大韓獸醫學會誌(2008) 第48卷 第2號
Korean J Vet Res(2008) 48(2) : 153~159

흰뺨검둥오리(*Anas poecilorhyncha*)에서 분리된 뉴캣슬병 바이러스의 특성

최강석* · 이은경 · 전우진 · 권준헌 · 양창범

국립수의과학검역원 동물위생연구소

(게재승인: 2008년 6월 3일)

Characteristics of a NDV isolated from apparently healthy wild spot-billed ducks (*Anas poecilorhyncha*)

Kang-Seuk Choi*, Eun-Kyoung Lee, Woo-Jin Jeon, Jun-Hun Kwon, Chang-Bum Yang

National Veterinary Research Institute, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-824, Korea

(Accepted: June 3, 2008)

Abstract : Newcastle disease virus (NDV) is the causative agent of a highly contagious and devastating Newcastle disease of poultry. A NDV (isolate DK1/07) was isolated from apparently healthy wild spot-billed ducks (*Anas poecilorhyncha*) captured at upper branch of the SapGyo Creek in Chungbuk province, Korea during early 2007. The DK1/07 isolate of minimum chicken embryo lethal dose killed all SPF chicken embryos within 60 h. The cleavage site of the F protein possessed the amino acid sequence ^{112}R-R-Q-K-R-F^{117}, which is a motif characteristic of virulent NDV strains. The F protein-based phylogenetic analysis revealed that the DK1/07 duck isolate was included in the cluster of genotype VIId and most closely related to recent NDV isolates obtained from chicken farms in Korea. Epidemiological importance of virulent NDV from wild duck is discussed.

Keywords : fusion protein, Newcastle disease virus, phylogenetic analysis, wild duck

서 론

뉴캣슬병(Newcastle disease)는 닭, 꿩, 메추리 등 가금류를 포함하는 조류의 급성 바이러스성 전염병으로 양계산업에서 가장 큰 경제적 손실을 일으키는 질병중 하나로 국내에서는 제 1종 법정가축전염병으로 정하고 있다. 이 질병은 1927년 국내 최초 발생이 보고된 이래로 오늘날까지 지속적으로 발생하고 있으며, 80년대 이후에는 닭에서 3내지 5년 주기로 대유행을 겪어왔다 [15].

뉴캣슬병의 병원체인 뉴캣슬병 바이러스(Newcastle disease virus, NDV)는 Paramyxoviridae과, Avulavirus속에 속하는 paramyxovirus type 1(PMV-1)이다 [19]. NDV는 약 15 kb 크기의 negative-sense, single-stranded RNA 게놈을 가지고 있다. 이 게놈은 NP, P, M, F, HN, L의 단백질을 암호화하는 6개의 유전자를 함유하고 있다 [14].

NDV는 닭에 대한 독력 정도에 따라 약독(lentogenic), 중간독(mesogenic), 강독(velogenic)으로 분류하고 있다. NDV strain의 독력은 일반적으로 발육계태아에 대한 평균치사시간(mean death time, MDT), 1일령 병아리에서의 뇌내 병원성지수(intracerebral pathogenicity index), 6주령 닭에서의 정맥내 병원성지수(intravenous pathogenicity index) 등 생물학적 방법에 의하여 측정하여 분류한다 [1]. 또한, 분자생물학적으로 NDV F0 단백질이 숙주효소에 의해 F1과 F2로 얼마나 쉽게 분절되어 활성화되는 가에 의하여 바이러스의 독력이 좌우된다고 알려져 있다. 예를 들어, 분절부위가 ^{112}R/K-R-Q-K/R-R-F^{117}와 같이 다염기성(multibasic) 아미노산 서열을 가진 강독

*Corresponding author: Kang-Seuk Choi
National Veterinary Research Institute, National Veterinary Research and Quarantine Service, Anyang 430-824, Korea
[Tel: +82-31-467-1821, Fax: +82-31-467-1814, E-mail: choiks@nvrqs.go.kr]

NDV의 경우 폭 넓은 조직과 세포에 존재하는 숙주 단백질분해효소에 의해 F0단백질이 F1과 F2단백질로 쉽게 분절되는 반면 분절부위에서 ^{112}G/E-K/R-Q-G/E-R-L^{117}과 같은 단염기성(monobasic) 아미노산 서열을 가진 약독 NDV는 F0단백질은 호흡기계 및 소화기계에서 존재하는 트립신유사 효소(trypsin-like enzymes)에 의해서만 분절된다 [5, 6, 21].

NDV는 단일 혈청형이지만 F 단백질의 핵산 염기서열을 이용한 계통분류학적 분석(phylogenetic analysis)을 근거로 최소한 9개(I - IX)의 유전형(genotype)이 존재한다고 보고되고 있다 [13, 16, 17]. 이들 유전형중 VII형은 1990년대 이후 국내뿐만 아니라 주변 아시아 국가들에서 지속적으로 유행하고 있는 유전형이다 [9, 12, 15, 17, 18, 30].

최근까지 알려진 바로는, 27개 목(order)에서 최소 241개 이상의 조류 종(species)이 뉴캣슬병에 감수성이 있는 것으로 알려져 있다 [2]. 그러나, 닭, 꿩, 메추리 등 가금류와 가마우지 [7] 등 일부 야생조류는 치명적이나, 그 이외의 대부분 조류 종들은 감염이 되더라도 임상 증상을 나타내지 않는다. 특히, 야생조류종 중 야생 오리류는 여러 연구자에 의해 외관상 건강한 개체에서 바이러스 분리 보고 [3, 8, 20, 24, 26, 30, 31]된 바 있어 뉴캣슬병 reservoir로서의 가능성이 제기되어 왔다 [4, 8, 23, 25, 27]. 뉴캣슬병 역학에서 야생조류 특히 수생조류(waterfowls)의 잠재적인 역할 가능성에도 불구하고 야생조류에서의 뉴캣슬병에 대한 연구가 미흡한 실정이다.

따라서, 본 연구를 통하여 2007년도 2월에 충청북도에 소재한 삽교호 상부지류 곡교천에서 서식하던 포획 야생 흰뺨검둥오리에서 분리된 NDV의 특성을 조사함으로서, 야생조류와 국내 뉴캣슬병 발생과의 연관성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

바이러스

본 연구에 사용한 NDV DK1/07주는 2007년 2월 조류인플루엔자 국가특별방역대책기간중 삽교호의 상부지류인 곡교천에서 포획된 10수중 한 수의 건강한 흰뺨검둥오리(*Anas poecilorhyncha*)의 총배설강 swab 시료로부터 분리된 바이러스이다. 당시 흰뺨검둥오리 10수중 1수에서만 NDV 항체(64배 HI역가)를 보였으나, NDV가 분리된 개체와 일치하지 않았다. 분리바이러스는 paramyxovirus(types 1-9) 표준항혈청(National Veterinary Service Laboratory, USA)을 이용한 교차 혈구응집억제반응법(HI)과 RT-PCR법으로 NDV(paramyxovirus type 1) 확진하였다.

대조 바이러스로서 3종의 뉴캣슬병 백신주(La Sota주, Ulster2C주 및 VG/GA주), 닭유래 강독형 국내분리주 2주(Kr-005주 및 교정원주) 및 2006년 시화호에 서식하는 야생철새(species 불명) 분변으로부터 분리된 약독 국내분리주 SH39/06주를 사용하였다. 본 연구에 사용한 바이러스는 모두 발육계란에서 증식시킨 후 요막강액(allantoic fluid)을 채취하여 −70°C에 냉동보관하면서 사용하였다.

적혈구응집능

NDV의 생물학적 특성을 분석하기 위하여 닭 적혈구와 말 적혈구에 대한 혈구 응집능을 사용하였다. 우선, U자형 96-well microtiter plate의 모든 well에 phosphate buffered saline, pH 7.2(PBS)을 25 µl씩 분주한 다음 바이러스 원액 25 µl를 첫 번째 well에 넣어 혼합하여 2진 단계희석을 실시하였다. 그 후 모든 well에 1%(v/v) 닭 적혈구 또는 말 적혈구를 25 µl씩 첨가하여 혼합한 다음 실온에서 40분간 정치시켰다. 혈구응집 역가는 혈구응집이 일어나는 최고 희석배수의 역수로 표시하였다.

바이러스 독력 조사

NDV의 독력을 측정하기 위하여 9일 내지 10일된 계태아 발육계란에서 MDT를 측정하였다 [1]. NDV가 함유된 신선한 요막강액을 멸균 생리식염수로 10^{-5}에서 10^{-9}까지 10진 희석한 다음, 바이러스 희석액 0.1 ml를 바이러스 희석액당 5개 발육계란의 요막강(allantoic cavity)내로 접종하였다. 그 후 8시간 내지 10시간이 경과한 후 동일 바이러스 희석액을 동일한 방법으로 발육계란에 접종하였다. 그 후 발육계란은 37°C 부란기에서 배양하면서 일주일간 매일 2회 계태아의 폐사여부를 관찰하여 기록하였다. MDT는 태아를 100% 치사시킨 최고 희석배수에서의 계태아 평균치사시간으로 하였다. 그 결과, 평균치사시간이 60시간 이하일 경우 강독, 60시간 내지 90시간인 경우 중간독, 90시간 이상일 경우 약독으로 판정하였다.

바이러스 RNA 추출 및 RT-PCR

바이러스 유전자의 추출을 위하여 증식바이러스가 함유된 요막강액을 사용하였다. 바이러스 유전자는 Viral gene-spin(인트론, 한국)을 이용하여 제조사에서 권장하는 방법에 의거하여 추출하였다. cDNA합성 및 특이유전자 증폭은 Accupower RT-PCR premix kit (Bioneer co., Korea)을 사용하여 제조사에서 권장하는 방법과 Lee 등 [15]이 사용한 PCR 반응 온도와 시간 조건에 따라 one-step RT-PCR법으로 실시하였다. RT-PCR을 위한 primers

는 Lee 등 [15]이 사용한 M1055(forward; 5'-GCT GAT CAT GAG GTT ACC TC-3')와 F508 (reverse; 5'-AGT CGG AGG ATG TTG GCA GC-3')를 사용하였으며, 이 primer set는 M 유전자의 1055부위에서 F 유전자의 508 bps를 증폭하도록 설계되었다. 증폭산물은 1%(w/v) 아가로스겔에서 전기 영동한 다음, Gel extraction kit(Qiagen, Germany)를 이용하여 특이 증폭밴드를 추출하였다. 그 다음, 증폭산물은 gel purification kit(Qiagen, Germany)을 이용하여 순수 정제한 다음 Dye Terminator Cyle sequencing kit(Applied Biosystems, USA)과 자동염기서열 분석장치(ABI PRISM version 377 DNA autosequencer; PE Applied Biosystems, USA)를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

계통발생학적 유전자 분석

유전자 분석은 상기 508 bp의 핵산 염기서열중 F 유전자의 N말단부위에 해당하는 첫 389개의 핵산 염기서열을 취하여 분석하였다. 계통발생학적 유전자분석(phylogenetic analysis)을 위한 핵산 염기서열 교정(editing), 아미노산 서열예측, 및 alignments는 Lasergene 7.0(DNASTAR, USA)의 MegAlign program을 사용하여 실시하였다. 본 연구에서 분석한 유전자 염기서열 정보는 기존에 발표된 NDV의 유전자 염기서열 정보와 비교분석하였다. Phylogenetic trees는 neighboring-joining method within Clustal W with 1,000 bootstrapping replicates를 이용하여 분석하였다.

결 과

NDV 분리주의 특성

흰뺨검둥오리에서 분리된 NDV 국내 분리주 DK1/07주는 발육계란에 접종하여 채독한 요양막강액을 실험에 사용하였다. 국내 분리주 DK1/07는 닭 적혈구에 대하여 1,024배의 혈구응집역가를 나타낸 반면에, 말 적혈구에 대하여는 2배 이하의 혈구 응집능 역가를 보였다. 대조 바이러스중 La Sota주, Ulster2C주, VG/GA주, Kr-005주 및 교정원주의 경우 닭 적혈구에 대하여 최소한 256배 이상의 응집역가를 보였으나 말 적혈구에 대하여는 2배 이하의 혈구 응집능을 나타내었다. 반면에, 야생철새유래 SH39/06주는 닭 적혈구 및 말 적혈구 모두에서 최소한 512배 이상의 혈구 응집 역가를 나타내었다.

발육계란 최소 치사량에서 발육계란의 MDT를 조사한 결과, 국내분리주 DK1/07주는 접종후 60시간 이내에 모두 발육 계태아를 치사시켰다. 이 결과는 DK1/07주가 닭에 대하여 강독 바이러스(MDT: 60시간 이내)의 특성을 가진 바이러스임을 말해 준다.

F 단백질의 염기서열 분석

NDV 국내분리주 DK1/07주의 분자생물학적 특성을 조사하기 위하여 F 단백질에 대한 분자생물학적 분석을 실시하였다. 유전자 분석을 위하여 RT-PCR을 실시한 결과 M 단백질 유전자의 C 말단부위와 F 단백질 유전자의 N 말단부위를 포함한 총 508 bps의 산물이 성공적으

```
1    ATGGGCTCC AAACCTTCT ACCAGGATC CCAGCACCT CTGATGCTG ACCACCCGG ATTACGCTG
     M  G  S   K  P  S   T  R  I   P  A  P   L  M  L   T  T  R   I  T  L

64   ATATTGAGC TGTATCCGT CCGACAAGC TCTCTTGAC GGCAGGCCT CTTGCAGCT GCAGGAATT
     I  L  S   C  I  H   S  T  S   S  L  D   G  R  P   L  A  A   A  G  I

127  GTAGTAACA GGAGATAAG GCAGTCAAT GTATACACC TCATCTCAG ACAGGGTCA ATCATAGTC
     V  V  T   G  D  K   A  V  N   V  Y  T   S  S  Q   T  G  S   I  I  V

190  AAGTTGCTC CCGAATATG CCCAGGGAT AAAGAGGCG TGTGCAAAA GCCCCATTA GAGGCATAT
     K  L  L   P  N  M   P  R  D   K  E  A   C  A  K   A  P  L   E  A  Y

253  AACAGAACA CTGACTACT TTGCTCACT CCTCTTGGC GACTCCATC CGCAAGATC CAAGGGTCT
     N  R  T   L  T  T   L  L  T   P  L  G   D  S  I   R  K  I   Q  G  S

316  GTGTCCACG TCTGGAGGA AGGAGACAA AAACGCTTT ATAGGTGCT GTTATCGGC AGTGTAGCT
     V  S  T   S  G  G   R  R  Q   K  R  F   I  G  A   V  I  G   S  V  A

379  CTTGGGGTT GC
     L  G  V
```

Fig. 1. Nucleotides and predicted amino acid sequences of the first 389 nucleotides of the coding region of the F gene of Korean wild duck isolate DK1/07. The F protein cleavage site sequence from position 112-117 is boxed and F protein N-terminal variable region is underlined.

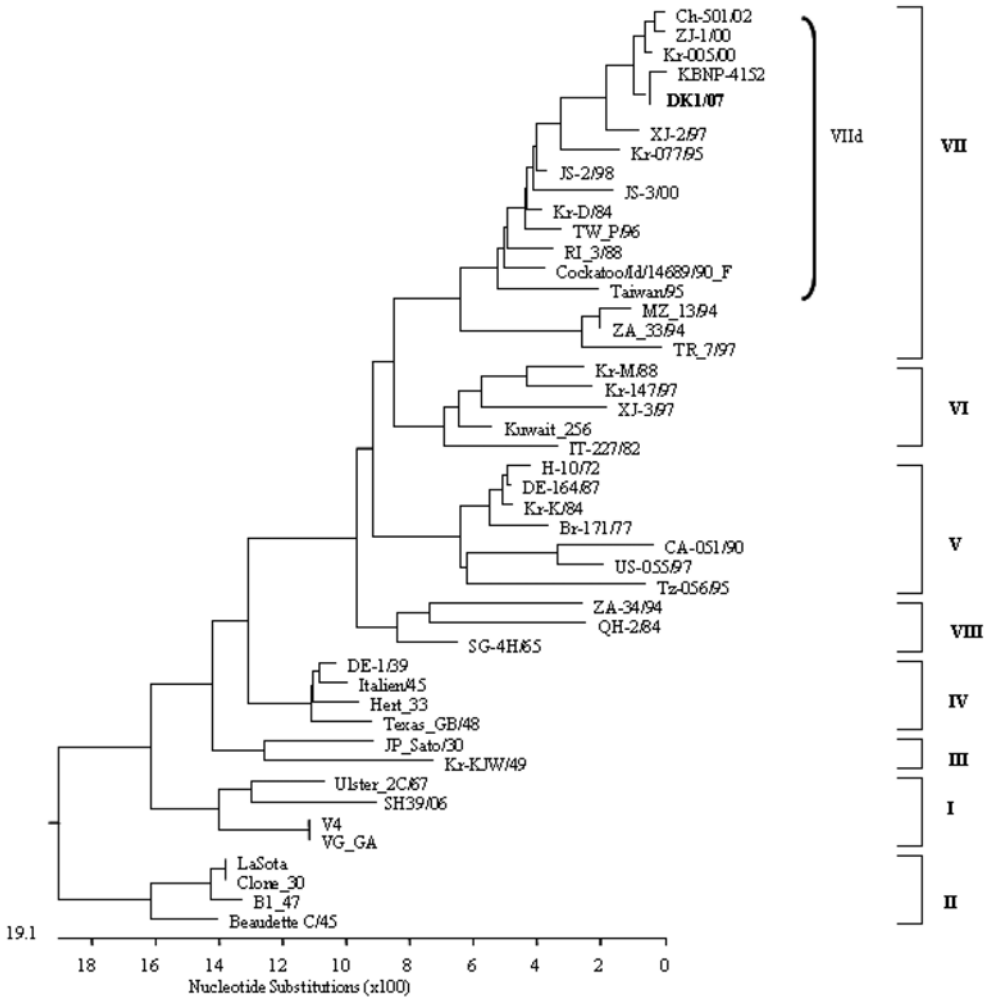

Fig. 2. Phylogenetic tree of the nucleotide sequences of NDV isolates based on the first 389 nucleotides of the coding region of the F gene. Sequences of reference strains were taken from the GenBank database. The phylogenetic tree was constructed using the software package DNASTER with the CLUSTER W method (Slow/Accurate, IUB). The provisional designations including genotypes and sub-genotypes are indicated on the right.

로 증폭되었다. 증폭산물은 아가로스겔로부터 순수 정제한 후 직접 유전자 염기서열에 사용되었다. 이중 F단백질의 389 nt의 핵산 염기서열을 염기서열 분석에 사용하였다.

NDV 독력과 관련 있는 F0 단백질의 F1/F2 분절부위의 아미노산 서열을 조사하였다. 그 결과 야생 오리에서 분리된 DK1/07주의 F0 분절부위는 ^{112}R-R-Q-K-R-F^{117}의 다염기성 아미노산 서열을 가지고 있었다(Fig. 1). F 단백질의 분절부위에서의 다염기성 아미노산 서열은 강독 NDV에서 관찰되는 특징적인 아미노산 서열이고, 제 VIId 유전형 강독 바이러스들이 공통적으로 가지고 있는 아미노산 염기서열임을 감안할 때 분리된 DK1/07주는 닭에 치명적인 강독 바이러스임을 의미한다 [4, 22, 28]. 그러므로, F 단백질의 병원성 모티브(motif)는 상기의 MDT에 의한 독력 실험 결과와 일치하는 것이다. 한편 대조로 사용된 국내 백신주(La Sota주, Ulster2C주, B1주, 및 VG/GA주)와 SH39/06주는 모두 ^{112}G-K-Q-G-R-L^{117}는 동일 부위에서 약독 바이러스의 특징인 단염기성(monobasic) 아미노산 서열을 가지고 있었다.

계통분류학적 분석

F단백질의 N 말단 가변부위(hypervariable region, HVR)의 핵산 염기서열은 NDV의 유전형 감별이나 분자역학적 분석을 위한 계통분류학적 분석의 주된 부위

로 사용되어 왔다 [12, 15-18, 25, 29]. 그러므로, 본 연구에서 상기에서 분석된 염기 서열중 F 단백질의 N 말단부위의 389개의 핵산 염기서열을 이용하여 계통분류학적 분석을 위하여 사용하였다(Fig. 2). 또한, 현재까지 알려진 9개 유전형의 대표적인 NDV strains들의 유전정보를 비교 분석을 위하여 사용하였다. 이미 다른 연구자들 [13, 15, 16]에 의하여 보고된 바와 같이, 백신주는 유전형 I형(Ulster2C주 및 VG/GA주) 또는 유전형 II형(L Sota주, B1주 및 Clone30주)에 속하였다. 시화호 야생조류에서 분리된 SH39/06주는 계통분류학상 유전형 I형에 속하였다. 본 연구의 야생 오리분리주 DK1/07주는 계통 분류학상 유전형 VIId형에 속하는 것으로 조사되었으며, 최근 국내 닭에서 유행하는 VIId형 강독 바이러스와 가장 유전적으로 유사하였다. 이것은 DK1/07주는 백신바이러스보다는 최근 국내 닭에서 유행하는 강독형 NDV에 유전적으로 가깝다는 것을 의미한다.

고 찰

야생 오리류는 그 동안 여러 연구자에 의하여 뉴캣슬병의 자연 숙주로서의 가능성을 제기되어 왔음에도 불구하고 [4, 8, 23, 25, 27], 감염되더라도 임상 증상을 나타내지 않는 오리의 특성과, 시료 채취의 어려움 등으로 국내 서식 야생 조류에 대한 조사·연구가 매우 제한적으로 이루어진 숙주인 것이 사실이다. 그러한 점을 감안해 볼 때 본 연구의 야생 오리유래 NDV가 국내 처음으로 보고된 것은 그 의의가 크다 하겠다.

수생 야생조류에서 NDV는 많은 연구자들에 의해 보고된 바 있지만, 북미대륙의 가마구지류(double-creasted comorants) 등 다수의 집단 폐사 [7] 등 예외적인 사례를 제외하고는 대부분 약독 NDV들이었다 [3, 8, 20, 24, 26, 30, 31].

본 연구의 흰뺨검둥오리로부터 분리한 바이러스의 독력은 야생조류에서의 실험이 현실적으로 어려움이 있어 이를 증명하지 못했다. 그러나, 지금까지 오리류는 뉴캣슬병에 저항성이 있다는 조류종임이 이미 알려져 있다 [11]. 바이러스가 분리되었던 야생오리는 바이러스분리 당시 외관상 건강한 상태였고, 비록 바이러스가 분리되지 않았지만 당시 같이 포획되었던 다른 야생오리 1수에서 64배의 NDV HI항체가를 보였다는 사실을 감안해 볼 때 NDV가 분리된 흰뺨검둥오리는 감염후 불현성 감염으로 진행되었을 것으로 판단된다. NDV DK1/07주가 흰뺨검둥오리의 총배설강에서 분리되었다는 사실에서 보듯, 야생 오리류가 뉴캣슬병에 치명적이지 않는다 하더라도 감염 오리는 분변을 통하여 NDV를 주변 환경에 오염시킬 수 있다는 점을 유의할 필요가 있어 보인다.

흰뺨검둥오리(*Anas poecilorhyncha*)는 전국적으로 분포하는 수생 여름텃새로 분류되나 겨울철의 경우 북방지역으로부터 날아온 흰뺨검둥오리들과 함께 겨울을 난다. 그러므로, 본 연구에서 바이러스가 분리된 시점이 겨울철임을 감안하면 역학적 측면에서 감염 오리가 북방지역에서 유래된 것인 지 국내 서식 텃새인지 명확하지 않다. 또한, 본 연구의 NDV DK1/07주가 야생오리들 사이에서 자체 순환하는 오리유래 바이러스인지, 닭유래 바이러스에 의한 감염으로 인한 것 인지 분명하지 않다.

그럼에도 불구하고, 몇 가지의 DK1/07주의 특성을 감안해 보면 NDV DK1/07주가 발병 닭으로부터 유래되었을 가능성이 높다고 판단된다. 첫째, 수생야생조류에서 분리된 약독 NDV SH39/06주와 달리 NDV DK1/07주는 말 적혈구 응집능을 보이지 않았다. 수생동물유래 바이러스의 경우 말 적혈구에 대한 응집능을 가지고 있으나, 닭유래 바이러스의 경우 그러하지 않다 [11]. 둘째, 최근 국내 닭에서 유행하는 강독 NDV와 유전적으로 가장 유사하였다. 셋째, 국립수의과학검역원에서 제공하는 뉴캣슬병 발생자료에 의하면 2007년 12월경에 곡교천 인근 지역에 소재한 2개의 닭 농장에서도 뉴캣슬병이 발생하였다. 만약 NDV DK1/07주가 닭 유래 바이러스일 경우, 감염된 흰뺨검둥오리는 닭유래 NDV가 오염된 물이나, 사료 등과의 접촉에 의한 우연히 감염되었을 가능성을 배제할 수 없다.

결론적으로, 본 연구는 흰뺨검둥오리에서 강독 NDV가 분리되었다는 점에서 야생 흰뺨검둥오리가 NDV의 보독동물로서 작용할 수 있다는 것을 확인하였다는 점에서 역학적으로 큰 의의가 있다. 앞으로 뉴캣슬병으로 인한 질병 피해 최소화를 위한 예찰조사를 수행할 경우 야생 조류와의 접촉여부 등도 위험도 측면에서 고려해 볼 필요가 있다.

결 론

충북 소재 삽교호의 상부 지류 곡교천에 서식하는 흰뺨검둥오리로부터 분리된 NDV DK1/07주의 특성을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. NDV DK1/07주는 발육계란에서 독력을 조사한 결과 평균치사시간(MDT)가 60시간 이내로 강독 바이러스로 확인되었다.

2. NDV DK1/07주의 F 단백질의 분절부위 아미노산 서열을 분석한 결과, 강독 바이러스의 특징인 ^{112}R-R-Q-K-R-F^{117}의 다염기성 아미노산 서열을 가진 것으로 확인되었다.

3. NDV의 F 유전자의 핵산 염기서열을 토대로 계통발생학적으로 분석한 결과, DK1/07주는 극동아시아에서

유행하는 강독 바이러스들이 속하는 VIId형의 유전형으로 분류되었으며, 최근 국내사육 닭에서 분리된 강독 NDV와 유전적으로 가장 높은 상동성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 국립수의과학검역원 수의과학기술개발연구사업(과제코드: B-AD15-2005-07-01)의 지원에 의해 이루어졌다.

참고문헌

1. **Alexander DJ.** Newcastle disease diagnosis. In: Newcastle Disease. pp. 147-160, Kluwer, Boston. 1988.
2. **Alexander DJ.** The epidemiology and control of avian influenza and Newcastle disease. J Comp Pathol 1995, **112**, 105-126.
3. **Alexander DJ, Spackman D, Allan WH, Borland L.** Isolation of Newcastle disease virus from a wild mallard duck (Anas platyrhynchos). Vet Rec 1979, **105**, 328-329.
4. **Collins MS, Bashiruddin JB, Alexander DJ.** Deduced amino acid sequences at the fusion protein cleavage site of Newcastle disease viruses showing variation in antigenicity and pathogenicity. Arch Virol 1993, **128**, 363-370.
5. **de Leeuw OS, Koch G, Hartog L, Ravenshorst N, Peeters BP.** Virulence of Newcastle disease virus is determined by the cleavage site of the fusion protein and by both the stem region and globular head of the haemagglutinin-neuraminidase protein. J Gen Virol 2005, **86**, 1759-1769.
6. **Garten W, Berk W, Nagai Y, Rott R, Klenk HD.** Mutational changes of the protease susceptibility of glycoprotein F of Newcastle disease virus: effects on pathogenicity. J Gen Virol 1980, **50**, 135-47.
7. **Glaser LC, Barker IK, Weseloh DV, Ludwig J, Windingstad RM, Key DW, Bollinger TK.** The 1992 epizootic of Newcastle disease in double-crested cormorants in North America. J Wildl Dis 1999, **35**, 319-330.
8. **Hanson BA, Swayne DE, Senne DA, Lobpries DS, Hurst J, Stallknecht DE.** Avian influenza viruses and paramyxoviruses in wintering and resident ducks in Texas. J Wildl Dis 2005, **41**, 624-628.
9. **Herczeg J, Wehmann E, Bragg RR, Travassos Dias PM, Hadjiev G, Werner O, 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. Arch Virol 1999, **144**, 2087-2099.
10. **Ito T, Kawaoka Y, Kameda C, Yasuda J, Kida H, Otsuki K.** Differences in receptor specificity between Newcastle disease viruses originating from chickens and waterfowl. J Vet Med Sci 1999, **61**, 951-953.
11. **Kaleta EF, Baldauf C.** Newcastle disease diagnosis. In: Alexander DJ (ed.). Newcastle Disease. pp. 197-246, Kluwer, Boston, 1988.
12. **Ke GM, Liu HJ, Lin MY, Chen JH, Tsai SS, Chang PC.** Molecular characterization of Newcastle disease viruses isolated from recent outbreaks in Taiwan. J Virol Methods 2001, **97**, 1-11.
13. **Kim LM, King DJ, Curry PE, Suarez DL, Swayne DE, Stallknecht DE, Slemons RD, Pedersen JC, Senne DA, Winker K, Afonso CL.** Phylogenetic diversity among low-virulence Newcastle disease viruses from waterfowl and shorebirds and comparison of genotype distributions to those of poultry-origin isolates. J Virol 2007, **81**, 12641-12653.
14. **Lamb RA, Kolakofsky D.** Paramyxoviridae: the viruses and their replication. In: Fields BN, Kniepe DM, Howley PM (eds.). Fundamental Virology. pp. 1305-1340, Lippincott-Raven, Philadelphia, 2002.
15. **Lee YJ, Sung HW, Choi JG, Kim JH, Song CS.** Molecular epidemiology of Newcastle disease viruses isolated in South Korea using sequencing of the fusion protein cleavage site region and phylogenetic relationships. Avian Pathol 2004, **33**, 482-491.
16. **Liu H, Wang Z, Wu Y, Zheng D, Sun C, Bi D, Zuo Y, Xu T.** Molecular epidemiological analysis of Newcastle disease virus isolated in China in 2005. J Virol Methods 2007, **140**, 206-211.
17. **Liu XF, Wan HQ, Ni XX, Wu YT, Liu WB.** Pathotypical and genotypical characterization of strains of Newcastle disease virus isolated from outbreaks in chicken and goose flocks in some regions of China during 1985-2001. Arch Virol 2003, **148**, 1387-1403.
18. **Mase M, Imai K, Sanada Y, Sanada N, Yuasa N, Imada T, Tsukamoto K, Yamaguchi S.** Phylogenetic analysis of Newcastle disease virus genotypes isolated in Japan. J Clin Microbiol 2002, **40**, 3826-3830.
19. **Mayo MA.** A summary of taxonomic changes recently approved by ICTV. Arch Virol 2002, **147**, 1655-1663.
20. **Majiyagbe KA, Nawathe DR.** Isolation of virulent

Newcastle disease virus from apparently normal ducks in Nigeria. Vet Rec 1981, **108**, 190.

21. **Nagai Y, Klenk HD, Rott R.** Proteolytic cleavage of the viral glycoproteins and its significance for the virulence of Newcastle disease virus. Virology 1976, **72**, 494-508.
22. **Nagai Y.** Protease-dependent virus tropism and pathogenicity. Trends Microbiol 1993, **1**, 81-87.
23. **Pearson GL, McCann MK.** The role of indigenous wild, semidomestic, and exotic birds in the epizootiology of velogenic viscerotropic Newcastle disease in southern California, 1972-1973. J Am Vet Med Assoc 1975, **167**, 610-614.
24. **Peroulis I, O'Riley K.** Detection of avian paramyxoviruses and influenza viruses amongst wild bird populations in Victoria. Aust Vet J 2004, **82**, 79-82.
25. **Seal BS.** Nucleotide and predicted amino acid sequence analysis of the fusion protein and hemagglutinin-neuraminidase protein genes among Newcastle disease virus isolates. Phylogenetic relationships among the Paramyxovirinae based on attachment glycoprotein sequences. Funct Integr Genomics 2004, **4**, 246-257.
26. **Stanislawek WL, Wilks CR, Meers J, Horner GW, Alexander DJ, Manvell RJ, Kattenbelt JA, Gould AR.** Avian paramyxoviruses and influenza viruses isolated from mallard ducks (Anas platyrhynchos) in New Zealand. Arch Virol 2002, **147**, 1287-1302.
27. **Takakuwa H, Ito T, Takada A, Okazaki K, Kida H.** Potentially virulent Newcastle disease viruses are maintained in migratory waterfowl populations. Jpn J Vet Res 1998, **45**, 207-215.
28. **Toyoda T, Sakaguchi T, Imai K, Inocencio NM, Gotoh B, Hamaguchi M, Nagai Y.** Structural comparison of the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein between virulent and avirulent strains of Newcastle disease virus. Virology 1987, **158**, 242-247.
29. **Tsai HJ, Chang KH, Tseng CH, Frost KM, Manvell RJ, Alexander DJ.** Antigenic and genotypical characterization of Newcastle disease viruses isolated in Taiwan between 1969 and 1996. Vet Microbiol 2004, **104**, 19-30.
30. **Vickers ML, Hanson RP.** Characterization of isolates of Newcastle disease virus from migratory birds and turkeys. Avian Dis 1982, **26**, 127-133.
31. **Vickers ML, Hanson RP.** Newcastle disease virus in waterfowl in Wisconsin. J Wildl Dis 1982, **18**, 149-58.
32. **Yang CY, Shieh HK, Lin YL, Chang PC.** Newcastle disease virus isolated from recent outbreaks in Taiwan phylogenetically related to viruses (genotype VII) from recent outbreaks in western Europe. Avian Dis 1999, **43**, 125-130.