

1995—1996 年台灣地區野鳥及玩賞鳥類 新城雞病病毒分離調查

鄭明珠* 林地發 黎南榮 劉培柏

台灣省家畜衛生試驗所 疫學研究系

摘要 為了解臺灣地區在 1995 年初發生新城雞病大流行之後其他野鳥及玩賞鳥類是否被波及或有帶毒的可能性，於是進行本調查。以 12 個收集地點進行野鳥及玩賞鳥之糞便或共泄腔拭子採樣，採樣點包括一般動物醫院、鴿子醫院、金絲雀飼養繁殖場、鳥園、野鳥急救站、賽鴿及種鴿飼養戶及野鳥繫放站等。總共收集了 242 個樣本，其中包括野鳥 91 件、鸚鵡類 17 件、鴿子 66 件、金絲雀 58 件及其他玩賞鳥類 10 件。少數死亡鳥類個體進行剖檢採材，所有病材及糞便乳劑接種無特定性病原雞胚胎進行病毒分離，以測定血球凝集性、電子顯微鏡檢查及血球凝集抑制試驗來鑑定新城雞病病毒，並進行病原性試驗以鑑定病毒毒力。最後僅由鸚鵡及鴿子分離得 2 株強毒型新城雞病病毒。

關鍵詞：野鳥，玩賞鳥類，新城雞病，副黏液病毒

緒 言

1995 年上半年，臺灣北、中、南各地區皆有強毒親內臟型新城雞病發生疫情，造成養雞業者重大的損失。新城雞病的流行原因眾說紛紜，有認為候鳥攜帶病毒傳播之說；有認為由鴿子或玩賞鳥類進口或走私帶進來之可能性。由文獻報告中已知，這些說法皆有可能^[5, 7, 8, 10, 11]。新城雞病對所有陸禽鳥類皆會感染及有致病性，而對水禽類常造成不顯性感染^[3]；臺灣每年冬季有不少候鳥過境棲息，這些候鳥大部分屬於水禽類，所以攜帶新城雞病病毒入境的可能性很高，但水禽類候鳥警覺性高，加上環境因素，極少可能到養雞場附近傳播病原。所以，其間的媒介者可能性最高的就是其他的飛鳥。然而，如果這些飛鳥真的扮演新城雞病傳播者的角色，在毫無特異抗體的保護之下，新城雞病對其造成的致病性如何呢？本調查為針對臺灣現有的各種鳥類，包括野鳥、玩賞鳥、鴿子等進行一次廣而概括性的新城雞病

帶毒調查，期望能夠了解在 1995 年上半年臺灣的養雞場大流行之後，新城雞病是否有波及及其他鳥類，及探討這些受感染的鳥類在病毒的傳播上所扮演的角色。

材料與方法

試材採集：

於 1995 年 7 月至 1996 年 6 月期間，進行 12 個樣本採集地點收集試材，採樣地點包括一般的動物醫院、鴿子醫院、金絲雀飼養繁殖場、鳥園、野鳥急救站、賽鴿及種鴿飼養戶及野鳥繫放站等（如表 1 所列），以收集民間飼養的生病玩賞鳥及鴿子、傷病虛弱的野生鳥類、檢疫觀察中的鳥園鳥類及一般正常飼養狀態下的金絲雀及鴿子之檢體。總共收集了 242 個樣本，樣本採自共泄腔拭子或直接收取新鮮糞便，少數死亡病例則剖檢及採集全身主要臟器。全部樣本個別放入含高量抗生素之 MEM 培養液內，保存於 -70 °C。

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

病毒分離：

將採集病材分別研磨攪碎懸浮於 10 倍體積的 MEM (Minimum essential medium) 培養液中 (含 Penicillin 10,000 IU / mL 及 Streptomycin 10,000 µg / mL)，經 3,000 rpm 離心 30 分鐘後，取其上清液接種於 9 日齡無特定病原 (Specific pathogenic free, SPF) 雞胚胎蛋之尿囊腔內，接種之蛋置於 37 °C 恆溫箱中，每日照蛋觀察蛋內胚胎是否有死亡，收集接種 24 小時以後死亡之雞胚胎的尿囊液，若接種後 7 日未死亡之雞胚蛋，則再抽取尿囊液再進行雞胚胎接種，共盲目繼代 3 次。

分離株鑑定：

將試材接種雞胚胎收取之尿囊液進行血球凝集試驗，血球凝集陽性之尿囊液進行電子顯微鏡檢查病毒及觀察病毒型態，最後以新城雞病特異抗體進行血球凝集抑制試驗以鑑定是否為新城雞病病毒。

(一) 血球凝集試驗 (Hemagglutination test)：5 % 新鮮雞紅血球一滴加尿囊液一滴，混合均勻 2 分鐘後判讀是否產生血球凝集現象^[6]。

(二) 電子顯微鏡檢查：血球凝集陽性之尿囊液，以 3,000 rpm 低速離心去除細胞沉渣，取其上清液再以 90,000 rpm 氣動式離心機離心 10 分鐘，取沉澱物以 2 % 磷鎢酸 (phosphotungstic acid) 進行負染色，並在穿透式電子顯微鏡下觀察是否有副黏液病毒型態之病毒顆粒。

(三) ND 血球凝集抑制試驗 (Hemagglutination-inhibition test)：以特異新城雞病抗血清進行微量血球凝集抑制試驗^[6]，首先以微量連續稀釋器將血清以 0.025 mL 生理鹽水進行二倍微量連續稀釋後，每一稀釋階段加入等量的 4 單位血球凝集力價之尿囊液，充份混合後靜置於室溫中感作 15 分鐘，再加入 0.025 mL 1 % 雞紅血球液，充份混合均勻，並靜置於室溫 30~60 分鐘後判讀，若紅血球沈降成日本國旗樣則判為 HI 陽性。

病原性試驗 (Pathogenicity tests)：

將分離之新城雞病病毒株進行雞胚胎、一日齡雞及 6 週齡雞接種以了解病毒之病原性^[6]。

(一) 蛋內接種平均致死時間 (Mean death time, MDT)：將 NDV 感染之尿囊液進行 10 倍階段稀釋後，各稀釋倍數取 0.1 mL 分別接種 5 個 9~10 日齡 SPF 雞胚胎尿囊腔內，接種之蛋置於 37 °C，每日照蛋二次，並記錄雞胚胎死亡時間，記錄至接種後第 5 日為止，最後計算造成雞胚胎 100 % 死亡最高稀釋倍數的平均死亡時間。

(二) 1 日齡雞腦內接種病原性指數 (Intracerebral pathogenicity index, ICPI)：將含病毒之尿囊液 10 倍稀釋後，接種於 10 隻 1 日齡 SPF 雞腦內，每隻接種 0.05 mL，接種後每日觀察並記錄每天出現症狀及斃死隻數，正常雞分數為 0，出現症狀雞分數為 1，死亡雞分數為 2，持續記錄 8 天，計算 8 日內每隻雞腦內接種的平均分數 (ICPI 值)。

(三) 6 週齡雞靜脈內接種病原性指數 (Intravenous pathogenicity index, IVPI)：新鮮的病毒尿囊液 10 倍稀釋，以靜脈內接種 10 隻 6 週齡 SPF 雞，每隻接種 0.1 mL，接種後每隔 24 小時觀察並記錄一次，正常雞記 0 分，生病雞記 1 分，出現神經症狀雞記 2 分，死亡雞記 3 分，連續觀察 10 日，計算 10 日內每隻雞的靜脈接種平均分數 (IVPI 值)。

結 果

12 個收集點 242 件樣本中，野生鳥類 91 例，鸚鵡類 17 例，鴿子 66 例，金絲雀 58 例，其他玩賞鳥類 10 例，僅有一例鸚鵡及一例鴿子分離得有血球凝集性之病毒株，結果列於表 1。病毒經電子顯微鏡觀察為副黏液病毒，經新城雞病抗血清血球凝集抑制試驗鑑定為新城雞病病毒。病毒分離株來源鸚鵡及鴿子之臨床病歷記錄為發病及死亡，病原經鑑定為強毒型新城雞病病毒，如表 2 所列。

表 1 1995 年 7 月至 1996 年 6 月由臺灣各地收集分離新城雞病病毒之
鳥類糞便拭子樣本數

收 集 點	樣 本 特 點	採樣數	野 鳥	鸚 鵡	鴿	金絲雀	其 他 玩賞鳥
動 物 醫 院*	傷 病 鳥	56	42	10**	1		3
鴿 子 醫 院	病 鴿	9			9		
南投金絲雀場(1)	不 正 常 糞 便	20				20	
鳳 凰 谷 鳥 園	檢 疫 觀 察 中 鳥	20	6	7			7
南投金絲雀場(2)	不 正 常 糞 便	38				38	
特有生物保育中心	急 救 後 收 容 鳥	34	33		1		
野 生 動 物 園	觀 賞 鴿 疾 病 死 亡	1			1**		
彰 化 種 鴿 (1)	正 常 飼 養 狀 態	7			7		
彰 化 種 鴿 (2)	正 常 飼 養 狀 態	10			10		
高 縣 賽 鴿	正 常 飼 養 狀 態	20			20		
宜 蘭 賽 鴿	正 常 飼 養 狀 態	17			17		
蘭 嶼 鳥 類 繫 放	眼 結 膜 紅 腫	10	10				
12 收 集 點		242	91	17	66	58	10

* 動物醫院兼野鳥救傷中心

** 新城雞病病毒分離其中一例陽性

表 2 分離得之新城雞病病毒之來源鳥臨床記錄及病毒之病原性

病毒株	鳥 種	分 離 試 材	臨 床 症 狀	解 剖 肉 眼 病 變	採 樣 日 期	病 原 性 鑑 定
G 1	觀 賞 鴿	腦 及 肝	無 食 慾、精 神 差、死 亡	腺 胃 及 肌 胃 交 界 處 輕 微 出 血、腸 道 出 血	1995/11/06	MDT = 67 ICPI = 1.85 IVPI = 2.18
A20	大 嘴 鸚 鵡	共 泄 腔 拭 子	精 神 不 佳、 下 痢、死 亡	未 進 行 剖 檢	1996/01/18	MDT = 65 ICPI = 1.75 IVPI = 2.36

討 論

本調查鳥類除了家禽以外，幾乎包括了臺灣現有的各種鳥類，雖然各收集點各有其樣本特點，但主要仍以病鳥為採樣重點，結果僅由一例鸚鵡及一例鴿子病例分離得新城雞病病毒。該二例鳥之臨床上皆發病及死亡，分離之病毒的病原性經鑑定且為強毒型，表示新城雞病在台灣雞場大流行之後，仍零落地發生在其他鳥類且造成病鳥嚴重地發病死亡現象。

本調查採樣除少數死亡病例全身剖檢、臟器採樣之外，其餘樣本皆為共泄腔拭子或新鮮糞便採樣，因鳥類體型小或飼養者不同意等因素，無法得到血清樣本進行抗體佐證之調查。雖然樣本儘可能保持新鮮，但因糞便樣本仍可能有病毒死亡而無法分離得，類似如此問題擬研究將來以聚合酶鏈反應方法來進行之或可提高陽性例之檢出。

在樣本收集期間，經由各採樣點人員接觸了解，在臺灣的雞場新城雞病爆發前後其他鳥類的相關疫情大致如下：

- (1)本調查樣本之傷病野鳥中臨床症狀疑似新城雞病如虛弱或神經症狀者約佔 21%，但結果並無新城雞病病毒分離得，因此推測這些傷病野鳥可能係飛行時撞擊所致。
- (2)樣本採集點之動物醫院於雞場新城雞病大流行期間鸚鵡門診病例異於往常增加，據推測可能有傳染性病因感染，而在雞場大流行過後之本調查採樣期間其病例數雖有稍減，但仍由本調查採樣之 10 例鸚鵡病例中之一例分離得強毒型新城雞病病毒，因此令人懷疑在雞場新城雞病發生時鸚鵡病例異常增加情形可能與罹患新城雞病有關。
- (3)鴿子之新城雞病在雞場大流行之同時於屏東、彰化等地區也有疫情發生（病原由本實驗室分離證實），且據鴿醫院之獸醫師研判病歷，可能在雞場大流行之前就已有鴿子新城雞病發生。而本調查所分離陽性之鴿子病例係臺南縣某野生動物園由臺中及臺南不同地區引入 300 隻鴿子做觀賞用，然引入 10 天即有 200 隻發病，其中 120 隻死亡。可見鴿子的疫情仍可能因不同地區鴿子的聚集、放飛等因素而造成疾病的發生。
- (4)本分離調查之 2 家金絲雀繁殖場在雞場新城雞病大流行前後，除了其中 1 家曾發生沙門氏桿菌而清場重新飼養之外，並無其他重要疫病發

生過，可見並未受波及新城雞病之感染。

- (5)動物園的鳥園方面，在雞場大流行之同時臺灣大學王金和教授自台北市立動物園領角鴉病例分離得新城雞病病毒^[1]，該病例之發生懷疑是園外飛鳥攜入園內所造成，但未經證實。病例發生後該園已進行全園鳥類之新城雞病疫苗接種，接種後並未有病例再發生。
- (6)繫放野鳥中，蘭嶼的蘭嶼角鴉因繫放員觀察其大多數鳥有眼睛紅腫的異常現象發生，遂進行採樣，但該批鳥之樣本分離結果為陰性，顯示應有其他問題。

本分離調查結果可以肯定 1995 年臺灣的新城雞病大流行之後除了雞以外，其他鳥類也有感染及流行的情形，但是從野生鳥類的分離結果來看，動物園以外的野鳥可能在本次新城雞病的發生所扮演的角色可能並非重要的傳播者，反而進口的鸚鵡及鴿子兩種鳥類應較受重視：就像 1971 年美國加州南部因輸入帶 ND 病毒的鸚鵡，鸚鵡逸出散播病毒而造成雞場的大流行^[12]，1981~1983 年間南歐的賽鴿發生新城雞病而導致賽鴿的帶原糞便汙染雞飼料引起雞隻發生強毒內臟型新城雞病的問題一樣^[4, 9]。鸚鵡並非臺灣原生種野生鳥類，尤其市面上販售的大型鸚鵡皆靠國外進口引入，但近年來時常於野外樹林間見其成群活動之蹤跡，所以鸚鵡不但進口時可能將病原帶入，當由籠中逸出或被飼主故意放飛時更有可能將病原傳播出去。本調查分離陽性的鸚鵡係由飼主自鳥店買回飼養幾日即發病後死亡，所以鳥店販售之鳥類為最可能之汙染及傳播之來源。另外臺灣賽鴿風氣盛行，進口種鴿也多，進口時有機會帶毒進來，比賽或訓練時也有可能將病毒散播出去，因此在日本曾因鴿子引發新城雞病的問題上擬出一套針對鴿子的新城雞病疫苗免疫計畫^[2]，反觀國內賽鴿者衆，也應擬定一套有效的防疫計畫，強制執行於鴿子，以幫助控制新城雞病。

誌謝 本計畫之進行承蒙行政院農業委員會之計畫經費之補助（85 科技-1.15-牧 20(5)），臺北市野鳥學會野鳥救傷中心、臺灣省特有生物保育中心野生動物救傷中心、臺灣省鳳凰谷鳥園、保安動物醫院、凡賽爾鴿院、南投縣家畜疾病防治所及中研院動物所蘭嶼角鴉繫放研究小組等單位之鼎力相助收集樣本，使計畫得以完成，謹致謝忱。

參考文獻

1. 王金和、余珍芳、曾正昌和高英泰。病例報告：領角鴉感染新城雞瘟。臺灣省畜牧獸醫學會會報 65(4) : 403 - 407, 1995
2. 雞病研究專門委員會。Newcastle disease virus infection of racing pigeons in Japan. 雞病研報 21 : 169 - 173, 1985
3. Abenes GB, Okazaki K, Fukushi H, Kida H, Honda E, Yagyu K, Tsuji M, Sato H, Ono E, Yanagawa R and Yamauchi N. Isolation of ortho- and paramyxoviruses from feral birds in Hokkaido, Japan-1980 and 1981. Jpn. J. Vet. Sci. 44 : 703 - 708, 1982
4. Alexander DJ. Antigenic and biological characterisation of avian paramyxovirus type 1 isolates from pigeons - an international collaborative study. Avian Path. 14 : 365 - 376, 1985
5. Alexander DJ. Avian paramyxoviruses. Vet. Bull. 50 : 737 - 752, 1980
6. Alexander DJ. Newcastle disease. In : A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens, 3rd ed. Purchase HG, Arp LH, Domermuth CH, and Pearson JE, eds. American Association of Avian Pathologists. Kennett Square, Pa, 114 - 120, 1989
7. Alexander DJ, Hinshaw VS, and Collins MS. Characterization of viruses from doves representing a new serotype of avian paramyxoviruses. Arch. Virol. 68 : 265 - 269, 1981
8. Alexander DJ, Spackman D, Allan WH, and Borland L. Isolation of Newcastle disease virus from a wild mallard duck (*Anas platyrhynchos*). Vet Rec. 105 : 328 - 329, 1979
9. Alexander DJ, Wilson GW, Thain JA, Lister SA. Avian paramyxovirus type 1 infection of racing pigeons : 3 epizootiological considerations. Vet. Rec. 115 : 213 - 216, 1984
10. Kida H, Honda E, Yanagawa R, Matsuura Y, Kawaoka Y, Takai S, Isogai E, and Ota C. Isolation and identification of paramyxoviruses from Japanese buntings (*Emberiza sspodocephala*) and ducks (*Anas crecca* and *Anas penelope*). Jpn. J. Vet. Sci. 44 : 317 - 323, 1982
11. Mustafa-Babjee A, Spradbrow PB, and Samuel JL. A pathogenic paramyxovirus from a budgerigar (*Melopsittacus undulatus*). Avian Dis. 18 : 226 - 230, 1974
12. Panigrahy B, Senne DA, Pearson JE, Mixson MA, and Cassidy DR. Occurrence of velogenic viscerotropic Newcastle disease in pet and exotic birds in 1991. Avian Dis. 37 : 254 - 258, 1993
13. Webster RG, Morita M, Pridgen C, and Tumova B. Ortho - and paramyxoviruses from migrating feral ducks : Characterization of a new group of influenza A viruses. J. Gen. Virol. 32 : 217 - 225, 1976

Isolation of newcastle disease viruses from wild and pet birds in Taiwan in 1995—1996

Cheng M. C.,* D. F. Lin., N. J. Li., P. P. Liou

Taiwan Animal Health Research Institute.

SUMMARY The goal of this investigation was to evidence the pet and wild birds infected or carried ND viruses after the Newcastle disease (ND) outbreak in chicken in Taiwan in 1995. Samples collected from animal hospital, canary breeder, bird's garden, wild birds emergency hospital, racing pigeons and pigeon breeder etc. 242 samples were gotten from fresh faeces, cloacal swabs or organs of dead birds. Bird specieses included wild birds 91, psittacines 17, pigeons 66, canaries 58 and other pet birds 10 samples. Each of the sample emulsion was inoculated into specific pathogen free chicken embryos to isolate viruses. Using hemagglutination test, electric microscopy and ND hemagglutination inhibitory test to identify NDV. Finally 2 NDV were isolated from one psittacine and one pigeon. Isolated viruses were velogenic viscerotropic Newcastle disease viruses identically.

Key words: *Wild birds , Pet birds , Newcastle disease , Paramyxovirus*

*Corresponding author
Taiwan Animal Health Research Institute. Taiwan, R. O. C.