

# 在臺灣分離之 Avian Reovirus 性狀之研究

呂榮修、謝快樂、黃智明、李永林

(臺灣省家畜衛生試驗所)

劉 永 和

(中國農村復興委員會)

## 一、緒 言

1966年8月在新莊某雞場所飼養之2週齡雛雞帶有嚴重之 Cloacal pasting 之病雛，首次以雞胚胎分離一種病毒，爾後在全省各地類似上述病例及病性鑑定材料，以雞腎細胞亦分離30株病毒。筆者等確認該病毒已廣泛浸潤全省各地雞場，以直接或間接參與疾病之增惡。

引起雞腎細胞 CPE 而無血球凝集性之弱毒病毒，有 Fahey (1954) Kawamura<sup>6)</sup> Deshmukh<sup>1)</sup> 等報告之 Avian Reovirus。

Avian Reovirus 被發掘歷史雖淺，但其生物學、物理化學，免疫血清學的性狀由 Kawamura<sup>6)</sup> Desamukh<sup>4-4)</sup> 等有詳盡之報告，尤其 Kawamura<sup>7)</sup> 以中和試驗分類77株分離毒為五種血清型。

對 Avian Reovirus 之分子生物學研究有小出等<sup>12, 13)</sup> 之業績，本研究以在臺灣首次分離自 Cloacal pasting 病雛及各病性鑑定材料之病毒，經生物學的性狀，物理化學性狀、形態學及免疫學性狀而判明為 Avian Reovirus。茲將所得成績報告如下。

## 二、材料及方法

病毒之分離及使用病毒：病性鑑定病雞臟器以7% Tris-HCl YLE (Earle's solution 中含有0.5% Lactalbumin hydrolysate 及0.1% Yeastolate 並加 Penicillin 100u/ml. dihydrostreptomycin 100mg/ml. 50u/ml 之 mycostatin) 以乳鉢磨成5~10倍之乳劑，直腸內容以7% Tris-HCl YLE 製成懸濁液放置 -20°C 凍結一夜後，次日取出 3000 rpm 遠心20分鐘之上清液接種於雞腎臟 (CK) 細胞，在 37°C 培養7日每日觀察有無 CPE 之出現，所有分離病毒以 Plaque picking method 純化之。

對照病毒使用由日本家畜衛生試驗場分讓之五株血清型原型株之 Avian Reovirus，即 Uchida (CK-10) . TS-17 (CK-9) . CS-108 (CK-7) . TS-142 (CK-9) . OS-161 (CK-9) 。

其他尚使用該場分讓之 Adeno virus Ote strain (CK-10). Newcastle disease Virus (NDV) Isii strain (CK-8) . Infectious Laryngotracheitis Virus (ILTV) NS-175 (CK-42) 。本所保存之 Infectious Bronchitis Virus (IBV) ，樹林株 (CK-4) ，臺北株 (CK-4) ，石牌株 (CK-3) 。

細菌混合感染使用 Escherichia coli 嘉義株。

雞腎臟 (CK) 細胞培養法：以川村<sup>9)</sup> 等方法，即1~3個月齡之雞腎組織製備消化細胞，發育細胞培養液含有95% YLE 和 5% 牛血清，細胞懸濁液即  $2 \times 10^6$  cells/ml，培養 5.0ml 於培養皿 (直徑5.5cm) 中，在 37°C 高濕孵卵器內培養，在第3日換液後次日可供為接種。

病毒滴定：以川村<sup>9)</sup>之 Plaque method 進行。

病毒核酸間接證明法：5-Iodo-2-deoxyuridine ( IUDR ) 100mg 溶解於 200ml 之 7 % Tris-HCl YLE, 以 millipore filter 濾過後做 stock solution, 此液再以 7 % Tris-HCl YLE 稀釋 10 倍使成爲 50 $\gamma$ /ml。由該液將病毒稀釋 10 倍後取 0.4ml 接種於 CK 細胞, 於 37°C 吸着 1 小時, 然後以 3ml 之培養液洗滌細胞 3 次後, 即加 5ml 之 50 $\gamma$ IUDR/ml YLE 培養, 由各經過時間從兩面之平皿各取 0.5ml 之液體後, 再加同液 0.5ml 繼續培養, 採取後之液體立即 3,000rpm 遠心 5 分鐘取其上清液保存於 -20°C, 以 CK 細胞測定其成績。

電子顯微鏡像：感染細胞培養液用 0.1% Trypsin 在 37°C 處理 1 小時, 並以 3,000rpm 遠心 5 分鐘, 約 750ml 之上清液通過 DEAE cellulose, 然後用含有 0.15M NaCl-0.01M Tris buffer solution (PH7.2) 2,000ml 來洗滌吸收有病毒之 DEAE cellulose, 吸着病毒再由含有 0.4M NaCl 之相同緩衝液 100ml 洗滌出來, 然後此洗滌液用蒸餾水透折再以 Carbowax-4,000 濃縮成 10ml, 以 PH6.8 之 2% Phosphotungstic acid 處理以 Hitachi HU IIA type 之電子顯微鏡下觀察。

免疫血清之製備：感染細胞液或 CAM 乳劑經濃縮精製後加 Al(OH)<sub>3</sub> 接種於豬鼠蹠皮內 0.5ml, 於 1 個月後再以感染培養液 10ml 接種於腹腔內, 最後注射 14 日後放血, 以同方法亦製備正常細胞培養液或正常 CAM 乳劑抗血清爲對照用。

交叉中和試驗：用 Virus 稀釋法, Virus 之 10 倍稀釋列加等量之抗血清, 於冰室感作一夜後, 接種於 CK 細胞俟 3 ~ 4 小時後, 使病毒吸着, 然後重層第 1 寒天培地, 解於 37°C 第 3 日後再重層第 2 寒天培地, 2 日後測定 Plaque 數, 與其對照之比爲中和價。

### 三、成 績

#### (1) 鷄腎臟細胞之病毒感染

筆者等分離之所有毒株經接種於鷄腎臟細胞, 均能於 24 小時後呈雄大之融合性 CPE, (如圖 3.4) 然後隨時間從玻璃面脫落, 巨大之變性細胞即浮游於液相中, 其 CPE 與 NDV 之 CPE 曾無法辨認。

Virus 感染價雖以各代表株而有所異, 約爲 10<sup>6.0</sup>~10<sup>7.36</sup> PFU/ml。如加 0.1% 之 Trypsin 於 37°C 感作 1 小時, 即增加至 40~50 倍感染價。

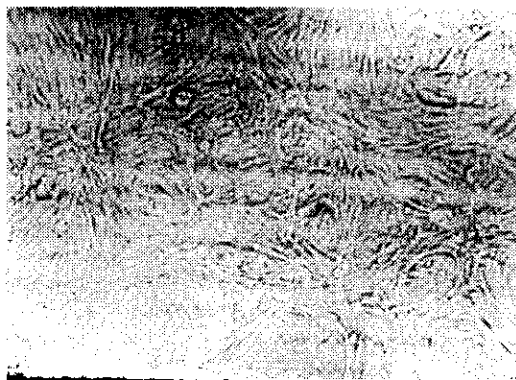


Fig. 1. Normal CK cells unstained

×50

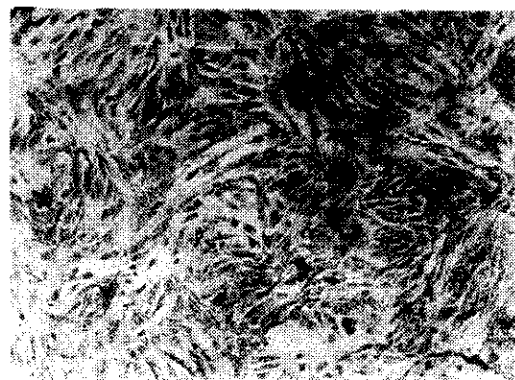


Fig. 2 Normal CK cells Giemsa

stained ×200

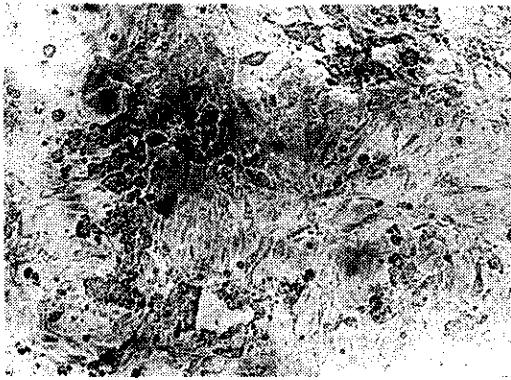


Fig. 3 Hsin-Den strain unstained  
×50

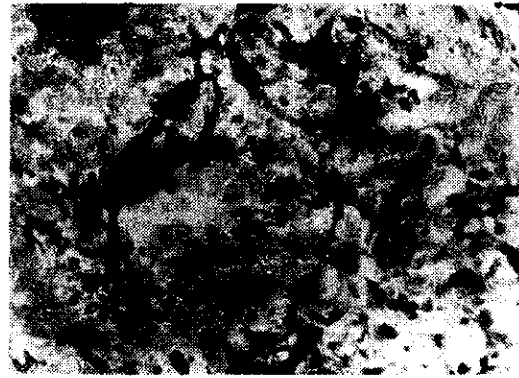


Fig. 4 70-03-07 Strain Giemsa  
stained×50 Twenty-four  
hours after inoculation



Fig 5 Plaque of Le-Kao Strain on the monolayer  
of CK cell cultures

Plaque 之形成於病毒接種後 3~4 日即出現，至 8~9 日其直徑約為 1~5.0mm (如圖 5)。

變性細胞以 May Grünwald Giemsa 染色，細胞質內有封入體，封入體之出現普通病毒接種後第 12 小時，多見於癒合體之中央在核圍集之周圍，常呈顆粒狀鹽基性封入體。

#### (2) 對發育雞蛋之病原性

分離 Virus 經接種於尿腔內，於 3~13 日之經過胎兒即斃死，如接種於尿膜上即形成膜肥厚並呈鮮明之 Pock，感染胎兒之所見呈出血或矮小，腳趾彎曲與 Avian Encephalomyelitis Virus 之胎兒變化甚為相似。肝臟呈白色壞死點並帶濃綠色，一般接種於 CAM 於 4~7 日即斃死。

#### (3) 病毒之物理化學性狀

a. 雞血球凝集能：所有分離毒株均對雞血球並無凝集性。

b. 對 20% Ethyl ether, 0.1% Sodium desoxycholate, 0.25% Trypsin 之抵抗力，其成績如表 1，即分離毒代表株利高對 20% Ethyl ether 0.1% SDC 0.25% Trypsin 均有抵抗力，對照使用之 Avian adeno virus 亦得類似結果，ILT.V 即對 Ethyl ether, 0.1% SDC, 0.25% Trypsin 均有感受性，IBV 亦對 Ethyl ether, SDC 有感受性，對 Trypsin 即有抵抗力。

c. 分離毒對熱及 PH 3.0 之穩定性，分離代表毒利高株對 50°C 30 分及 PH3.0 均有抵抗力，其成績列如表 2 所示。

(4) 分離毒之核酸證明：用 5-iodo-2-deoxyuridine (IUDR)，間接證明病毒中核酸其成績如表 3。

TABLE 1 Stabilities of Le-Kao strain to ether, sodium desoxycholate, and trypsin

Virus	20% Ethyl ether	0.1% SDC	0.25% Trypsin
Le-Kao	0.10	0.30	- 1.53
Uchida a	0.20	0	- 1.30
Taipei b	3.92	≥ 4.40	- 0.18
Otec c	0.30	- 0.20	0
NS-175 d	≥ 4.56	≥ 3.56	4.26

a: Avian Reovirus

b: IBV

c: Avian Adenovirus

d: ILTV

The figure indicates the log-PFU of inactivated virus.

TABLE 2 Stabilities of Le-Kao strain to heat and PH 3.0

Virus	50°C, 30'	PH 3.0
Le-Kao	0.26	- 1.0
Shu-Lin (Hsih) a	1.18	3.44
Shih-Pai b	4.46	NT
Ishii c	NT	8.95

a, b: IBV

c: NDV

NT: No test

The figures indicates the log-PFU of inactivated virus.

TABLE 3 Effect of 5-iodo-deoxyuridine (IUDR) on multiplication of prototype strains in CK cell cultures

Prototype strains	IUDR	Inoculum	Hours after inoculation		
			3	24	48
Le-Kao	{ +	6.2	4.5	5.8	6.5
	{ -	5.9	4.8	6.0	6.6
Uchida*	{ +	6.0	4.8	5.8	6.8
	{ -	5.8	4.7	5.9	6.4
Isii **	{ +	5.9	4.2	8.7	8.7
	{ -	6.3	4.4	8.6	8.5
Ote ***	{ +	8.3	3.64	3.18	3.93
	{ -	8.27	3.65	5.63	8.90

\*: Avian Reovirus

\*\*: NDV

\*\*\*: Avian adenovirus

The figure indicates the log-PFU/ml

由表所悉，分離毒利高 (Le-kae) 株與 RNA 病毒之 Isii strain (NDV)，同樣不受 IUDR 之影響，對照之 Avian adeno virus (DNA 病毒)，即受 IUDR 之影響，因此可想利高株之構成核酸為 RNA。

#### (5) 病毒之形態學所見

感染細胞培養液 0.1% Trypsin 處理後，再以 DEAE cellulose 吸着，解離之精製病毒，以 Phosphotungstic acid 陰性染色。經電子顯微鏡所檢查之利高株，如圖 8 所示，呈正 20 面體構造表面有孔之 Capsomere，且有核蕊 (Core) 和一個 Capsid，有時可看到核蕊 (Core) 中空或無蛋白殼 (Capsid) 者 (如圖 6)。

#### (6) 血清學試驗

Kawamura 所分類 5 種原型株血清型，對筆者分離之 30 株毒株以中和試驗歸納其分類成績如表 4。

TABLE 4 Classification of Taiwan isolates by neutralization tests according to five serotypes described by Kawamura

Prototype strain	Number of isolates	percentage
Uchida	11	36.66%
TS-17	7	23.33%
CS-108	5	16.66%
OS-161	5	16.66%
T -142	2	6.66%
Total	30	100%

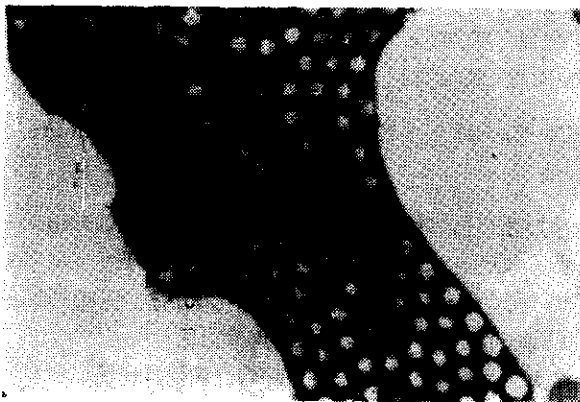


Fig. 6 Stained negatively with Phosphotungstic acid  $\times 80000$ , Morphology of Le-Kao Strain

## 四、討 論

1966年8月，在新莊某鷄場有嚴重帶有 Cloacal Pasting 之病雞，首次以鷄胚胎尿腔內接種分離一種病毒，爾後在全省各地，類似上述病例及病性鑑定材料，以鷄腎細胞亦分離 30 株病毒。

筆者等確認這些病毒，已廣泛浸潤全省各地鷄場，以直接或間接參與疾病之增惡。

本研究意欲究明分離毒之生物學性狀、物理化學性狀、形態學所見、免疫血清學性狀，而鑑定屬

於何種病毒之外，分離毒之起病性亦列為研討要項。

從鷄分離弱毒之報告頗多，如 Avian Reovirus 由 Fahey (1954) 發掘以來，有 Kawamura<sup>6,7)</sup>，Deshmukh<sup>1-4)</sup>，小出<sup>12,13)</sup> 等不少業績。

筆者所分離毒株均能對 CK 細胞引起雄大之融合性 CPE 變性細胞隨時間即自玻璃面脫落。NDV 在 CK 細胞亦能呈融合性 CPE 與分離毒間無法辨認，惟分離毒之 CPE 較為雄壯。由 Avian Adeno Virus 所引起之 CPE 為 Round type<sup>5)</sup>，即能見細胞質先空胞化後，至末期一個一個細胞變圓形，故與筆者等分離之病毒有異。

分離毒對 CK 細胞之感染價有  $10^{6.0} \sim 10^{7.36}$  PFU/ml，如加 0.1% 之 Trypsin 在 37°C 感作 1 小時即增加至 40~50 倍。

Plaque 之形成於病毒接種後 3~4 日出現，至 8~9 日其大約 1~5.0mm。

病毒接種後第 12 小時，在變性細胞原形質內即出現封入體，多見於癒合體之中央在核圍集之周圍。ILTV 及 Adeno Virus 均在核內形成封入體與分離毒迥然有異。

Avian Reo virus 對 CAM 能增殖，且呈白色肥厚擴散狀或針頭大之孤立 Pock，由 Kawamura<sup>6)</sup> 及 Deshmukh<sup>3)</sup> 所指摘，筆者等所分離之所有毒株均能形成雄厚之 Pock。對尿腔內及蛋黃內接種，以川村報告病毒均能增殖，且會引起胎兒死亡，但 Deshmukh<sup>3)</sup> 報告，尿腔內及蛋黃內病毒無法增殖，筆者以尿腔內接種曾能分離病毒，此能證明病毒在尿腔內增殖且能繼代，與川村<sup>6,10)</sup> 等成績相符。CAM 接種除 CAM 有顯著變化之外，胎兒變矮小，肝臟呈灰白壞死點濃綠色變化與川村<sup>6)</sup>，Deshmukh<sup>3)</sup> 之成績一致。唯筆者尚發現感染胎兒之腳趾彎曲，其病變與 Avian Encephalomyelitis Virus 之感染病變極相似。

分離毒之物理化學性狀，即對鷄紅血球並無凝集現象，對 20% Ethyl ether, 0.1% Sodium desoxycholate, 0.25% Trypsin 50°C 30 分加熱，PH3.0 均有抵抗性。

分離毒代表株利高株以 IUDR 間接證明其構成核酸為 RNA。分離毒之電子顯微鏡像，以感染細胞培養液以 0.1% Trypsin 處理後，再以 DEAE cellulose 吸着，解離之精製病毒，以 Phosphotungstic acid 陰性染色，其形呈正 20 面體，表面有孔之 capsomere 且有核蕊 (Core) 及 1 個 Capsid，病毒粒子有時 Core 中空，或無 Capsid 者，其大約 70~85 $\mu$ 。與 Kawamura<sup>6)</sup> 之成績一致。

Kawamura<sup>7)</sup> 以中和試驗，從 77 株分離毒分為五種原型株之血清型。筆者向 Kawamura 撥讓五種原型株與筆者等所分離之 30 株歸納其分類，即歸納 Uchida 原型株者 11 株 (36.66%)，TS-17 型者 7 株 (23.33%)，CS-108 型者 5 株 (16.66%)，TS-142 型者 2 株 (6.66%)，OS-161 型者 5 株 (16.66%)。筆者分離株屬 Uchida 原型株者較多，尚未發現未被歸類之原型株。

由以上之生物學的性狀，物理化學性狀，形態學所見，免疫血清學性狀而論，筆者等所分離之 30 株病毒屬於 Kawamura 所記載之 Avian Reovirus<sup>6,7)</sup>。

Avian Reovirus 之病原性，川村<sup>8)</sup> 對 1 個月齡小鷄以靜脈，經口接種 Uchida 株及 TS-17 株，結果在靜脈內接種時，僅認有脾之變化外其餘臨床症狀殆無出現。

Deshmukh<sup>3)</sup> 在無菌之情況下，以口投病毒於 1 日齡小鷄，並不引起 Cloacal pasting，雖然在隔離之情況下想使小鷄再生 cloacal Pasting 是成功了，但並不 Consistent。

再接種 1 日齡之火鷄，臨床並無發現任何臨床症狀。植(1)等以 Avian Reovirus 與 Mycopl-

asma gallisepticum 之混合感染亦認與單獨感染並無顯著差異。

筆者以分離代表株新店之野外病雞氣管 5 倍乳劑口投與 3 週齡小雞 0.1ml，亦無發現臨床上著變。

再以新店  $10^{6.3}$ PFU/ml，利高  $10^{7.0}$  PFU/ml 嘉義  $10^{6.6}$  PFU/ml 之感染細胞培養液，單獨口投感染或氣管感染，雖有極少數雞引起 Cloacal pasting，但並非絕對每次成功。以上病原性試驗，僅做一次嘗試，以後對病原性試驗將作詳細研討。

Avian Reovirus 在野外竟然直接或間接對雞，尤其對雛雞引起嚴重病害，其感染時之病毒態度，雞方之條件 stress 之影響，移行抗體或抗體之消失時機，與他種病原相配合之適當時間，或介蛋感染等問題將是今後課題。

## 五、結 論

1. 1966年帶有 cloacal pasting 斃死率甚高之病雞臟器首次以雞胚胎分離一種病毒，爾後在全省各地以類似病例及病性鑑定400例中以雞腎細胞陸續分離30株病毒。

2. 分離毒對雞腎細胞引起雄大之癒合性 CPE，單層細胞經接種病毒後第 6~9日形成1.0~5.0mm 之 plaque。分離毒對雞腎細胞之感染價有  $10^{6.0}$ ~ $10^{7.39}$  PFU/ml，以 May Grünward Giemsa stain 變性細胞之細胞質內可形成顆粒狀鹽基性封入體。如加0.1% Trypsin 於 37°C 1小時，即增加40~50倍感染價。

3. 分離毒接種於尿腔內及尿膜上均能增殖，並殺死雞胚胎；CAM 接種時，膜呈白色肥厚形成擴散性 Pock 感染胎兒肝色澤呈濃綠色且有灰白斑紋之壞死灶，且一般胎兒矮小，趾端屈彎為一大特徵。

4. 分離毒對雞紅血球並無凝集性，且對20% Ethyl ether 0.1% Sodium Desoxycholate 0.25% Trypsin, 50°C 30分加熱 PH3.0 約有抵抗力。

5. 分離毒之構成核酸為 RNA。

6. 電子顯微鏡像形呈正20面體，表面有孔之 Capsomere 其大約 70~80m $\mu$  粒子包含 1 個 Core 和 1 個 Capsid 有時 Core 中空或無 Capsid 者。

7. 分離之30株均可歸納 Kawamura 所分類之五種血清型，即屬 Prototype strain Uchida者11株 (36.66%)，TS-17者7株 (23.33%)，CS-108者5株 (16.66%)，TS-142者2株 (6.66%)，OS-161者5株 (16.66%)。

8. 由以上生物學性狀、物理化學、形態特性、免疫血清學性狀，分離毒均鑑定為 Avian Reovirus。

## 誌 謝

本研究承蒙國家科學委員會補助研究補助費，又承農復會李秘書長崇道博士，本所所長陳守仕林課長再春之鼓勵與指導，日本農林省家畜衛生試驗場椿原彥吉博士、川村齊博士之懇切指導又撥贈毒株及電子顯微鏡之拍照，於茲敬致謝忱。

本論文要旨曾於民國58年12月臺灣省畜牧獸醫學年會上提出報告。

## REFERENCES

1. Deshmukh, D.R., and B. S. Pomeroy, Avian reoviruses. I. Isolation and serological characterization. Avian Dis. 13: 239-243, 1969.

2. Ditto, II. Physiochemical characterization and classification. Avian Dis. 13: 243-251, 1969.
3. Ditto, III. Infectivity and egg transmission. Avian Dis. 13: 427-439, 1969.
4. Deshmukh, D.R., H.I. Sayed, and B.S. Pomeroy, Avian Reoviruses. IV. Relationship to human reoviruses. Avian Dis. 13 : 16-22, 1969.
5. Kawamura H., F. Shimizu, and H. Tsubahara. Avian adenovirus. Its properties and serological classification. Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. 4 : 185-195, 1965.
6. Kawamura, H., F. Shimizu, M. Maeda, and H. Tsubahara. Avian reovirus. Its properties and serological classification. IBID 5 : 115-124, 1965.
7. Kawamura, H., and H. Tsubahara. Common antigenicity of avian reoviruses. Bull. Nat. Inst. Animal Hlth. Quart. Vol.6, No. 4: 187-193, 1966.
8. 川村齊：鶏レオウイルス；農林省家畜衛生試験場年報。39—45，1967。
9. 川村齊：ウイルス分離法，堀内貞二，川村齊，關令二編鶏病圖説401~409，1968。
10. 川村齊：レオウイルス、平戸勝七編，獸醫微生物學683~687，1968。
11. 握隆，野野村勳，佐藤靜夫，小林廣幸，勝屋茂實，林部まつの；トリのレオウイルスと *Mycoplasma gallisepticum* との混合感染について。農林省家畜衛生試験場水曜會記事，第19卷第1號2，1970。
12. 小出英興，關口喜一，兒玉治；トリレオウイルス蛋白質の性狀とその生成について，農林省家畜衛生試験場水曜會記事，第18卷第9號，4,1969。
13. 小出英興，關口喜一；二本鎖RNA ウイルスの増殖機構について，農林省家畜衛生試験場水曜會記事，第18卷，第12號，3,1969。

## Studies on the Avian Reovirus Isolated in Taiwan

By Y. S. Lu, K. L. Shieh, C. M. Huang, Y. L. Lee

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

Y. H. Liu

Joint commission on rural reconstruction

### English Summary

Since August 1966, the authors have firstly isolated a virus from a chick with cloacal pasting symptom by means of allantoic cavity inoculation of chicken embryo at Hsin-Juang. And then the authors isolated about 30 strains from cases with the same symptoms got from all over the island by means of chicken kidney tissue cultures. So the authors think that these viruses were widely distributing in many poultry farms of this country and directly or indirectly influence the hygiene of the farms.

The purposes of these studies were to identify the biological, physicochemical, morphological, and immunological properties of the isolates, and to clarify their pathogenicity. Now the results were summarized as follows:

1. In 1966, the authors firstly isolated a virus from chicks with cloacal pasting symptom and high mortality by means of allantoic cavity inoculation of chicken embryos. And then from the cases with the same clinical symptoms and the 400 cases diagnosed here,



the authors isolated 30 isolates by means of CK tissue culture.

2. On the CK cell cultures, the isolates could cause syncytial type of CPE and form plaques sized 1.0--5.0 mm in 6-9 days postinoculation. The virus titer in CK cell cultures was  $10^{6.0}$ -- $10^{7.36}$  PFU/ml. After staining with May Grunwald Giemsa stain, the basophilic cytoplasmic inclusion bodies were observed in the infected CK cell cultures. The infectivity of the isolates could be highly enhanced (about 40-50 times) after one hour's treatment with 0.1% trypsin at 37°C incubator.

3. The isolates proliferated and caused the chicken embryos to die both by allantoic cavity inoculation or by CAM inoculation. Swelling and diffuse type of pocks on the CAM, dark green liver or whitish-gray necrosis on the liver of infected embryos, and curled toes of the embryos were noted when the chicken embryos were inoculated with the isolates by the CAM route.

4. The isolates did not agglutinate RBC of chickens, but showed resistance to 20% ethyl ether, 0.1% sodium desoxycholate, 0.25% trypsin, 30 minute's treatment at 50°C, and treatment in PH3.0 buffer solution.

5. The nucleic acid of the isolates were RNA.

6. The electron micrograph of the isolates showed the virus consisted of a core and a capsid and sized 70-80 m $\mu$ . Sometimes coreless forms were noted. The capsid of the viruses was observed to have a hexagonal shape and composed of hollow capsomeres.

7. The 30 strains isolated here were closely similar to the five serotypes classified by Kawamura. There were 11 strains (36.66%) belonged to prototype strain Uchida, 7 strains (23.33%) to strain TS-17, 5 strains (16.66%) to strain CS-108, 5 strains (16.66%) to strain OS-161, and 2 strains (6.66%) to strain TS-142.

8. According to the above observation of biological, physicochemical, morphological, and immunological properties, all isolates were identified as Avian Reovirus.