

2009年~2011年新疆野生鸟类禽流感流行病学调查与分析

成进^{1*}, 沙依兰古丽¹, 夏俊², 汪萍¹, 史军², 李雁冰³, 廖明^{4*}, 任涛⁴, 陆桂丽¹,

阿不都热合曼², 吐尔逊吐拉克², 戴志刚⁴, 何健², 初红军², 赛力克拜²

(1. 新疆畜牧科学院兽医研究所, 乌鲁木齐 830000; 2. 新疆野生动物疫源疫病监测站, 乌鲁木齐 830063;

3 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所, 哈尔滨 150001; 4 华南农业大学兽医学院, 广州 510640)

禽流感(AI)具有多宿主感染的特性,感染宿主包括人、猪、马、水貂、猫科动物、海洋哺乳动物和广泛的家养鸟类^[1]。AI的传播主要是通过粪-口途径,这在水禽中传递病毒是一个有效途径,即脱落的病毒通过粪便进入到水表面^[2]。因此,被感染的带毒野鸟往往成为重要的病原携带者,随着候鸟的迁徙,与留鸟及家禽的接触,而将疫情进一步扩散。有研究认为雁形目和鸻形目是禽流感病毒(AIV)主要的天然储存者^[2,3]。新疆独特的地理位置,使得新疆的野生鸟类的迁徙路线处于跨越中亚和欧亚的迁徙路线的一个关键性的位置上。新疆在野鸟的AI监测与研究方面尚属空白。因此,我们首次在新疆对野生鸟类开展了AI的血清学监测。

1 材料与方法

本研究按照 GB/T18936—2003 颁布的方法检测血清样品的 AI H1 抗体效价。AI H1 ~ H16 亚型标准抗原、阴性和阳性血清均由中国哈尔滨兽医研究所提供。检测样品主要来自新疆 7 个不同地区的湖泊与湿地的雁形目鸭科类野生鸟类,采集了绿头鸭 102 份,赤麻鸭 67 份,赤嘴潜鸭 44 份,凤头潜鸭 18 份,灰雁 22 份,天鹅 1 份,乌鸦 3 份,红隼 1 份,野鸽 1 份和斑鸠 1 份,共计采集血清样品 260 份。

2 结果与分析

本研究在野鸭类血清样品 2009 年检出 5 个血清亚型,其中 H8 检出率高达 15.38%, H13 为 9.62%; 2010 年检出 11 个血清亚型, H5 亚型的阳性率最高,达 14.29%; 2011 年检出 12 个血清亚型,其中 H9 检出率最高,达 15.79%。有报道认为,在野生鸟中检测最多的 AIV HA 亚型是 H6 (17.8%) 和 H4 (16%),其他亚型有 H7、H3、H11、H1、H2、H5、H10、H12、H8、H13、H9 和 H16,而 H14 和 H15 从未检测到。与相关报道比较,国

外的研究认为 H13 和 H16 亚型的病毒主要是从鸻形目鸟中获得^[4],我们本次研究检测到了 16 个血清亚型。

对绿头鸭、赤麻鸭、赤嘴潜鸭和凤头潜鸭等四种野生鸭的样品检测数据表明,绿头鸭禽流感抗体阳性率 58.82%,赤麻鸭为 68.66%,赤嘴潜鸭为 34.09%,凤头潜鸭为 44.44%。灰雁的血清样品检测结果表明,共检出 8 个血清亚型,其中 H13 亚型的阳性率最高;为 40.91%,其后为 H1 和 H2 (9.09%),再次之为 H4、H7、H9、H10 和 H15 (4.55%);而 H3、H5、H6、H8、H11、H12、H14 和 H16 则为阴性。1 份天鹅血清样品检测出 H13 抗体阳性。对乌鸦、斑鸠、野鸽和红隼等野鸟血清样品检测,全部为阴性。

将不同年份的研究数据进行比较与分析表明,不同亚型的 AI 抗体在不同年份的检出率差异较大。2009 年检测到 5 种血清亚型,2010 年检测到 11 种,2011 年检测到 12 种,说明野生鸟类感染 AIV 不同 HA 亚型的范围不断扩大,表明导致基因重组和置换的几率也在增加。此外,检测数据还显示出同一亚型的 AI 抗体阳性率在不同年份的检出率差异较大。例如,2009 年的样品中 AIV H8 亚型的阳性率高达 15.38%,到 2010 年和 2011 年检出率却相当低(0~1.05%),在 AIV H7、H13 和 H16 亚型也存在相同的现象。检测数据显示出不同亚型的 AI 在不同年份的检出率差异较大。当然,有关野生鸟类 AI 的监测需要进一步持续的进行,以便获得长期的、大量的、规律性的数据。

鸻形目鸟和雁形目鸟呈全球性分布,还代表几乎覆盖全球的 AIV 宿主种类^[1,2]。鸻形目主要指海鸥、燕鸥、水鸟等岸禽类鸟,雁形目主要指鸭、雁、鹅和天鹅等鸭科类鸟。新疆每年有大量的雁形目候鸟迁徙,分别在春季 3 月中下旬至 5 月和秋季 9 月至 10 月。雁形目候鸟的涉水行为可使 AIV 由粪便被排泄在水的表面,有效地将病毒传染给其他在相同水域饲喂或生活的鸭子。本研究所采集的样品均为

作者简介:成进(1956-),女,研究员,主要从事预防兽医学研究

* 通讯作者

临床健康鸟,从样品中检测到了 H1 ~ H16 血清亚型,进一步证实了野鸟可以携带或感染 AIV 但不发病,对野鸟迁徙沿途的生态环境和养殖环境构成一定的威胁。本次调查证实了新疆野鸟血清样品中的 H5 平均阳性率为 7.79%,2010 年高达 14.29%;在 2010 年检测出 H7 亚型(8.33%)。众所周知,H5 和 H7 亚型是属于高致病性禽流感的范畴,若没有任何症状或病情的野鸟携带 AIV,尤其是高致病性 AIV 无疑将对新疆地区家禽养殖环境构成潜在的威胁和隐患。此次研究结果警示我们对环境中的野生鸟类持续地进行 AI 的监测对疫情的预警和预报具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, et al. Waldenstrom J, Osterhaus A, Fouchier RAM. Globle Patterns of Influenza A Virus in Wild Birds. (2006) Science 312: 384-388.
- [2] Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol Rev. 1992;56:152 - 179. [PMC free article] [PubMed]
- [3] Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus AD, et al. Global patterns of influenza a virus in wild birds. Science. 2006;312:384 - 388. [PubMed]
- [4] Vincent J Munster, Chantal Baas, Pascal Lexmond, et al. Spatial, Temporal, and Species Variation in Prevalence of Influenza A Viruses in Wild Migratory Birds. PLoS Pathog. 2007 May; 3(5): e61.

一株野生灰雁禽流感 H9 亚型病毒全基因序列测定与分析

成进^{1*},沙依兰古丽¹,夏俊²,孟春¹,汪萍¹,陆桂丽¹,廖明^{2*},任涛²,史军²

(1. 新疆畜牧科学院兽医研究所,乌鲁木齐 830000;2. 中国华南农业大学,广东 广州天河区 510642;

3. 新疆维吾尔自治区野生动物疫源疫病监测站,乌鲁木齐 830063;)

禽流感病毒(AIV)可感染许多物种,但野生鸟类是在自然界中禽流感病毒的储存库。研究证实^[1,2],在野生禽类体内实际存在所有已知的 A 型流感病毒抗原亚型,即 HA 和 NA 表面抗原的组合。这些病毒在自然环境中可发生遗传重组,这可能是病毒在水禽之间以及其他可感染的动物之间有效传播的重要因素。这种野生贮存宿主对流感的生态学起着重要的作用^[3]。

2005 年,中国的青海湖大量的野生鸟类感染了 H5N1 的高致病性禽流感病毒(High pathogenic avian influenza virus,HPAIV)并死亡^[4]。对新疆 2005 年 HPAIV 疫情进行调查分析认为其疫情与野生鸟类的生态环境有关^[5]。本文就分离自新疆野生灰雁的 AIV 分离株 A/Grey goose/XJBZH/1/09(H9N2)进行了全基因克隆和序列检测,旨在对该毒株全基因的变异及演化进行研究与分析。

1 材料与方法

1.1 试验所用毒株为分离自新疆博斯腾湖野生

作者简介:成进(1956-),女,研究员,主要从事预防兽医学研究

* 通讯作者

灰雁毒株 A/Grey goose/XJAKS/1/08(H9N2)。E. coli 感受态细胞 DH5 α 由本研究室自备。RT-PCR 相关试剂、PGEM-T 载体、RT-PCR 试剂盒、IPTG、X-gal、E_x Taq DNA 聚合酶、限制性内切酶 EcoR I 和 DNA Marker DL2000 均为宝生物工程(大连)有限公司产品。克隆载体 PGEM-T 载体为 Promega 公司产品。DNA 胶回收试剂盒、质粒快速提取试剂盒为 Promega 公司产品;引物由上海生工生物工程公司合成。

1.2 方法根据 AIV H9 亚型不同片段基因的序列,对每个片段设计两对特异性引物,对目的基因进行克隆测序,利用 DNASTAR 软件将 AIV 毒株 A/Grey goose/XJBZH/1/09(H9N2)的 8 个基因的核苷酸序列与国内外不同动物和人源的禽流感参考毒株进行同源性比较分析和分子遗传进化分析。

2 结果与分析

本文成功扩增和克隆了 AIV 毒株 A/Grey goose/XJBZH/1/08(H9N2)的 HA、NA、NS、M、NP、PB1、PB2 和 PA 等基因片段。同源率分析表明,A/Grey goose/XJBZH/1/09(H9N2)株 HA 基因与分离自新疆鸡源的 A/Chicken/Xinjiang/01/2010