casavant S, Eckroade RJ. Evaluation of the efficacy of a live fowlpox-vectored infectious laryngotracheitis/avian encephalomyelitis vaccine against ILT viral challenge. *Avian Dis* 50: 50–54, 2006.
16. Esaki M, Noland L, Eddins T, Godoy A, Saeki S, Saitoh S, Yasuda A, Dorsey KM. Safety and efficacy of a turkey herpesvirus vector laryngotracheitis vaccine for chickens. *Avian Dis* 57: 192–198, 2013.
17. Esaki M, Godoy A, Rosenberger JK, Rosenberger SC, Gardin Y, Yasuda A, Dorsey KM. Protection and antibody response caused by turkey herpesvirus vector Newcastle disease vaccine. *Avian Dis* 57: 750–755, 2013.
18. Fahey KJ, Erny KM, Crooks J. A conformational immunogen on VP-2 of infectious bursal disease virus that induces virus-neutralizing antibodies that passively protect chickens. *J Gen Virol* 70: 1473–1482, 1989.
19. Ferguson-Noel N, Cookson K, Laibinis VA, Kleven SH. The efficacy of three commercial

- Mycoplasma gallisepticum* vaccines in laying hens. *Avian Dis* 56: 272–275, 2012.
20. Hein RG, Slacum G. Efficacy against very virulent (VV) Marek's disease virus (MDV) of the HVT/ND recombinant (Innovax-SB-ND) and the immunity against virulent (v) Newcastle disease virus (NDV). Proceedings of the 56th Western Poultry Disease Conference (WPDC), Las Vegas (NV), 83–84, 2007.
 21. Johnson DI, Vagnozzi A, Dorea F, Riblet SM, Mundt A, Zavala G, Garcia M. Protection against infectious laryngotracheitis by in ovo vaccination with commercially available viral vector recombinant vaccines. *Avian Dis* 54: 1251–1259, 2010.
 22. Kumar S, Nayak B, Collins PL, Samal SK. Evaluation of the Newcastle disease virus F and HN proteins in protective immunity by using a recombinant avian paramyxovirus type 3 vector in chickens. *J Virol* 85: 6521–6534, 2011.
 23. Meulemans G, Gonze M, Carlier MC, Petit P, Burny A, Long L. Protective effects of HN and F glycoprotein-specific monoclonal antibodies on experimental Newcastle disease. *Avian Pathol* 15: 761–768, 1986.
 24. McMillen JK, Cochran MD, Junker DE, Reddy DN, Valencia DM. The safe and effective use of fowlpox virus as a vector for poultry vaccines. *Dev Biol Stand* 82: 137–145, 1994.
 25. Meulemans G, Letellier C, Gonze M, Carlier MC, Burny A. Newcastle disease virus F glycoprotein expressed from a recombinant vaccinia virus vector protects chicken against live-virus challenge. *Avian Pathol* 17: 821–828, 1988.
 26. Morgan RW, Gelb J Jr, Schreurs CS, Lutticken D, Rosenberger JK, Sondermeijer PJA. Protection of chickens from Newcastle and Marek's diseases with a recombinant herpesvirus of turkeys vaccine expressing the Newcastle disease virus fusion protein. *Avian Dis* 36: 858–870, 1992.
 27. Morgan RW, Gelb J Jr, Pope CR, Sondermeijer PJA. Efficacy in chickens of a herpesvirus of turkeys recombinant vaccine containing the fusion gene of Newcastle disease virus: onset of production and effect of maternal antibodies. *Avian Dis* 37: 1032–1040, 1993.
 28. Okazaki W, Purchase HG, Burmester BR. Protection against Marek's disease by vaccination with a herpesvirus of turkeys. *Avian Dis* 14: 413–429, 1970.
 29. Rispens BH, Van Vloten J, Mastenbroek N, Maas HJL, Schat KA. Control of Marek's disease in the Netherlands. I. Isolation of an avirulent Marek's disease virus (strain CVI 988) and its use in laboratory vaccination trials. *Avian Dis* 16: 108–125, 1972.
 30. Richard-Mazet A, Goutebroze S, Le Gros FX, Swayne DE, Bublot M. Immunogenicity and efficacy of fowlpox-vectored and inactivated avian influenza vaccines alone or in a prime-boost schedule in chickens with maternal antibodies. *Vet Res* 45: 107, 2014.
 31. Hein R, Koopman R, García M, Armour N, Dunn JR, Barbosa T, Martinez A. Review of poultry recombinant vector vaccines. *Avian Dis* 65: 438–452, 2021.
 32. Sharma JM, Burmester BR. Resistance to Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus. *Avian Dis* 26: 134–149, 1982.
 33. Sondermeijer PJA, Claessens JAJ, Jenniskens PE, Mockett APA, Thijssen RAJ, Willemse MJ, Morgan RW. Avian herpesvirus as a live viral vector for the expression of heterologous antigens. *Vaccine* 11: 349–358, 1993.

34. Swayne DE, Beck JR, Kinney N. Failure of a recombinant fowl poxvirus vaccine containing an avian influenza hemagglutinin gene to provide consistent protection against influenza in chickens preimmunized with a fowl pox vaccine. *Avian Dis* 44: 132–137, 2000.
35. Taylor J, Edbauer C, Reysenelonge A, Bouquet JF, Norton EK, Goebel S, Desmettre P, Paoletti E. Newcastle disease virus fusion protein expressed in a fowlpox virus recombinant confers protection in chickens. *J Virol* 64: 1441–1450, 1990.
36. Taylor J, Christensen L, Gettig R, Goebel J, Bouquet JF, Mickle TR, Paoletti E. Efficacy of a recombinant fowl pox–based Newcastle disease virus vaccine candidate against velogenic and respiratory challenge. *Avian Dis* 40: 173–180, 1996.
37. Witter RL, Lee LF. Polyvalent Marek's disease vaccines: safety, efficacy and protective synergism in chickens with maternal antibodies. *Avian Pathol* 13: 75–92, 1984.
38. York JJ, Fahey KJ. Humoral and cell-mediated immune responses to the glycoproteins of infectious laryngotracheitis herpesvirus. *Arch Virol* 115: 289–297, 1990.
39. York JJ, Fahey KJ. Vaccination with affinity-purified glycoproteins protects chickens against infectious laryngotracheitis herpesvirus. *Avian Pathol* 20: 693–704, 1991.
40. Zhang GZ, Zhang R, Zhao HL, Wang XT, Zhang SP, Li XJ, Qin CZ, Lv CM, Zhao JX, Zhou JF. A safety assessment of a fowlpox-vectored *Mycoplasma gallisepticum* vaccine in chickens. *Poult Sci* 89: 1301–1306, 2010.
41. Zhao W, Spatz S, Zhang Z, Wen G, Garcia M, Zsak L, Yu Q. Newcastle disease virus (NDV) recombinants expressing infectious laryngotracheitis virus (ILTV) glycoproteins gB and gD protect chickens against ILTV and NDV challenges. *J Virol* 88: 8397–8406, 2014.

Development of recombinant poultry vaccines and current status of vaccine inspection in Taiwan

CC Chang*, IT Ko, CC Chang

Veterinary Research Institute, Ministry of Agriculture

Abstract In addition to traditional inactivated and live attenuated vaccines, recombinant DNA technology has been applied to produce many new types of vaccines to prevent and control poultry infectious diseases. Two main vectors commonly used to construct recombinant poultry vaccines are the fowlpox virus and turkey herpesvirus. Numerous recombinant poultry vaccine products have been registered and marketed internationally to prevent diseases such as avian pox, Marek's disease, Newcastle disease, infectious laryngotracheitis, infectious bursal disease, and avian influenza. This study provides an overview of the current development status of recombinant poultry vaccines and briefly introduces the registration, product usage, and inspection standards for domestic poultry recombinant vaccines.

Keywords: *Recombinant vaccines, Fowlpox virus, Turkey herpesvirus, Inspection standard*