

最少疾病番鴨之疾病篩除與生產供應⁽¹⁾

張惠斌⁽²⁾⁽³⁾ 張喬茵⁽²⁾ 魏良原⁽²⁾ 張怡穎⁽²⁾ 劉秀洲⁽²⁾

摘要：本研究旨在建立最少疾病番鴨族群，以生產生醫用胚蛋與雛鴨供應國內生醫產業資材所需。自 2011 年起透過白色番鴨畜試一號族群作為試驗族群，於番鴨 12、28 與 40 週齡時進行鵝源水禽小病毒（goose parvovirus, GPV）、鴨源水禽小病毒（Muscovy duck parvovirus, MDPV）與鴨肝炎病毒（duck hepatitis virus, DHV）疾病抗體檢測，並篩除抗體陽性鴨隻，至今已進行 7 個世代。利用微衛星標記檢測進行最少疾病番鴨族群遺傳分析，平均每基因座僅具有 2.27 個交替基因，顯示最少疾病番鴨族群遺傳變異性較低。2011 年，12 週齡鴨隻鵝源水禽小病毒與鴨源水禽小病毒抗體陽性率分別為 81 與 86.3%，至 2017 年已降至 0%；2012 年 12 週齡鴨隻鴨病毒性肝炎抗體陽性率為 87.9%，至 2017 年已降至 1.7%，顯示監控模式可穩定維持試驗鴨群之清淨度。試驗鴨群生產之胚蛋用於鵝源水禽小病毒活毒疫苗之抗體力價檢測為 106.4 (EID₅₀/ml)；鵝源水禽小病毒抗體製劑之安全及效力試驗結果顯示，胚蛋經攻毒後死亡率達 90%，經應用端評估最少疾病番鴨胚蛋品質優良，適合商業化生產水禽小病毒活毒疫苗。2011 至 2017 年，生醫用胚蛋及雛鴨推廣量分別為 989、1,627、3,926、4,241、1,103、1,714 與 2,468 枚（隻），顯示本研究成功建立最少疾病番鴨族群，並可穩定生產國內生醫用高品質番鴨胚蛋與檢定用雛鴨，供疫苗研發、生產與檢定之需求。

（關鍵語：最少疾病、番鴨、水禽小病毒）

⁽¹⁾ 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2781 號。

⁽²⁾ 行政院農業委員會畜產試驗所宜蘭分所。26846 宜蘭縣五結鄉季水路 28 之 1 號。

⁽³⁾ 通訊作者，E-mail：wpchang@mail.tlri.gov.tw。

緒 言

水禽小病毒感染症 (waterfowl parvovirus infection) 與鴨病毒性肝炎 (duck viral hepatitis, DVH) 是水禽常見且重要的疾病。水禽小病毒感染症於 1982 與 1989 年發生大流行, 鴨肝炎性病毒則於 1972 與 1990 年發生大流行, 這些疾病都使雛鴨與雛鵝大量死亡, 對水禽產業造成莫大的衝擊 (林, 1995; 呂, 1995)。水禽小病毒感染症係指由鵝源水禽小病毒 (goose parvovirus, GPV) 或鴨源水禽小病毒 (Muscovy duck parvovirus, MDPV) 所引起的疾病, 鵝與番鴨對於 GPV 具有高感受性, MDPV 對所有鴨種具有感受性, 對鵝則無感受性 (Gough *et al.*, 2005)。感染水禽小病毒之雛禽在臨床症狀上呈現腸炎、水樣性下痢、發育不健全與短嘴等症狀。鴨病毒性肝炎係由鴨肝炎病毒 (duck hepatitis virus, DHV) 所引起之疾病, 對雛鴨具有高死亡率, 感染鴨隻會出現肝炎等病徵 (Woolcock, 2008)。此二種疾病目前皆有活毒減毒疫苗可供種禽免疫 (曾, 2006; 施等, 2013), 透過種禽注射疫苗, 使雛禽獲得移行抗體, 然不同種禽場的雛鵝和雛鴨移行抗體力價皆不同, 造成部分幼禽仍有疫情發生; 部分嚴重污染場, 施打疫苗效果有限, 需配合被動免疫才能獲得更好控制 (施等, 2013)。因此, 家畜衛生試驗所持續開發用於預防水禽小病毒感染症與鴨病毒性肝炎等病毒性疾病的疫苗, 以提升臺灣水禽產業對疾病預防之用。而家畜衛生試驗所開發的疫苗生產技術, 需要以水禽小病毒感染症抗體陰性的番鴨胚蛋進行生產, 惟臺灣尚未有能穩定提供清淨胚蛋來源, 為克服此問題, 畜試所宜蘭分所開始建立無水禽性小病毒與鴨病毒肝炎抗體檢出的最少疾病番鴨族群 (minimal-disease Muscovy duck), 簡稱 MD 番鴨 (劉等, 2006; 魏等, 2009), 以生產清淨胚蛋與試驗雛鴨供疫苗開發與生產之用, 並透過持續改善最少疾病番鴨飼養舍飼養環境、生產管理、疾病監測與防疫衛生等, 以改進番鴨生長環境與生產品質。本研究透過改善飼養管理標準作業流程, 生物安全防疫措施及疾病監測, 持續改善最少疾病番鴨族群生產品質, 並供應國內生醫用胚蛋之需求。

材料與方法

一、動物飼養管理

(一) 試驗族群：

最少疾病番鴨族群選育自畜產試驗所宜蘭分所白色番鴨畜試一號 (L302) 第 13 代。

(二) 族群繁殖：

試驗鴨隻分為 4 個群組, 平均每組公鴨 5 隻及母鴨 30 隻, 每組共計 35 隻, 每世代試驗鴨隻共計 140 隻。於鴨隻 40 週齡起, 進行次世代試驗鴨群繁殖, 採用輪迴、自然配種。

(三) 飼養管理：

鴨隻 0 至 4 週齡為育雛期, 期間餵飼育雛期飼料 (粉狀, CP 19.5%, ME 2,909 kcal/kg, 任飼), 提供 24 hr 之保溫措施; 5 至 26 週齡為育成期, 餵飼育成生長期飼料 (粒狀, CP 13.5%、ME 2,660 kcal/kg, 任飼); 27 週齡起, 母鴨平均產蛋 5% 後, 鴨隻進入產蛋期, 改餵飼產蛋期飼料 (粒狀, CP 20%、ME 2,712 kcal/kg, 任飼), 鴨隻各生長階段飼糧組成如表 1。試驗鴨隻全期飼養於密閉式環控水簾鴨舍。各階段期間, 皆以人工光照替代自然

光照，於育雛期每日提供人工照明 24 hr，育成期給予人工光照為 12 hr/day，直至產蛋期開始，產蛋期開始每週增加人工光照 30 min，直至光照時間達 17 hr/day。飼養溫度調控於鴨隻 1 週齡內維持 30-34°C，於 2 週齡時維持 28-30°C，於 3 週齡為持 24-28°C，於 3 週齡後維持 22-24°C，飼養環境全程環境相對濕度約為 90%。

表 1. 最少疾病番鴨各生長階段飼糧組成

Table 1. The composition of basal diet for minimal-disease Muscovy duck

Item	Basal diet		
	Stater (0-4 wk)	Grower (4-26 wk)	Laying stage
Ingredients (kg/100 kg)			
Yellow corn	55.3	51.7	49.7
Soybean meal, 44%	25.3	10	27
Wheat bran	-	10	6.5
Barley meal	10.3	20	-
Fish meal, 60%	2	-	3.3
Yeast powder	3	2	2
Rice hull	-	2.4	-
Dicalcium phosphate	1.1	1.5	1.5
Limestone, pulverized	1.1	1.6	6.6
Salt	0.3	0.3	0.4
Soybean oil	1.1	-	2.5
Premix	0.5 ^a	0.5 ^a	0.5 ^b
Calculated values			
Crude Protein, %	19.5	13.5	20
ME, Kcal/kg	2,909	2,660	2,712

^a Supplied per kilogram of diet: vitamin premix (Roche PF-428/1), 30 g; mineral premix (DSM RTM230), 100 g; Choline Chloride (50%), 80 g; DL-Methionine, 50 g; yellow corn, 240 g.

^b Supplied per kilogram of diet: vitamin premix (Roche PF-428/1), 30 g; mineral premix (DSM RTM230), 100 g; Choline Chloride (50%), 80 g; DL-Methionine, 50 g; L-Lysine-HCl, 2.5 g; Carophyll, 3 g; yellow corn, 234.5 g.

(四) 人工光照照度為 206 ± 34 lux：

飼養管理程序皆參照本分所最少疾病番鴨 (L305) 生產標準作業程序操作及實驗用畜禽生產標準化生產供應作業指南 (魏, 2010)。

(五) 鴨舍消毒清潔程序：

分別於生醫用鴨舍川堂入口處、鴨舍入口處與飼養區高床入口處各設置腳踏消毒槽，並分別使用稀釋 1,000 倍之兩性消毒水、衛可消毒水與碘液消毒水，腳踏消毒槽之消毒水每週更換乙次。鴨隻飼養區消毒採用每日消毒，於每日上午鴨舍沖洗完成後，以手動消毒設施噴灑消毒水，消毒水使用稀釋 1,000 倍之衛可、次氯酸鈉溶液與無機碘溶液，每週輪替消毒。

二、測定項目

(一) 遺傳性能監測：

自試驗動物之翅靜脈採集新鮮血液，利用 EasyPure Genomic DNA mini kit (Bioman, Taiwan) 依說明書指示進行基因組 DNA 之萃取。所得基因組 DNA 置入 -20°C 保存備用。本試驗利用之褐色菜鴨微衛星標記如表 2 (Hsiao *et al.*, 2008)，包括 APT001、APT004、APT008、APT010、APT012、APT017、APT020、APT025、APT026、APT032 及 APT033，共 11 組。針對上述萃取所得之基因組 DNA 進行 PCR 反應，其反應總體積為 15 μ L，其中包含 50 ng 模板基因組 DNA、正反引子各 0.2 μ M、1 \times PCR buffer、1.5 mM MgCl₂、0.2 mM dNTP、及 0.025 U Taq DNA polymerase (Takara, Japan)。反應條件為 95°C 變性 10 分鐘，接著進行 30 次以下循環，包括 94°C 變性 20 秒；除 APT025 及 APT026 兩組引子之鍊合溫度為 50°C，其餘 9 組標記皆為 60°C，時間為 30 秒；72°C 延伸 30 秒，最後再以 72°C 延伸 5 分鐘。PCR 反應後，以 1.5% 瓊脂醣膠體進行電泳確認產物，再使用 ABI 3730 序列分析儀辨別 PCR 產物片段大小，並以 Peak Scanner v1.0 software (Applied Biosystems, USA) 進行基因型判別。

表 2. 本試驗使用之 11 組褐色菜鴨衛星標記之引子資訊

Table 2. Primer sequences of the 11 Brown Tsaiya microsatellite markers in this study

Locus ^a	Primer sequences (5' → 3')	Ta (°C) ^b	Duck genome scaffold no. c
APT001	F: GTCCCACTGGTTTGCTGTCC R: ACTACGCATGGCAGTGAGGTT	60	1,509
APT004	F: GGGCAGGAAAATCTCCTGAAT R: TCTCAGTGGCTGAGCGGTC	60	192
APT008	F: CAAAGAAATCCTAGAACATCATTCAAAT R: TCTTCTGGCTTTTCACCTTAGTTTAGTA	60	358
APT010	F: CACTCAGGCTTTTAGGTCCATTAATA R: CATCTGAGAATGCACTTACTGTCAAA	60	1,199
APT012	F: TTGAGCCTCAGGTTCTAAACTCCTA R: TCATAACATTTTCAGACCAGTTTTTCAGA	60	5
APT017	F: TGGATGGACAGACGGGTGA R: TGGAAAGTTTTGATTTCTAGTGCTTACA	60	481
APT020	F: TTCCAAGTTTGTCATGCCAATAGA R: CTGACCATGTTAGGGCGTTTTAG	60	197
APT025	F: TCCTAAGAAACGTTGCTTCATAGACC R: GAGTTAAGCTTCATCACTCTGTGACTG	50	121
APT026	F: CCCTGAAAGGCTGTTTTATATATCCA R: ATGTAAATAAAGTAGCCTTGCACGGT	50	477
APT032	F: TCACTTTCTTGACTCTCCTTGTTTT R: TGACTTGAATTCTGTTTCAGGATAAATG	60	45
APT033	F: CTTACCCCTACCTCATAAGGAAGT R: ATTCCAAATCTGCAAGGTGAGTATTA	60	14

^a Hsiao *et al.* (2008), developed from Tsaiya duck.

^b Annealing temperature.

^c The orthologous microsatellites in the duck genome scaffold.

(二) 病原監測：

分別於番鴨 12、28 與 40 週齡時以翅靜脈採血方式進行血清採集，所採集之血液樣品以離心機 (Thermo IEC MUTIL-RF220v, USA) 1,000 × g 離心 10 分鐘後，取得血清。血清樣本送行政院農業委員會家畜衛生試驗所進行疾病檢測，檢測項目包括鵝源水禽小病毒 (goose parvovirus, GPV)、鴨源水禽小病毒 (Muscovy duck parvovirus, MDPV) 與鴨病毒性肝炎 (duck viral hepatitis, DVH)。以血清中和抗體檢測鵝源小病毒與鴨源小病毒，以病毒中和試驗檢測鴨病毒性肝炎。並依據檢測結果，剔除抗體陽性鴨隻。

鵝源水禽小病毒與鴨源水禽小病毒抗體檢驗步驟為待測血清經 56°C 去活性化 30 分鐘後，以 MEM 連續 2 倍稀釋，另水禽小病毒病毒液稀釋為 100 TCID₅₀ 等量加入稀釋之血清，置 37°C 反應 60 分鐘，再加入 0.2 mL 鴨纖維母細胞，接種之細胞置 37°C 繼續培養 6 日後，以甲醛固定後加入 0.5% 結晶紫液染色，各孔細胞若出現有細胞病變效應，則視該抗體濃度未具中和能力之示。最高稀釋倍數仍具有中和能力之稀釋被倍數則為抗體之力價。

鴨病毒性肝炎抗體檢驗步驟為待測血清經 56°C 去活性化 30 分鐘後，以 MEM 行 10 倍稀釋，另置 DHAV-1 病毒液也以 MEM 進行 10 倍之連續稀釋。各稀釋病毒液加入等量稀釋血清，置 37°C 反應 60 分鐘，再分別各取 0.1 mL 接種於鴨腎臟初代細胞以進行病毒中和抗體力價。測定：每階段稀釋接種 4 孔鴨腎臟初代細胞，接種之細胞置 37°C 繼續培養 6 日後，以甲醛固定後加入 0.5% 結晶紫液染色，各孔細胞若出現有細胞病變效應，則視該抗體濃度未具中和能力之示。血清作用後可中和之病毒力價即為該抗體力價。

(三) 年度推廣量：

MD 番鴨生產之胚蛋，在貯藏前皆使用中性的消毒水輕微擦拭，降低污染源以提高孵化率。並依客戶端需求，進行胚蛋孵化至指定胚齡，透過火車、宅配或人員親送至客戶端。記錄統計每年推廣數量，並向疫苗廠商回收病毒接種試驗結果。廠商試驗結果包括接種前胚蛋中止數、尿囊液採集量 (ml/egg)、病毒力價 (EID₅₀/ml) 與水禽小病毒攻毒後死亡率 (%)。

三、統計分析

試驗資料利用 SAS (2004) 統計套裝軟體之一般線性模式進行變方分析，並以 Duncan's Multiple Range Test 比較各組間差異之顯著性。

結果與討論

一、遺傳性能監測

MD 番鴨族群自建立以來未引進外來新種原，為監測族群遺傳變異性情況，本試驗利用微衛星檢測進行 MD 番鴨族群遺傳分析，結果如表 3 所示，包括 APT001、APT004、APT010 已完全固定 (fixed)，11 組標記中僅有 3 組標記具 3 個以上交替基因，APT012 則發現疑似無效等位基因 (null allele)，其基因頻率佔該基因座之 22%。共觀察到 25 個交替基因，平均每基因座僅具有 2.27 個交替基因。與宜蘭分所飼育之保種褐色菜鴨 (劉，2011)、褐色菜鴨畜試一號 (劉，2012)、保種白色菜鴨、宜蘭白鴨臺畜一號 (張，2014) 及五結黑色番鴨 (劉，2013) 等結果，以 MD 番鴨之交替基因數最少，顯示 MD 番鴨族群遺傳變異性較低。

表 3. 最少疾病番鴨 (N = 27) 觀測之交替基因與交替基因頻率一覽表

Table 3. Observed alternate gene and alternation gene frequency of minimal-disease Muscovy duck (N = 27)

APT001	APT004	APT008	APT010	APT012	APT017	APT020	APT025	APT026	APT032	APT033
Size ¹ Freq ² .	289 1.00	163 0.67	184 1.00	162 0.13	166 0.11	169 0.72	116 0.02	132 0.15	201 0.67	221 0.74
		175 0.09		178 0.65	170 0.89	185 0.28	128 0.30	136 0.19	209 0.33	225 0.26
		179 0.24		null 0.22			132 0.44	140 0.39		
							136 0.02	148 0.28		
							140 0.22			

¹ Fragment size of PCR product.² Allele frequencies.

二、疾病監測

最少疾病番鴨族群定期於鴨隻生長期、性成熟與族群繁殖時（12、28 與 40 週齡），進行鵝源小病毒、鴨源小病毒與鴨病毒性肝炎疾病抗體檢測，自 2011 年至 2017 年最少疾病番鴨疾病抗體檢測結果如圖 1、圖 2 與圖 3 所示。水禽小病毒對具有高度的環境抵抗力，經過乙醚、氯仿、pH 3.0 酸處理、pH 10.0 鹼處理或在 65°C 維持 30 分鐘的環境下，仍不會降低其病毒力價（Takehara *et al.*, 1994），鴨肝炎病毒對氯仿與甲醛亦具有抵抗力。幼禽要預防此二種疾病的感染，最好的方式是種禽施打疫苗與隔離病禽（Takehara *et al.*, 1995；woolcock, 2008）。本分所飼育之最少疾病番鴨族群所生產之胚蛋與雛鴨，主為供應生醫產業應用，因此為提升鴨群生產品質，透過隔離病原種禽與環境消毒以達到族群清淨無水禽小病毒之狀態，為此最少疾病番鴨族群自 2011 年起由傳統水簾式鴨舍移進密閉式環控飼養舍，並透過嚴格的人員進出管制、環境消毒與疾病篩檢等措施，以確保族群及生產之胚蛋為清淨等級。據歷年的監測結果所示，2011 年，此時番鴨尚未移進密閉式環控飼養舍，12 週齡時鵝源小病毒與鴨源小病毒之抗體陽性率分別為 81 與 86.3%，顯示族群此時具有高比例的染病鴨隻。於 20 週齡時，鴨群移進密閉式環控飼養舍，但尚未進行鴨隻篩除，於 28 週齡檢測結果，鵝源小病毒與鴨源小病毒之抗體陽性率分別為 92.5 與 85.6%，並依檢測結果淘汰陽性鴨隻。經淘汰陽性鴨隻後，40 週齡檢測結果，鵝源小病毒與鴨源小病毒之抗體陽性率分別為 0 與 0%，並於此時開始集蛋以繁殖次世代族群。2012 年，次世代族群於 12 週齡時之檢測結果，鵝源小病毒與鴨源小病毒抗體陽性率分別為 3.4 與 8.7%，對比 2011 年時的 81 與 86.3%，顯示經過篩除抗體陽性鴨隻，可大幅降低水禽小病毒抗體陽性率。觀察 2012 至 2015 年，28 週齡鴨隻疾病抗體檢測結果，鵝源小病毒分別為 1.5、0、0 與 1.8%，鴨源小病毒分別為 2.3、1.4、0.8 與 0%；40 週齡鴨隻疾病抗體檢測結果，鵝源小病毒分別為 2.9、6.9、0.7 與 0%，鴨源小病毒分別為 0、2.3、5.5 與 0%。顯示 2012 至 2015 年，水禽小病毒仍有一定比例存在最少疾病番鴨族群內，此時期透過淘汰陽性鴨隻、密集消毒程序與人員進出管制，於 2016 年後，3 個檢測週齡皆無水禽小病毒抗體陽性之鴨隻。結果顯示，在不施打疫苗情況下，透過強化生物安全措施約經 4 至 5 世代，可剔除族群內的水禽小病毒。

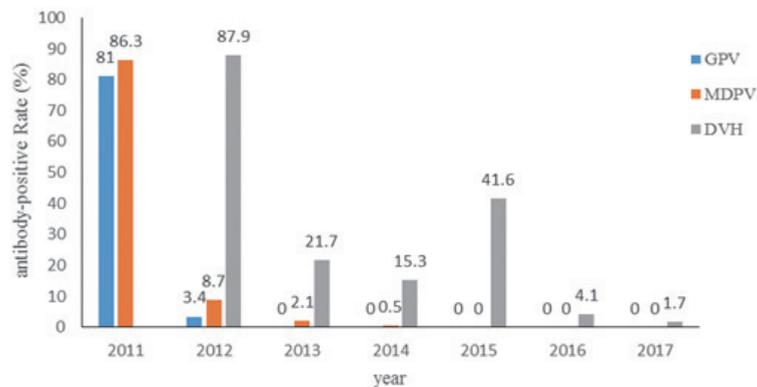


圖 1. 2011 至 2017 年 12 週齡鴨隻之鵝源水禽小病毒、鴨源水禽小病毒與鴨病毒性肝炎抗體陽性率。

Fig. 1. The antibody-positive rate of GPV, MDPV and DHV of 12-week-old duck from 2011 to 2017.



圖 2. 2011 至 2017 年 28 週齡鴨隻之鵝源水禽小病毒、鴨源水禽小病毒與鴨病毒性肝炎抗體陽性率。

Fig. 2. The antibody-positive rate of GPV, MDPV and DHV of 28-week-old duck from 2011 to 2017.

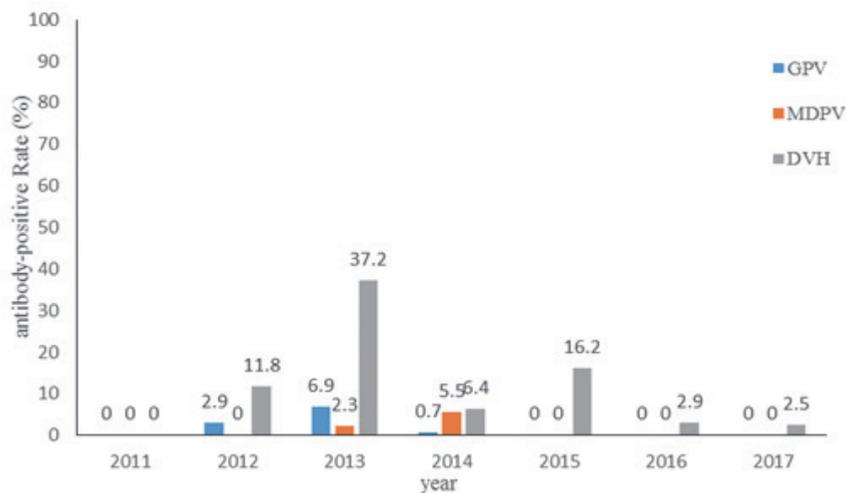


圖 3. 2011 至 2017 年 40 週齡鴨隻之鵝源水禽小病毒、鴨源水禽小病毒與鴨病毒性肝炎抗體陽性率。

Fig. 3. The antibody-positive rate of GPV, MDPV and DHV of 40-week-old duck from 2011 to 2017.

2012 年，最少疾病番鴨族群亦進行鴨病毒性肝炎的抗體檢測，並透相同的陽性鴨隻篩除、環境消毒方式與人員進出管制等處理。2012 年，12 週齡鴨隻鴨病毒性肝炎抗體陽性檢測結果為 87.9%，經篩除後，於 40 週齡檢測結果為 11.8%，隔年（2013 年）次世代族群之 10 週齡抗體檢測結果為 21.7%，較上世代同週齡抗體陽性率低；28 週齡抗體陽性率降為 10.6%；於 40 週齡檢測結果則為 37.2%，較 10 週齡檢測結果抗體陽性率高。為強化飼養舍消毒作業飼養舍消毒程序，參考澎湖縣家畜疾病防治所病例報告建議，使用衛可進行鴨舍消

毒以防治水禽小病毒（李，2011），亦可利用次氯酸鈉抑制鴨肝炎病毒感染（Tsiquaye and Barnard, 1993），為了進一步維持鴨舍清潔與輪替消毒，使用碘劑作為第三種飼養舍消毒劑，最少疾病番鴨飼養舍消毒作業程序便採用衛可、次氯酸鈉溶液與無機碘溶液每週輪替消毒，並持續篩除抗體陽性鴨隻。觀察 2014 至 2017 年各代新生鴨隻 10 週齡鴨病毒性肝炎的抗體檢測，抗體陽性率分別為 15.3、41.6、4.1 與 1.7%，28 週齡檢測結果分別為 5.9、13.3、0.8 與 0.8%，40 週齡時檢測結果為 6.4、16.2、2.9 與 2.5%，顯示族群中的鴨病毒性肝炎抗體陽性率已持續改善。觀察同一年度 3 個檢測週齡之鴨病毒性肝炎抗體陽性率，顯示 10 週齡抗體陽性率最高，其次為 40 週齡，最低為 28 週齡，此原因可能為在清除抗體陽性鴨隻時，環境依然存有病原，致使清淨鴨群仍曝露在感染的環境中，而於鴨隻 28 週齡後，鴨群已進入交配期，個體間的互動更加頻繁，病原的傳染程度上升，導致於 40 週齡時的抗體檢測結果較 28 週齡高。經過多年的消毒程序與選留機制尚未能完全剷除鴨肝炎性病毒感染，而有研究指出受到鴨肝炎性病毒之器具，透過氧化氯氣體可有效降低鴨肝炎性病毒感染（Vickery *et al.*, 1999），未來將嘗試在不影響族群大小、胚蛋供應與現場人員操作的安全下，使用不同消毒劑或消毒方式防治鴨肝炎性病毒以強化鴨群的清淨程度。

三、胚蛋病毒力價增殖結果

最少疾病番鴨之胚蛋主要供應民間疫苗廠商進行疫苗生產與製作試驗，其用於水禽小病毒接種於番鴨胚蛋試驗結果如表 4 與表 5，顯示 2011 至 2015 年期間，病毒力價為 106.5 EID₅₀/ml，於 2016 年，病毒力價稍降低 106.4 EID₅₀/ml，各年份間的病毒力價無顯著差異（ $P > 0.05$ ）。病毒培養之尿囊液採集量檢測結果，於 2011 至 2014 期間平均每顆胚蛋可收集到 11.4 至 11.5 ml/egg，2015 與 2016 年尿囊液的採集量分別呈現 12.1 與 10.4 ml/egg，與其他年份呈顯著差異（ $P < 0.05$ ），造成尿囊液採集量變化的原因，可能為運輸過程中的造成胚蛋損壞，或胚蛋的大小而受到影響。2017 年，水禽小病毒接種於最少番鴨胚蛋試驗結果（GP-IGY 的安全效力檢驗）（表 4），結果顯示，3 日齡以內死亡率達 89%。經評估此正番鴨蛋的品質優良，且無水禽小病毒（GPV）病毒感染，適合用於水禽小病毒抗體製劑效力試驗。

表 4. 2011 至 2016 年 GPV 接種於 MD 番鴨胚蛋之病毒尿囊液採集量與病毒力價評估
Table 4. The allantoic fluid and virus titer of the optimal propagation of GPV in MD Muscovy duck embryos from 2011 to 2016

year	Embryo	No. of dead embryo (Before inoculation)	allantoic fluid (ml/egg)	virus titer log (EID ₅₀ /ml)
2011	293	31 (10.6%)	11.4 ± 0.2 ^{a*}	6.5 ± 0.2
2012	602	101 (16.7%)	11.2 ± 0.1 ^a	6.5 ± 0.2
2013	506	113 (22.3%)	11.5 ± 0.1 ^a	6.5 ± 0.1
2014	1,174	77 (6.6%)	11.3 ± 0.1 ^a	6.5 ± 0.2
2015	477	67 (14%)	12.1 ± 0.0 ^b	6.5 ± 0.0
2016	819	101 (12.3%)	10.4 ± 0.0 ^c	6.4 ± 0.1

* Mean ± SD.

^{a, b} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

表 5. 2017 年 GPV 接種於 MD 番鴨胚蛋之安全效力試驗

Table 5. The optimal propagation of GPV in MD Muscovy duck embryos in 2017

batch	Embryo	No. of dead embryo (before inoculation)	Effective number of eggs	mortality rate (after inoculation)
1	100	10	90	90%
2	120	14	106	88%
total	220	24	196	89%

四、年度推廣數量

自 2011 年起，本分所每年分所每年於最少疾病番鴨繁殖季節（4 至 9 月）期間，供應之胚蛋及試驗用雛鴨數量如圖 1。於 2011 年至 2014 年，MD 番鴨推廣數量隨著市場需求與 MD 番鴨族群生產品質改善（表 3），推廣數量逐年上升，2011 至 2014 年推廣總量分別為 989、1,627、3,926 與 4,241 枚（隻）。於 2015 年，因臺灣地區爆發 H5N2、H5N3 及 H5N8 等新型禽流感病毒（蔡，2015），約有 930 場禽場與 490 萬隻禽隻受影響，該年度國內水禽飼養戶與飼養隻數大量減少，水禽幼雛生出隻數亦降低，進而影響國內水禽小病毒疫苗的需求量，疫苗生技廠商產量對胚蛋的需求量亦降低，此年推廣量降至 1,103 枚（隻）。2016 年起，隨著國內水禽產業的復甦，疫苗與胚蛋需求量亦增，推廣總量為 1,714 枚（隻）。2017 年則穩定回復供應量，推廣總量達到 2,468 枚（隻），較前年成長了 144%。近年，本所飼育之最少疾病番鴨每年均可供應至少 1,000 枚（隻）以上的胚蛋或雛鴨，供國內疫苗製劑廠商或學術單位使用。由廠商回傳疫苗生產結果資料，估計最少疾病番鴨生產之清淨胚蛋每 100 枚可製成商品化之水禽小病毒活毒疫苗 500 瓶，而每瓶疫苗可施打 500 劑，共計 25 萬劑。以市售價格水禽小病毒活毒疫苗每劑 2.4 元，最少疾病番鴨每年可供應 1,000 枚胚蛋計算，則可生產出 250 萬劑水禽小病毒活毒疫苗，可增加疫苗廠商 600 萬元收益。250 萬劑疫苗可供 125 萬隻水禽接種以預防水禽小病毒感染症，且新生幼雛可至接種之種禽上獲得移行抗體，確保幼雛健康。本分所飼育之最少疾病番鴨族群有助穩定國內水禽水禽小病毒疫苗生產與水禽產業發展。

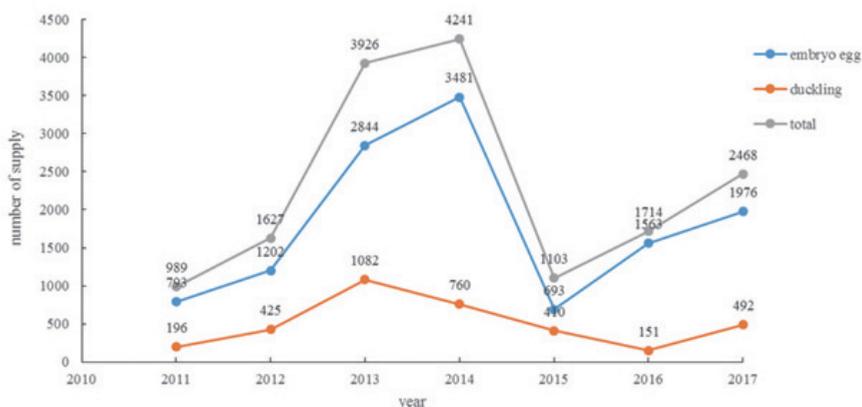


圖 4. 2011 至 2017 年最少疾病番鴨胚蛋與雛鴨推廣量。

Fig 4. The supply variations for MD Muscovy duck embryo egg and duckling from 2011 to 2017.

結 論

本研究透過病禽隔離與環境消毒等措施，不施打水禽小病毒疫苗，成功篩除番鴨族群的水禽小病毒，達水禽小病毒抗體檢測為陰性，並建立最少疾病番鴨族群生產與管理模式，可供生醫產業與學術單位參考，生產之清淨胚蛋與雛鴨亦可供動物試驗、疫苗開發及生醫研究用，促進國內生醫產業的發展。

參考文獻

- 呂榮修。1995。禽病診斷彩色圖譜。臺北，中華民國養雞協會。pp. 55-64。
- 李佳霖、白又文、郭仁政。2011。澎湖縣家畜疾病防治所病例報告 - 正番鴨感染鵝小病毒症。動物衛生報導。N0.6：19-24。
- 林茂勇。1995。禽病檢查手冊。臺北。藝軒。pp. 303-314。
- 施雨華、曾俊憲、許愛萍、黃天祥。2013。鴨病毒性肝炎及水禽小病毒多價卵黃抗體之研發。家畜衛試所研報 No.48：39-48。
- 張怡穎。2014。保種鴨群與經濟性狀選育鴨群遺傳歧異度之比較。行政院農業委員會畜產試驗所 103 年度科技計畫研究報告。
- 曾俊憲。2006。水禽小病毒感染症及期疫苗之研發。農政與農情 173：91-93。
- 蔡同榮。2015。臺灣高病原性家禽流感新病毒株之特徵。2015 禽流感國際研討會講義。
- 劉秀洲、李舜榮、張伯俊、謝快樂。2006。白色番鴨抗水禽小病毒族群之建立。中畜會誌 35（增刊）：132。
- 劉秀洲。2011。保種鴨群遺傳歧異度之監控。行政院農業委員會畜產試驗所 100 年度科技計畫研究報告。
- 劉秀洲。2012。保種鴨群遺傳歧異度之監控。行政院農業委員會畜產試驗所 101 年度科技計畫研究報告。
- 劉秀洲。2013。保種鴨群遺傳歧異度之監控。行政院農業委員會畜產試驗所 102 年度科技計畫研究報告。
- 魏良原、劉秀洲、蕭孟衿、張伯俊、李舜榮。2009。最少疾病白色番鴨族群建立。中畜會誌 38（增刊）：158。
- 魏良原。2010。最少病原番鴨的照養管理。實驗用畜禽生產標準化生產供應作業指南。中華實驗動物學會，臺北市，pp. 113-124。
- Anderson, KE. and AW. Adams. 1994. Effects of floor versus cage rearing and feeder space on growth, long bone development, and duration of tonic immobility in single comb White Leghorn pullets. *Poult. Sci.* 73(7): 958-964.
- Gough, D., V. Ceeraz, B. Cox, V. Palya and T. Mato. 2005. Isolation, identification of goose parvovirus in the UK. *Vet. Rec.* 156 (13): 424.
- Gough, RE. and D. Spackman. 1982. Studies with a duck embryo adapted goose parvovirus vaccine. *Avian Pathol.* 11: 503-10.
- Hsiao, M. C., H. C. Liu, Y. C. Hsu, Y. H. Hu, S. H. Li and S. R. Lee. 2008. Isolation and

- characterization of microsatellite markers in Tsaiya duck. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 21: 624-627.
- Tsiquaye, K. N. and J. Barnard. 1993. Chemical disinfection of duck hepatitis B virus: A model for inactivation of infectivity of hepatitis B virus. *J. Antimicrob. Chemother.* 32(2): 313-23.
- Takehara, K., K. Hyakutake, T. Imamura, K. Mutoh and M. Yoshimura. 1994. Isolation, identification, and plaque titration of parvovirus from Muscovy ducks in Japan. *Avian Dis.* 38(4): 810-815.
- Takehara, K., T. Ohshiro, E. Matsuda, T. Nishio, T. Yamada and M. Yoshimura. 1995. Effectiveness of an inactivated goose parvovirus vaccine in Muscovy ducks. *J. Vet. Med. Sci.* 57(6): 1093-1095.
- Vickery, K., A. K. Deva, J. Zou, P. Kumaradeva, L. Bissett and Y. E. Cossart. 1999. Inactivation of duck hepatitis B virus by a hydrogen peroxide gas plasma sterilization system: laboratory and 'in use' testing.
- Woolcock, P. R. 2008. Duck hepatitis. Pages 343-354 in *Diseases of Poultry*. Y. M. Sif, ed. Iowa State University Press, Ames.

Disease screening and production of minimal-disease Muscovy duck ⁽¹⁾

Wei-peng Chang ⁽²⁾⁽³⁾, Liang-Yuan Wei ⁽²⁾, Chiao-Ying Chang ⁽²⁾,
Yi-Ying Chang ⁽²⁾ and Hsiu-Chou Liu ⁽²⁾

ABSTRACT

The aim of this study was to establish a minimal-disease Muscovy duck colony to supply embryonic eggs and ducklings to be used as biomedical materials. White Muscovy LRI 1 has been used as experimental animals since 2011. All ducks were monitored for Goose parvovirus (GPV), Muscovy duck parvovirus (MDPV) and duck hepatitis virus (DHV) disease antibodies at 12, 28 and 40 weeks of age and those antibody-positive ducks were removed for 7 generations. The results of minimal-disease Muscovy duck microsatellite markers indicated that there were only 2.27 alternating genes per locus, which means genetic variability was low in this population. In 2011, the antibody positive rates of GPV and MDPV of 12-week-age duck were 81 and 86.3%, and the rates had both fallen to 0% by 2017. In 2012, the antibody positive rate of DHV of 12-week-age duck was 87.9%, and the rate had fallen to 1.7% by 2017. This result indicated that this monitoring mode could help maintain the cleanliness of experimental ducks. The results of Goose parvovirus inoculation in minimal-disease Muscovy duck embryo egg showed that the antibody titer was 106.4 (EID₅₀/ml) and the mortality rate of the embryo was 90%, which indicated the minimal-disease Muscovy duck eggs were suitable for commercial waterfowl parvovirus vaccine production. The extended results of the minimal-disease Muscovy duck embryo eggs and ducklings from 2011 to 2017 were 989, 1627, 3926, 4241, 1103, 1714 and 2468 eggs(birds), respectively. We believe that this study has successfully established a minimal-disease Muscovy duck population which can provide a stable supply of embryonic eggs and ducklings to the biomedical industry.

(Key Words: Minimal disease, Muscovy duck, Waterfowl parvovirus)

⁽¹⁾ Contribution No. 2781 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

⁽²⁾ Ilan Branch, COA-LRI, 28-1, Jehsin Village, Wuchieh, Ilan county 26846, Taiwan.

⁽³⁾ Corresponding author, E-mail: wpchang@mail.tlri.gov.tw.

