

# 台灣新城病病毒分離株之流行病學監控

李敏旭\* 鄭明珠 郭舒亭 丁履紉 陳燕萍 蕭終融

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

**摘要** 根據紀錄台灣有三次新城病大流行，分別在 1969、1984、1995 年。由先前計畫執行結果可見台灣新城病病毒株包括已知八個基因型中的 I、II、III、VI、VII、VIII 等六個。1969 年大流行除第 III 基因型外，亦有第 VI 基因型病毒存在，且第 VI 基因型病毒株流行於 1969-1987 年間。而 1984-1994 年間則以第 VII 基因型為主，1995 年大流行則有第 III、VII 基因型病毒流行，亦出現第 VIII 基因型病毒。1996 年後主要流行病毒群均屬於第 VII 基因型，而 1998-2003 年由雞群所分離之病毒株呈現高度集中之現象。今年我們從鴿子分離到第 VI 基因型病毒株，而從印尼進口鳥類分離到之第 VII 基因型病毒與台灣分離株比較其相似性在 87.7% 至 92.0% 間。本年度我們亦完成新城病第 VII 基因型病毒之基因體定序。

**關鍵字：**新城病病毒，反轉錄聚合 鏈反應，親緣分析

## 前 言

新城病是禽病中最常見之惡性傳染病之一，自 1926 年新城病被發現，已傳播至世界上大部分國家。此病在各地區之流行不大相同。如 1926 年英國發現新城病病例，至 1928 年後已不復見，但東南亞病毒株卻已向外傳播開來，概括而言，新城病被發現至今已發生三次世界性大流行，第一次自 1920 年代發現後三十年間，由東南亞地區向世界各地傳播 (Alexander, 1997)。第二次大流行起源於 1960 年代末期的中東，養禽事業及貿易行為之發展提供了重要的傳播因子。第三次大流行於 1980 年代前期，由中東向歐洲傳播 (Alexander, 1988; Collins *et al.*, 1996)。台灣最早於 1934 年由日本人星武提出新城病報告，而三次大流行分別發生在 1969、1984、1995 年，造成養禽業者重大損失 (Yang, 1999)。新城病病毒屬於禽類第一型副黏液病毒，只有單一血清型，而各個不

同時期的病毒株可經由單株抗體 (MAb) 區分成 A-D 群 (Ballagi-Pordany *et al.*, 1996)。但各群病毒間之關係並不明瞭。隨著生物技術的發展演進，應用 RT-PCR 及 RFLP 技術於 F 基因，可區分新城病病毒為六大類 (Ballagi-Pordany *et al.*, 1996)，經以 F2 基因序列演化之分析，則可分類成八個基因型 (Herczeg *et al.*, 1999)。在台灣，由楊等人針對 1995 年大流行所進行之分子流行病學分析 (Yang *et al.*, 1999)，結果顯示在 1969 年第一次大流行時其病毒株屬於第 III 基因型；1984 年第二次大流行時為第 VII 基因型；1995 大流行時則為第 III、VII 基因型而 1998-2002 年則集中於第 VII 基因型。本實驗之執行是為監測新城病在台灣之流行狀況，利用病毒株來進行分子演化分析，並且針對近年來台灣所流行之第 VII 基因型病毒進行全基因體定序解碼，藉由基因體的解碼可以確實地了解此病毒之基因蛋白組成，更可與以往所使用之疫苗株進行比較分析，一方面藉由已建立之分子流行病學監測模式配合家禽保健中心抗體的檢測提出適時的預警，以確保

\*抽印本索取作者

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

農戶生命財產、維持民生供需及社會之安定。另一方面，基因體的解碼及生物技術的發展將可進一步深入了解病毒或藉由生物技術來發展生技產業。

## 材料與方法

### 1. 病毒來源與增殖：

田間收集新城病病例及疾病監測、動物檢疫所分離之病毒株，經接種 9-11 日齡雞胚胎蛋以增殖病毒，並收集具血球凝集性之病毒株確認為 Newcastle disease virus (NDV) 後予以保存備用。

### 2. 病毒 RNA 之萃取

取 0.2 毫升之病毒液加入 1 毫升 Trizol® 試劑 (Invitrogen) 均勻混合後靜置 5 分鐘，加入 0.2 毫升 phenol / chloroform / isoamylalcohol (25 : 24 : 1)，混合均勻後以 12,000 rpm 離心 15 分鐘，取上清液至另一新管，加入等量之 isopropanol 待混合均勻後以 12,000 rpm 離心 20 分鐘，倒去上清液加入 70% 酒精以 1,200 rpm 離心 5 分鐘，去除液體後風乾或烘乾，再加入經 DEPC 處理過之水予以溶解。

### 3. 基因增幅、選殖及定序

利用目前已公開之新城病病毒全基因體序列進行引子設計 (Genbank Accession number : AF375823, AF309418, AF077761)，以單管 RT-PCR 增幅片段基因，並直接應用 TA cloning kit (Invitrogen) 將此片段基因與載體結合再轉殖入細菌中。利用載體上之引子 (M13) 進行菌落挑選增幅出預期產物，再經過鹼基螢光標示來解讀出核酸序列。

### 4. 序列分析

#### (1) 分子流行病學分析：

收集 GenBank 中各新城病病毒株之融合蛋白基因序列，選擇 F2 片段基因包含 F2-F1 切割序位之序列，將所收集之序列排列擷取相同基因長度配合所解讀出來之各分離病毒株序列進行基因比對與計算，再應用基因分析軟體 (DNASTAR 及 Phylip) 進行基因序列之比對及親緣樹之分析。

#### (2) 基因體分析：

收集 GenBank 中新城病病毒株之基因體序列共 5 株。2 株 B1 病毒株及 1 株 LaSota 病毒株屬第 II 基因型病毒，這兩種病毒株其病原性較低故常被當作疫苗

株使用。另 2 株為中國分離株 HB92 及 ZJ1。

### 5. 腦內接種病原指數 (intracerebral athogenicity indexes, ICPI)：

每株病毒用 10 隻 1 日齡無特定病原 (SPF) 小雞，以 10 倍稀釋的尿囊液，每隻腦內接種 0.1 mL，持續觀察 8 天，記錄其健康情形，計算腦內接種指數。

### 6. 靜脈接種病原指數 (intravenous pathogenicity indexes, IVPI)：

每株病毒用 10 隻 1 日齡無特定病原 (SPF) 小雞，以 10 倍稀釋的尿囊液，每隻靜脈接種 0.1 mL，持續觀察 10 天，記錄其健康情形，計算靜脈接種指數。

### 7. 反轉錄聚合 鏈反應之反應條件：

反應溶液為 10 倍緩衝溶液 2.5 μL、10 倍 dNTP 混合液 (dATP、dTTP、dGTP、dCTP 2.5 mM/μL) 2.5 μL、AMV reverse transcriptase (9 U/μL, promega) 0.2 μL、Ribonuclease inhibitor (40 U/μL, Promega) 0.3 μL、RNase free H<sub>2</sub>O 16 μL、Taq DNA polymerase (5 U/μL) 0.5 μL，引子各 1 μL (2.5 μM/μL)。反應溫度控制由循環溫控儀 (Thermocycler, Hybaid) 完成反轉錄聚合 鏈反應。

### 8. 特異產物之確認：

PCR 完成後之產物以含有 0.5 μg/mL Ethidium bromide 的 2.0% 洋菜膠及 0.5% TAE 緩衝液之 Mini-gel 電泳槽中進行，取 10 μL 產物與 1 μL 6x bromophenol blue (BPB) 混合後，施以 10.7 V/cm 電壓電泳 25-30 分鐘後，與 DNA 標準長度溶液 (DNA marker) 輔助產物的判讀。其次進行特異性產物之確認：將所得之特異性產物以自動定序儀定出其序列。

### 9. PCR 產物之選殖定序與演化圖譜分析：

PCR 產物以 Topo TA cloning kit (Invitrogen) 進行基因選殖後，利用載體上之 M13 primer 進行挑選，挑選出之菌落經質體純化後以載體上之 SP6 及 T7 primer 進行鹼基標示螢光反應，最後利用自動定序儀 (ABI 3730) 進行定序反應，所得序列再以 DNASTAR 套裝軟體中之 "Megalign" 與 "SeqMan" 等程式加以排列比對。所得結果再以 PAUP 軟體進行分析。繪製演化圖譜，最後再利用 MEGA 2.1 軟體 (Kumar et al., 2001) 計算圖譜中各節點的 boot trap value，以確定其可信度。

## 結 果

### 1. 基因親緣樹分析

2003 年所發生病例、疾病監測所分離之新城病毒株，經以 RT-PCR 增幅並解讀出包括切割序位之 F2 基因，將所得之序列進行基因親緣樹之分析 (Figure 1)，結果可見 1998-2003 年影響雞群之病毒株以第 VII 基因型病毒為主，且有演化更集中之趨勢；在水禽所分離到之病毒株則屬第 I 基因型為低病原性病毒株，比較值得重視的是在高雄縣之鴿子病例所分離病毒株經基因分析為第 VI 基因型且其切割序位為 RRQKRF 呈現高病原性特徵。在境外移入之鳥類檢疫中除分離到屬於第 I、II 基因型外，另有一株 (Q55) 由印尼進口鳥類所分離病毒株經基因分析為第 VII 基因型病毒 (Figure 1)，其切割序位為 RRQKRF 呈現高病原性特徵，與台灣近年來所分離之病毒株相似性在 87.7-92.3%，顯示此病毒株與本地之病毒株有相當差異性。

### 2. 病原性分析

將今年所分離到之病毒株進行以一日齡小雞做腦內接種病原指數測定。於雞群所分離到之病毒株均為 1.86，其融合蛋白切割序位為 RRKKRF，顯示在雞群循環之病毒株為高病原性，而由鴿子所分離到之病毒株則以腦內接種病原指數及靜脈內接種病原指數進行評估，結果二種試驗均為 0.00，但其融合蛋白切割序位為 RRQKRF，呈現高病原性之特徵；另外由印尼進口鳥類所分離到之病毒株其融合蛋白切割序位為 RRQKRF，呈現高病原性之特徵，腦內接種病原指數評估結果為 1.8；其他病毒株則依融合蛋白切割序位不具多個鹼性氨基酸判定為低病原性病毒株。

### 3. 基因體分析

目前已被公開關於新城病之全長基因體共 4 株，其中 3 株為低病原性病毒株，1 株為中國所公開之高病原性病毒株，將我們所解碼之病毒株 (Strain: 000205) 基因體與之進行比對分析，在基因體全長上與中國公佈之 ZJ1 病毒株相同具有 15,192 個鹼基，而其他已公開之 3 株病毒則具有 15,186 個鹼基，比較 NP 蛋白之長度均為 490 個氨基酸，P 蛋白皆具有 396 個氨基酸，M 蛋白具有 365 個，F 蛋白則皆具有 554 個氨基酸，而 HN 蛋白 ZJ1 與 000205 株比其他 3 株少 6 個氨基酸具有 572 個，L 蛋白皆具有 2205 個氨基酸 (如 Table 1)。在各蛋白之比較上，ZJ1 與 000205

病毒株的相似度在 95.2-98.8% 間，而與其他三株的比較，以磷酸蛋白 (Phosphoprotein) 的相似性 81.0% 為最低，其他蛋白相似性則在 87.9-94.5% 間 (Figure 2)。而在非轉譯區的比較，可見 ZJ1 與 000205 在 NP-P 的非轉譯區比其他 3 株多 6 個核 酸，在 HN-L 的非轉譯區比其他 3 株多 18 個核 酸 (Table 2)。

## 討 論

依據台灣歷年來所分離之新城病病毒，而由先前計畫所進行之基因演化分析結果顯示這些病毒株包括已知八個基因型中的 I、II、III、VI、VII、VIII 等六個，其中第 I、II 基因型病毒屬於疫苗毒或低病原性病毒株，這些病毒株通常存在水禽類如鴨、鵝及候鳥體中，形成自然的保毒者，病毒對動物本身無致害性。台灣第一次新城病大流行在 1960s 亦為第二次世界性大流行時期，此時期所分離之病毒株根據先前之報告為第 III 基因型 (Yang *et al.*, 1999)，而根據我們所收集之病毒株則更包含了第 VI 基因型病毒株，即所謂鴿第一型副黏液病毒，且此基因型病毒株持續的在台灣流行 (1969 – 1987 年)，1987 年後此基因型病毒株消失，中國大陸分別在 1995、1998 年發現此基因型病毒；1984 年台灣發生第二次新城病大流行 (亦為第三次世界大流行)，此時期之病毒株以第 VII 基因型為主，逐漸取代第 VI 基因型病毒株成為台灣之流行病毒群，同時歐洲及東南亞亦存在第 VI、VII 基因型之流行；到了 1995 年台灣第三次大流行，第 VII 基因型病毒株肆虐全台，同時亦發現第 III、VIII 基因型病毒存在。之後第 VII 基因型病毒亦傳遍歐洲 (Lomniczi *et al.*, 1998)、非洲、(Herczeg *et al.*, 1999) 東南亞、韓國及澳洲 (Gould *et al.*, 2001) 等地，造成嚴重之損失。由於在地理上與中國大陸有地域上鄰近之關係，根據分析目前中國大陸之第 VII 基因型病毒分離株與台灣分離株相似度在 97% 以上，而且在 1998 年後此基因型病毒株之演化集中與台灣之情況相同，相似度在 99%。在 1998-2003 年第 VII 基因型病毒在台灣形成一主要優勢病毒群嚴重威脅雞群安全，迫使防疫當局改變以往之防疫政策改採用活毒疫苗合併死毒疫苗來增加雞隻抗體力價以保護雞群之健康。

2003 年我們由雞群所分離到之病毒株呈現具有高病原性之特徵且集中在第 VII 基因型，其病原指數均在 1.8 以上；而分離自鴿子的病毒株為第 VI 基因型 (即

鴿第一型副黏液病毒；Pigeon type 1 PMV)( Figure 1 ), 雖然在切割序位為 RRQKRF 顯示高病原性特徵，但腦內接種病原指數及靜脈接種病原指數均為 0.00，顯示可能有宿主差異性。根據先前之分析結果顯示第 VI 基因型病毒於 1969-1987 年在台灣流行，而 1988 年後則未再分離到，此時病毒株的再出現顯示國內新城病疫情可能蠢蠢欲動。

從印尼進口鳥類分離到第 VII 基因型病毒，此一病毒株經與近年台灣分離株進行序列分析比對發現其相似性在 87.7-92.0%，顯示彼此間有相當的差異性存在，然而此病毒株卻與 1984 年及 1995 年爆發時之病毒株有較相近之關係。目前對於進口鳥類的檢疫制度尚未建立，進口商可立即報關入境而採用自家檢疫方式進行檢疫，但事實上檢疫單位並未進行任何管制更未通知地方防疫機關進行訪查，而使得進口商在未進行任何檢疫隔離措施即四處販賣。由於近來印尼盛傳雞瘟爆發，經印尼當局證實為新城病病毒感染，而我們每年從印尼進口數以萬計的鳥禽卻在制度未建立下將病原傳入台灣，形成防疫的大漏洞，此一病毒分離株對疾病之風險評估所代表的意義應評定為極度危險性。

在基因體的定序分析上，中國分離株 ZJ1 與台灣分離株 000205 均為第 VII 基因型，而其他 3 株則為疫苗用之病毒株屬於第 II 基因型，雖然在基因體之長度相差 6 個鹼基數，但其差異在 HN 蛋白反而 ZJ1 與 000205 株比其他三株短少了 6 個氨基酸 ( Table 1 )，此差異性被推論可供作為病原性之區別( Gould et al., 2003 )，而在其他五種蛋白則具有相同之氨基酸數目。

## 參 考 文 獻

1. 呂榮修。新城雞瘟。In：禽病診斷彩色圖譜。pp.9-21。呂榮修博士編著。中華民國養雞協會出版。台灣。1995。
2. Alexander, D. J. Historical aspects. In: Newcastle disease. Edited by Alexander, D. J. Kluwer academic publishers. Boston/Dordrecht/London. 1-10, 1988.
3. Alexander DJ. Newcastle disease and avian paramyxovirus infections, 541-569. In Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, and McDougald LR. (ed.), Diseases of poultry, 10th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1997.
4. Alexander, DJ, Lister SA, Wilson GWC. Avian paramyxovirus type 1 infection of racing pigeons: 5 continued spread in 1984. The Veterinary Record 118:424-427, 1986.
5. Ballagi-Pordany A, Wehmann E, Herczeg J, Belak S and Lomniczi B. Identification and grouping of Newcastle disease virus strains by restriction site analysis of a region from the F gene. Archives of Virology 141: 243-261, 1996.
6. Collins MS, Strong I And Alexander DJ. Pathogenicity and phylogenetic evaluation of the variant Newcastle disease virus termed "pigeon PMV-1" based on the nucleotide sequence of the fusion protein gene. Archives of Virology 141 : 635-647, 1996.
7. Gould AR, Hansson E, Selleck K, Kattenbelt JA, Mackenzie M and Della-Porta A J. Newcastle disease virus fusion and haemagglutinin - neuraminidase gene motifs as markers for viral lineage. Avian Pathology 32 : 361- 373, 2003.
8. Gould AR, Kattenbelt JA, Selleck P, Hansson E, Della-Porta A, Westbury HA. Virulent Newcastle disease in Australia : Molecular epidemiological analysis of viruses isolated prior to and during the outbreaks of 1998-2000. Virus Research 77: 51-60, 2001.
9. Herczeg J, Wehmann E, Bragg RR, Travassos Dias PM, Hadjiev G, Werner O and Lomniczi B. Two novel genetic groups (VIIb and VIII) responsible for recent Newcastle disease outbreaks in southern Africa, one (VIIb) of which reached Southern Europe. Archives of Virology 144: 2087-2099, 1999.
10. Herczeg J, Pascucci S, Massi P, Luini M, Selli L, Capua I, and Lomniczi B. A longitudinal study of velogenic Newcastle disease virus genotypes isolated in Italy between 1960 and 2000. Avian Pathology 30:163-168, 2001.
11. Huovilainen A, Ek-Kommone C, Manvell R and Kinnunen L. Phylogenetic analysis of avian paramyxovirus 1 strains isolated in Finland. Archives of Virology 146: 1775-1785, 2001.
12. Kumar S, Tamura K, Jakobsen Ingrid B and Nei M. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis

- Software, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA. 2001.
13. Lomniczi B, Wehmann E, Herczeg J, Ballagi-Pordany A, Kaleta EF, Werner O, Meulemans G, Jorgensen PH, Mante AP, Gielkens AL, Capua I and Damoser J. Newcastle disease outbreaks in recent years in western Europe were caused by an old (VI) and a novel genotype (VII). *Archives of Virology* 143: 49-64, 1998.
14. Mase M, Imai K, Sanada Y, Sanada N, Yuasa N, Imada T, Tsukamoto K and Yamaguchi S. Phylogenetic analysis of newcastle disease virus genotypes isolated in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 40 ( 10 ) : 3826-3830, 2002.
15. Seal BS, King DJ, Locke DP, Senne DA and Jackwood MW. Phylogenetic relationships among highly virulent Newcastle disease virus isolates obtained from exotic birds and poultry from 1989 to 1996. *Journal of Clinical Microbiology* 36: 1141-1145, 1998.
16. Werner O, Romer-Oberdorfer A, Kollner B, Manvell RJ and Alexander DJ. Characterization of avian paramyxovirus type I strains isolated in Germany during 1992 to 1996. *Avian Pathology* 28: 79-88, 1999.
17. Yang CY, Shieh HK, Lin YL and Chang PC. Newcastle disease virus isolated from recent outbreaks in Taiwan phylogenetically related to viruses (genotype VII) from recent outbreaks in western Europe. *Avian Disease* 43: 125-130, 1999.
18. Yu L, Wang Z, Jiang Y, Chang L and Kwang J. Characterization of newly emerging Newcastle disease virus isolates from the People's Republic of China and Taiwan. *Journal of Clinical Microbiology* 39: 3512-3519, 2001.

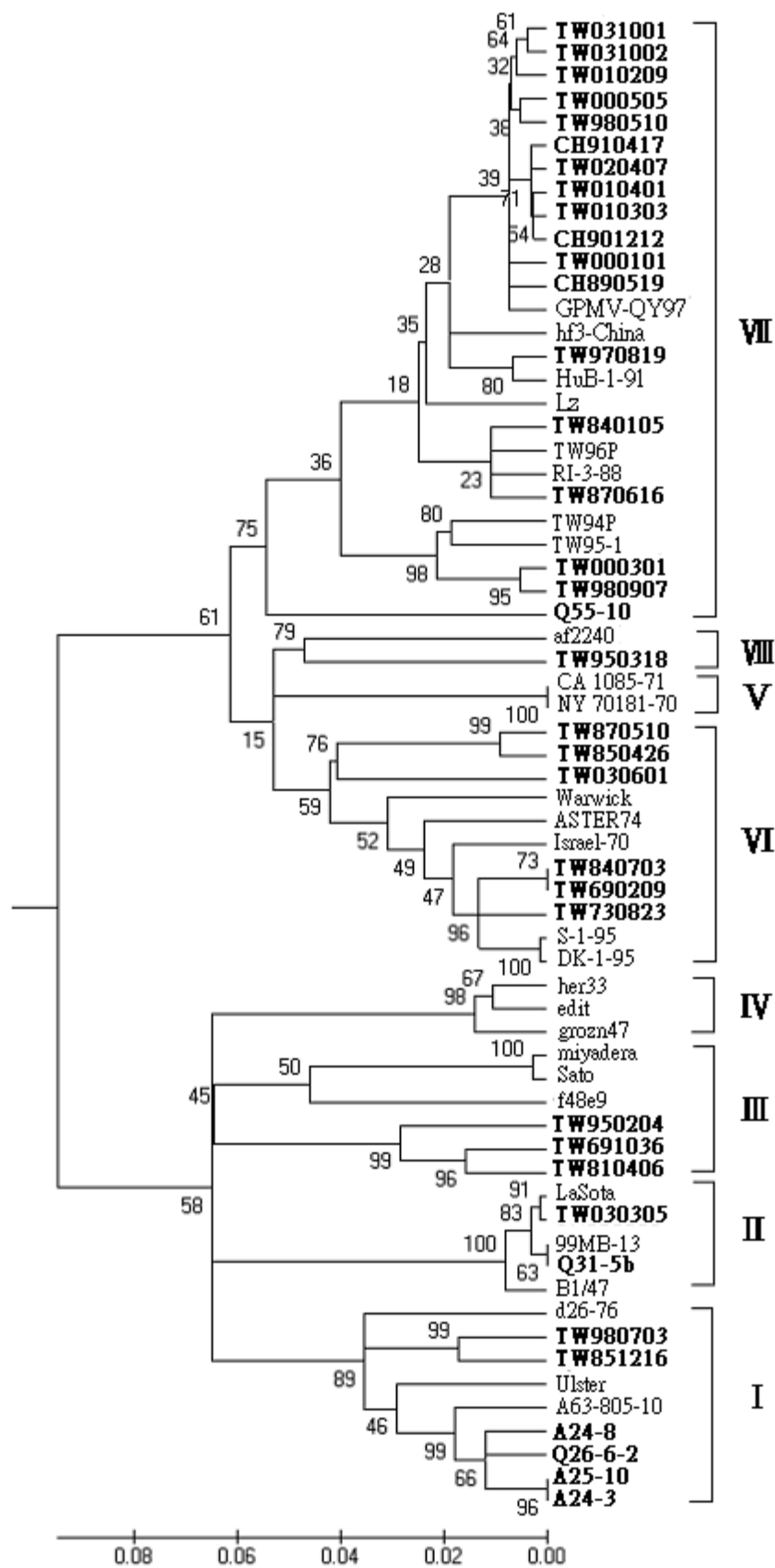


Figure 1. Phylogenetic relationships of NDV isolates based on F2 gene.

A

		Percent Identity						
		1	2	3	4	5		
Divergence	1		98.8	98.0	90.8	90.6	1	
	2	1.2		99.0	91.9	91.6	2	
	3	2.1	1.0		91.2	91.0	3	
	4	9.8	8.6	9.3		98.8	4	
	5	10.0	8.9	9.6	1.2		5	
		1	2	3	4	5		

LaSota  
B1  
v4  
ZJ1  
000205

B

		Percent Identity						
		1	2	3	4	5		
Divergence	1		98.9	99.8	81.0	81.0	1	
	2	1.0		98.9	81.3	80.6	2	
	3	0.2	1.0		81.0	81.0	3	
	4	20.7	20.4	20.7		95.2	4	
	5	20.7	20.9	20.7	4.7		5	
		1	2	3	4	5		

LaSota  
B1  
v4  
ZJ1  
000205

C

		Percent Identity						
		1	2	3	4	5		
Divergence	1		98.6	92.3	88.8	88.8	1	
	2	1.4		92.9	89.3	89.3	2	
	3	8.1	7.5		91.8	91.8	3	
	4	12.2	11.5	8.7		98.4	4	
	5	12.2	11.5	8.7	1.7		5	
		1	2	3	4	5		

LaSota  
B1  
v4  
ZJ1  
000205

D

		Percent Identity						
		1	2	3	4	5		
Divergence	1		99.8	99.8	87.9	89.2	1	
	2	0.2		99.6	88.1	89.4	2	
	3	0.2	0.4		87.9	89.0	3	
	4	13.2	13.0	13.2		97.7	4	
	5	11.7	11.5	11.9	2.4		5	
		1	2	3	4	5		

LaSota  
B1  
v4  
ZJ1  
000205

E

		Percent Identity						
		1	2	3	4	5		
Divergence	1		99.0	99.5	88.7	88.1	1	
	2	1.0		98.4	88.3	87.8	2	
	3	0.5	1.6		88.1	87.6	3	
	4	12.3	12.7	13.0		96.9	4	
	5	13.0	13.4	13.6	3.2		5	
		1	2	3	4	5		

LaSota  
B1  
v4  
ZJ1  
000205

F

		Percent Identity						
		1	2	3	4	5		
Divergence	1		98.5	95.6	92.3	92.5	1	
	2	1.5		96.9	93.5	93.7	2	
	3	4.5	3.2		94.3	94.5	3	
	4	8.2	6.8	6.0		98.8	4	
	5	7.9	6.6	5.8	1.2		5	
		1	2	3	4	5		

LaSota  
B1  
v4  
ZJ1  
000205

Figure 2. Comparison of amino acid among various Newcastle disease viruses. (A) nucleocapsid protein, (B) phosphoprotein, (C) matrix protein, (D) fusion protein, (E) hemagglutinin-neuraminidase, (F) large polymerase protein

Gene	<i>Virus isolate</i>				
	<b>ZJ1</b>	<b>HB92(V4)</b>	<b>B1</b>	<b>LaSota</b>	<b>000205</b>
NP (A.A.)	122-1591 (490)	122-1591 (490)	122-1591 (490)	122-1591 (490)	122-1591 (490)
P (A.A.)	1893-3080 (396)	1887-3074 (396)	1887-3074 (396)	1887-3074 (396)	1893-3080 (396)
M (A.A.)	3296-4390 (365)	3290-4384 (365)	3290-4384 (365)	3290-4384 (365)	3296-4390 (365)
F (A.A.)	4550-6211 (554)	4544-6205 (554)	4544-6205 (554)	4544-6205 (554)	4550-6211 (554)
HN (A.A.)	6418-8133 (572)	6412-8145 (578)	6412-8145 (578)	6412-8145 (578)	6418-8133 (572)
L (A.A.)	8387-15001 (2205)	8381-14995 (2205)	8381-14995 (2205)	8381-14995 (2205)	8387-15001 (2205)
Full length	15,192	15,186	15,186	15,186	15,192
Genotype	VII	II	II	II	VII

Table 1. The nucleotide analysis of translation protein in various newcastle disease viruses.

	<i>Virus isolate</i>				
	<b>ZJ1</b>	<b>HB92(V4)</b>	<b>B1</b>	<b>LaSota</b>	<b>000205</b>
5'-leader	121	121	121	121	121
NP-P	301	295	295	295	301
P-M	215	215	215	215	215
M-F	159	159	159	159	159
F-HN	206	206	206	206	206
HN-L	253	235	235	235	253
3'- terminal	190	190	190	190	190
Full length	15,192	15,186	15,186	15,186	15,192
Genotype	VII	II	II	II	VII

Table 2. Comparison of un-translation region in various newcastle disease viruses.



# Epidemiology and Characterization of Newcastle Disease Viruses Isolated in Taiwan

Min-Shiuh Lee, Ming-Chu Cheng, Shu-Ting Kuo, Lu-Jen Ting, Yen-Pin Chen and  
Jong-Rong Shiau

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture

There were three outbreaks in Taiwan in 1969 , 1984 and 1995. According to phylogenetic analysis which these isolates are genotype I , II , III , VI , VII and VIII. The first outbreak in 1969 , these isolates were genotype III and VI , and there is a new discover that genotype VI viruses to arise from 1969 to 1987. The second outbreak in 1984 , It was to occur mainly genotype VII viruses. The third outbreak in 1995, these isolates were genotype III and VII viruses , but there is genotype VIII isolated . After the 1996 , there are widespread genotype VII virus , and the isolates from poultry is to highly focus on genotype VII from 1998 to 2002. In 2003, we isolated a newcastle disease virus from pigeon, it's genotype VI. In other isolated, a genotype VII virus isolated from bird which come from Indonesia, the similarity is 87.7 to 92.0, which comparison of based on nucleotide sequences among this isolated and Taiwan isolated. There are a genomic plan, we have cloning and sequencing the genotype VII NDV genome.

*Keyword : Newcastle disease virus, Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), Phylogenetic analysis*