

# 新城雞瘟死毒疫苗之免疫性

## 第一報：母雞 HI 抗體對於新城雞瘟在雞胚胎增殖之影響

林再春 周懋森 楊揚輝 楊火松

(臺灣省家畜衛生試驗所)

### 一、緒 言

近年來由於新城雞瘟弱毒株逐漸被學者們繼代及馴化所成，故歐美等有些國家會利用減毒毒株製成活毒性疫苗，而在野外實際應用，所得免疫效力甚為理想，惟該項活毒性疫苗對雞之安全性及免疫性仍須加以研討，故有的國家仍繼續研究或使用不活化(1)(2)(3)疫苗作為新城雞瘟防疫之用。

目前本省使用之新城雞瘟死毒疫苗乃由筆者(林)仿照日本生物科學研究所中村氏膠狀氫氧化鋁吸着法(1)(4)(5)(6)之研製成功該疫苗由於效力卓著，十數年來一直作為本省新城雞瘟防疫之用，惟自民國五十三年起所製之疫苗，其效力時有覆檢情事，乃引起筆者等之注意，先就其製造材料蛋進行檢討，結果得知供製造用之雞胚胎經新城雞瘟病毒接種後發現雞胎之斃死時間確有延長情形，甚者於接種後96時向有多數活存，這些雞卵係採自曾經1~2次新城雞瘟活毒疫苗之接種且其血清含有相當高之HI抗體之母雞所產者。

關於母雞之HI抗體可移行至所產之蛋中或繼續保留於雞體內一段時期之情形，過去曾有許多報告，同時蛋黃中之HI價與母雞血清之價略同之事實亦被證明，且10例中之10例均可移行(7)，因此嗣後本所乃選用HI價在40倍以下之母雞所生之蛋供為製造疫苗之用，迄今已製十數批結果其效力經檢定後甚為理想。除檢討試驗材料蛋外，並進行種毒之檢討等試驗以保持該項疫苗之優良效力。茲謹將母雞HI抗體對於新城雞瘟病毒接種後，病毒在其雞胚胎內增殖之影響情形，經屢次試驗所得成績報告於後，敬請諸先進惠賜指正。

### 二、試 驗 材 料

1. 毒株：北市株34代尿液乾燥保存毒，對10日發育雞胎之毒力為  $ELD_{50}^{10^{-3}}/0.2ml$ 。
2. 供試卵：大部份係本所自產材料雞蛋曾受死毒或活毒疫苗注射1次或2次以上，少部份由本所附近之民間雞場供應，均依其試驗目的先行測定其母雞血清HI價後選擇採蛋，且依其HI價分別做記號解蛋供試。
3. 雞：依試驗目的之不同而選定HI價不同之母雞所生蛋，自行孵化者。

### 三、試 驗 方 法

#### 1. 新城雞瘟病毒接種雞胎斃死時間觀察：

雞胎接種病毒後24小時內斃死者廢棄不計算成績，同時將活存者每組任意選3個做一記號以便測定其HA價，嗣後每隔6小時檢卵一次並以檢卵當時之時間做為雞胎之斃死時間，如有斃死卵即檢出分別記錄並保存於0~5°C之冰箱，至接種後96小時如尚有活存者一併取出採其尿液及胎兒供測定HA價之用。

#### 2. 紅血球凝集(HA)價測定：

檢卵至96小時後將供試卵分別以注射器抽出尿液再破開採取胎兒，除去其頭、翼、腳後加入0.5%

( 2 )

Lactalbumin Hank 氏液或生理食鹽水作成 5 倍組織乳劑再以 2,500R.P.M. 离心分離 10 分鐘，取其上清液供試。然後將上述所採尿液及胎兒乳劑上清液按一般 HA 反應式測定其凝集價。

### 3. 紅血球凝集阻止 (HI) 價測定。

材料雞蛋及試驗雞之選定，其採蛋母雞必先採取血清測定 HI 價，至於卵之抗體移行證明時則使用卵黃，按一般術式實施 HI 反應。

### 4. 血清中和價測定：

將供試雞血清以等量與稀釋之病毒（病毒之致死毒力須事先測定），混合後置於 37°C 感作 2 小時，再將其混合感作液接種於 10 日發育雞胎，觀察其斃死情形，而求出血清中和力價（中和對數）。

## 四、試驗結果

### 1. HI 價高低之影響：

#### (1) 雞胎斃死時間

依母雞血清 HI 價高低分爲三組試驗，高例組 5 例之母雞 HI 抗體價爲  $\times 2,560$ ，中例組 2 例母雞 HI 抗體價爲  $\times 160 - \times 320$ ，低例組（即供疫苗製造用）母雞 HI 抗體價爲  $\times 40$  以下者，由上述不同 HI 抗體價之母雞所產之卵孵化 14 日之胚胎，以新城雞瘟病毒北市株  $\times 1000.2\text{ml}$  接種於尿囊腔內觀察其斃死時間之長短。

經試驗結果 HI 價高例組（ $\times 2560$ ）之 #7, #51, #58, #77, #79，等母雞所得 5 例胚胎大部份於接種後 54~90 小時內死亡，但有 4 個雞胎（即佔供試卵數之約 4）則於 96 小時檢卵時尚活存著。母雞個體別平均斃死時間爲 72~96 小時以上，全羣平均爲 82 小時以上。中例組（ $\times 160 - \times 320$ ）之 #18, #24, #55 及 #80 等之 4 例母雞個體別平均斃死時間爲 54~69 小時，全羣平均爲 62 小時，至低例組即供製材料例組（ $\times 40$  以下）者均於 48 小時內全部斃死，其詳細成績如表 1。

#### (2) 胎兒及尿液之 HA 價：

將上述雞胎於入孵前先作記號，以便分別採取尿液及胎兒測定其 HA 價，經試驗結果，高、中、低例組之尿液 HA 價，除高例之 #51 甚低（ $< \times 40$ ）外，其餘均  $\times 320$  以上，高者達  $\times 1,280$ 。反之，胎兒 HA 價高例組均在  $\times 10$  以下。中例組爲  $\times 40 \sim \times 320$ ，而與尿液之 HA 價則有顯著之差異，至於低例組（ $\times 40$  以下即供製材料）尿液及胎兒之 HA 價均甚高爲  $\times 1,280 \sim \times 2,560$ ，兩者間大部份均相同而無明顯之差異。其詳細成績如表 1。

### 2. 卵齡之影響：

#### (1) 雞胎斃死時間

將 HI 價高例組（ $\times 2560$ ）之 #51, #53, #58, #61, #77 及中例組之 #83, #18, #84 等母雞及低例組即供疫苗製造材料雞羣（ $\times 40$  以下）採卵分別入孵至 8, 11, 14 日於同一時間接種新城雞瘟病毒（北市株  $\times 1000.2\text{ml}$ ，尿囊腔）以觀察其斃死時間。

由試驗成績得知雞胎日齡之增加其斃死時間亦隨着延長，尤其母雞 HI 價愈高之胚胎愈爲明顯，其平均斃死時間高例組（ $\times 2,500$ ）之 8 日齡僅約 32 小時，11 日齡爲約 56 小時，14 日齡最長，平均爲 86 小時或以上，即於 96 小時檢卵時尚有活存者。中例組（ $\times 160 - \times 320$ ）之平均斃死時間 8 日齡爲 32 時，11 日齡 40 小時，14 日齡爲 65 小時且無活存者。至於低例組即  $\times 40$  以下之供製疫苗材料雞胎，雖其斃死時間亦隨着日齡之增加而稍有延長，但其 14 日齡者則均於 48 小時內斃死，而 8 及 11 日齡者均分別於 30 及 36 小時內斃死。故母雞 HI 價之高低與接種雞胎之斃死時間在 8 日齡間者相差無幾，11 日齡間高例組之斃死時間較長，14 日齡間則更有顯著之差異，即  $\times 40$  以下組者均在 48 小時內死亡，中例組長者延至 90 小時以內，高例組最長，甚至 96 小時尚有未斃死者。其詳細成績如表 2。

#### (2) 胎兒及尿液之 HA 價

將上述各例供試雞胎 8, 11 及 14 日齡各任意選 1~4 個採尿液及胎兒（先做成乳劑）分別測定其 HA

價結果，一般的HI價愈高無論其尿液或胎兒之HA價亦均隨着而降低，尤其14日齡胎兒更為明顯，但 $\times 40$ 以下之低例組其尿液與胎兒間無論8，11及14日齡間均無顯著之差異，均在 $\times 1,280$ 以上，詳細成績如表2。

### 3. HI 抗體之移行與其消長：

將選定之HI價 $\times 2,560$ 母雞1例， $\times 1,280$ 母雞2例及 $\times 640$ 母雞2例，並以 $\times 40$ 以下之供製疫苗材料雞羣10例作為對照分別採卵，任意抽出數個檢查其卵黃之HI價結果，5例中均能全部移行，且其HI價與母雞血清者相差無幾，並將部份卵孵化雛雞分別於1日齡，1、2、3、4、5及6週齡檢查其HI價結果，證明各例均能移行至雛雞，並觀察其消長情形，得知抗體隨其雛齡而逐漸降低，惟至4週齡時最低尚能保持 $\times 10$ 以上，而高者有達 $\times 160$ ，至5、6週齡時降至 $\times 10$ 或更低。反之， $\times 40$ 以下之對照羣則消失甚速，於孵化後1~2週以內即差不多完全消失，詳細成績如圖1所示。

### 4. HI 價與中和價之比較：

為明瞭本所自產供製造疫苗採卵雞（53年）之HI價之分佈情形並探究其對新城雞瘟病毒之增殖關係，選擇HI價不同且較高之雞隻採卵作上述試驗並由外採購 $\times 40$ 以下者為製造疫苗之材料蛋兼作為試驗之對照。本所自產之活毒疫苗免疫母雞羣29隻，經採血作HI抗體調查結果， $\times 10,240$ 者2隻（佔6.9%）， $\times 5,120$ 者1隻（佔3.4%）， $\times 2,560$ 者11隻（佔37.9%）， $\times 1,280$ 者及 $\times 640$ 者各3隻（各佔10.4%）， $\times 320$ 及 $\times 160$ 者各2隻（各佔6.9%）， $\times 80$ 者3隻（佔10.4%）最低之 $\times 20$ 者僅2隻（佔6.9%）即HI價 $\times 1,280$ 以上雞隻佔58.6%， $\times 20$ — $\times 640$ 者佔41.6%， $\times 10$ 以下者0%。由此觀之，本所該年供製造疫苗之材料卵其HI價高者佔大多數，致不無影響其疫苗之免疫效力。

## 五、討 論

由本次試驗成績得知母雞HI抗體似乎每例均能全部移行至其所產之卵黃且其HI價與母雞血清者相差甚微，又HI抗體較高母雞所產之卵，其孵化14日齡卵經新城雞瘟病毒接種後得知HI抗體愈高其雞胎斃死時間則愈長，尤其HI價 $\times 2,560$ 或以上之例者甚至96小時最後一次檢卵時尚有活存之雞胎，且其個數佔供試卵數之約 $\frac{1}{4}$ 之多，同時HI價愈高其胎兒或尿液之HA價愈低。又接種卵齡增加其斃死時間亦有延長之趨勢，尤其HI價較高者更為明顯，且其胎兒或尿液之HA價亦隨卵齡之增加而降低，而以胎兒較為明顯，甚至於 $\times 10$ 尚屬陰性。惟HI價 $\times 40$ 以下之對照羣雖其卵齡為14日之高，但經新城病毒接種後雞胎之斃死時間均在48小時以內，且尿液與胎兒之HA價亦均為甚高達 $\times 1,280$ 以上，此方屬疫苗製造之可靠材料。

換言之，HI價愈高且孵化卵齡愈長則愈影響新城病毒在雞胚胎之增殖。本所之肌肉注射用死毒疫苗之製造係採用胎兒為材料，故更需考慮其採卵雞血清之HI抗體。供製疫苗之材料卵如無法購到不含HI抗體或較低之母雞所產者，雖似可將其接種卵齡提早至8日，但此不但不可靠且其製造量大為減少而勢必提高生產成本，實非良策矣。

又母雞之血清HI抗體能全例移行至其雛雞，且隨其雛齡之增加而逐漸消失，4週齡時尚能保持 $\times 10$ 以上，5~6週齡時即完全消失，故雛雞之疫苗接種時期似值得吾人慎重考慮。

## 六、結 論

為探究母雞之血清中HI抗體對新城雞瘟病毒在孵化雞胎增殖之影響及其對所產雞卵及雛雞之抗體移行等情形，以及其HI抗體價與中和價之比較等，經試驗結果得到下列結論：

1. 孵化14日齡雞胎以新城雞瘟病毒接種觀察其斃死時間結果，母雞HI $\times 2560$ 組在72~96小時以上之間，平均為82小時以上，甚至於96小時檢卵時尚有活存且佔供試卵數之約 $\frac{1}{4}$ 。 $\times 160$ — $\times 320$ 組在54~60小時，平均為62小時。反之， $\times 40$ 以下者於48小時以內全部斃死。由此觀之，母雞HI抗體愈高其接種雞胎之斃死時間則愈長。
2. 孵化14日卵無論HI價高或低其尿液之HA價均高，且兩者間無甚差異。反之，雞胎兒之HA價則隨其HI價之增高而降低而HI價 $\times 40$ 以下者無論尿液或雞胎兒之HA價均為甚高達 $\times 2,560$ 且兩者間似無差異。

3. 新城鳥痘病毒接種卵齡增加，其斃死時間亦有延長之趨勢，尤其HI價 $\times 2,560$ 以上者之14日齡者更爲明顯，甚至96小時檢卵其鰾胎尚在活存且其個數佔供試卵數之約 $\frac{1}{3}$ ，至HI價 $< 40$ 以下者雖卵齡之增加亦稍有延長斃死時間，但14日齡卵均能於48小時以內全部斃死。
4. 母鵝HI價愈高，其14日齡者胎兒之HA價隨着明顯降低，8日齡及11日齡之胎兒雖亦稍有此種現象，但尿液間則似無明顯之差異，仍然具有相當高之HA價。
5. 將母鵝血清之HI價 $\times 2,560$ 者1例， $\times 1,280$ 及 $\times 640$ 者各2例，共5例經測定其卵黃之HI價結果均能全體移行，且其HI價與母鵝血清者相差無幾。至母鵝HI抗體移行於雛鵝之程度亦甚明顯，雛鵝中之移行抗體隨雛齡之增加而逐漸消失，部份雛鵝至4週齡時尚保持 $\times 10 \sim \times 160$ 之HI價，直至4~6週齡時由母移行之HI抗體始完全消失。
6. 供試各例血清其HI價愈高而中和對數亦愈高，例如HI價 $\times 10$ 例者其中和對數爲2.9，而 $\times 5,120$ 例者則體高達6.82

註：本試驗成績摘要已於53年臺灣省畜牧獸醫學會年會宣讀。

本試驗承蒙前任黃所長及現任王所長之指導及校閱以及日籍專家椿原彥吉博士在技術上之懇切指導謹此一併誌謝。

表 1. HI價高低之影響—鵝胎斃死時間與尿液及胎兒之HA價

試驗組別	母鵝號碼	H I 價	斃死時間		供檢卵	H A 價		
			卵	個 別		尿 液	胎 兒	
高例組	#7	$\times 2,560$	(活) <sup>1</sup>	(活) <sup>2</sup>	1	$\times 640$	$\times 10$	
					2	$\times 1,280$	$\times 10$	
	#51	"	90 <sup>1</sup>	(活) <sup>2</sup>	1	$\times 1,280$	$\times 10$	
					2	$< \times 40$	$\times 10$	
	#58	"	90 <sup>1</sup>		1	$\times 640$	$\times 10$	
					1	$\times 640$	$\times 10$	
	#77	"	72 <sup>1</sup>	84 <sup>2</sup>	(活) <sup>3</sup>	1	$\times 640$	$\times 10$
			78	78		2	$\times 1,280$	$\times 10$
					3	$\times 1,280$	$\times 10$	
#79	"	57 <sup>1</sup>	72 <sup>2</sup>	90 <sup>3</sup>	1	$\times 640$	$\times 10$	
					2	$\times 320$	$\times 10$	
					3	$\times 1,280$	$\times 10$	
中例組	#55	$\times 320$	66 <sup>1</sup>	72 <sup>2</sup>	1	$\times 640$	$\times 40$	
					2	$\times 640$	$\times 40$	
	#80	"	42 <sup>1</sup>	54 <sup>2</sup>	66 <sup>3</sup>	1	$\times 1,280$	$\times 320$
						2	$\times 1,280$	$\times 320$
#18	$\times 160$	60 <sup>1</sup>			3	$\times 640$	$\times 640$	
					1	$\times 1,280$	$\times 160$	
低例組	疫苗製造卵	$\leq \times 40$	由48小時斃死者任意抽出		1	$\times 1,280$	$\times 160$	
						$\times 2,560$	$\times 2,560$	
					$\times 2,560$	$\times 2,560$		
					$\times 1,280$	$\times 1,280$		
					$\times 1,280$	$\times 1,280$		

註：1. 使用14日齡卵接種北市株 $\times 100, 0.2\text{ml}$  尿液，CAV。

2. ○右上方之數字爲選定測定HA價。

3. 其他與表I同。

表 2. 卵齡之影響一鷄胎死時間與尿液及胎兒之HA價

試驗組別	母雞號碼	H I 價	發 死 時 間				H				A				價	
			8 日 齡		11 日 齡		14 日 齡		尿		液		胎		兒	
			8 日 齡	11 日 齡	14 日 齡	平 均	8 日 齡	11 日 齡	14 日 齡	8 日 齡	11 日 齡	14 日 齡	8 日 齡	11 日 齡	14 日 齡	8 日 齡
高	#51	×2,560	30	54	66	69	×1,280	×640	×640	×640	×160	×160	×160	×160	×160	×160
	#53	"	36	66	96	×2,560	×5,120	×640	×640	×320	×640	×640	×640	×640	×640	×640
例	#58	"	30	45	78	×1,280	×640	×640	×640	×160	×80	×80	×80	×80	×80	×80
組	#61	"	36	51	96	×5,120	×5,120	×40	×40	×80	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280
	#77	"	30	66	84	×1,280	×2,560	×40	×40	×10	×160	×160	×160	×160	×160	×160
中	#83	×320	30	40	69	×5,120	×5,120	×640	×640	×320	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280
例	#18	×160	30	33	48	×1,280	×640	×640	×640	×320	×160	×160	×160	×160	×160	×160
低	#84	"	36	48	78	×2,560	×2,560	×1,280	×1,280	×640	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280
例	疫苗製造卵	≤×40	平均30小時	平均36小時	≤48小時	×5,120	×5,120	×2,560	×2,560	×2,560	×2,560	×2,560	×2,560	×2,560	×2,560	×2,560
組						×2,560	×2,560	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280	×1,280

註：1. 接種病毒為新城雞瘟強毒北市株，×100, 0.2ml 尿囊內。

2. ○表示鷄胎，其粗而數字代表死時數(活)表示96小時檢卵尚活存者，其上方√為選定供HA測定卵。

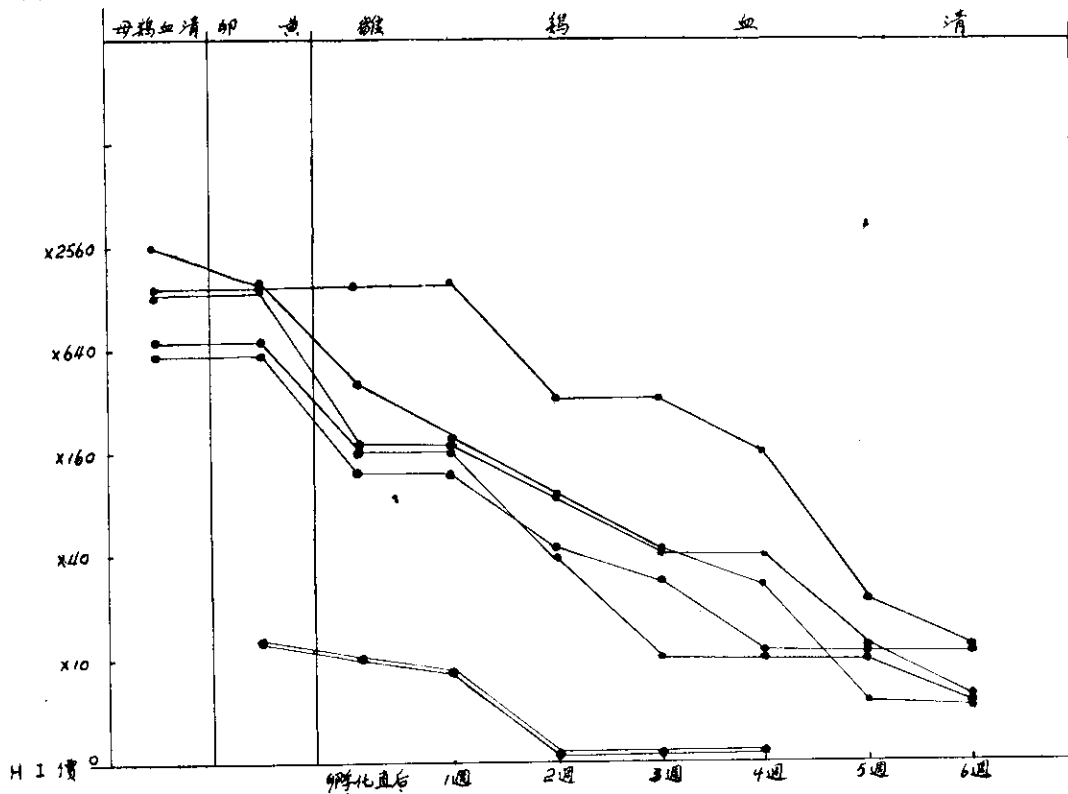
3. 低例組尿液及胎兒之HA價係每日齡各選4個卵供試。

表 3. HI 價之高低與中和價之比較

母雞號碼	血清HI價	×2	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	LD <sub>50</sub>	中和對數
#2	×10				4/4	3/3	1/4	0/3	10 <sup>-4.67</sup>	2.90
#7	×20				4/4	2/3	0/4	0/4	10 <sup>-4.25</sup>	3.32
#18	×320			3/3	0/4	0/4	0/4		10 <sup>-2.50</sup>	5.00
#24	×320			1/4	0/3	0/4	0/2		10 <sup>-2.00</sup>	5.57
#52	×640		4/4	0/3	0/4	0/3			10 <sup>-1.50</sup>	6.00
#76	×640		4/4	0/4	0/4	0/4			10 <sup>-1.50</sup>	6.00
#51	×5,120	4/4	1/2	0/4	0/4				10 <sup>-0.97</sup>	6.60
#58	×5,120	2/3	1/4	0/4	0/4				10 <sup>-0.75</sup>	6.82
抗元對照				10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>		
				4/4	7/7	8/8	1/8	0/8	10 <sup>-7.57</sup>	

- 註：1. 供試毒株：北市株35代尿液。  
 2. 供試血清：由本所產非雞經活毒或死毒疫苗接種之母雞血清，使用原血清。  
 3. 供試卵：本所自產HI價×40以下雞羣所產卵，使用10日齡雞胎。  
 4. 病毒稀釋液：0.85%滅菌食鹽水。 5. 感作：37°C 2小時。  
 6. 接種：尿囊腔內0.1ml。 7. 分母示供試雞胎數，分子示接種後斃死雞胎數。

圖 1 HI 抗體之移行與其消長



- 註：1.試驗組：係經活毒疫苗之母雞即於52年2月第1次預防注射，52年7月發生新城雞瘟，少部份死亡，同時接種第2次至最終注射計5次（死毒疫苗2次，活毒疫苗3次）距最終注射後1年半採卵供試。
- 2.對照組：係死毒疫苗免疫母雞於53年12月；54年4月，9月分別預防注射並距最後注射後8個月開始採卵供試及孵化雛雞，每次抽檢10隻其符號為HI平均價。

### 參 考 文 獻

- 1.中村稔治等：水酸化 Aluminium gel 添加 Newcastle 病 Vaccine 之研究，日本獸醫學雜誌1952年
- 2.H.D.Stone et al: Role of Aduvants in Immunogenicity of Killed Newcastle Disease Vaccines, *Ame. Jour of Vet Res* Vol, 20 No. 75. March. 1959。
- 3.I. F. Sullivan et al: Immune Response of Chickens to Beta-propiolacton-Killed Newcastle Disease Vaccines, *Ame. Jour. of Vet Res* Vol. 19. No71 April, 1958。
- 4.中村稔治等：日生研 Newcastle 病 Vaccine に就いて行はれた 2、3 の主なる研究結果，概要，日生研報告1955年2月
- 5.宮本猛等：日 研 Newcastle 病 Vaccine 再注射による免疫の生向上，日生研たより，第1卷第2號1955年10月
- 6.林 再 春：肌肉注射用新城雞瘟疫苗製造之研究，臺灣畜牧獸醫學會會報1958年3月。
- 7.宮 本 猛：Newcastle 病 Vaccine 注射法に就いて（特に免疫母雞の雛に於ける Vaccine 效果の抑制作用を中心として）日生研たより，第9卷第8號1963年8月。

## Immune Response of Newcastle Disease Killed Vaccine to Chickens

### I. Influence on the propagation of Newcastle disease virus in embryonating eggs laid by hens with different HI titers

T. C. Lin, M. S. Chou, Y. F. Yang, H. S. Yang

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

#### ENGLISH SUMMARY

Three groups of laying hens with different HI titers i.e. Group A of  $2,560\times$ , Group B of  $160-320\times$  and Group C of  $40\times$  or lower, selected for this study in order to determine by the marker of HA titer, whether the ability of the propagation of Newcastle disease virus will be influenced or not when inoculated the virus to their embryonating eggs. It has been known that potency of the killed vaccine prepared from the infected chicken embryo bodies seems to be closely related with the quantity of the virus in chicken embryos. In this study, the HI antibodies in chicks obtained maternally and the relationship between HI titer and Neutralization

titer have been observed.

The results of this study may be summarized as follows :

1. The death time of 14-day-old chicken embryos inoculated with Newcastle disease virus apparently varied with different HI titers in hens. The tests revealed that Group A(2,560× or higher) showed 72-96 hours or longer i.e. some of them were still alive when candled at 96 hours, Group B(160-320×)54-69 hours and Group C(40× or lower) within 48 hours. It can be said the higher HI titer in hens the longer death time in chicken embryos.
2. As to the degree of HA titer in 14 days old eggs, either groups A of 2,560× or B of 160-320× showed higher titers and seemed no remarkable difference between them in allantoic fluid, but apparently varied in embryo bodies. It can be said the higher HI titer in hens the lower HA titer in embryo bodies. Those embryos of Group C under 40× showed high titers both in embryo bodies and allantoic fluid.
3. A study made on different age of embryos, it revealed the older embryos the longer death time, especially in Group A of 2,560× at 14 days old of embryos, as about one third of the embryos tested were still alive even after 96 hours at the last checking. Those embryos of Group C under 40×, all the tested embryos of 8, 11 and 14 days old died within 48 hours.
4. To 14-day-old embryos of HI titer 2,560× (Group A), there was apparent difference in HA titer found in embryo bodies, also only little drops in that of 8 and 11-day-old eggs while all cases of the fluid showed high titers.
5. The HI titers in yolk or in small chicks obtained maternally were found as high as that of hens. Those higher HI antibodies in chicks obtained maternally will then gradually disappear at about 4-5 weeks of age.
6. From our experiments, it revealed the HI titer in serum is higher its Neutralization titer is also higher accordingly. A case of 10× of HI titer showed 2.0 of Neutralization titer and 5,120× cases reached to as high as 6.8 of N titer.

NOTE : The outline of this paper was read before the 1964 Annual Meeting of the Taiwan Association of Animal Husbandry and Veterinary Medicine