

## 2005-2008 進口禽肉產品之禽流感病毒監測

黃元品 王金和 \*鄭益謙

國立台灣大學獸醫學系  
10617 台灣台北市羅斯福路 4 段 1 號

(收稿日期：102 年 1 月 25 日。接受日期 102 年 1 月 30 日)

**摘要** 為防範禽流感隨家禽產品侵入國內，由進口禽肉及其內臟，隨機採取樣品進行監測；於 2005 年至 2008 年，由基隆分局及高雄分局進口的禽肉及其內臟共採集 861 批，將樣品製成乳劑，以反轉錄酶聚合鏈反應、盲目接種 SPF 雞胚胎兩代尿囊液進行血球凝集試驗之病毒分離與反轉錄酶聚合鏈反應檢測禽流感病毒，並以商業 ELISA 檢測套組檢測禽流感病毒特異抗體，結果皆未檢出 H5 或 H7 亞型禽流感病毒，禽流感抗體亦皆為陰性，應可解讀為進口冷凍禽肉及其內臟產品之採樣內不存在禽流感病毒，或者無存活之禽流感病毒。[黃元品、王金和、\* 鄭益謙。2005-2008 進口禽肉產品之禽流感病毒監測。台灣獸醫誌 39 (3): 166-173, 2013。\* 通訊作者 TEL: 02-33669912, E-mail: ivancheng@ntu.edu.tw]

**關鍵詞：**進口禽肉，禽流感病毒

### 緒 言

依世界貿易組織規定，我國於 2005 年全面開放雞肉進口。東南亞各國發生高病原性禽流感 (high pathogenic avian influenza, HPAI)，其產品 3 年內無法出口，因此我國禽肉及其內臟產品進口將主要來自美國、加拿大及歐洲某些國家。

美國東北各州經年發生 H5 及 H7 低病原性禽流感 (low pathogenic avian influenza, LPAI)，且其 HA 裂解序列的鹼性氨基酸已由 1-2 個增加至 3 個，有轉為強毒的可能 [16]；美國各州政府對其他州進入的家禽及其產品都有一定的限制，如喬治亞州禁止感染 LPAI 家禽進入該州，凡進入該州之家禽須提供非感染場證明 [3]；在美國國內不同州都有如此限制，我國進口美國各州的產品更應加以檢驗。2004 年加拿大發生 LPAI 及 HPAI H7N3 [8]，雖然將卑詩地區的禽類全數撲殺，但 2005 年至今一直都自鳥類分離出禽流感病毒，也有人類被 HPAI 病毒感染的紀錄 [17,19]；2006 年起，歐洲各地發生

HPAI H5N1，雖然大都只在野生水鳥 [14]，但不保證家禽沒有病毒污染，全世界疫情相當吃緊 [5]。

報告顯示禽肉會攜帶禽流感病毒 [1,7,19]，國內防疫及對高、低病原性禽流感監測一直在進行，基於平等互惠原則及避免引進禽流感的風險，應對進口的禽肉及其內臟產品進行檢驗，防範禽流感等疾病發生於未然。

### 材料與方法

**樣品來源** 針對進口禽肉及其內臟，使用系統逢機方式進行採樣。採樣數量為總批次的 10%，參考 2004 年美國進口的數量 (Table 1)，該年度至少需採樣 170 個批次。由於台中分局及新竹分局的進口批數較少，故考量現場採樣方便，設定基隆分局每月採 15 個批次，高雄分局每月採 25 個批次。每個批次逢機採集 3 箱，每箱分別於不同位置採三塊樣本，每批次一共採集九塊，每塊約 40 公克。若是預計採集的批次中僅有全雞，而無雞腿等分切部

**Table 1.** The tally of imported poultry from USA to Taiwan in 2004<sup>a</sup>.

	Keelung		Hsinchu		Taichung		Kaohsiung		Total
	Weight	Batch <sup>b</sup>	Weight	Batch	Weight	Batch	Weight	Batch	Batch
Chicken	9,879,051	221	273,754	19	212,283	4	34,393,115	1,041	1,285
Turkey	3,776,159	106	1,606,570	38	0	0	9,258,042	257	401
Duck	146,953	6	0	0	0	0	293,903	9	15
Total	13,802,163	333	1,880,324	57	212,283	4	43,945,060	1,307	1,701

a: Data from Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine (BAPHIQ), Council of Agriculture, Executive Yuan, R.O.C.

b: number of batch.

**Table 2.** Primers<sup>a</sup> used for detecting avian influenza virus genomes.

Target genes	Primer name	Primer sequences	Expected product size
NP	NP2-1200f	5'- CAGRT ACTGG GCHAT AAGRA C -3'	330 bp
	NP4-1529r	5'- GCATT GTCTC CGAAG AAATA AG -3'	
H5	H5-155f	5'- ACACA TGCYC ARGAC ATACT -3'	545 bp
	H5-699r	5'- CTYTG RTTYA GTGTT GATGT -3'	
H7	H7-12f	5'- GGGAT ACAA ATGAA YACTC -3'	634 bp
	H7-645r	5'- CCATA BARYY TRGTC TGYTC -3'	

a: Reference [12].

位，則該批次就不採樣。

**採樣方法** 採樣時隨時注意污染的可能，於每批採完後以酒精棉花擦拭鑿子，並以打火機或是酒精燈過火滅菌後再採集下一批次。每批次的樣本分別放在不同封口袋中，並於袋外標記批次相關資料或是申請書號碼後裝入保溫容器中，低溫運送至台灣大學進行檢測。

**病毒檢測流程** 將每批次中的相同部位樣本採集部分組織混合成一個檢體，經磨碎製成乳劑後，其一，抽取乳劑 RNA 進行核蛋白 (NP) RT-PCR，若 NP RT-PCR 結果呈陽性，該檢體接著進行 H5、H7 亞型 RT-PCR。其二，將乳劑以 0.45 μm 過濾膜過濾後，每個檢體分別接種無特定病原 (specific-pathogen-free, SPF) 雞胚胎 (農委會家畜衛生試驗所，崎頂，台灣) 尿囊腔，盲目接種 2 代，採尿囊液進行血球凝集試驗並進行 NP RT-PCR 檢測，判定病毒分離結果。其三，乳劑亦用於測定禽流感病毒特异性抗體。

**RNA 抽取** 取 TRIzol<sup>®</sup> Reagent (Life Technologies, Frederick, MD) 與乳劑或尿囊液混合均勻，加入氯仿 (Merck, Darmstadt, Germany) 後以 10,000 xg 離心 15 分鐘，抽取上層澄清液 0.5 mL 與 0.5 mL 的 isopropyl alcohol (Merck, Darmstadt, Germany) 稍微搖晃後靜置 10 分鐘。接著以 10,000 xg 離心 15 分鐘，倒乾 isopropyl alcohol。加入 75% 酒精 (Merck, Darmstadt, Germany) 沖洗後，以 10,000 xg 離心 5 分鐘。將酒精倒乾並放入抽氣機將剩餘的酒精抽乾，並加入 50-100 μL 經 diethyl pyrocarbonate (DEPC) (Sigma, St. Louis, Missouri) 處理過的水後置於 -20°C 冰箱內保存備用。

**RT-PCR 及電泳** 反轉錄酶聚合鏈反應使用儀器為 GeneAmp<sup>®</sup> PCR System 2700 (Applied Biosystems, Foster City, CA)。所使用以增幅禽流感病毒 NP, H5, H7 基因之引子對序列 [12] 如 Table 2 所示。反轉錄酶作用條件為 40°C 30 分鐘，94°C 3 分鐘。聚合鏈反應條件為 94°C 50 秒、55°C 50 秒、72°C 1 分鐘，一共進行 35 個循環，接著以 72°C 反應 10 分鐘。所增幅的產物以 2.0% 的洋菜膠 (Invitrogen,

Carlsbad, CA) 進行電泳，並以 ethidium bromide 進行染色。

**病毒分離、繼代** 選用 9-11 日齡 SPF 雞胚胎 (農委會家畜衛生試驗所, 崎頂, 台灣), 經照蛋後, 畫出氣室位置, 並以 75% 酒精噴灑蛋殼表面, 於酒精揮發後, 再以碘液 (Povidone-Iodine) (元由化學製藥股份有限公司, 南投市) 塗抹氣室範圍的蛋殼表面, 以鑿子於所畫之氣室界線上方鑿出一個小洞, 以 26-gauge 13 mm 的針頭、1 mL 的針筒吸取病毒液或是乳劑, 由小洞將整個針頭插入, 每一顆蛋接種 0.1 mL 至尿囊腔, 再以水性填封膠將小洞封住, 並置於 37°C 孵蛋器中培養。每天照蛋觀察, 接種後 24 小時內死亡之雞胚胎, 判定為細菌污染予以丟棄。接種 48-72 小時後將雞胚胎置於 4°C 冷藏 4 小時以上, 以 75% 酒精噴灑蛋殼表面, 於酒精揮發後再用 Povidone solution 塗抹氣室範圍的蛋殼表面, 以無菌器械將氣室的蛋殼移去, 並以 24-gauge 25 mm 的針頭、3 mL 的針筒 (Terumo Medical Corporation, Elkton, MD) 收取尿囊液。

**血球凝集試驗 (HA test)** 在 96 孔 U 型微量盤 (Nunc, Roskilde, Denmark) 每孔各加入 0.85% 生理食鹽水 25  $\mu$ L, 於第一列的 8 孔中依序加入待測尿囊液 25  $\mu$ L, 其中一孔加入含 AIV 之尿囊液作為陽性對照組, 以 8 爪微量滴管自每行的第一孔進行等倍稀釋到第 11 孔, 第 12 孔則作為陰性對照組, 接著於各孔中加入 25  $\mu$ L 1% (v/v) 紅血球懸浮液, 於室溫靜置 45 分鐘後判讀。

**抗體測定** 使用商業 ELISA 套組 AIV ProFLOK<sup>®</sup> (Synbiotics, Kansas City, MO) 測定 AI 特異性抗體。操作方法、力價計算及判讀依照套組所附說明書實施。

## 結 果

由 2005 年至 2008 年, 逐年由基隆、高雄海關進口之禽肉及內臟產品之批次與重量如 Table 3, 輸入國包含美國、加拿大、匈牙利, 採樣送檢的 861 件樣品中除了 90 件、4 件分別由加拿大、匈牙利輸入, 其它 767 件皆由美國輸入之批次中所採得, 而各年由台灣南北兩個主要港口輸入之禽肉及內臟產品批次總和皆超過 2004 年由美國輸入的 1,701 總批次數 (Table 3)。

樣本收集方面, 在 2005 年至 2008 年之間, 基

隆海關採樣送檢 427 批次, 高雄海關採樣送檢 434 批次, 一共收集了 861 批次的進口雞肉及內臟檢體 (Table 4), 其中包括禽肉 819 批次, 內臟 42 個批次 (Table 4)。

禽肉及其內臟的病毒分離方面, 833 個樣本在盲目連續繼代分離兩代之後, 收取尿囊液進行血球凝集試驗, 其結果皆為陰性 (Table 4), 所有接種第二代尿囊液樣品之 NP RT-PCR 結果亦皆為陰性。

進行 RT-PCR 的 861 個乳劑樣本, 828 個為 NP RT-PCR 陰性 (Fig. 1); NP 疑陽性或陽性者 33 個, 隨後以 H5 (H5-755f/H5-1021r) 及 H7 (H7-12f/H7-645r) 的特異性引子進行 RT-PCR, 無任何陽性或者疑陽性結果 (Table 4)。

719 個乳劑樣本以商業 ELISA 套組進行 AI 特異性抗體的測定, 其結果皆為陰性 (Table 4)。

## 討 論

本研究由 2005 年開始, 連續四年由基隆、高雄海關根據試驗設計所採得的輸入禽肉及其內臟產品批次, 每年皆超過以 2004 年美國總輸入件數 (Table 1) 10% 為基準的採樣批次最低值為 170 件, 採樣貨品輸入來源國涵蓋以美國為主的其它國家, 如加拿大、匈牙利, 因此, 檢測結果應具有全面代表性。再依試驗設計, 於該批次採樣之三不同部位各取一塊檢體, 集合並研磨成乳劑, 以此乳劑樣品同時進行分子生物學技術 RT-PCR 的基因產物檢測, 與傳統的禽流感病毒分離、鑑定技術, 將過濾之乳劑接種至 SPF 雞胚胎尿囊腔, 連續兩代, 以增殖可能存在樣品中的禽流感病毒, 雖然禽肉及內臟樣品乳劑樣品的 NP RT-PCR 一共出現了 33 個疑陽性或陽性結果, 但這些樣品進一步以 H5 及 H7 RT-PCR 分析結果皆非 H5 或是 H7 亞型, 加上乳劑接種 SPF 雞胚胎尿囊腔連續兩代之尿囊液之 NP RT-PCR 結果也全呈陰性, 顯示受檢樣品中不存在 H5 或 H7 亞型禽流感病毒, 不論是活的或死的病毒; 即便做為 RT-PCR 陽性對照的 H6N1 亞型病毒樣品得到清楚、如預期 330 bp 大小的 PCR 產物, 由於禽肉及其內臟樣品出現 NP 疑陽性或陽性的 RT-PCR 產物並不會很明顯, 故亦不能完全排除這 33 個疑陽性或陽性是 NP RT-PCR 非特異反應的可能。

與分子生物診斷同步進行的連續接種雞胚胎兩代的病毒分離結果則全部陰性, 此結果可以解讀為樣品內不存在禽流感病毒, 或者無存活之禽流感病毒, 而無論前者或後者, 均顯示進口禽肉中並無具

**Table 3.** The tally of imported poultry product through Keelung and Kaohsiung Harbor from 2005 to 2008<sup>a</sup>

		Keelung		Kaohsiung		Total
		Weight <sup>d</sup>	Batch <sup>e</sup>	Weight	Batch	Batch
2005	Chicken <sup>b</sup>	20,451,831	503	53,128,878	1,438	1,941
	Turkey <sup>b</sup>	4,018,050	132	7,723,364	230	362
	Duck <sup>b</sup>	114,716	6	84,471	4	10
	Goose <sup>b</sup>	58,399	8	0	0	8
	Giblets <sup>c</sup>	46,085	3	1,033,539	55	58
	Total	24,689,083	652	61,970,255	1,727	2,379
2006	Chicken	23,051,682	510	70,912,704	1,544	2,054
	Turkey	2,387,190	85	6,229,971	187	272
	Giblets	610,947	36	1,300,544	52	88
	Total	26,049,820	631	78,443,221	1,783	2,414
2007	Chicken	7,457,852	236	47,828,533	1,301	1,537
	Turkey	2,271,377	82	4,375,353	115	197
	Duck	0	0	48,015	2	2
	Giblets	399,070	18	1,008,114	44	62
	Total	10,128,301	336	53,260,017	1,462	1,798
2008	Chicken	8,606,879	252	58,978,024	1,882	1,882
	Turkey	3,053,953	112	9,002,778	267	401
	Duck	22,783	2	146,596	7	15
	Giblets	381,088	16	1,564,051	69	85
	Total	12,064,705	382	69,691,451	2,225	2,383

<sup>a</sup> Data from Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Executive Yuan, R.O.C.

<sup>b</sup> meat product.

<sup>c</sup> giblets include chicken testes, turkey testes, chicken gizzards, and chicken hearts.

<sup>d</sup> unit kg.

<sup>e</sup> number of batch.

**Table 4.** Native Avian influenza virus detection from imported poultry samples

Year	Sampling from				Detection of		
	Meat <sup>a</sup>	Giblets <sup>b</sup>	Keelung	Kaohsiung	RT-PCR <sup>c</sup>	Virus isolation <sup>d</sup>	Antibody
2005	267	5	134	138	9	0	0 <sup>e</sup>
2006	157	14	69	102	4	0	0
2007	230	16	126	120	20	0	0
2008	165	7	98	74	0	0	0
Total	819	42	427	434	33	0	0

<sup>a</sup> Most samples are chicken thighs, and the others include whole chickens, chicken wings, chicken tails, and turkey thighs.

<sup>b</sup> Giblets include chicken testes, turkey testes, chicken gizzards, and chicken hearts.

<sup>c</sup> # RT-PCR targeted nucleoprotein (NP), H5 and H7 gene individually. All samples were detected by NP RT-PCR firstly. Those showed NP positive results were examined further by H5 and H7 RT-PCR and all yielded negative results.

<sup>d</sup> Virus isolation was evaluated by hemagglutination test after two passages of allantoic fluid in embryonated SFP eggs. All 833 homogenates yielded negative results. Allantoic fluid of second passage showed negative results by NP RT-PCR.

<sup>e</sup> All samples of the year 2005 to 2008 were tested by AI antibody test, except for 142 samples of the year 2005. Those 142 samples were not detected because the tests began in July 2005.

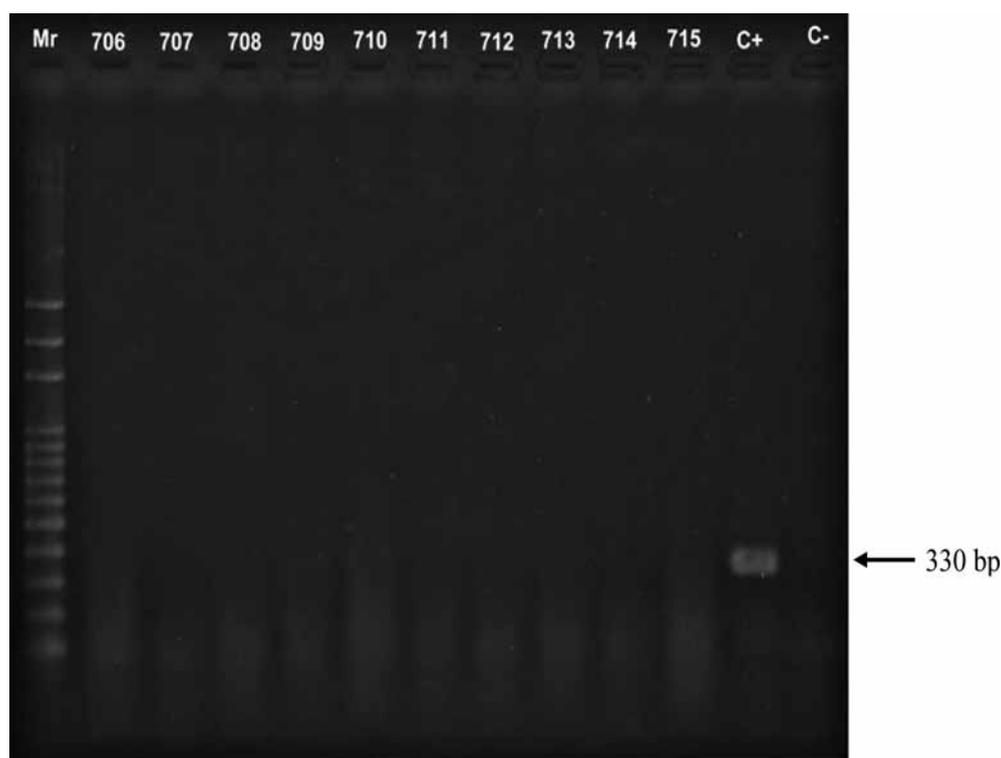


Fig. 1 NP RT-PCR results of homogenates from poultry products.

Note all samples, #706 to #715, showed negative results. Mr : 100 bp molecular marker. C+ : Positive control with RNA template extracted from H6N1 virus. C- : Negative control with no template RNA.

感染能力的禽流感病毒。此外，從 2005 年七月開始至 2008 年所採集的 719 個樣品乳劑，以 ELISA 檢測禽流感病毒特異抗體，結果全部為陰性，顯示樣品內並無禽流感病毒特異抗體的存在，可以進一步引伸禽肉及內臟產品來源家禽未曾遭受禽流感病毒的感染。

家禽流行性感冒（以下簡稱禽流感）病毒屬於正黏液病毒屬 (*Orthomyxoviridae*) 之 A 型流行性感冒病毒，是唯一可感染禽類的正黏液病毒 [9]。其中 HPAI 病毒為 H5 或 H7 亞型，但並非所有 H5，H7 亞型均為高病原性。截至目前已確定的共有 16 種 HA 亞型及 9 種 NA 亞型。

禽流感 (avian influenza; AI) 是一種禽類惡性傳染病，自從 1959 年首次在禽類爆發 HPAI 以來，世界各地紛紛發生疫情，如：澳洲 (1976, H7N7；1985, H7N7；1992, H7N3；1995, H7N3；1997, H7N4) [6,9]、英國 (1979, H7N7；1991, H5N1) [5]、美國 (1983-84, H5N2) [10] (2004, H5N2)、德國 (1979, H7N7) [15]、墨西哥 (1994, H5N2) [18]、愛爾蘭 (1983, H5N8) [11]、義大利 (2001, H7N1) [21] 加拿

大 (2003, H5N2) 及荷蘭 (2003, H7N2) [10]。1997 年香港發生 H5N1 亞型禽流感病毒跨越宿主障礙感染人類，在感染的 18 個病例，他們皆有高燒、急性呼吸道症狀及嚴重併發症，最後造成 6 人死亡。台灣家禽流行性感冒病例最早是 1972 年於台北淡水竹圍地區養鴨場，造成 2-4 週齡肉鴨 75% 的死亡率，經病毒分離鑑定，為 A 型流行性感冒病毒 H6N1 亞型所引起。經謝等人於 1988-1991 年對於台灣飼養家禽進行血清學抗體調查及病毒分離，証實在家禽普遍有家禽流行性感冒之抗體存在，並且可分離到許多亞型的病毒株 [2]。HPAI 病毒在台灣從未爆發過，不過 2004 年彰化發現 LPAI 的 H5N2 亞型，為首次家禽場分離到 H5 亞型病毒株，引起高度重視；目前在台灣養雞場所發生之家禽流行性感冒多以 H6 血清亞型為主 [鄭等人，未發表]。儘管 LPAI 病毒在家禽所造成的死亡率不高，但常形成潛伏性感染，可能引起失重、發育不良、產蛋下降及導致容易感染其他疾病，造成無形的經濟損失 [4]。

禽流感病毒最早是以接種動物分離，但動物接

種所需資源龐大，目前已改用雞胚胎接種或細胞分離，而雞胚胎蛋是流行性感冒病毒分離與增殖的最佳宿主，其中以羊膜及尿囊腔接種對病毒的增殖、分離效果最佳，因雞胚胎蛋中羊膜 (Amniotic membrane) 與絨毛尿囊膜 (Chorioallantoic membrane) 的內胚層細胞對病毒感受性最好，所增殖的病毒力價較細胞分離來得高。增殖後的尿囊液或細胞上清液可用血球凝集試驗 (HA) 來初步確認有血球凝集性病毒存在。鑑定 HA 陽性者，可再以血球凝集抑制試驗 (HI) 來同定並作病毒血清亞型區分 [20]。日人衛藤真理子及真瀨昌司由中國 2001 年 6 月至 2002 年 7 月輸入日本的冷凍雞肉採集骨髓和雞肉，即採用雞胚胎蛋接種分離新城病與禽流感病毒，成效甚佳 [1]，因此本研究選用相同方式，進行輸入台灣之冷凍禽肉及其內臟產品之禽流感病毒監測，雖未得到陽性結果，應可解讀為美、加、匈牙利進口冷凍禽肉及其內臟產品之採樣內不存在禽流感病毒，或者無存活之禽流感病毒。

東南亞各國發生高病原性禽流感 (HPAI)，其產品於 3 年內無法出口，因此我國進口禽肉及其內臟將主要來自美國。而美國東北各州經年發生 H5 及 H7 低病原性禽流感 (LPAI)，且其 HA 裂解序列的鹼性氨基酸已由 1-2 個增加至 3 個，有轉為強毒的可能 [16]，美國各州政府對其他州進入的家禽及其產品都有一定的限制，如喬治亞州禁止低病原性禽流感家禽進入該州，進入者須提供非感染場證明；而我國所進口美國各州的禽肉及其內臟產品數量又最高，基於平等互惠原則及避免引進禽流感的風險，除了要求該州應為禽流感非疫區，我國更應對進口產品加以檢驗以防疏漏，防範禽流感等疾病發生於未然。

綜觀本研究執行的 2005 至 2008 年期間，所規劃的第一階段檢測禽流感病毒策略 — (1) 分子生物學 NP RT-PCR 檢測，(2) 連續接種雞胚胎兩代，繼以血球凝集試驗的傳統病毒分離鑑定法，及 (3) 血清學 ELISA 檢測禽流感病毒特異抗體，三管齊下，各自獨立運作；861 個受檢樣品以前述三種方式檢測，出現陽性結果的只有 NP RT-PCR，表示樣品內可能存在 A 型流感病毒，然而後續進行的 H5 及 H7 亞型 RT-PCR，所得結果全為陰性；由於 OIE 對禽流感病毒的最新檢測規範，除了傳統的連續接種雞胚胎分離方式，亦納入一段或多段基因的 RT-PCR 分子生物學檢測 [13]，而接種雞胚胎以分離病毒的檢測所耗費的生物材料、工時資源均鉅，因此有必要調整現行分子生物、病毒分離、抗體檢測，三者同時併行的策略，在兼顧檢測方式的敏感

性、特異性，毋使檢測出現掛漏、盲點，及物力、人力資源等基本條件，將現行檢測，先擇其要者之一進行全面篩檢，若出現陽性者，再以其它方式進行複檢確認，應仍符合此監測研究工作之主旨。

## 誌 謝

本研究承蒙行政院農業委員會動植物防疫檢疫局經費支持，及基隆、高雄兩分局海關人員協助採樣，特此致謝。

## 參考文獻

1. 衛藤真理子，真瀨昌司。中國輸入雞肉新城病與禽流感病毒之分離。日獸會誌 56：333-338，2003。
2. 謝快樂，黃文正，沈瑞鴻，邱裕新，李龍湖，呂榮修。本省家禽流行性感冒之研究 (III) 雞群病毒株之分離鑑定和病原性試驗。台畜獸會報 59：45-55，1992。
3. Anonymous. The Georgia Administrative Procedures Act (O.C.G.A. Section 50-13-4, Section 4(a)(1), 2002.
4. Alexander DJ. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 74: 3-13, 2000.
5. Alexander DJ, Lister SA, Johnson MJ, Randall CJ, Thomas PJ. An outbreak of highly pathogenic avian influenza in turkeys in Great Britain in 1991. *Vet Rec* 132: 535-536, 1993.
6. Banks J, Speidel ES, MacCauley JW, Alexander DJ. Phylogenetic analysis of H7 haemagglutinin subtype influenza A viruses. *Arch Virol* 145: 1047-1058, 2000.
7. Beato MS, Terregino C, Cattoli G, Capua I. Isolation and characterization of an H10N7 avian influenza virus from poultry carcasses smuggled from China to Italy. *Avian Pathol* 35: 400-403, 2006.
8. Bowes VA, Ritchie SJ, Byrne S, Sojony K, Bidulka JJ, Robinson JH. Virus Characterization, Clinical Presentation, and Pathology Associated with H7N3 Avian Influenza in British Columbia Broiler Breeder Chickens in 2004. *Avian Dis* 48: 928-934, 2004.
9. Easterday BC, Hinshaw VS, Halvorson DA. Influenza. In: *Diseases of poultry*, 10<sup>th</sup> ed. B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald, and Y. M. Saif, eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 583-605, 1997.
10. Frank VK. Dutch veterinarian becomes first victim of avian influenza. *Lancet* 361: 1444, 2003.
11. Kawaoka Y, Nestorowicz A, Alexander DJ, Webster RG. Molecular analyses of the hemagglutinin genes of H5 influenza viruses: origin of a virulent turkey strain. *Virology* 158: 218-227, 1987.
12. Lee MS, Chang PC, Shien JH, Cheng MC, Shieh HK. Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. *J Virol Methods* 97: 13-22, 2001.

13. OIE (World Organization for Animal Health). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Chapter 2.3.4 Avian Influenza, 2012.
14. Palmai N, Erdelyi K, Balint A, Marton L, Dan A, Deim Z, Ursu K, Londt BZ, Brown IH, Glavits R. Pathobiology of highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) infection in mute swans (*Cygnus olor*). *Avian Pathol* 36: 245-249, 2007.
15. Rohm C, Suss J, Pohle V, Webster RG. Different hemagglutinin cleavage site variants of H7N7 in an influenza outbreak in chickens in Leipzig, Germany. *Virology* 218: 253-257, 1996.
16. Senne DA, Suarez DL, Pedersen JC, Panigraphy B. Molecular and biological characteristics of H5 and H7 avian influenza viruses in live-bird markets of the northeastern United States, 1994-2001. *Avian Dis* 47: 898-904, 2003.
17. Suarez DL, Perdue ML, Cox N, Rowe T, Bender C, Huang J, Swayne DE. Comparisons of highly virulent H5N1 influenza A viruses isolated from humans and chickens from Hong Kong. *J Virol* 72: 6678-6688, 1998.
18. Swayne DE. Pathobiology of H5N2 Mexican avian influenza virus infections of chickens. *Vet Pathol* 34: 557-567, 1997.
19. Swayne DE. Microassay for measuring thermal inactivation of H5N1 high pathogenicity avian influenza virus in naturally infected chicken meat. *Intern J Food Microbiol* 108: 268 - 271, 2006.
20. WHO. WHO manual on animal influenza diagnosis and surveillance. 2002.
21. Zanella A, Ara PD, Martino PA. Avian influenza epidemic in Italy due to serovar H7N1. *Avian Dis* 45: 257-261, 2001.

## Monitoring of Avian Influenza Virus in Imported Poultry Products During Year 2005-2008

Yuan-Pin HUANG, Ching-Ho WANG, \*Ivan-Chen CHENG

*School of Veterinary Medicine, National Taiwan University, Taipei 10617, Taiwan*

(Received: January 25, 2013. Accepted: January 30, 2013.)

**ABSTRACT** In order to prevent the intrusion of avian influenza viruses (AIVs) into Taiwan, the imported poultry meats and their products were sampled for virus detection by RT-PCR, virus isolation in SPF chicken eggs, and antibody detection by ELISA. From 2005 to 2008, 861 batches of poultry meat and giblets imported through Keelung harbor and Kaoshiung harbor were collected for testing, and all of them revealed negative to H5 or H7 AIVs and negative to AIV antibody. It can be interpreted as the AIVs or life AIVs does not exist within the sampling of imported frozen poultry meats and their products. [Huang YP, Wang CH, \* Cheng IC. Monitoring of Avian Influenza Virus in Imported Poultry Products During Year 2005-2008. *Taiwan Vet J* 39 (3): 166-173, 2013. \* Corresponding author TEL: 886-2-33669912, E-mail: ivancheng@ntu.edu.tw]

*Key words: imported poultry products, avian influenza virus*