

## 雛鵝之水禽小病毒免疫試驗

陳燕萍\*、涂央昌、李淑慧、蔡向榮

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

**摘要** 本試驗分別於購自民間鵝場之2日齡與9日齡鵝隻施打水禽小病毒疫苗，並於免疫後3日以鵝小病毒野外毒攻毒模擬感染情形，以了解雛鵝施打水禽小病毒疫苗的影響與於不同日齡施打疫苗的差異。2日齡免疫試驗之免疫攻毒組與攻毒組分別有62.8%與57.1%鵝隻死亡，此2組死亡鵝隻攻毒前中和抗體力價皆為<2倍。9日齡免疫試驗之免疫攻毒組無鵝隻死亡，攻毒組有33.3%鵝隻死亡，死亡鵝隻攻毒前抗體力價為2-4倍。推測於5日齡或12日齡進行攻毒，試驗鵝隻的死亡與攻毒前的移行抗體力價高低較有關。以PCR檢測鵝隻肛拭中與臟器內鵝小病毒核酸結果推測雛鵝免疫無法阻止鵝小病毒感染。比較2日齡與9日齡免疫試驗，以9日齡免疫水禽小病毒之雛鵝較不影響鵝隻增重與可減少感染水禽小病毒與感染後排毒。由於臺灣鵝場普遍為鵝小病毒汙染場，依本試驗結果建議仍應以免疫健康種鵝，藉由移行抗體保護雛鵝，並加強生物安全與飼養管理以預防鵝小病毒感染。

**關鍵字：**鵝小病毒、免疫、攻毒、抗體力價、增重。

### 緒言

水禽小病毒感染症 (waterfowl parvovirus infection)，為一高度傳染性與致死性疾病，臨床上會引起纖維素性壞死性腸炎 [4]。臺灣首例鵝小病毒 (Goose parvovirus; GPV) 感染症發生於1982年 [3]；此外，於1989年由番鴨分離到類似鵝小病毒感染症之另一型病毒，稱為番鴨小病毒 (Muscovy duck parvovirus; MDPV)，MDPV在宿主性、抗原性及序列上均異於前者 [2]。GPV對鵝及番鴨均有高病原性，主要病變為腸炎，感染率及死亡率甚高；所有鴨品系則對MDPV有感受性，其特徵為病鴨軟腳及癒後發育不良及短嘴，死亡率也高達70%以上 [4,7,10]。本病潛伏期約3~5日，病禽初呈沈鬱、垂翼、食慾減退、不喜走動、聚集在一起、精神萎靡、閉眼嗜眠、縮頸、行動逐漸遲鈍、軟腳易轉倒、橫臥、蹲下、嘔吐、排出黃白色或水樣性下痢便、肛門污穢、羽毛潮濕、腳脫水，有些病例則呈現有流淚、流鼻水、甩頭及眼結膜充血。一般小鵝發病後約在10小時內開始死亡，

3~4日死亡為最多。本病對5週齡以內的小鵝及小鴨的死亡率可達45~100%，幼齡者幾乎高達100%。因此，水禽小病毒推薦之防疫策略為以免疫健康種鴨、鵝，藉由移行抗體保護雛鵝、雛鴨預防本病之感染。然而水禽業者常於雛鵝、雛鴨進行免疫，反而有造成雛鵝發病甚至死亡等不良影響之說法。為釐清此現象，本試驗模擬現場於雛鵝施打GPV疫苗，選擇分別於購自民間鵝場之2日齡與9日齡鵝隻施打水禽小病毒疫苗，並於免疫後3日以野外毒GPV 990405株攻毒模擬感染野外毒，比較雛鵝有無施打疫苗與於不同日齡施打疫苗的差異。

### 材料與方法

#### 雛鵝

2日齡免疫試驗計29隻，9日齡免疫試驗計30隻，總計59隻1日齡雛鵝皆購自某一民間種鵝場，該種鵝場鵝隻無注射水禽小病毒疫苗，雛鵝為分2批購買且於不同時間進行試驗。每批試驗雛鵝飼養於家畜

\*抽印本索取作者  
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

衛生試驗所同一動物舍空間中，分組分籠高架飼養，不同批試驗間動物舍以福馬林煙燻消毒。每隻鵝戴上腳環給予編號，飲水與飼料任飼。

## 試驗設計

**分組：**2日齡免疫試驗雛鵝隨機分為4組，第1組與第3組各8隻、第2組7隻與第4組6隻雛鵝；9日齡免疫試驗雛鵝分為4組，第1組與第2組各9隻、第3組與第4組各6隻雛鵝。第1組為進行疫苗施打並進行攻毒，簡稱免疫攻毒組、第2組為僅進行野外毒攻毒，簡稱攻毒組、第3組為僅進行疫苗免疫，簡稱免疫組、第4組為無進行免疫也無進行攻毒，簡稱無處理組。

**疫苗施打：**2日齡免疫試驗與9日齡免疫試驗雛鵝分別於雛鵝2日齡時與9日齡時肌肉注射由農業委員會家畜衛生驗所(畜衛所)生產之水禽小病毒活毒疫苗，疫苗批號分別為10101與10102，每隻1劑量，每劑量含有水禽小病毒馴化株 $10^{3.5}$  EID<sub>50</sub>以上。

**攻毒：**為模擬田間遭受水禽小病毒野外毒攻擊，免疫攻毒組與攻毒組於免疫組疫苗施打後3天(即分別於雛鵝5日齡與12日齡)肌肉注射未馴化之GPV 990405株 $10^{4.5}$  ELD<sub>50</sub>/mL (ELD: Muscovy duck embryo lethal dose, 正番鴨胚胎致死劑量)，每隻0.2 mL。

**觀察與檢驗：**每天觀察死亡情形，於疫苗施打前、攻毒前與攻毒後第14天或同日齡雛鵝採集血液以血清中和試驗檢測GPV抗體；於疫苗施打前、攻毒前與攻毒後第2、4、7、10與14天採集肛拭以聚合酶鏈鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)檢測GPV核酸；於攻毒前、攻毒後第2、4、7、10與14天秤量鵝隻體重。未死亡鵝隻於攻毒後14天進行安樂死犧牲，所有鵝隻臟器進行PCR檢測GPV核酸，臟器包括心臟、肝臟、脾臟、肺臟、腎臟、腦、十二指腸、腸中段、腸後段與華氏囊。

## 血清中和試驗

將鵝血清以56°C經30分鐘非動化後，取50 μL血清以細胞培養液MEM進行2倍連續稀釋，與等量之100 TCID<sub>50</sub> GPV 82株混合，於37°C感作1小時後，加入50 μL之 $3 \times 10^5$ /mL初代正番鴨胚纖維母細胞進行共同培養，於37°C培養6~7天以觀察細胞病

理效應(cytopathic effect; CPE)，並記錄血清GPV中和力價。

## PCR

引子包括針對GPV外殼蛋白VP1序列設計之專一性引子，與根據GPV疫苗株與野外株之反向末端重複(inverted terminal repeats)核酸序列而設計之區別GPV疫苗株與野外株之引子。肛門拭子或雛鵝臟器乳劑以MagNa Pure核酸萃取機(Roche, Germany)進行核酸萃取，所得核酸作為PCR模板，PCR試驗反應液為每50 μL之PCR反應液中含有39 μL 二次蒸餾水，5 μL之10倍PCR緩衝液，引子2 μL (1 μg/μL)，1 μL之2.5 mM dNTP Mix (Biotool, Spain)，1 μL之Taq DNA polymerase (0.25 U/μL, Bertec, Taiwan)，2 μL待測核酸模板。將上述配製好之反應液放入熱循環反應器中進行反應，反應條件為94°C 3分鐘，35個循環做94°C 50秒，55°C 30秒，72°C 50秒，再做72°C 7分鐘。取8 μL之PCR產物以含EtBr之2% 瓊膠進行電泳，之後於UV燈下觀察產物片段大小。部分核酸產物經序列分析以進行確認。

## 統計

本試驗主要目的為探討免疫GPV對雛鵝的影響，且為秉持進行比較的不同組別之間應該僅有一個變因，因此將免疫攻毒組與攻毒組以及將免疫組與無處理組進行比較分析。以T-test進行GPV抗體力價與鵝隻增重的比較，以F-test進行體重標準差的比較。

## 結果

### 2日齡免疫試驗

**鵝隻死亡情形：**免疫攻毒組於攻毒後第4天開始出現死亡，共死亡5隻(5/8=62.8%)；攻毒組於攻毒後第6天開始出現死亡，共死亡4隻(4/7=57.1%)鵝隻。免疫組與無處理組鵝隻至觀察結束均無死亡情形，如表1。

**GPV中和抗體：**結果如表1。免疫攻毒組雛鵝之GPV抗體力價於2日齡為<2~1,024倍，5日齡攻毒前為<2~512倍，19日齡犧牲前為64~>2,048倍，死亡

鵝隻抗體力價於攻毒前皆為 $<2$ 倍，存活鵝隻於攻毒前抗體力價為 $16\sim 512$ 倍；攻毒組雛鵝之GPV抗體力價於2日齡為 $<2\sim 512$ 倍，5日齡攻毒前為 $<2\sim 128$ 倍，19日齡犧牲前為 $32\sim 256$ 倍，死亡鵝隻抗體力價於攻毒前皆為 $<2$ 倍，存活鵝隻於攻毒前抗體力價為 $4\sim 128$ 倍；免疫組雛鵝之GPV抗體力價於2日齡為 $<2\sim 256$ 倍，5日齡攻毒前為 $<2\sim 64$ 倍，19日齡犧牲前為 $<2\sim 1,024$ 倍；無處理組雛鵝之GPV抗體力價於2日齡為 $<2\sim 8$ 倍，5日齡攻毒前為 $<2\sim 1,024$ 倍，19日齡犧牲前為 $<2\sim 256$ 倍。以T-test進行統計，免疫攻毒組與攻毒組存活的鵝隻以及免疫組與無處理組鵝隻於19日齡犧牲前之抗體力價無統計上差異 ( $p>0.05$ )。

**肛拭之GPV核酸檢測：**如表1，於攻毒後第2天，免疫攻毒組有50% (4/8) 鵝隻肛拭呈GPV核酸陽性，攻毒組則有14.3% (1/7) 鵝隻肛拭呈GPV核酸陽性。免疫組其中1鵝隻肛拭於攻毒組攻毒後第4天呈GPV核酸陽性。

**臟器之GPV核酸檢測：**結果見表2。免疫攻毒組與攻毒組所有死亡鵝隻臟器皆可偵測到GPV核酸；免疫攻毒組與攻毒組各有1鵝隻於犧牲時呈現所有臟器GPV核酸陰性；免疫組有3鵝隻於犧牲時呈現所有臟器GPV核酸陰性；無處理組所有鵝隻犧牲時於臟器可檢測出GPV核酸。經PCR檢測，所有GPV核酸陽性訊號皆來自990405株 (圖1)。

**增重：**攻毒組之平均增重於整個試驗過程高於免疫攻毒組，如圖2；無處理組之平均增重於15日齡前高於3組，如圖3，以T-test進行分析，免疫攻毒組與攻毒組之間以及免疫組與無處理組之間之增重於統計學上並無顯著差異 ( $p>0.05$ )。體重整齊度方面，以體重標準差來看，攻毒組雛鵝較免疫攻毒組佳，無處理組雛鵝較免疫組佳，於統計學上皆無顯著差異 ( $p>0.05$ )，如表3。

## 9日齡免疫試驗

**鵝隻死亡情形：**攻毒組於攻毒後第9天開始出現死亡，共死亡3隻 (3/9=33.3%)。免疫攻毒組、免疫組與無處理組鵝隻至觀察結束均無死亡情形，如表4。

**GPV中和抗體：**結果如表4。免疫攻毒組雛鵝之GPV

抗體力價於9日齡免疫前為 $<2\sim 256$ 倍，12日齡攻毒前為 $4\sim 128$ 倍，26日齡犧牲前為 $64\sim 2,048$ 倍；攻毒組雛鵝之GPV抗體力價於9日齡為 $4\sim 256$ 倍，12日齡攻毒前為 $2\sim 128$ 倍，26日齡犧牲前為 $128\sim 2,048$ 倍，死亡鵝隻抗體力價於攻毒前為 $2\sim 4$ 倍，存活鵝隻於攻毒前抗體力價為 $8\sim 128$ 倍；免疫組雛鵝之GPV抗體力價於9日齡為 $<2\sim 128$ 倍，12日齡攻毒前為 $2\sim 32$ 倍，26日齡犧牲前為 $8\sim 2,048$ 倍；無處理組雛鵝之GPV抗體力價於9日齡為 $<2\sim 16$ 倍，12日齡攻毒前為 $<2\sim 32$ 倍，26日齡犧牲前為 $8\sim 2,048$ 倍。以T-test進行統計，免疫攻毒組與攻毒組存活的鵝隻以及免疫組與無處理組鵝隻於26日齡犧牲前之抗體力價無統計上差異 ( $p>0.05$ )。

**肛拭之GPV核酸檢測：**結果見表4，免疫攻毒組有11.1% (1/9) 鵝隻於攻毒後第2天可於肛拭檢測到GPV核酸，攻毒組有55.6% (5/9) 鵝隻於攻毒後第2天可於肛拭檢測到GPV核酸。免疫組雛鵝於試驗全程之肛拭皆為GPV核酸陰性；無處理組有83.3% (5/6) 鵝隻肛拭於攻毒組攻毒後第10天呈現GPV核酸陽性。

**臟器之GPV核酸檢測：**結果見表5。免疫攻毒組、攻毒組與免疫組各有2隻、3隻與1隻鵝於犧牲時呈現所有臟器GPV核酸陰性；攻毒組1隻死亡鵝隻可於所有臟器偵測到GPV核酸，另2隻死亡鵝隻可於除了腦以外之臟器偵測到GPV核酸；無處理組所有鵝隻在犧牲時之臟器可檢測出GPV核酸。經PCR檢測，所有GPV核酸陽性訊號皆來自野外病毒。

**增重：**免疫攻毒組之平均增重於攻毒後第10日前皆高於攻毒組，但攻毒後第14日以攻毒組之平均增重較佳，於統計學上達顯著差異 ( $p<0.05$ )，如圖4；免疫組之平均增重於試驗過程皆高於無處理組，且於14日齡時免疫組平均增重顯著高於無處理組 ( $p<0.05$ )，如圖5。體重整齊度方面，免疫攻毒組雛鵝較攻毒組佳，無處理組雛鵝較免疫組佳，於統計學上皆無顯著差異 ( $p>0.05$ )，如表6。

## 討論

2日齡免疫試驗中免疫攻毒組與攻毒組死亡鵝隻於攻毒前抗體力價皆為 $<2$ 倍，存活鵝隻抗體力價為4~512倍，顯示鵝隻的死亡與攻毒時的抗體力價高低有關。於2日齡施打疫苗至5日齡時抗體力價尚未爬升，若此時遭受GPV感染，鵝體內移行抗體的高低將是可否耐過GPV感染的關鍵。9日齡免疫試驗中免疫攻毒組鵝隻攻毒前抗體為4~128倍，且攻毒後至犧牲前皆無死亡，攻毒組死亡之3隻鵝攻毒前抗體力價為2~4倍，存活鵝隻攻毒前抗體力價為8~128倍，顯示該試驗鵝隻的死亡仍與攻毒時的移行抗體力價高低有關。無論是2日齡或9日齡免疫試驗免疫攻毒組與攻毒組皆有鵝隻於攻毒前抗體力價為4倍且可耐過GPV之攻毒，惟於田間水禽飼養場因野外環境複雜，推測鵝於田間需有較高之抗體力價才能耐過小病毒之感染，而水禽小病毒活毒疫苗國家檢驗標準是疫苗注射後4週中和抗體幾何平均值需為32倍使為判定合格[1]。

2日齡與9日齡免疫試驗之免疫組與無處理組部分鵝隻於犧牲前之抗體力價明顯升高，且可於肛拭偵測到GPV野毒核酸，推測是因同一試驗之所有鵝隻雖分籠飼養，但處於同一空間而被進行攻毒之鵝隻汙染所致，顯示鵝小病毒確實具有高之傳染力[4]。有趣的是，免疫組與無處理組鵝隻並無發病死亡，推測與鵝隻飼養環境、感染病毒量與感染日齡有關[4,8]。

Gough與Spackman (1982)指出，無GPV抗體鵝施打GPV減毒疫苗，經免疫後14日即可見抗體上升，然本試驗免疫組與無處理組鵝隻於犧牲前之抗體力價於統計學上並無差異( $p>0.05$ )，顯示處於汙染的環境中，鵝即使於2日齡或9日齡施打疫苗，免疫後14日之抗體力價與未施打疫苗鵝隻抗體力價並無差異。

2日齡與9日齡免疫試驗免疫攻毒組與攻毒組皆有鵝隻於以野毒攻毒後2天可於肛拭檢測出GPV野毒核酸。Limn等人(1996)給予3日齡GPV清淨之正番鴨口服接種具毒力的GPV，接種後2日可於包括直腸之許多臟器偵測到GPV核酸；Teakehara等人(1998)以減毒GPV肌肉注射3日齡鵝隻，於攻毒

後6日可於肛門檢測到GPV核酸，若以口服給予同一株病毒，則於攻毒後14日可於肛門檢測到GPV核酸，推測感染GPV排毒的期間長短與病毒株毒力強弱、動物日齡與攻毒方式有關。

免疫攻毒組與攻毒組犧牲時臟器呈GPV核酸陰性之鵝隻，推測已耐過GPV病毒血症。9日齡免疫試驗攻毒組死亡鵝隻有2隻於腦未偵測到GPV核酸，推測腦是GPV致病過程中較不重要的臟器之一。文獻指出，經口感染GPV後，病毒會於腸道複製並進入血液，造成病毒血症，心臟與肝臟是受影響最嚴重的臟器[4]。

免疫組與無處理組鵝隻於試驗過程可能遭受汙染而亦可於肛拭檢測出GPV核酸，由於無法推測免疫組與無處理組鵝隻感染GPV時間，因此無法確切推測此二組鵝隻之抗體力價、肛拭呈GPV核酸陽性(排毒)與犧牲時臟器呈GPV核酸陽性之間的關係。然9日齡免疫試驗之免疫組6鵝隻中有5隻抗體明顯上升，顯示有感染現象，但試驗過程肛拭GPV核酸皆呈陰性，因此是否於9日齡施打GPV疫苗可減少感染鵝排毒，值得進一步探討。

鵝隻增重方面，除了9日齡之免疫試驗攻毒後14日，攻毒組平均增重顯著高於免疫攻毒組( $p<0.05$ )，其餘鵝隻於整個試驗過程中免疫攻毒組與攻毒組、免疫組與無處理組之平均增重無統計上顯著差異( $p>0.05$ )，因此推測鵝隻有無免疫GPV，於免疫後3日感染GPV或是處於GPV汙染環境中，鵝隻增重在統計學上沒有差異。9日齡之免疫試驗攻毒後9日，攻毒組鵝隻死亡達3隻，造成耐過鵝隻可獲得較高飼養空間與飼料量，推測攻毒組鵝隻處於較佳飼養環境而造成攻毒後14日之平均增重顯著高於免疫攻毒組。

鵝隻體重整齊度方面，2日齡免疫試驗攻毒組較免疫攻毒組佳，9日齡免疫試驗則為免疫攻毒組較攻毒組佳，推測鵝隻於2日齡免疫GPV，於免疫後3日感染GPV可造成鵝隻體重整齊度較差，而鵝隻於9日齡免疫GPV，於免疫後3日感染GPV，可使鵝隻體重整齊度較佳。此外，2日齡與9日齡免疫試驗皆為無處理組體重整齊度較免疫組佳，推測無論鵝隻於2日

## 雛鵝之水禽小病毒免疫試驗

齡或9日齡免疫GPV，鵝隻處於GPV汙染環境下，可能造成鵝隻體重整齊度較差。

本試驗結果顯示，由於雛鵝施打疫苗無法使GPV抗體及時爬升，因而試驗鵝隻的死亡與移行抗體較有關。比較2日齡或9日齡免疫試驗，以9日齡免疫水禽小病毒之雛鵝較不影響鵝隻增重與可減少感染水禽小病毒與感染後排毒。9日齡雛鵝免疫試驗中，攻毒組

耐過鵝隻處於飼養密度較低與飼料較為充足等較佳飼養環境而使其增重顯著高於免疫與攻毒組，顯示飼養管理的重要性。由於臺灣鵝場普遍為GPV汙染場，亦常聽聞水禽業者於雛鵝、雛鴨免疫水禽小病毒而造成發病或死亡之說法，依本試驗結果建議仍應以免疫健康種鴨、鵝，藉由移行抗體保護雛鵝、雛鴨，並加強生物安全與飼養管理以預防水禽小病毒感染。

表1、2日齡雞鵝免疫試驗之死亡情形、以PCR檢測肛拭之GPV核酸結果與GPV中和抗體結果。

編號	死亡情形	以 PCR 檢測肛拭中小病毒核酸							抗體力價		
		2 日齡 (疫苗 免疫 前)	5 日齡 (攻毒 前)	7 日齡	9 日齡	12 日齡	15 日齡	19 日齡	2 日齡 (疫苗 免疫 前)	5 日齡 (攻毒 前)	19 日齡 (犧 牲)
1-1	DPI 4	-	-	+	-	ND	ND	ND	<2	<2	ND
1-2	活	-	-	-	+	-	+	+	64	16	256
1-3	DPI 4	-	-	+	ND	ND	ND	ND	<2	<2	ND
1-4	DPI 4	-	-	+	ND	ND	ND	ND	<2	<2	ND
1-5	DPI 7	-	-	-	-	+	ND	ND	16	<2	ND
1-6	DPI 9	-	-	+	+	+	ND	ND	<2	<2	ND
1-7	活	-	-	-	+	+	+	+	1024	512	64
1-8	活	-	-	-	+	+	+	+	128	32	>2,048
2-1	活	-	-	-	+	+	+	-	512	128	64
2-2	DPI 8	-	-	-	+	+	ND	ND	<2	<2	ND
2-3	DPI 8	-	-	-	-	+	ND	ND	<2	<2	ND
2-4	活	-	-	-	+	-	+	+	128	64	256
2-6	DPI 10	-	-	-	+	+	ND	ND	<2	<2	ND
2-7	活	-	-	-	+	-	+	+	128	4	32
2-8	DPI 6	-	-	+	+	ND	ND	ND	<2	<2	ND
3-1	活	-	-	-	-	-	+	+	<2	<2	1,024
3-2	活	-	-	-	-	-	-	+	<2	<2	512
3-3	活	-	-	-	-	-	+	-	4	<2	64
3-4	活	-	-	-	-	+	-	+	4	<2	256
3-5	活	-	-	-	+	-	+	-	32	16	32
3-6	活	-	-	-	-	+	+	+	<2	<2	128
3-7	活	-	-	-	-	-	+	-	<2	<2	128
3-8	活	-	-	-	-	-	+	-	256	64	<2
4-1	活	-	-	-	-	-	+	+	4	1024	256
4-2	活	-	-	-	-	-	+	+	<2	<2	<2
4-3	活	-	-	-	-	-	-	+	<2	<2	<2
4-4	活	-	-	-	-	-	+	+	<2	<2	32
4-5	活	-	-	-	-	-	-	-	8	4	8
4-6	活	-	-	-	-	-	+	-	<2	<2	128

編號1-1~1-8為免疫攻毒組、2-1~2-8為攻毒組、3-1~3-8為免疫組、4-1~4-6為無處理組。

DPI 4：表示為攻毒後第4天。

-：陰性。

+

ND：鵝隻死亡，無進行試驗。

## 雛鵝之水禽小病毒免疫試驗

表2、2日齡雛鵝免疫試驗之鵝隻臟器以PCR檢測GPV核酸結果。

臟器 編號	心臟	肝臟	脾臟	肺臟	腎臟	腦	十二 指腸	腸中段	腸後段	華氏囊
1-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-2	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
1-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-4	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
2-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-4	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
3-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3-7	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
3-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-1	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
4-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

編號1-1~1-8為免疫攻毒組、2-1~2-8為攻毒組、3-1~3-8為免疫組、4-1~4-6為無處理組。

-：陰性。

+：陽性。

表3、2日齡雛鵝免疫試驗之鵝隻體重標準差。

組別	體重標準差					
	5日齡	7日齡	9日齡	12日齡	15日齡	19日齡
免疫攻毒組	39.7	63.5	128.3	283.8	250.1	515.0
攻毒組	33.6	54.1	116.8	276.4	57.7	152.8
免疫組	21.7	37.6	47.3	58.3	90.3	272.0
無處理組	16.0	12.6	19.7	35.7	114.5	126.5

表4、9日齡雛鵝免疫試驗之死亡情形、以PCR檢測肛拭之GPV核酸結果與GPV中和抗體結果。

編號	死亡情形	以PCR檢測肛拭中小病毒核酸						抗體力價			
		9日齡 (免疫 前)	12日齡 (攻毒 前)	14日齡	16日齡	19日齡	22日齡	26日齡	9日齡 (免疫 前)	12日齡 (攻毒 前)	26日齡 (犧牲)
1-1	活	-	-	-	-	-	+	-	256	64	16
1-2	活	-	-	+	+	+	+	-	< 2	4	>2,048
1-3	活	-	-	-	+	-	-	-	32	8	512
1-4	活	-	-	-	+	-	-	-	8	8	1,024
1-5	活	-	-	-	+	-	-	-	32	16	>2,048
1-6	活	-	-	-	+	+	+	-	8	8	>2,048
1-7	活	-	-	-	+	+	-	-	256	128	16
1-8	活	-	-	-	-	+	-	+	64	8	512
1-9	活	-	-	-	+	+	+	-	4	4	>2,048
2-1	活	-	-	+	+	+	+	-	256	128	256
2-2	活	-	-	+	+	+	-	-	128	64	128
2-3	活	-	-	-	+	+	-	-	64	64	256
2-4	活	-	-	-	+	+	-	-	8	8	2,048
2-5	DPI 11	-	-	+	+	+	+	ND	32	2	ND
2-6	DPI 9	-	-	+	+	+	ND	ND	4	4	ND
2-7	DPI 11	-	-	+	+	+	+	ND	4	4	ND
2-8	活	-	-	-	-	+	-	-	256	64	512
2-9	活	-	-	-	+	+	-	-	8	16	>2,048
3-1	活	-	-	-	-	-	-	-	4	4	64
3-2	活	-	-	-	-	-	-	-	4	2	128
3-3	活	-	-	-	-	-	-	-	32	8	128
3-4	活	-	-	-	-	-	-	-	128	32	8
3-5	活	-	-	-	-	-	-	-	< 2	2	>2,048
3-6	活	-	-	-	-	-	-	-	16	32	256
4-1	活	-	-	-	-	-	+	+	< 2	4	>2,048
4-2	活	-	-	-	-	-	-	+	< 2	< 2	>2,048
4-3	活	-	-	-	-	-	+	+	8	< 2	>2,048
4-4	活	-	-	-	-	-	+	+	4	4	>2,048
4-5	活	-	-	-	-	-	+	+	16	< 2	64
4-6	活	-	-	-	-	-	+	-	< 2	32	8

編號1-1~1-9為免疫攻毒組、2-1~2-9為攻毒組、3-1~3-6為免疫組、4-1~4-6為無處理組。

DPI 11：表示為攻毒後第11天。

-：陰性。

+

ND：鵝隻死亡，無進行試驗。

## 雛鵝之水禽小病毒免疫試驗

表5、9日齡雛鵝免疫試驗之鵝隻臟器以PCR檢測GPV核酸結果

臟器 編號	心臟	肝臟	脾臟	肺臟	腎臟	腦	十二 指腸	腸中段	腸後段	華氏囊
1-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-2	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
1-3	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
1-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-5	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
1-6	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
1-7	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
1-8	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
1-9	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
2-1	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
2-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-3	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2-4	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
2-5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-6	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
2-7	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
2-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-1	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
3-2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
3-3	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-
3-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-5	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
3-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
4-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-3	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
4-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4-5	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
4-6	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-

編號1-1~1-9為免疫攻毒組、2-1~2-9為攻毒組、3-1~3-6為免疫組、4-1~4-6為無處理組。

-：陰性。

+：陽性。

表6、9日齡雛鵝免疫試驗之驗鵝隻體重標準差

組別	體重標準差							
	5日齡	9日齡	12日齡	14日齡	16日齡	19日齡	22日齡	26日齡
免疫攻毒組	25.7	46.0	68.6	64.0	93.3	122.4	153.9	179.4
攻毒組	24.3	52.2	73.2	74.1	94.3	232.2	310.1	296.8
免疫組	20.2	29.9	56.1	68.7	80.4	159.3	174.1	235.2
無處理組	18.9	30.6	51.3	67.0	71.3	75.8	144.6	230.3

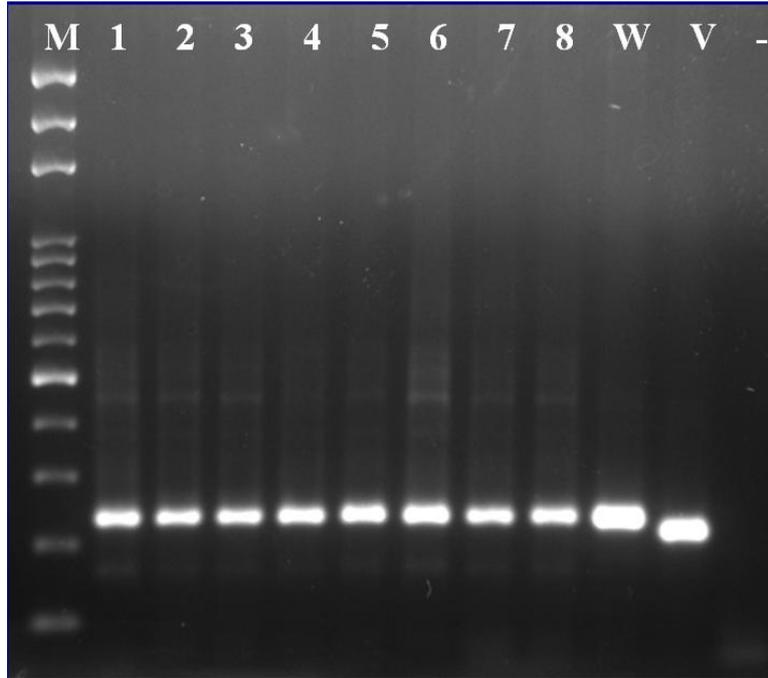


圖1、以PCR區分GPV野外毒或疫苗毒，結果顯示GPV核酸陽性訊號皆為野外毒。M：100 bp核酸標記，1~8：檢體，W：鵝源小病毒野外毒陽性對照，V：疫苗毒陽性對照，-：陰性對照。

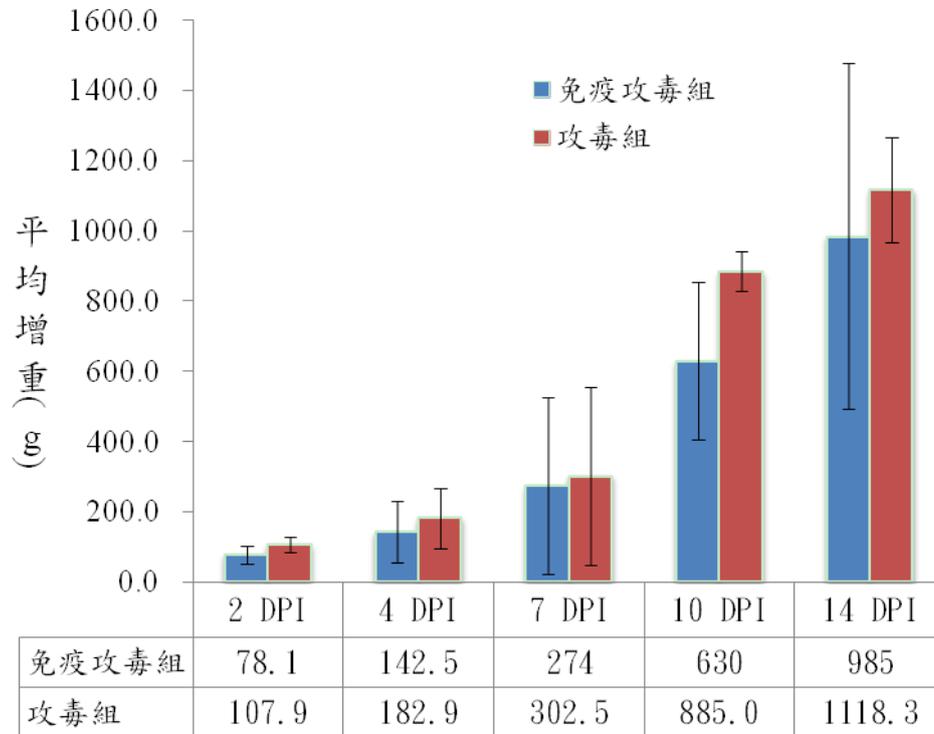


圖2、2日齡雛鵝免疫試驗：攻毒組之平均體重於試驗過程皆高於免疫攻毒組，且雛鵝之體重整齊度亦為攻毒組較佳（2 DPI：表示為攻毒後第2天）。

雛鵝之水禽小病毒免疫試驗

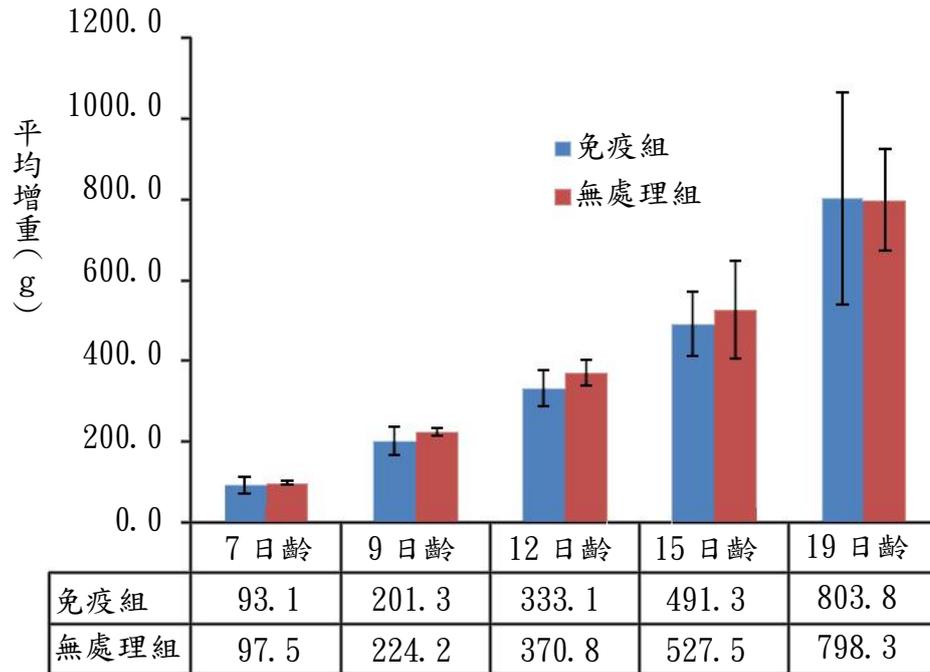


圖3、2日齡雛鵝免疫試驗：無處理組之平均體重於15日齡前高於免疫組，且雛鵝之體重整齊度亦為無處理組較佳。

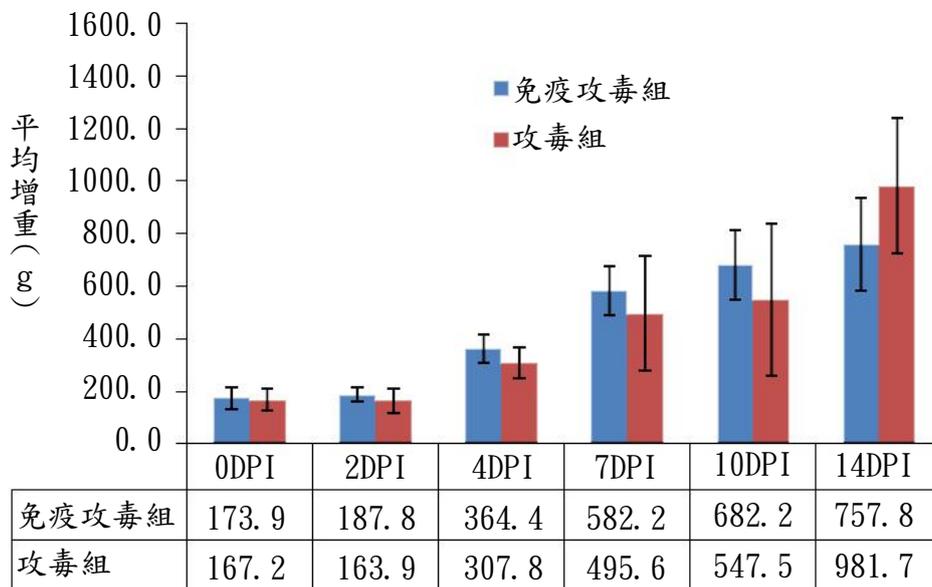


圖4、9日齡雛鵝免疫試驗：免疫攻毒組之平均增重於攻毒後第10日前高於攻毒組，但攻毒後14日以攻毒組之平均增重較佳，達顯著差異 ( $p < 0.05$ ) (2 DPI：表示為攻毒後第2天)，推測此乃因免疫試驗攻毒後9日，攻毒組鵝隻死亡達3隻，造成耐過鵝隻可獲得較高飼養空間與飼料量所致。

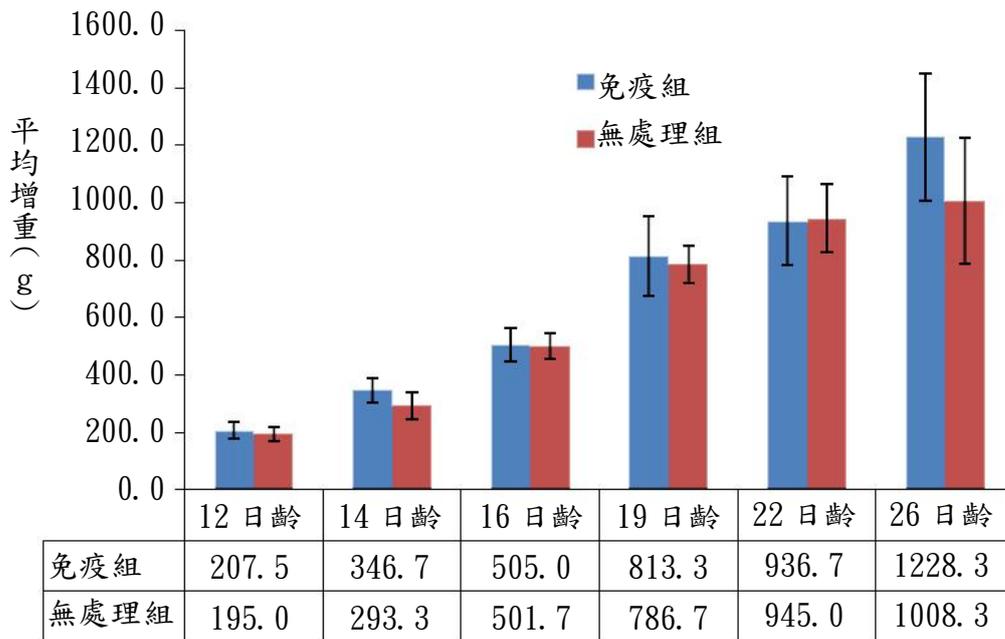


圖5、9日齡雛鵝免疫試驗：免疫組之平均增重高於無處理組。

## 參考文獻

1. 動物用藥品檢驗標準。中華民國102年12月31日行政院農業委員會農防字第1021474362號令修正發布。
2. 呂榮修。禽病診斷彩色圖譜。台北，中華民國養雞協會會刊雜誌社，167-177，1995。
3. 張照夫、蔡信雄、尤碧豔。肆虐本省之鵝病毒性腸炎。台灣畜牧獸醫學會會報42: 37-46, 1983.
4. Gough RE. Goose parvovirus infection. In: Saif, Y.M. ed. Diseases of Poultry. 11th ed. Iowa State University Press, Ames, IA, USA. p777-783, 2003.
5. Gough RE, Spackman D. Studies with a duck embryo adapted goose parvovirus vaccine. Avian Pathol. 11: 503-510, 1982.
6. Limn CK, Yamada T, Nakamura M, Takehara K. Detection of Goose parvovirus genome by polymerase chain reaction: distribution of Goose parvovirus in Muscovy ducklings. Virus Res. 42: 167-172.
7. Palya V, Zolnai A, Benyeda Z, Kovács E, Kardi V, Mató T. Short beak and dwarfism syndrome of mule duck is caused by a distinct lineage of goose parvovirus. Avian Pathol., 38: 175-180, 2009.
8. Takehara K, Ohshiro T, Matsuda E, Nishio T, Yamada T, Yoshimura M. Effectiveness of an inactivated goose parvovirus vaccine in Muscovy ducks. J Vet Med Sci. 57: 1093-1095, 1995.
9. Takehara K, Saitoh M, Kiyono M, Nakamura M. Distribution of attenuated goose parvoviruses in Muscovy ducklings. J. Vet. Med. Sci. 60: 341-344, 1998.
10. Woolcock PR, Jestine V, Shivaprasad HL. Evidence of Muscovy duck parvovirus in Muscovy ducklings in California. Vet. Rec., 146: 68-72, 2000.

## Study on immunization of waterfowl parvovirus vaccine in goslings

YP Chen<sup>\*</sup>, YC Tu, SH Lee, HJ Tsai

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

**Abstract** In order to understand the impact of age on the immunization in goslings, 2- and 9-day-old goslings were immunized with attenuated waterfowl parvovirus vaccine and challenged with virulent goose parvovirus (GPV) at three days post immunization. For 2-day-olds, there were 62.8% and 57.1% mortality rates in the immunized/challenged group and challenged group, respectively. The titers of the serum neutralization antibodies (SN Abs) against GPV before challenge of these dead goslings were lower than 2. Nine-day-old goslings had zero and 33.3% mortality rates in the immunized/challenged group and challenged group, respectively. The titers of the SN Abs against GPV before challenge of dead goslings were 2-4. We suspect that the mortality of goslings was related to the titers of SN Abs against GPV. Moreover, according to the results of PCR, we suspected that immunization in goslings could not prevent infection by GPV. Comparison between the immunization in 2-day-old and 9-day-old goslings showed that the latter seems to have had fewer adverse reactions, such as body weight change, GPV infection rate and virus shedding. According to the results of the study, GPV is endemic on goose farms in Taiwan and stringent measures to control GPV infection such as immunizing breeder flocks and enhanced biosecurity and management guidelines are needed.

**Keywords:** *goose parvovirus, immunization, challenge, antibody titers, weight gain.*

