

高致病性禽流感研究进展

郭元吉

禽流感(Avian influenza, AI or bird flu)是禽流行性感动的简称,它是指由禽流感病毒引起的一种动物传染病,常发生在禽,有时也发生在低等哺乳类动物,至今在人仅有偶发病例。

禽流感病毒(Avian influenza Virus, AIV),根据其其对鸡致病性的不同分为高致病性、中致病性和低/非致病性的,而不是对人而言。高致病性的为 H5 和 H7 亚型病毒中一些毒株,中致病性的主要指 H9N2 和 H6N8 亚型毒株。其他的毒株均为低/非致病性的。

禽流感病毒不仅会给养禽、畜牧业带来灾难性的破坏,而且对公共健康也构成了严重威胁。因此,禽流感的危害已引起世界各国普遍关注。尤其自 2003 年以来,国内外媒体不断报道了人间禽流感事件,并自 1997 年以来,一些人一直认为高致病性禽 H5N1 流感病毒即将会造成世界性流感大流行而担忧,人类将面临 1918 年西班牙流感悲剧的重演。

同时我国内地近来人群中出现了禽流感/死病例,因此,禽流感已成当今我国市民街头巷尾所议论的热点话题之一,少数市民有谈禽色变之感。故有必要对高致病性禽 H5N1 流感研究的一些进展做个简要介绍。

1 流感病毒生态学的兴起

流感病毒生态学是研究流感病毒与外界环境之间的关系,具体来讲是研究流感病毒在自然界中的分布、传播和生存方式,它如何引起流感疾病发生和流行给人类带来灾难,人类应如何和流感疾病作斗争的一门学科。

这门学科引起医学界的重视始于 1957 年,因那时甲 2 (H2N2) 亚型毒株突然出现并引起世界性流感大流行,该亚型毒株无论血凝素(H)还是神经氨酸酶(N)与人群中流行的甲 1(H1N1)亚型毒株截然不同,显然不是由 H1N1 亚型毒株演变而来,而被认为其来源可能性很大与低等动物流感病毒有关,因此,世界卫生组织(WHO)立即建议世界各国开展流感病毒生态学研究,来弄清 H2N2 亚型毒株来源问题。1968 年甲 3(H3N2)亚型毒株又突然出现,并造成世界性流感大流行,该亚型毒株的 H 也截然不同,与 H1 与 H2,同时,1970 年 Kundin^[1]在我国台湾省猪群中查到 H3N2 亚型毒株抗体,并分离到 A/Hong Kong/1/68(H3N2)类似病毒,从而掀起了低等

动物流感病毒研究的新高潮,这时人们的注意力,主要集中在猪和鸭两类动物。1976 年美国新泽西州迪克斯堡新兵营中发生猪(H1N1)亚型流感暴发^[2],同时推测 1918 年西班牙流感将会重演,美国实行全民猪(H1N1)亚型流感病毒疫苗接种,在国际上第二次掀起了流感病毒生态学研究的高潮。然而,1977 年世界性流感大流行的病原,不是猪(H1N1)亚型毒株,而是在人群中已消失 20 多年之久的 H1N1 亚型毒株^[3],而两者无论在抗原性还是基因特性方面相差甚远,故在 1980 年之前属于两个不同的亚型。显然,H1N1 毒株重现与低等动物中流感病毒毫无相关,这就动摇了流感病毒大流行株起源于低等动物流感病毒的见解。直到 1997 年我国香港特区发生 18 例禽 H5N1 流感病例,其中死亡 6 例^[4],震惊了世界,把禽流感研究推到了颠峰。

我国内地全面系统地开展流感病毒生态学研究始于 1977 年,虽然比国际上整整晚了 20 年,但仍取得了一些举世瞩目的成绩。

(1)首次证实猪是丙型流感病毒天然宿主之一^[5],及丙型流感病毒在自然界中也能发生基因重配^[6]。纠正了长期以来认为人是丙型流感病毒唯一天然宿主和流感病毒中只有甲型流感病毒才能发生基因重配的错误看法。

(2)首次发现禽 H3N8 亚型毒株能突破宿主屏障直接感染马属动物,并造成大批马属动物患病和死亡^[7],同时还发现该病原对小鼠具有致死性感染。

(3)首次发现禽 H9N2 亚型毒株能直接感染人,并使人发病^[8],以及两种不同基因型 H9N2 毒株在自然界中能发生基因重配^[9]。

(4)发现野鸭携带有大量流感病毒,表明野鸭在禽流感病毒传播中起重要作用^[10]。

1978—1980 年连续 3 年在辽宁省丹东市孤山镇每年调查 200 余只野鸭,共分离到 30 种不同 N 和 H 组合的流感病毒株,而且每年毒株种类有所不同,并发现野鸭中流感病毒携带率高达 7.7%(5.2%~11.5%)。

(5)发现粪便—水—口是禽流感病毒主要传播途径之一^[11]。

1978—1980 年在北京地区调查发现,在家鸭饮过的水中,流感病毒分离率高达 15.6%,同样的病毒亚型复杂,这个发现也为水禽中流感监测提供了简便的途径。

(6)首次发现 H11N9 亚型流感病毒能引起小鸭肺炎^[11]。

(7)1980 年就从家鸭中分离到低致病性的 H5N1 和 H9N2 亚型流感病毒^[12],1996 年从病鹅中分离到 H5N1 亚型流感病

作者单位:100052 北京,中国疾病预防控制中心病毒预防控制所国家流感中心

毒^[13]。

(8) 其他方面

至今已调查过的低等动物将近 30 余种:猪、马、牛、骡、驴、狗、猫、兔、鹿、绵羊、山羊、实验小鼠、野鼠、水貂、树鼯、老虎、猴、蛇、穿山甲、鸡、野鸡、鸽、鹅、家鸭、野鸭、海鸥、黑脸琵鹭、油罐、草鹈、小鸬鹚、红脚鹈、斑头雁、鱼雁等。已分离到的禽流感病毒有:H2N3、H3N1、H3N3、H3N6、H3N7、H3N8、H3N9、H4N2、H4N5、H4N6、H4N7、H4N8、H4N9、H5N1、H5N4、H5N8、H6N2、H6N4、H6N5、H6N8、H7N7、H9N2、H9N9、H10N3、H10N5、H10N9、H11N2、H11N6、H11N9 和 H12N9 等,即至今已发现的甲型流感病毒 9 个 N 亚型及 16 个 H 亚型中绝大多数均已分离到。

2 历史上所发生禽流感病毒直接感染人事件

(1) 上世纪 50 年代就已发现 H7N7 亚型毒株能直接感染人^[14]。

(2) 1981 年,美国实验室进修人员被 H7N7 毒株感染引起角膜炎^[15]。

(3) 1995 年,英国发生 H7N7 感染人并引起角膜炎。

(4) 1997 年,中国香港特区发生 18 例 H5N1 患者,其中死亡 6 例^[4]。

(5) 1998 年,中国广东发生 5 例 H9N2 患者^[8]。

(6) 1999 年,中国香港特区出现 H9N2 患者 2 例^[16]。

(7) 1999 年,中国广东出现 H9N2 患者 1 例^[9]。

(8) 2002 年,美国出现 H7N2 感染 1 例。

(9) 2003 年,中国香港出现 H5N1 2 例,其中死亡 1 例^[17]。

(10) 2003 年,美国出现 H7N2 感染 1 例。

(11) 2003 年,荷兰出现 H7N7 感染 85 例,其中死亡 1 例^[18]。

(12) 2004 年,加拿大出现 H7N3 感染 2 例。

(13) 2003 年底至今,越南、泰国、柬埔寨、老挝、印度尼西亚、中国和土耳其等国均发生了 H5N1 病例及死亡病例。

综上所述,从上世纪 50 年代就已发现禽流感病毒能直接感染人,至今能直接感染人的禽流感病毒有 H5N1、H7N2、H7N3、H7N7 和 H9N2 亚型毒株。报告发生人禽流感病毒感染的国家有:美国、英国、荷兰、加拿大、越南、泰国、柬埔寨、老挝、印度尼西亚、中国和土耳其等。

3 为何人间禽流感多发于东南亚地区

高致病性禽流感 H7N7 和 H5N1 亚型毒株分别于 1878 年和 1959 年首发于意大利^[19]和英国苏格兰^[20],而 H9N2 亚型毒株于 1966 年首次从美国火鸡中分离出^[21],它们均不首发于东南亚地区。那么为何自 1997 年以来高致病性禽流感 H5N1 流感病毒在东南亚地区活动如此猖獗,一般认为其原因为:

(1) 禽种大量更换,养殖的多为产蛋高、生长快的禽,它们对高致病性禽流感病毒敏感并抵抗力弱。

(2) 人口多,密度高,地处热带或亚热带,有利于流病

毒生存和传播。

(3) 湖泊、滩涂、沼泽地及稻田多,是候鸟的主要集散地。

(4) 养禽业发达,水禽多并以散养为主。

(5) 农贸市场多,小摊小贩密布,活禽流动量大,居民喜买活禽并有亲自宰杀习惯。

(6) 爱鸟和护鸟意识不断增强,野禽品种和数量大大增加,野禽与家禽、家畜,甚至与人的接触机会增多。

(7) 绝大多数为发展中国家,经济和卫生条件差,基层防疫力量薄弱,耕作方式较落后,居住拥挤,人、禽、畜关系密切。

4 高致病性禽流感 H5N1 毒株基因特性的研究

高致病性禽流感 H5N1 流感病毒为甲型流感病毒的一员,所以它的基因组是分节段的,单股负链 RNA。禽流感病毒基因组具有严格的宿主特异性,其 8 个节段均属禽流感病毒所固有的特性。

(1) 根据禽流感病毒基因组特性不同,禽流感病毒可分为欧亚和北美两系^[22],很奇怪的是当今在东南亚地区、欧洲,甚至非洲所流行的高致病性禽流感 H5N1 毒株均属欧亚系。

(2) 有些报道认为病毒的 NP 基因具有宿主的特异性^[23],根据其基因进化树,可分为两大类:一类为人和猪病毒株;另一类为马、鸥和鸭。如再细分,可分为人、猪、马、鸥和鸭五类^[24]。

(3) 同一欧亚或北美系间还存在 A 和 B 两个基因系^[25]。

(4) 高致病性禽流感 H5N1 流感病毒株,其 HA 蛋白分子上重链(HA₁)与轻链(HA₂)间的连接肽至少含 4 个或以上碱性氨基酸^[26],同时连接肽附近是否具有糖基化位点也在决定病毒株毒力方面起到重要作用^[27]。如 A/Chicken/Pennsylvania/1/83(H5N2)毒株连接肽序列为 Q-K-K-K-R/G 为低致病性的,而 A/Chicken/Scotland/59(H5N1)毒株,其连接肽序列也为 Q-K-K-K-R/G,但在连接肽附近丢失了一个糖基化位点,结果成为高致病性的^[27]。

(5) 禽流感病毒的受体特异性不同于人流感病毒,因此,它们不易在相互宿主间传播。禽流感病毒主要识别和结合 SA 2,3Gal 的受体,而人流感病毒主要识别和结合 SA 2,6Gal 的受体^[28]。而人呼吸道上皮细胞表面含 SA 2,6Gal,而不含 SA 2,3Gal^[29],反之鸭胃肠道上皮细胞表面含 SA 2,3Gal,而不含 SA 2,6Gal^[27]。造成如此差异一般认为与禽流感病毒重链蛋白分子上第 222 位和 224 位(相当人 H3 亚型流感病毒第 226 和 228 位)上氨基酸种类有关。禽病毒 222 位为谷氨酰胺(Gln),而人的 H3 毒株 226 位为亮氨酸(Leu),224 位禽为甘氨酸(Gly),而人 H3 毒株 228 位为丝氨酸(Ser)^[30]。

(6) 根据 WHO 资料,当今所分离到的高致病禽流感病毒,其 HA 基因特性可分为 4 个分支:1997 和 2002 年我国香港特区分离到 2 个分支;越南、泰国、柬埔寨和老挝为第三分支;韩国、日本、中国大陆、印尼和土耳其为第四分支。同时见不到它们相互基因进化上的演变关系。

而近来 HA 基因进化分析表明,2003 年底以来可分离到的 H5N1 毒株可分为两个谱系:一个是越南、泰国、老挝和柬埔寨毒株,其他的分为第二个谱系,这个谱系中又分成 3 个亚组,中国内地从人分离到的为独立的一个亚组。

(7) 自 1997 年以来所分离到高致病性禽 H5N1 毒株 NA 基因可分为两大类:一类丢失编码子(编码 NA 茎区)19 或 20 个^[25,31],至于这种编码子丢失与毒力之间关系及在流行病学上的意义,有待进一步弄清。

(8) 有的报道认为 H5N1 毒株 PB2 蛋白第 627 位由谷氨酸(Glu)变成赖氨酸(Lys),能增高病毒株对小鼠的致病性^[32],如 H7N7 毒株 PB2 蛋白第 627 位为 Lys 能增强毒株对人的致病性^[33]。还有的报道认为 H5N1 病毒 NS1 蛋白第 92 位一般为天冬氨酸(Asp),当变为谷氨酸(Glu)时能提高对猪的致病性^[34]。越南和泰国从患者中所分离出的 H5N1 毒株,几乎对金刚烷胺类药物是抵抗的,此种耐药株的出现,与病毒株 M2 蛋白 26、27、30、31、34 位的跨膜区的氨基酸变异有关^[35]。越南和泰国毒株的 M2 蛋白的第 31 位都是由丝氨酸(Ser)变成天冬氨酸(Asn)^[36]。越南从一名 14 岁女患者中分离出一株对奥塞米韦抵抗的毒株,该毒株的 NA 蛋白第 274 位由组氨酸(His)变成了酪氨酸(Tyr),这一变异与病毒对奥塞米韦抵抗力有关,274 位为 Tyr 的毒株抗奥塞米韦强,274 位为 Ser 时呈现轻微的抵抗^[37]。

然而,一般认为流感病毒的致病性是多基因所决定^[38],是所有生物特性综合体现。但 HA 基因起关键作用。中国大陆至今从人分离出的 H5N1 毒株,绝大多数其 PB₂ 627 均为谷氨酸,无论对 M₂ 离子通道阻断剂还是对神经氨酸酶抑制剂均敏感。因此,不应把个别现象,当成普遍规律。

5 H5N1 病毒物种跨越

关于高致病性禽 H5N1 病毒是否已突破人宿主的屏障存在着不同的看法:一些人认为已突破,1997 年从患者所分离出的 H5N1 毒株是由 A/鹅/广东/1/96(H5N1)毒株与其他禽 H5N1 毒株基因重配而来^[38],突破了人宿主的屏障。显然这种推断缺乏科学依据。前面已提到,高致病性禽 H5N1 于 1959 年首发于苏格兰^[20],1990 年在英格兰火鸡中也分离到高致病性的 H5N1 毒株^[20]。1997 年 3 月中国香港特区新界 3 个鸡场发生了 H5N1 流感暴发,其病毒的基因特性与从患者所分离的非常相似^[4],而且香港特区于 1979 年从鸭中就已分离到 H5N3 毒株^[26],其他国家在野鸟和鸭中也早已分离到 H5N1 毒株^[26]。而 1996 年广东鹅 H5N1 毒株,除 H 基因与 1997 年香港特区 H5N1 毒株相似外,其余 7 个基因节段明显不同于 1997 年 H5N1 毒株,同时我们曾用 1996 年鹅毒株,通过鼻腔和口腔大剂量感染 4~6 周龄小鸡,小鸡不发病、不排毒并无抗体应答。因此,主观地认为 1997 年人群中禽 H5N1 流感就是与 1996 年广东鹅 H5N1 病毒有关,与其余的均无关,这是缺乏科学依据的。事实已清楚表明,2003 年以来的 H5N1 毒株并不是由 1997 年香港 H5N1 毒株演变而来。迫使

一些人不得不改变观点,认为高致病性 H5N1 毒株的抗原性和基因特性具有地区性差异。

另一些人认为,时至今日,高致病性禽 H5N1 毒株尚未突破人宿主的屏障。首先从流行病学角度来分析,如果已突破人宿主屏障,为何自 1997 年 5 月以来,全世界确诊病例还不到 200 例。其次从病原分子生物学方面来分析:至今从患者/死者中所分离出的 H5N1 毒株基因组 8 个节段均属禽流感病毒,不含有任何人流感病毒节段;它们的受体特异性为禽流感病毒;它们 HA 蛋白分子上连接肽含一串碱性氨基酸。因此,可认为受袭击者可能性很大为一些遗传异常或免疫能力低下者。

再一个不同看法为,到底高致病性禽 H5N1 病毒是否已具有人传人的能力。同样的一些人认为已具有,其依据:中国香港调查表明,暴露于病禽或屠宰鸟类工作者的血清出现 H5 病毒抗体^[39];日本四个屠宰病鸟的工人^[40]和越南两个照看受 H5N1 病毒感染的饲养员血清中含 H5 毒株抗体^[4];越南一名 14 岁女性患者没有禽暴露史,只是在她发病前照料过患病的哥哥,而从兄妹所分离出的 H5N1 毒株,其 NA 基因序列完全相同,只在 HA 基因 271 位上核苷酸不同,表明 H5N1 病毒由哥哥传给妹妹^[37];泰国一名小男孩患者可能将 H5N1 病毒传给他的母亲和婶母^[41]等。而另一些人认为不具有,其理由:H5N1 毒株未发生本质上突变;上述所发生的病例,无法完全排除直接来自禽流感病毒;中国香港特区血清学结果未能得到越南、泰国、印度和中国内地结果所证实。

6 疫苗和药物

人用的禽 H5N1 流感病毒疫苗国际上一些国家正在研制之中,主要研制裂解苗,因全颗粒苗接种后不良反应大,不应在 12 岁以下儿童使用。当今疫苗所存在的主要问题:谁也不敢断定下次世界性流感大流行肯定是由 H5N1 流感病毒所引起,下次世界性流感大流行何时何地发生?将来就是由 H5N1 毒株所引起,那时的 H5N1 毒株的抗原性和基因特性肯定会与当今的不同;其次发现 H5N1 病毒苗免疫原性较差。因此,目前主要仍进行技术上储备,哪个国家也不敢盲目地进行大量的人体试用。

当今国际上公认的有两种药物:M₂ 离子通道阻断剂即金刚乙胺和金刚烷胺和神经氨酸酶抑制剂,如奥司他韦(商品名叫达菲),他们对甲型流感病毒复制均有抑制作用。然而他们都需在发病 48 h 内服用才有效。由于人间禽 H5N1 流感主要发生在交通不便,经济和卫生条件差的农村,一般患者到医院就诊时,已发病数日。因此,上述两种药物对 H5N1 流感病毒疗效方面很难做出正确的评估。

参 考 文 献

- 1 Kundin WD. Hong Kong A-2 influenza virus infection among swine during a human epidemic in Taiwan. *Nature*, 1970, 228:857.
- 2 Top FH, Russell PK. Swine influenza A at Font Dix, New Jersey (January-February 1976). IV. Summary and speculation. *J Infect Dis*,

- 1977, 136: S376-380.
- 3 Nakajima K, Desselberger U, Palesa P. Recent human influenza A (H1N1) viruses are closely related genetically to strains isolated in 1950. *Nature*, 1978, 274:334-339.
 - 4 Subbarao K, Klimov A, Katz J, et al. Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness. *Science*, 1998, 279:393-396.
 - 5 Guo Y, Jin FG, Wang P, et al. Isolation of influenza C virus from pigs and experimental infection of pigs with influenza C virus. *J Gen Virol*, 1983, 64:177-182.
 - 6 Guo Y, Desselberger U. Genome analysis of influenza C viruses isolated in 1981/82 from pig in China. *J gen. Virol*, 1984, 65: 1857-1872.
 - 7 Guo Y, Wang M, Kawaoka Y, et al. Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology*, 1992, 188: 245-255.
 - 8 郭元吉, 李建国, 程小雯, 等. 禽 H9N2 亚型流感病毒能感染人的发现. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1999, 13: 105-108.
 - 9 郭元吉, 谢健屏, 吴昆昱, 等. 流感病毒 A/广州/333/99 (H9N2) 毒株基因组特性的研究. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2002, 16: 142-145.
 - 10 郭元吉, 王敏, 金粉根, 等. 我国家鸭及野鸭中 H5N1 亚型流感病毒基因型的调查. *中国医学科学院学报*, 1982, 4:30-35.
 - 11 Guo Y, Wang P, Wang M, et al. Influenza viruses isolated from ducking with sinusitis. *Virus Information Exchange Newsletter*, 1987, 4: 83.
 - 12 Guo Y, Wang M, Jin FG, et al. Influenza ecology in China. In: Laver WG, ed. *The Origin of Pandemic Influenza Viruses*, New York: Elsevier, 1983, PP. 211-223.
 - 13 郭元吉, 徐西雁, 万秀峰, 等. 一株 H5N1 亚型流感病毒基因型的分析. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1988, 12: 322-327.
 - 14 Delay PD, Casey HL, Tuhiahs HS. Comparative study of fowl plague virus and a virus isolated from man. *Public Health Rep*, 1967, 82:615-620.
 - 15 Webster RG, Petursson GG, Skirnisson K. Conjunctivitis in human beings caused by influenza A virus of seals. *N Engl J Med*, 1981, 304: 911.
 - 16 Peiris M, Yuen KY, Leung CW, et al. Human infection with influenza H9N2. *Lancet*, 1999, 354: 916-917.
 - 17 Sturm Ramirez KM, Ellis T, Bousfield B, et al. Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J Virol*, 2004, 78: 4892-4901.
 - 18 Meijer A, Wilbrink M, du Ry Van BH, et al. Highly pathogenic avian influenza virus A (H7N7) infection of humans and human to human transmission during avian influenza outbreak in the Netherlands. In: Kawaoka Y, ed. *The Options for the Control of Influenza V*. New York: Elsevier, 2004, 65-68.
 - 19 Stubbs EL. Fowl plague. In: Biester HE, Schwarte LH, eds. 5th ed, Iowa State Univ: Press Ames, 1965: 813-822.
 - 20 Easterday BC, Tumova B. Disease of poultry. In Hofstad MS, et al, eds. 6th ed, Iowa state Univ Press: Ames, 1972, 670-700.
 - 21 Homme PJ, Easterday BC. Avian influenza virus infections: characterization of influenza A/Turkey/Wisconsin/1966 Virus. *Avian Dis*, 1970, 16: 66-74.
 - 22 Donis RO, Bean WJ, Kawaoka Y, et al. Distinct lineages of influenza virus H₄ hemagglutinin genes in different regions of the world. *Virology*, 1989, 169: 408-417.
 - 23 Scholtissek C, Burger H, Kistner O, et al. The nucleoprotein as a possible major factor in determining host specificity of influenza H3N2 viruses. *Virology*, 1985, 147: 287-294.
 - 24 Reid AH, Fanning TG, Janczewski TA, et al. Novel origin of the 1918 pandemic influenza virus nucleoprotein gene. *J Virol*, 2004, 78: 12462-12470.
 - 25 Xu X, Subbarao K, Cox NJ, et al. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/Guise/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: Similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology*, 1999, 261: 15-19.
 - 26 Shortridge KF, Zhou NN, Guan Y, et al. Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology*, 1998, 252: 331-342.
 - 27 Ito T, Kawaoka Y. Avian influenza. In: Nicholson KG, Webster RG and Hay AJ, eds. *Textbook of influenza*. Blackwell Science, 1998, 126-136.
 - 28 Rogers GN, Paulson JC. Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology*, 1983, 127: 361-373.
 - 29 Barm LG, Paulson JC. Sialyloligosaccharides of the selection of human influenza virus receptor specificity. *Acta Histochem Suppl*, 1990, 40: 35-38.
 - 30 Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, et al. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev*, 1992, 56: 152-179.
 - 31 Liu J, Xiao H, Lei F, et al. Highly pathogenic H5N1 influenza infection in migratory birds. *Science*, 2005, 309: 1206.
 - 32 Hatta M, Gao P, Halfmann P, et al. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science*, 2001, 293: 1773-1775.
 - 33 Fouchier RAM, Schneeberger PM, Rozendaal FW, et al. Avian influenza A virus (H7N7) associated with conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 1356-1361.
 - 34 Seo SH, Hoffmann E, Webster RG, et al. Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses. *Nature Med*, 2002, 8: 950-954.
 - 35 Hay AJ, Zambon MC, Wolstenholme AJ, et al. Molecular basis of resistance of influenza A viruses to amantadine. *J Antimicrob Chemother*, 1986, 8(Suppl B): S19-S29.
 - 36 Scholtissek C, Quack G, Klenk HD, et al. How to overcome resistance of influenza A viruses against adamantane derivatives. *Antiviral Res*, 1998, 37: 83-95.
 - 37 Le QM, Kiso M, Someya K, et al. Isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature*, 2005, 437: 1108.
 - 38 Li KS, Guan Y, Wang J, et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*, 2004, 430: 209-213.
 - 39 Bridges CB, Lim W, Hu - Primmer J, et al. Risk of influenza A (H5N1) infection among poultry workers, Hong Kong, 1997-1998. *J Infect Dis*, 2002, 185: 1005-1010.
 - 40 Okabe N, Tashiro M. Japan: Serological investigation among humans involved in the mass culling operation. *FIC (Flu in China)* 7 January 2005. Available at: <http://www.flu.org.cn/news/200412256607.htm>. Accessed 22 August 2005.
 - 41 Ungechusak K, Auewarakul P, Dowell SF, et al. Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N Engl J Med*, 2005, 352: 333-340.

(收稿日期: 2006-03-10)