

新城雞病病毒在冷藏與冷凍雞屠體中之存活性

林地發^{(1)*} 蔡向榮⁽²⁾ 姚中慧⁽³⁾ 呂榮修⁽¹⁾

(1) 臺灣省家畜衛生試驗所疫學研究系

(2) 國立臺灣大學獸醫學系

(3) 行政院農業委員會畜牧處家畜衛生科

摘要 新城雞病感染雞之臟器在 -20°C 保存 2 個月後製成乳劑感染 8 週齡 SPF 雞，如以肌肉注射方式接種，則肌肉、肝臟及腸管乳劑分別造成 95 %、60 %、70 % 死亡率，如以口服方式接種，則分別引起 10 %、10 %、20 % 死亡率。在 -20°C 保存 5 個月後，臟器乳劑如以肌肉注射的方式接種 8 週齡 SPF 雞，則肌肉、肝臟及腸管乳劑可分別引起 90 %、80 %、80 % 的死亡率，點眼、點鼻的方式可引起 40 %、20 %、20 % 的死亡率。在保存 8 個月後，臟器乳劑如以肌肉注射的方式接種 10 週齡肉雞，則肌肉、肝臟及腸管乳劑可分別引起 38 %、17 %、25 % 的死亡率，口服方式可引起 0 %、17 %、0 % 的死亡率。新城雞病感染雞之臟器在 4°C ，保存 7 天後製成乳劑感染 12 週齡 SPF 雞，如以肌肉注射方式接種，則肌肉、肝臟及腸管乳劑分別造成 90 %、90 %、100 % 死亡率，如以點眼點鼻方式接種，則分別引起 100 %、70 %、100 % 死亡率；由上述結果証實新城雞病感染雞之屠體在 -20°C 保存時，病毒至少可存活個 8 個月，在 4°C 保存時，病毒至少可存活 7 天，並保有致病能力。

關鍵詞：新城雞病病毒、冷凍雞肉、冷藏屠體

緒 言

值此我國即將加入世界貿易組織 (WTO) 之際，對國外畜產品之開放進口已是勢在必行，但是不論是冷藏或冷凍雞肉或臟器，由最初在國外肉雞場養殖，送至屠宰場屠宰，再經由海空運抵國門的一連串過程中，將有許多受到污染的機會；例如在屠宰前肉雞本身已有不顯性感，活雞在運送及屠宰過程污染到糞便或腸內容物，甚至在上述整個過程中有關之人員亦可能因感染有新城雞病 (Newcastle disease) 等病原體，而導致活雞或屠體之污染^[3]；尤其是不顯性感雞隻或尚在潛伏期 (2~15 天，平均 5~6 天^[2]) 之雞隻，

由於並無臨床症狀或肉眼可見病變，因此可通過屠宰檢查，而很可能成為感染源。新城雞病病毒在環境中之存活能力與其所存在之介質種類有關，Alexander^[1] 在書中曾提到新城雞病病毒在病禽之屠體中，於涼爽之室溫可存活數週，在冷凍條件下甚至可存活數年之久，惟其真正存活情形如何並不清楚，而存活之病毒是否即足以引起雞隻之臨床疾病亦未提及，由於為保護我國畜牧業之健全，必需嚴格把關以防止海外惡性傳染病藉著輸入之冷藏或冷凍雞肉而侵入，本試驗之目的即在探討新城雞病病毒在冷藏或冷凍雞肉或臟器中之存活情形，尤其是在冷藏與冷凍雞肉或臟器中所存活之新城雞病病毒，是否可再感染雞隻引起

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

臨床疾病。

材料與方法

一、新城雞病病毒感染雞臟器製作：

將新城雞病病毒強毒株佐藤株，以 10^3 MLD / 0.5 mL 的劑量分別以肌肉注射方式人工感染 10 隻 8 週齡 SPF 雞，所有供試動物皆在無菌隔離飼育箱內飼養。3 天後，將接種雞隻剖檢並採取肌肉（胸肌）、肝臟、與大腸（盲腸扁桃部）分別在 -20°C 或在 4°C 保存。

二、新城雞病病毒存活試驗：

冷凍之肌肉或臟器在 -20°C 保存 2 個月、5 個月、與 8 個月後或在 4°C 保存 7 天後，分別以組織擊碎器擊碎，並以 MEM 製成 5 倍乳劑，經 3,000 rpm，30 分遠心後之上清液，添加適量之抗生素（Penicillin 100 μg / mL，與 streptomycin 100 mg / mL），並至少在室溫感作 30 分鐘以上，所得之乳劑用以進行 SPF 雞或肉雞之人工感染試驗（分口服或點眼點鼻及肌肉注射二組，每組各 2 隻，每隻接種 0.5 mL 乳劑），所有供試動物皆在無菌隔離飼育箱內飼養，接種後除觀察臨床症狀一週外，對死亡雞隻並予解剖，檢查肉眼病變。

三、統計學分析：

以新城雞病感染雞之肌肉與臟器，人工感染 SPF 雞或肉雞後所引起之死亡率，並以美國 Ecosoft 公司所出版之 Microstat 統計分析軟體（1984）中之 Hypothesis tests: proportions 功能，分析不同條件下所引起之死亡率是否有顯著差異。

結 果

一、新城雞病感染雞之肌肉與臟器在 -20°C 保存 2 個月後再以肌肉或口服的方式感染 8 週齡 SPF 雞，結果如表 1，不管是肌肉，肝臟或腸管乳劑以肌肉途徑接種皆引起高死亡率（

60%~95%），死亡雞隻剖檢後並呈現腺胃、盲腸扁桃出血等典型之新城雞病病變，而以口服途徑接種者，其死亡率較低，僅 10~20%。

二、新城雞病感染雞之肌肉與臟器在 -20°C 保存 5 個月後，再以肌肉或點眼點鼻方式感染 8 週齡 SPF 雞，結果如表 2，與保存 2 個月時之試驗結果相似，肌肉注射可引起 80~90% 死亡率，而點眼或點鼻途徑接種者，其死亡率仍稍低，亦僅 20~40%。

三、新城雞病感染雞之肌肉與臟器在 -20°C 保存 8 個月後，再以肌肉或口服的方式感染 10 週齡肉雞，結果如表 3，肌肉注射可引起 17~38% 死亡率，而口服可引起 0~17% 死亡率。

四、新城雞病感染雞之肌肉與臟器在 4°C 保存 7 天後，再以肌肉或點眼點鼻的方式感染 12 週齡 SPF 雞，結果如表 4，肌肉注射之死亡率為 90~100%，而點眼或點鼻之死亡率也達 70~100% 死亡率。

五、統計學分析：比較在 -20°C 保存 2 及 5 個月之臟器乳劑接種 SPF 雞所引起死亡率，結果發現肌肉注射所引起之死亡率，較口服或點眼點鼻途徑為高，並在統計學上有極顯著差異（ $P < 0.01$ ）；其中 -20°C 保存 2 個月之肌肉、肝臟、腸管不同接種途徑結果之比較的 P 值分別為 $3.670\text{E}-08$ 、 $4.583\text{E}-04$ 、 $7.409\text{E}-04$ ； -20°C 保存 5 個月之肌肉、肝臟、腸管之 P 值分別為 $9.583\text{E}-03$ 、 $3.645\text{E}-03$ 、 $3.645\text{E}-03$ 。另外肝與腸臟器在 -20°C 冷凍保存 5 個月後感染雞隻造成之死亡率，雖然較冷凍保存 2 個月者所造成之死亡率稍高，但經統計分析結果顯示兩者並無顯著差異（ $P > 0.1$ ）；其中此二次之肝臟乳劑肌肉注射與非肌肉注射結果之比較的 P 值分別 0.1367 與 0.2238 ；而此二次之腸乳劑肌肉注射與非肌肉注射結果之比較的 P 值分別為 0.2797 與 0.5000 。

表 1 新城雞病感染雞之臟器在 -20 °C，2 個月後人工感染 8 週齡 SPF 雞之結果

接種雞隻 編號	接種臟器 ^a 乳劑	接種途徑 (0.5 mL/隻)	
		肌肉	口服
1	肌肉	2/2 ^b	0/2
	肝臟	2/2	0/2
	腸管	2/2	2/2
2	肌肉	2/2	0/2
	肝臟	2/2	0/2
	腸管	2/2	0/2
3	肌肉	2/2	0/2
	肝臟	0/2	0/2
	腸管	2/2	1/2
4	肌肉	2/2	0/2
	肝臟	2/2	0/2
	腸管	2/2	0/2
5	肌肉	1/2	0/2
	肝臟	0/2	0/2
	腸管	0/2	0/2
6	肌肉	2/2	0/2
	肝臟	0/2	0/2
	腸管	2/2	1/2
7	肌肉	2/2	0/2
	肝臟	0/2	1/2
	腸管	0/2	0/2
8	肌肉	2/2	1/2
	肝臟	2/2	1/2
	腸管	2/2	0/2
9	肌肉	2/2	1/2
	肝臟	2/2	0/2
	腸管	2/2	0/2
10	肌肉	2/2	0/2
	肝臟	2/2	0/2
	腸管	0/2	0/2
合計	肌肉	19/20	2/20
	肝臟	12/20	2/20
	腸管	14/20	4/20

a 5 倍臟器乳劑

b 死亡隻數 / 接種隻數

表 2 新城雞病感染雞之臟器在 -20 °C，5 個月後人工感染 8 週齡 SPF 雞之結果

接種雞隻 編號	接種臟器 ^a 乳劑	接種途徑 (0.5 mL/隻)	
		肌肉	點眼點鼻
1	肌肉	1/2 ^b	2/2
	肝臟	2/2	0/2
	腸管	2/2	1/2
2	肌肉	2/2	1/2
	肝臟	2/2	1/2
	腸管	2/2	0/2
3	肌肉	2/2	1/2
	肝臟	2/2	1/2
	腸管	2/2	0/2
4	肌肉	2/2	0/2
	肝臟	0/2	0/2
	腸管	2/2	1/2
5	肌肉	2/2	0/2
	肝臟	2/2	0/2
	腸管	0/2	0/2
合計	肌肉	9/10	4/10
	肝臟	8/10	2/10
	腸管	8/10	2/10

a 5 倍臟器乳劑

b 死亡隻數 / 接種隻數

表 3 新城雞病感染雞之臟器在 -20°C ，8 個月後人工感染 10 週齡肉雞之結果

接種雞隻 編號	接種臟器 ^a 乳劑	接種途徑 (0.5 mL/隻)	
		肌肉	口服
1	肌肉	1/2b	0/2
	肝臟	0/2	1/2
	腸管	0/2	0/2
2	肌肉	1/2	0/2
	肝臟	0/2	0/2
	腸管	2/2	0/2
3	肌肉	1/2	0/2
	肝臟	1/2	0/2
	腸管	0/2	0/2
4	肌肉	0/2	0/2
	腸管	0/2	0/2
合計	肌肉	3/8	0/8
	肝臟	1/6	1/6
	腸管	2/8	0/8

a 5 倍臟器乳劑

b 死亡隻數 / 接種隻數

表 4 新城雞病感染雞之臟器在 4°C ，7 天後人工感染 12 週齡 SPF 雞之結果

接種雞隻 編號	接種臟器 ^a 乳劑	接種途徑 (0.5 mL/隻)	
		肌肉	點眼點鼻
1	肌肉	1/2b	2/2
	肝臟	1/2	1/2
	腸管	2/2	2/2
2	肌肉	2/2	2/2
	肝臟	2/2	1/2
	腸管	2/2	2/2
3	肌肉	2/2	2/2
	肝臟	2/2	2/2
	腸管	2/2	2/2
4	肌肉	2/2	2/2
	肝臟	2/2	1/2
	腸管	2/2	2/2
5	肌肉	2/2	2/2
	肝臟	2/2	2/2
	腸管	2/2	2/2
合計	肌肉	9/10	10/10
	肝臟	9/10	7/10
	腸管	10/10	10/10

a 5 倍臟器乳劑

b 死亡隻數 / 接種隻數

討 論

本試驗證實新城雞病病毒在冷凍雞肉及內臟中至少可存活 8 個月，在冷藏雞肉及內臟中至少可存活 7 天，並且存活病毒可再感染雞隻引起死亡；此外 Wooley^[4] 曾比較 7 種病毒在經發酵處理之可食廢棄物 (fermented edible waste material) 中之存活情形，結果只有新城雞病病毒及犬傳染性肝炎病毒能耐過 $5\sim 30^{\circ}\text{C}$ ，96 小時的發酵處理，因此應禁止自本病疫區進口供人食用之冷藏或冷凍雞肉及臟器，甚至供動物飼料用之家禽副產品，以免危害我國之家禽產業。

另外本試驗之結果顯示，不論是肉雞或 SPF

雞，對肌肉注射的感染途徑感受性都較口服或點眼點鼻途徑為高，尤其是在 -20°C 保存 2 及 5 個月之臟器乳劑接種 SPF 雞時更有統計學上之顯著差異 ($P < 0.01$)，因此肌肉注射 SPF 雞是檢查臟器中存活病毒較具敏感性的方法，可供為對進口雞屠體是否污染有本病檢測之用；本試驗亦間接証明存活病毒可經由自然感染途徑 (經口及吸入) 感染雞隻並引起本病；至於在 -20°C 保存 8 個月肌肉與臟器乳劑引起之雞隻死亡率，較在 -20°C 保存 2 及 5 個月者為低，其原因雖可能為新城雞病病毒逐漸死滅之故，但更可能因 8 個月乳劑係接種於肉雞，而 2 及 5 個月乳劑係接種於 SPF 雞，而肉雞對新城雞病病毒之感受性可能較 SPF 雞為低之故。此外試驗結果中，肝與腸

臟器在 -20°C 冷凍保存 5 個月後感染雞隻造成之死亡率，雖然較冷凍保存 2 個月者所造成之死亡率稍高，但在統計學顯示兩者並無顯著差異 ($P > 0.1$)。

誌謝 本試驗承農委會 84 科技 - 2.21 - 牧 10 (1) 計劃經費補助特此誌謝。

參考文獻

1. Alexander DJ. Paramyxoviridae (Newcastle disease and others). In Poultry Diseases, 3rd ed., F. T. W. Jordan (ed) , Bailliere Tindall, London, U. K., pp. 121 - 136, 1990.
2. Alexander DJ. Newcastle disease and other paramyxovirus infections. In Diseases of Poultry, 9th ed., B. W. Calnek, H. J. Barnes, Beard, C. W., W. M. Reid, H. W. Yoder (eds.), Iowa State Univ. Press, Ames, U. S. A., pp. 496 - 519, 1991.
3. Beard CW and Hanson RP. Newcastle disease. In Diseases of Poultry, 8th ed, M. S. Hofstad, H. J. Barnes, B. W. Calnek, W. M. Reid, H. W. Yoder (eds.), Iowa State Univ. Press, Ames, U. S. A., pp. 452 - 470, 1984.
4. Wooley RE, Gilbert JP, Whitehead WK, Shotts EB, and Dobbins CN. Survival of viruses in fermented edible waste material. Am. J. Vet. Res. 42 : 87 - 90, 1981.

Viability of the Newcastle disease virus in the poultry carcass held at -20°C and 4°C

Dih-Fa Lin^{(1)*} Hsiang-Jung Tsai⁽²⁾

Chung-Hwei Yao⁽³⁾ Yong-Siu Lu⁽¹⁾

(1) Taiwan Animal Health Research Institute

(2) Department of Veterinary Medicine, National Taiwan University

(3) Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan 107, R O C

SUMMARY SPF chickens infected with Newcastle disease virus (NDV) were sacrificed, and the organs (breast muscle, liver, and large intestine) were harvested and stored at 4°C or -20°C . Two months later, the frozen organs were defrosted and made into emulsions. The emulsions were inoculated into 8-week-old SPF chickens intramuscularly (IM) or via oral routes. High mortality was found in IM inoculation group ($60\sim 95\%$), while oral inoculation group had a $10\sim 20\%$ mortality. Typical lesions of Newcastle disease were found in inoculated SPF chickens. After stored for five months, the frozen organs were made into emulsions and were inoculated into 8-week-old SPF chickens via IM or intraocular (IO) and intranasal (IN) routes. High mortality was induced in IM inoculation group ($80\sim 90\%$), while IO and IN inoculation group had a $20\sim 40\%$ mortality. The emulsions made from organs frozen for 8 months were inoculated into 10-week-old broiler via IM or oral routes. IM inoculation caused $17\sim 38\%$ mortality in inoculated broilers, while oral inoculation induced $0\sim 17\%$ mortality. The emulsions of organs stored at 4°C for 7 days were inoculated into 12-week-old SPF chickens, and caused $90\sim 100\%$ mortality by IM route and $70\sim 100\%$ mortality by IO and IN routes. Thus we proved that NDV could survive in the poultry carcass held at -20°C for at least 8 months and at 4°C for at least 7 days. We also proved that the survival viruses were still able to induce disease in chickens.

Key words: Newcastle disease virus \ Frozen poultry meat \ Chilled carcasses

*Corresponding author

Taiwan Animal Health Research Institute, Taiwan, R. O. C.