

臺灣之鴨和鵝對新城雞瘟病毒之疫學 及其感染態度

I: 抗體調查、病毒分離和其性狀

楊 揚 輝

(臺灣省家畜衛生試驗所)

以臺灣之鴨和鵝為對象調查對新城雞瘟病毒 (Newcastle Disease Virus, NDV) 之污染情形，並探討 NDV 之分離和其性狀，結果自屏東、高雄、臺南、嘉義、雲林、彰化及宜蘭縣等之50養鴨場採集961例血清以及9養鵝場採集170例血清經調查抗體結果，HI 抗體價20倍以上之陽性例，鴨226例 (23.5%)，鵝62例 (36.5%)。而中和價1.0以上之陽性例，鴨175例 (18.4%)，鵝45例 (26.5%)。

又自14養鴨場和2養鵝場收集健康鴨350例及鵝90例，從口腔及共泄腔採材分離 NDV 結果均為陰性。

從健康和斃死鴨50例以及斃死鵝6例之臟器分離 NDV 結果，從鴨分離到16株，鵝2株共分離18株病毒。經分離之16株 NDV 以孵化雞蛋，對小鵝之病原性以及病毒之性狀等探討結果，可劃分為強毒型者1株，中間型者2株及弱毒型13株。

在臺灣所飼養的鴨和鵝之間證實相當廣大高力價保有ND抗體，並且自ND未發生地區之健康鴨也能分離到 NDV。由此證實鴨及鵝可採取不顯性感染且帶有弱毒型，中間型及強毒型等不同毒力之ND病毒，對本病之傳播，流行病學扮演重要的角色。

新城雞瘟 (Newcastle Disease, ND) 自Doyle⁽¹⁶⁾ 於1926年發現以來，在世界各地均有發生報告。尤其對鵝引起急性高率死亡為害甚大之傳染病。

NDV在自然界之分佈甚廣，有感受性的宿主甚多。除鵝、火鵝以外尚有水禽類^(1,2,3,7,11,13,28,29,32,33,34,35)，野鳥類^(2,9,10,13,17,18,19,22,25,38)，哺乳動物^(14,27,30,36,37)，人，^(15,23,31)，昆蟲類⁽¹⁴⁾等30餘種動物都有感受性及分離病毒之報告。

鴨、鵝對 NDV 之感染，其抵抗力較強，往往採取不顯性感染而被忽視。

ND在臺灣最初發生由星⁽⁴⁾ (1934) 所報告。1940年板垣⁽⁵⁾ 隨後也報告類似ND之發生。呂等⁽²⁾ 報告於1968年在嘉南地區 ND 大流行時從鳥類及水禽類分離到 NDV。且所分離者均屬強毒型。張⁽¹⁾ 亦於1971年在屏東地區收集成鴨血清做HI抗體調查結果，陽性率為14%，並自 ND發生地區之鴨隻從口腔及共泄腔分離病毒結果，分離率為3.3%，從臟器之分離率為7.1%。但對未發生 ND 地區却未能分離到NDV，其分離之 NDV 均係強毒型。

在國內外對有關鴨及鵝之 ND 欠具體資料又無實際之研究。本研究之目的係針對臺灣之鴨、鵝為對象全面調查ND抗體之分佈情形，進一步了解其污染程度，同時進行NDV 之分離並探討其病原性，俾查證對疫學上的意義。

註：本研究報告係筆者於1980年提出日本麻布大學之博士學位論文第一報。

材料及方法

1 : : NDV 毒株

1). 佐藤株：分讓自日本農林水產省家畜衛生試驗場，在本所經通過孵化鷄蛋 8 代，鷄 1 代再孵化鷄蛋 2 代之病毒供為試驗。本試驗中均使用同批之病毒，其病毒感染價為 $10^{9.0}$ EID₅₀/ml。

2). 石井株：分讓自日本農林水產省家畜衛生試驗場，經繼代孵化鷄蛋 2 代之病毒。本病毒之感染價為 $10^{8.8}$ EID₅₀/ml。

3). B1株：係分離自ND乾燥活毒疫苗 Batch 239 (B1株)，經通過 2 代孵化鷄蛋之病毒。本病毒之感染價為 $10^{9.6}$ EID₅₀/ml。

2 : 孵化鷄蛋及動物

1). 鷄蛋：隔離飼養 HI 抗體在 5 倍以下之來亨母鷄所產下之鷄蛋，經孵化至 7—10 日後使用。

2). 鴨：由養鴨中心分讓之產蛋用小公鷄，在本所隔離飼養至 4—5 週齡時使用 (ND, HI 價 5 倍或 5 倍以下)。

3). 鵝：購自民間養鵝場，於本所隔離飼養至 4—5 週齡時使用 (ND, HI 價 5 倍或 5 倍以下)。

4). 鷄：由民間養鷄場分讓之小公鷄，在本所隔離飼養至 4 週齡以內供為 CK 細胞培養用。分離病毒之病原性試驗，使用 1 日齡及 6 週齡鷄隻。試驗鷄係自隔離飼養之來亨鷄所產之種蛋經孵化後隔離飼養者。

3 : 血清

供試之鴨血清係自 1978 年 1 月至 4 月間從屏東、高雄、臺南、嘉義、雲林、彰化及宜蘭等縣之養鴨場，每縣採取 10 場，每場採 20 隻，總計 961 例。鵝血清於同一時期採取 170 例供試。試驗前血清經 56°C 30 分處理後保存於 -20°C 。

4 : 鷄腎 (CK) 細胞培養法

隔離飼養 4 週齡以內之健康小雞，採取腎臟後，以 0.25% Trypsin (Difco 製，1 : 250) 消化，收集消化細胞以 5% 牛血清加 Earle's 液洗滌 3 次，而調配成爲 0.6% (180 萬/ml) 於增殖用培養液中 (MEM + 5% 小牛血清，penicillin 200 μ /ml, Streptomycin 100 μ g/ml, Kanamycin 10 μ g/ml, 3% pH9.0 M/10 Tris-HCl) 分裝於小試管 0.5 ml 於 37°C 培養 72 小時。病材接種後之維持液係小牛血清減爲 1%，Tris-HCl 液爲 7—8%。

5 : 紅血球凝集抑制 (HI) 反應及中和試驗

1). HI 反應：依照日本農林水產省家畜衛生試驗場之方法行之⁽⁶⁾。HI 價 20 倍以上爲陽性。

2). 中和試驗：以血清稀釋法，即 2 倍階段稀釋之血清加等量之含有 200 TCID₅₀/0.1ml 之 NDV 石井株混合，於 37°C 感作 1 小時，後各稀釋液 0.1 ml 接種於 4 支之 CK 細胞加入維持液後在 37°C 迴轉培養 5—6 天測定中和力價。中和價以 1.0 以上爲陽性。

6 : 病毒之分離

從 HI 抗體較高之養鴨場，每場採取 20—25 隻分別從口腔及泄腔採集後放入 3 ml 之 Earle's 液中 (含牛血清 5%，penicillin 1000 μ /ml, streptomycin 500 μ g/ml, kanamycin 10 μ /ml) 放置室溫 2 小時浸出後經 3,000 rpm 20 分遠沈，採取上清，凍結 -75°C 後供試。

鴨從 350 隻 700 例，鵝 90 隻 180 例，各材料分別接種於 CK 細胞 4 支在 37°C 感作 2 小時後，除去接種材料，然後以培養液洗滌一次，並加入維持液，於 37°C 迴轉培養 5—6 天，材料全部通過 CK 細胞 2 代，如第 2 代而未產生 CPE 者認爲病毒分離陰性。在 CK 細胞產生 CPE 者再通過 10 日齡鷄蛋 2 代後檢討其 HA 性及對 NDV 陽性血清之中和能來判定是否 NDV。

NDV 之分離試驗從高雄、臺南、雲林、臺中及宜蘭等縣自 14 至 60 日齡包括 3 隻斃死共 50 隻鴨及

斃死鵝 6 隻之肺、肝、脾、腎及華氏囊做 NDV 之分離。各臟器單獨或混合後製備為 10 倍乳劑經 3,000 rpm 遠沈，採取上清各 0.1 ml 接種於 4 支之 CK 細胞，臟器混合乳劑接種於 8 支之 CK 細胞，於 37°C 迴轉培養 5—6 日，如有產生 CPE 之培養液再通過 10 日齡鵝蛋 3 代，其餘繼代 3 代而無 CPE 者為陰性。

7：分離病毒之性狀檢查

在 CK 細胞產生 CPE 再通過 10 日齡鵝蛋 3 代對鵝紅血球有凝集性之分離病毒以佐藤株及 B1 株為對照作各項試驗。

1). EID₅₀ 及 TCID₅₀ 之測定：EID₅₀ 之測定係病毒以 5% 牛血清加 Earle's 液做 10 倍階段稀釋後各稀釋液 0.1 ml 接種 5 個 10 日齡鵝胚之尿膜腔內觀察至第 6 天，如尚生存者經採取之尿膜腔液，如 HA 陽性者仍認為感染 NDV 然後以 Behrens-Karber⁽²⁴⁾ 之方法算出 50% 感染價 (EID₅₀)。

TCID₅₀ 之測定係病毒以 5% 牛血清加 Earle's 液做 10 倍階段稀釋後各稀釋液 0.1 ml 接種 4 支之 CK 細胞，在 37°C 迴轉培養 6 日，以 Behrens-Karber⁽²⁴⁾ 之方法算出其 TCID₅₀。

2). 平均致死時間 (MDT) 之測定：以 5% 牛血清加 Earle's 液做 10 倍階段稀釋，各取 10⁻¹，10⁻⁶，10⁻⁷，10⁻⁸，10⁻⁹ 等 5 階段稀釋液，各以 0.1 ml 分別於 8:00 及 16:00 接種於 10 日齡鵝蛋尿膜腔內各 5 個，下午所使用之病毒稀釋液係上午使用後凍結保存之同一稀釋病毒液。每天按時在 8:00 與 16:00 檢蛋並記錄斃死鵝胎數來測定最小致死量 (MLD)，同時算出平均致死時間 (MDT)。接種後至第 6 天尚生存之孵化蛋經以鵝紅血球檢查其凝集性，HA 陽性者認為感染 NDV。

3). 腦內竈種病原性指數 (ICPI) 之測定：各病毒以 5% 牛血清加 Earle's 液稀釋為 10 倍稀釋液，各以 0.05 ml 分別接種於 10 隻 1 日齡雛鵝腦內觀察 8 日，記錄其症狀與斃死隻數，求出各病毒對 1 日齡雛鵝之腦內接種病原性指數。

4). 靜脈內接種病原性指數 (IVPI) 之測定：各病毒以 5% 牛血清加 Earle's 液稀釋 10 倍稀釋液，各以 0.1 ml 分別接種於 8 隻之 6 週齡鵝隻靜脈內觀察 11 日，每天詳細記錄一般症狀，神經症狀及斃死之隻數而求出病毒對 6 週齡鵝隻靜脈內接種之病原性指數 (IVPI)。

5). 分離病毒之免疫試驗：使用隔離飼養之 6 週齡來亨公鵝，將各分離病毒以 5% 牛血清加 Earle's 液稀釋為 10 倍稀釋液，各接種 0.1 ml 於 2 隻鵝之肌肉內經 20 日後採血測定 HI 抗體之產生情形並以 1000 MLD 之 NDV 佐藤株攻擊之。

6). 分離病毒之同定試驗：HI 交叉試驗所使用之血清係利用取自分離病毒免疫試驗鵝隻，HI 抗體價在 80 倍以上之血清混合使用，標準毒血清使用佐藤株，宮寺株及石井株之家兔免疫血清為對照。

中和試驗用血清係使用佐藤株、宮寺株及石井株之家兔免疫血清，分離病毒以原液或以 5% 牛血清加 Earle's 液稀釋為 10⁻¹ 及 10⁻² 之病毒液加入等量之 5 倍稀釋之既知免疫血清，在 37°C 感作 1 小時後各稀釋液接種 4 支之 CK 細胞在 37°C 迴轉培養 6 日，每日觀察 CPE 之產生情形，供試病毒之 10⁻³ 稀釋液加入等量之 5% 牛血清加 Earle's 液在 37°C 感作 1 小時後同樣接種 4 支之 CK 細胞做為病毒對照。

結 果

1. ND 抗體調查

1). 鴨抗體調查：由屏東等 5 縣 50 養鴨場共採取 961 例血清作 HI 檢查結果如表 1。

Table 1. Survey of HI Antibody of Ducks in the Representative Prefecture.

Prefecture	No. of serum sample		HI antibody titer										No. of ¹⁾ positive (%)	GM
	No. of farm	birds	<5	5	10	20	40	80	160	320	640	1280		
Ping Tung	9	172	81	4	17	11	26	20	9	3	0	1	70 (40.7)	21.3
Kao Hsiung	10	209	144	27	18	8	8	1	1	1	1	0	20 (9.6)	5.0
Tai Nan	11	179	66	40	22	24	13	9	3	2	0	0	51 (28.5)	10.2
Yun Lin	10	188	120	10	16	12	10	12	3	3	2	0	42 (22.3)	11.4
I Lan	10	213	160	3	7	14	18	6	3	2	0	0	43 (20.2)	5.8
Total	50	961	571	84	80	69	57	48	19	11	3	1	226 (23.5)	10.74

1) : Titers showing higher than 20 are estimated as positive.

檢查961例中其 HI價在< 5—1280倍之範圍內，陽性者 266例 (23.5%)，陽性例中HI價在40倍者有75例 (33.2%) 為最多，次為20倍69例 (30.5%)，HI價在640倍或1280倍之高抗體者各為3例 (1.3%) 和1例 (0.4%)，10倍或以下者有 735例占檢查隻數之76.5%，縣別之陽性例以屏東縣之70例 (40.7%) 為最多 (P<0.05)，再者為臺南縣之51例 (28.5%)。HI價之幾何平均值最高為屏東縣之21.3倍，高雄縣之5倍為最低。

由50養鴨場之953例血清做中和抗體之檢查結果如表 2。

Table 2. Survey of Neutralizing Antibody of Ducks in the Representative Prefecture.

Prefecture	No. of serum sample		neutralizing antibody titer							No. of ¹⁾ positive (%)
	No. of farm	birds	<0.7	0.7-0.9	1.0-1.4	1.5-1.9	2.0-2.4	2.5-2.9	3.0-3.4	
Ping Tung	9	168	113	17	30	7	1	0	0	38 (22.6)
Kao Hsiung	10	209	190	2	13	4	0	0	0	17 (8.1)
Tai Nan	11	178	138	1	19	15	4	1	0	39 (21.9)
Yun Lin	10	186	142	3	23	11	5	1	1	41 (21.5)
I Lan	10	212	212	0	23	13	4	0	0	40 (18.9)
Total	50	953	755	23	108	50	14	2	1	175 (18.4)

1) : Titers showing higher than 1.0 are estimated as positive.

中和價之範圍為<0.7—3.4，1.0以上之陽性隻數為175例 (18.4%)。陽性例最多之中和價為1.0—1.4，有108例 (61.7%)，再者為1.5—1.9有5例 (28.6%)，屏東縣之168例中38例 (22.6%) 最高，高雄縣之209例中19例 (9.1%) 為最低 (P<0.01)。

2). 鵝抗體調查：由屏東等5縣9養鵝場共採取170例血清作HI抗體檢查結果如表3。HI價之範圍為< 5—640倍，20倍以上之陽性隻數為62隻 (36.5%)，陽性例之大部份為20—80倍。縣別之陽性例以嘉義縣54例中40例 (74.1%) 為最高，次為臺南縣19例中12例 (63.2%)。平均HI價為4.7—18。

Table 3. Survey of HI Antibody of Geese in the Representative Prefecture.

Prefecture	No. of serum sample		H I antibody titer									No. of ¹⁾ positive (%)	GM
	No. of farm	birds	<5	5	10	20	40	80	160	320	640		
Ping Tung	2	19	14	0	0	1	3	0	1	0	0	5 (26.3)	6.6
Rao Hsiung	2	39	24	7	4	2	2	0	0	0	0	4 (10.3)	4.7
Tai Nan	2	19	4	1	2	3	5	2	1	0	1	12 (63.2)	16.3
Chia I	1	54	9	3	2	21	11	8	0	0	0	40 (74.1)	18.0
Chang Hua	2	39	9	20	9	1	0	0	0	0	0	1 (0.3)	4.9
Total	9	170	60	31	17	28	21	10	2	0	1	62 (36.5)	

1) : Titers showing higher than 20 are estimated as positive.

由鵝血清所做之中和抗體調查結果如表 4。中和價 1.0 以上者，170 例中占 45 例 (26.5%)。中和價之陽性率以嘉義和臺南縣較高 (P<0.01)。

Table 4. Survey of Neutralizing Antibody of Geese in the Representative Prefecture.

Prefecture	No. of serum sample		neutralizing antibody titer					No. of ¹⁾ positive (%)
	No. of farm	birds	<0.7	0.7-0.9	1.0-1.4	1.5-1.9	2.0-2.4	
Ping Tung	2	19	15	0	3	1	0	4 (21.1)
Kao Hsiung	2	39	36	1	2	0	0	2 (5.1)
Tai Nan	2	19	9	1	5	3	1	9 (47.4)
Chia I	1	54	22	2	24	6	0	30 (55.6)
Chang Hua	2	39	39	0	0	0	0	0
Total	9	170	121	4	34	10	1	45 (26.5)

1) : Titers showing higher than 1.0 are estimated as positive.

2. 病毒分離

1). 由口腔及共泄腔行病毒分離：由抗體調查結果 HI 價高之 14 養鴨場 350 隻採集 700 例及 2 養鵝場 90 隻採集 180 例病材試行 NDV 之分離。結果從鵝分離 8 株，鵝 3 株共 11 株對 CK 細胞會產生 CPE 之病毒，這些病毒並無血球凝集性，對鵝胚亦無病原性又與 NDV 免疫血清也不中和，故該分離毒均非 NDV (均屬於 Avian Reovirus)。由上述成績顯示從口腔及共泄腔的棉棒擦拭樣品中未能分離到 NDV。

2). 臟器之病毒分離：健康鴨 47 隻，斃死鴨 3 隻及斃死鵝 6 隻共 56 隻之主要臟器即肺、肝、腎、脾及華氏囊製成乳劑或臟器混合為乳劑行分離 NDV，所得結果如表 5。從 50 隻鴨病材分離結果由臺南縣 5 例中分離 1 株，臺中縣 17 例中分離 13 株 (其中自 2 隻之腎和華氏囊分別分離) 及宜蘭縣 15 例中分離 2 株，共分離 16 株能產生 CPE 之病毒、6 隻斃死鵝分離到 2 株 NDV。以臟器別分類，從肺分離 1 株，肝 3 株，脾 2 株，腎 3 株及華氏囊 6 株，共分離到 15 株，混合乳劑分離 3 株。除同一個體之腎

Table 5. Isolation of ND Virus from Organs of Healthy and Ill Birds.

Species	Samples		Clinical signs	Range of H I antibody titers	Tissues					Designation of viral strains
	Pref. or city	Birds			1)		S.	K.	F.	
	Kao Hsiung pref.	2	Djed		0	0	0	0	0	
	Tai Nan pref.	5	None	<5-10					1	T-D3 ²⁾
	Yun Lin pref.	1	Died		0					
Duck	The city of Tai Chung	10	None	<5	0	0	0	0	0	TA-D2-S TA-D13-S TA-D4-Li TA-D14-K TA-D9-K TA-D15-K
	pref.	17	None	<5-40	1	2	2	3	5	TA-D9-F TA-D15-F TA-D10-F TA-D16-L TA-D11-F TC-D17-Li TA-D12-F
	I Lan pref.	15	None	<5					2	I-D3 I-D9
Goose	The city of Tai Chung	6	Died		0	1	0	0	1	TC-G2 ³⁾ -Li TC-G3-F

1) : L. : Lung Li. : Liver S. : Spleen

K. : Kidney F. : Bursa Fabricius

2) : No. of duck.

3) : No. of goose.

及華氏囊分別分離 2 例外，其餘僅自一個臟器所分離。分離最多的臟器為華氏囊 ($P < 0.05$)。供試鴨中臺中縣有 17 例係自 5 養鴨場所收集，該場鴨隻與少數雞隻混飼一起。

3. 分離病毒之性狀

對所分離之 16 株研討其病毒性狀，其成績如下列。

1). 分離病毒之病原性：成績如表 6 所示，供試株之 MDT 在 59—140 之間，對照之佐藤株為 49，

Table 6. Virulence of Isolated Viruses.

Viral strain	MDT ¹⁾	ICPI ²⁾	IVPI ³⁾	Type of virulence
TA-D2-S	129	0.02	0	Lentogenic type
TA-D4-Li	130	0.02	0.01	Lentogenic type
TA-D9-F	127	0.01	0	Lentogenic type
TA-D10-F	140	0.02	0	Lentogenic type
TA-D11-F	133	0	0	Lentogenic type
TA-D12-F	138	0	0	Lentogenic type
TA-D13-F	132	0	0	Lentogenic type

TA-D14-K	139	0	0	Lentogenic type
TA-D15-F	128	0	0	Lentogenic type
TA-D16-L	128	0.03	0	Lentogenic type
TC-D17-Li	123	0.4	0	Lentogenic type
T-D3	121	1.34	0.4	Mesogenic type
I-D3	109	0.42	0.3	Lentogenic type
I-D9	124	0.46	0	Lentogenic type
TC-G2-Li	119	1.5	0.85	Mesogenic type
TC-G3-F	559	1.9	1.95	Velogenic type
Sato	49	1.9	2.63	
B1	114	0.2	0	

1) : Average hours until death after inoculation into 10 days old chick embryo.

2) : Index of virulence in day old chick after intracerebral inoculation.

3) : Index of virulence in 6 weeks old chick after intravenous inoculation.

B1株爲114，大部份分離株之MDT都在100以上，100以下者僅TC-G3-F 1株。ICPI之範圍爲0—1.9，16株中0—0.46者有13株，1.3以上者有3株，對照之佐藤株爲1.9，B1株爲0.2，分離毒株中ICPI與佐藤株同值或近似者有T-D3株之1.34，TC-G2-Li株之1.5及TC-G3-F株之1.9。IVPI在供試株中12株呈0—0.01，而0.3—1.95者有4株，佐藤株爲2.63，B1株爲0，IVPI較高之毒株依次有TC-G3-F株之1.95，TC-G2-Li株之0.85，T-D3株之0.4及I-D3株之0.3。

由以上成績研判，分離株中只有TC-G3-F株之病原性近似佐藤株，應屬強毒型（Velogenic type）而T-D3株及TC-G2-Li株爲中間型（Mesogenic type），其他之分離株均接近B1株之病原性指數可歸類弱毒型（Lentogenic type）。

2). 分離病毒之感染價和HA性：供試株病毒價之測定係使用CK細胞及10日齡鷄胚以Behrens-Kärber⁽²⁴⁾之方法算出TCID₅₀及EID₅₀。分離株之TCID₅₀及EID₅₀分別有10^{7.5}—10^{8.7}/0.1ml，10^{8.2}—10^{8.8}/0.1ml。分離毒對鷄及哺乳動物紅血球之HA性，其成績如表7。對鷄紅血球之HA價，除二株在80倍外其餘供試株都在320—2,560倍。

Table 7. Hemagglutination of the Isolates using Red Blood Cells of Various Species of Animals.

Viral strain	Red blood cells					
	Chicken	Duck	Guinea-pig	Sheep	Horse	Cattle
TA-D2-S	640	640	160	320	80	160
TA-D4-Li	320	320	160	160	80	80
TA-D9-F	2560	2560	640	640	320	640
TA-D10-F	320	320	80	320	80	320
TA-D11-F	2560	2560	640	330	320	20

(50)

TA-D12-F	640	640	320	320	320	640
TA-D13-F	640	640	160	80	320	640
TA-D14-K	320	320	160	80	160	320
TA-D15-F	320	320	160	80	160	640
TA-D16-L	80	80	40	20	10	80
TC-D17-Li	1280	1280	320	20	320	20
T-D3	640	640	< 5	< 5	160	< 5
I-D3	320	320	< 5	< 5	40	< 5
I-D9	320	320	< 5	< 5	80	< 5
TC-G2-Li	640	320	< 5	< 5	80	< 5
TC-G3-F	80	80	< 5	< 5	< 5	< 5
Sato	160	160	< 5	< 5	< 5	< 5
B1	640	640	320	640	320	320

1) : H A titer.

對哺乳動物紅血球凝集性，各分離毒株間有所差異，如 T-D3, I-D3, I-D9, TC-G 2-Li及TC-G3-F等 5 株不凝集天竺鼠、羊及牛之紅血球。TC-G3-F 株對馬紅血球並無凝集性。

對照之佐藤株與 TC-G3-F 株同樣不凝集天竺鼠、羊、馬及牛紅血球，但 B1 株却會凝集所有供試哺乳動物之紅血球。

3). 分離病毒之理化學的性狀：探討分離毒經 56°C 加溫處理後是否會影響感染價結果如表 8。

Table 8. Effect of Heat on Infectivity and Hemagglutinating Activity.

Viral isolate	Infectivity ¹⁾		Hemagglutinating activity ²⁾				
	TCID ₅₀ befor heating	Time required for inactivation (min.)	Time of treatment (min.)				
			0	15	30	60	120
TA-D2-S	8.0	60	640	640	640	160	40
TA-D4-Li	8.0	120	320	320	160	80	40
TA-D9-F	8.5	120	2560	160	80	5	< 5
TA-D10-F	8.5	60	320	80	10	< 5	< 5
TA-D11-F	8.5	60	2560	< 5	< 5	< 5	< 5
TA-D12-F	8.0	120	640	5	< 5	< 5	< 5
TA-D13-F	8.0	> 120	640	320	160	40	< 5
TA-D14-K	8.2	60	320	640	320	20	< 5
TA-D15-F	8.6	120	320	320	80	20	< 5
TA-D16-L	8.7	120	80	160	80	40	< 5
TC-D17-Li	8.7	> 120	1280	< 5	< 5	< 5	< 5

T-D3	8.7	120	640	< 5	< 5	< 5	< 5
I-D3	8.5	> 120	320	< 5	< 5	< 5	< 5
I-D9	8.6	> 120	320	< 5	< 5	< 5	< 5
TC-G2-Li	8.5	> 120	640	< 5	< 5	< 5	< 5
TC-G3-F	8.5	120	80	< 5	< 5	< 5	< 5
Sato	7.5	> 120	160	40	< 5	< 5	< 5
B1	8.8	60	640	< 5	< 5	< 5	< 5

1): Heated at 56°C.

2): Heated at 60°C.

感染價經60分鐘處理而完全消失者有4株，120分鐘處理而消失者有7株，經120分鐘處理而感染價不受影響者有5株。再由加熱處理檢討對HA之耐熱性其成績如表8。在加熱前有80—2,560倍之HA價，經60°C 15分鐘處理後開始下降至5倍或5倍以下者8株，隨處理時間愈長HA價降至5倍以下者愈多，如60分鐘處理者有9株，120分鐘處理者有14株下降至5倍以下。對照使用之佐藤株以及B1株經處理15—30分鐘後下降至5倍以下。

分離病毒經化學藥品的處理後是否對感染價及HA性有所影響，經檢討結果，分離病毒和對照之佐藤株同樣對乙醚有感受性，又對酸(pH 3.0)有抵抗性。有關HA性經乙醚處理後其HA價上昇至2—16倍，HA價80倍之2株上昇至32倍。

4). 分離病毒之免疫原性：各分離毒株之病毒以Earl's液稀釋為10倍並以0.1 ml分別接種於2隻之6週齡鷄肌肉內至第20日採血檢查HI抗體之產生情形，繼以強毒攻擊檢討感染防禦能。結果HI抗體除分離之強毒TC-G3-F株外，其餘毒株在第20日測有5—640倍，同時以佐藤株攻擊結果，HI價在5倍或5倍以下之4例呈ND症狀而斃死。

又除TC-G3-F株外其餘HI價在10倍以上之鷄隻均能耐過強毒攻擊。

5). 分離毒之交叉HI反應：分離病毒TA-D13-S, T-D3及I-D9等3株經接種於6週齡鷄至第20日後之血清混合製備HI交叉反應血清，對照使用佐藤、宮寺及石井株之家兔免疫血清。所有分離毒對TA-D13-S, T-D3及I-D9等3株之免疫血清均呈80—320倍之HI價，對照之佐藤、宮寺及石井株免疫血清之HI價為80—640倍。由以上成績顯示對已知NDV 3株之免疫血清均能交叉。

6). 分離毒對已知ND免疫血清交叉中和試驗：各分離病毒之原液， 10^{-1} 及 10^{-2} 各稀釋液加入等量之已知NDV 3株5倍稀釋之免疫血清做中和試驗。對佐藤株免疫血清分離病毒有2株，對宮寺株免疫血清有8株，對石井株免疫血清有3株均對分離毒原液未能完全中和。但各免疫血清對各分離毒之 10^{-1} 及 10^{-2} 稀釋液均完全中和。對照病毒對各該株之免疫血清與原液會中和。

討 論

有關禽類對NDV之抗體分佈情形，對鷄研究甚多，但對其他鳥類則很少。關於鴨HI抗體分佈之報告並不多，野外抗體僅Spalatin and Hanson⁽³⁴⁾報告，據其調查於1974年結果陽性率為14%，松尾等⁽¹¹⁾對鴨為41%，張等⁽¹⁾為14%之報告。

1905年Klein and Mollers⁽²⁶⁾曾報告鵝對NDV有感受性，但至近年才有抗體調查報告。1958年page⁽²⁸⁾對野生鵝33例血清做中和抗體之調查結果中和價1.0以上者有19例(57.6%)，而Palmer and Trainer⁽²⁹⁾及Spalatin and Hanson⁽³⁴⁾對野生鵝之HI抗體調查結果分別有31.0%及17.0%之陽性率，對農場所飼養之鵝隻Spalatin and Hanson⁽³⁴⁾調查之陽性率為65.0%。

筆者在屏東等 5 縣 50 養鴨場採集 961 例鴨血清及 9 養鵝場採集 170 例鵝血清，從事調查 ND 抗體結果 HI 價 20 倍以上為陽性時鴨即 23.5%，鵝為 36.5%。而中和抗體，中和價 1.0 以上為陽性時鴨為 18.4%，鵝 26.5% 之陽性率。迄今為止所報告之 HI 抗體陽性率依研究者而多少有所差異，其因似受所調查鴨及鵝之採血調查時間，日齡，品種或該地區之鵝隻或其他各種鳥類之 ND 發生情形等各種條件所影響。依筆者之成績而言，依各縣之陽性率也有顯著之差異。因此無法遽以抗體陽性率判斷 ND 之流行情形，不過從其成績能瞭解在臺灣之鴨與鵝污染 NDV 甚為嚴重。

一般報告有從水禽類分離 NDV 之方法，大部份採用棉棒法從口腔及泄腔採材或直接從臟器分離病毒。

筆者從抗體價偏高之各飼養場所飼養之鴨及鵝，由口腔及泄腔採材試行分離 NDV，結果未能分離 NDV 成功。因此從臟器試圖分離病毒結果從鴨及鵝 56 例中之 16 例分離到 18 株之 NDV。從鴨臟器分離 NDV 包括斃死鴨及臨床上並無任何異常之健康鴨。由臺中縣之 17 例中分離到 13 株，其分離率高達 64.7%，而陽性鴨羣係來自 5 養鴨場並均與少數健康鷄混飼，在臨床上未見有任何症狀之健康鴨羣。分離 NDV 一見如健康之鴨羣，對 NDV 之感染途徑是否 NDV 直接侵入鴨羣或由鴨所傳播雖難以論定，但頗具意義。筆者之成績比張及康⁽³⁾在 ND 流行地區之分離率為高，顯示病毒廣域介於鴨羣之間。

NDV 病原性之型別試驗，由 Hanson and Brandly⁽²⁰⁾以 10 日齡孵化鷄蛋，1 日齡雛鷄及 6 週齡小鷄等接種病毒俾分類其病原性並分為三型。一般以各種方法所探討分類自野外所分離的病毒大部份均屬強毒型，偶而也能從無症狀感染例分離並且報告^(12,21)有些病毒適合供為活毒疫苗製造之弱毒株病毒。

由水禽類所分離之 NDV 屬於弱毒型者居多^(11,29,32,33,34)。

據 Spalatin and Hanson⁽³⁴⁾之報告由水禽類所分離之 NDV 雖為弱毒型，但屬於耐熱性型，此與從鷄分離之弱毒型性質有異。在臺灣呂等⁽²⁾及張及康⁽³⁾等報告從 ND 發生地區自鴨所分離之 NDV 證實均為強毒型。筆者從鴨及鵝臟器所分離 18 株中 16 株之 NDV 以佐藤株及 B1 株為對照研討其病原性，感染價，HA 價及其性狀結果，從鴨分離之 T-D 3 株為中間型，鵝所分離之 TC-G3-F 株為強毒型，同樣 TC-G3-Li 株為中間型，而其他之分離株均屬弱毒型。以前研究者在臺灣所分離之 NDV 均屬強毒型。筆者在本試驗中證實臺灣之鴨、鵝常保持中間型及弱毒型之 NDV。且本研究調查中所分離 18 株病毒中供試 16 株竟有 13 株歸屬弱毒型，應值得重視。因本次試驗中被分離病毒之鴨羣均無 ND 活毒疫苗之接種經歷，且同居鷄隻又無 ND 之發生，如清水等⁽⁸⁾報告曾述及他們從健康鷄所分離弱毒型之病毒（石井株）可能是由於強毒在該農場內自行弱毒化，或者由弱毒感染所致，一時無法論定。正因如此筆者之試驗例來說，被分離病毒之鴨並無出現臨床症狀，是否因當初所感染之強毒型病毒在鴨體內自行弱毒化，或因受自然界之弱毒株病毒所感染，這些事實也無法從考證。鴨及鵝體內竟然感染 NDV，而無臨床症狀之下保毒，在大規模養鴨及養鵝的臺灣，對本病毒之延續及傳播實擁有極大的角色。就因為鴨及鵝雖然感染病毒，但無法直接由臨床症狀來診斷而謀求防疫對策。又因病毒長期生存而構成其他鳥類之感染源並潛伏毒力增強之危機。因此，今後須致力如何排除不顯性感染鴨及鵝，俾能斷絕病毒之感染來源。

誌 謝

本研究論文之完成，承蒙農業發展委員會補助研究經費，並蒙日本麻布大學家畜微生物學教室教授田淵清博士之指導與鼓勵。論文之斧正復蒙田淵清教授及日本化學及血清療法研究所研究開發部次長山田進二博士懇切指導。

又本研究計劃進行中多蒙農發會劉永和博士之鼓勵，策劃，又蒙屏東、高雄、臺南、嘉義、宜蘭等縣防治所同仁，太元製藥公司王振弘總經理，聯華製藥公司蘇宗讓副總經理，大豐製藥公司黃寶藏

先生及本所同仁李金乾，林正陽，林正男等先生及姚韻琴小姐之鼎力相助得以完成。
謹此一併敬致謝忱。

參 考 文 獻

1. 張錫祺 (1971) : 土番鴨感染新城雞瘟病毒之研究。省立屏東農專畜獸會報。No. 40, 3—8。
2. 呂榮修、謝快樂、李永林、林再春、劉永和 (1972) : 在臺灣由各種禽類所分離新城雞瘟病毒之生物學的性狀之研究。臺灣省家畜衛生試驗所研究報告，第 9 期，97—106。
3. 張錫祺、康道春 (1972) : 野外新城雞瘟病毒之分離及其性狀之研究。省立屏東農專畜獸會報，No. 45, 1—11。
4. 星武 (1934) : 鶏疫に就て。臺灣の畜産，第 2 號。
5. 板垣啓三郎 (1940) : 臺灣の所調鶏ペストの研究。熱帯獸醫畜産學雜誌，1 : 36—45。
6. 農林省家畜衛生試驗場技術者集談會編 (1953) : 家畜傳染病診斷學。各論，242—243。
7. 川島秀雄、秋葉和溫、廣田英治 (1954) : ニューカッスル病發生地帯に飼養せられるアヒルの病毒に對する感染様相について。ウイルス，4 : 284—285。
8. 清水文康、川村齊、椿原彦吉 (1965) : 野外からのニューカッスル病ウイルス弱毒株の分離とその性狀。農林省家畜衛生試驗場研究報告，第 52 號，1—9。
9. 小西信一郎、高橋英治、青井義榮、隆石田一、佐藤昭夫、中川志郎、田代和治、増井光子、田邊與紀 (1967) : 動物園に飼養される鳥類のニューカッスル病について。日本獸醫學雜誌，29 (學會號)，49。
10. 橋本和典、金子史郎、大野英夫、小林鋼司、前田稔、喜多英治 (1969) : ウズラ (Coturnix Coturnix Japonica) に發生したニューカッスル病について。農林省家畜衛生試驗場研究報告，第 58 號，7—14。
11. 松尾和夫、福田輝俊、上川慎一、香川伸彦、佐藤伊佐夫、山田進二 (1977) : アヒルの鶏病病原體の浸潤。第 83 回日本獸醫學會講演要旨，137。
12. Asplin, F. D. (1952) : Immunization against newcastle disease with a virus of low virulence (strain F) and observation on subclinical infection in partially resistant fowls. Vet. Res. 64 : 245—249.
13. Blaxland, J. D. (1954) : Newcastle disease in shags and cormorants and its significance as a factor in the spread of this disease among domestic poultry. Vet. Res. 63 : 731—733.
14. Boiin, F. M. (1948) : Isolation of newcastle disease virus from feces of the domestic cat and the common chicken louse. Proc. 48th Ann. Meet. Soc. Am. Bact. P. 43.
15. Burnet, F. M. (1943) : Human infection with the virus of newcastle disease of fowls. M. J. Australia. 2 : 313—314.
16. Doyle, T. M. (1927) : A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter-passing virus. J. Comp. Pathol. 40 : 144—169.
17. Fenstermacher, R., B. S. Pomeroy and W. A. Malmquist. (1946) : Newcastle disease in Minnesota. Proc., 50th Ann. Mtg. U. S. Livestok. Aanit. Ass. 151—152.
18. Friend, M. and D. O. Trainer. (1970) : Serologic evidence of newcastle disease in captive mallards and swans. J. Wildl. Dis. 6 : 130—135.
19. Gustafson, D. P. and H. E. Moses. (1953) : The English sparrow as a natural carrier

- of newcastle disease virus. *Am. J. Vet. Res.* 14 : 581—585.
20. Hanson, R. P. and C. A. Brandly. (1952) : Identification of vaccine strain of newcastle disease virus. *Science.* 122 : 156—157.
 21. Hitchner, S. B. and E. P. Johnson. (1948) : A virus of low virulence for immunizing fowl against newcastle disease (Avian pneumoencephalitis). *Vet. Res.* 43 : 525—530.
 22. Ingalls, W. L., R. W. Vesper and A. Mahoney. (1951) : Isolation of newcastle disease virus from the great horned owl. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 119 : 71.
 23. Jocotot, H., A. Vallee and A. Le Priot. (1950) : Un cas de conjonctivite humaine a virus de newcastle (peste aviaire) contractee au laboratorier. (Human conjunctivitis caused by laboratory infection with the virus of newcastle disease). *Bull. Acad. Med. Paris.* 134 : 106—108.
 24. Karber, G. (1931) : Beitrag zur kolliktiven Behandlung Pharmakologischer Reihenversuche. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 162 : 480—483.
 25. Keymer, I. F. (1961) : Newcastle disease in the jackdaw (*Corvus modon*). *Vet. Res.* 73 : 119—122.
 26. Klein, F. K. and B. Mollers. (1905) : Ueber Hühnerpest bei Ganser (On fowl pest in geese). *Zbl. F. Bact. Orig.* I 39 : 545—549.
 27. Malik, B. S., A. Bhatnagar and N. D. Verman. (1969) : A preliminary report of the isolation of lentogenic strain of newcastle disease virus (CDF 66) from a pig. *Brit. Vet. J.* 125 : 26—28.
 28. Page, C. A. (1958) : Antibody response of the Canada goose to the newcastle disease. *Avian Diseases.* 2 : 365—369.
 29. Palmer, S. F. and D. O. Trainer. (1970) : Serologic evidence of newcastle disease virus in Canada geese. *Avian Disease.* 14 : 494—502.
 30. Piraino, F. P. and R. P. Hanson. (1960) : An in vitro method for the identification of strain of newcastle disease virus. *Am. J. Vet. Res.* 21 : 125—127.
 31. Quinn, R. W., R. P. Hanson, J. W. Brown and C. A. Brandly. (1952) : Newcastle disease virus in man. Clinical and virus isolation studies in 3 cases. *J. Lab. Clin. Med.* 40 : 736—743.
 32. Rosenberger, J. K. and W. C. Krauss. (1974) : Isolation of newcastle disease and type-A influenza virus from migratory waterfowl in the atlantic flyway. *Avian Disease.* 18 : 610—613.
 33. Rosenberger, J. K., S. Klopp and W. C. Krauss. (1974) : Characterization of newcastle disease viruses isolated from migratory waterfowl in the atlantic flyway. *Avian Disease.* 19 : 142—149.
 34. Spalatin, J. and R. P. Hanson. (1974) : Epizootiology of newcastle disease in waterfowl. *Avian Disease.* 19 : 573—582.
 35. Telinska, M., A. Cakalawa and W. Karczewski. (1956) : Nasicielstwo Sieuistwo Wirusa Tzekomego Pomoru Drobia u Gesi (Geese as carrier of newcastle disease). *Med. Vet. Varsovie.* 12 : 21—24.
 36. Walker, R. V. L., P. D. McKercher and G. L. Banniset. (1954) : Studies in newcastle disease. X. The baen rat as a carrier of infection. *Canada J. Comp. Med. Vet. Sci.*

18 : 433—435.

37. Yates, V. J., Dorothy B. Fry and B. W. Handerson. (1952) : Isolation of newcastle disease virus from a calf. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 120 : 149—150.
38. Zuijdam, D. M. (1952) : Isolation of newcastle disease virus from the Osprey and parakeet. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 122 : 88—89.

Incidence and Mode of the Infection of Newcastle Disease Virus in Ducks and Geese in Taiwan

I. Serological survey, virus isolation and virus
pathogenicity of the isolates.

Y. H. Yang

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

English Summary

The spread of N D virus infection among duck and goose, the epidemiological significance of the isolated virus were studied :

1). Serological survey : 961 duck sera collected from 50 farms, 226 cases (23.5%) showed H I titer higher than 1 : 20 and 33.2% (76/226) had the highest H I value 1 : 40. Of 953 samples tested for the neutralizing antibody, 175 cases (18.4%) showed titer higher than 1.0. In geese, 36.5% (62/170) showed H I titer higher than 1 : 20 and it ranged from 1 : 20 to 1 : 80 in most of the positive sera. In neutralizing test 26.5% (45/170) showed titer higher than 1.0.

2). Isolation of the virus : N D virus was not isolated at all of oral and cloacal swabs from 350 ducks and 90 geese. Another attempt was made to isolated the N D virus from 47 healthy and three dead ducks and from six dead geese. One virus strain isolated from the lung, three from the liver, two from the spleen, three from the kidney and six from the bursa of fabricius, three from mixed suspensions of the several tissues. Among those thirteen strains were isolated from 17 specimen collected from ducks raising with a few chicks.

3). Characterization of the virus : The experimental results indicated that the isolates included one strain of velogenic type and two of mesogenic type, the remainings were belonged to lentogenic type. The maximum virus titers of the isolates were $10^{8.2}$ - $10^{8.8}$ EID₅₀/0.1 ml and $10^{7.5}$ - $10^{8.7}$ TCID₅₀/0.1 ml, and H I titer ranged from 1 : 80 to 1 : 2560. of these strains, eight were inactivated within 15 minutes, nine were within 60 minutes, 14 were within 120 minutes. In inoculation tests all the tested chickens survived until 20 days after IM inoculation. They produced H I antibody ranged 1 : 10—1 : 640. Only one strain of the velogenic type killed the birds on fifth day post inoculation.

The results indicated that the ducks and geese play an important role as a reservoir of N D virus in nature.