

禽流感研究进展

陈辅云

青海省海西州动物疫病预防控制中心,青海海西 817000

最早的禽流感记录是 1878 年意大利发生鸡群大量死亡的现象,当时被称为鸡瘟;到 1955 年,科学家证实其病原为甲型流感病毒;此后,这种流行性疾病被更名为禽流感。禽流感是禽流行性感冒(AI)的简称,是 A 型禽流感病毒(AIV)所引起的一种禽类急性传染病。作为被世界动物卫生组织(OIE)定为 A 类的传染病,AI 不仅给世界养禽业造成了巨大的经济损失,而且对人类健康和生命安全构成了严重威胁。从 1878 年禽流感首发于意大利至今,全球性的禽流感大流行已出现多次。特别是自 2003 年 12 月以来,高致病性禽流感(H5N1)横扫亚洲多个国家的养禽业,造成了极大的经济损失。

1 病原特性

流感病毒在进化过程中发生导致抗原性改变的突变(抗原漂移)或不同流感病毒之间发生基因重组产生新的流感病毒(抗原转变),是流感病毒逃避宿主免疫、得以在感染群体之间传播的主要策略。禽流感病毒具有四大特征:一是形态多样性。典型禽流感病毒粒子呈球形,直径为 80~120 nm、平均为 100 nm,呈丝状(长短不一)。病毒粒子表面由长 12~14 nm 的放射状纤突覆盖,这些纤突可分为 2 类:一类呈棒状,由血凝素(HA)分子三聚体构成;另一类呈蘑菇状,由神经氨酸酶(NA)四聚体构成。二是多型性。禽流感病毒囊膜表面有许多放射状排列的突起,即纤突或刺突。迄今为止,禽流感病毒的 HA 已发现 16 种(H1-H16),NA 已发现 10 种(N1-N10)。任何一种 HA 与任何一种 NA 结合后,即为一种血清亚型,理论上可以有 160 种血清亚型。三是易变性。禽流感病毒的基因组为单股负链

RNA,共有 8 个独立 RNA 片段,在 RNA 复制过程中容易重排,形成新的变异毒株。这就在很大程度上增加了对病毒进行控制、预防、研究等各方面的困难。四是病毒的抗力差。但在鸡胚中增殖的病毒,可在 4℃ 保存几周,在-70℃ 冻干状态下可长期具有传染性。

2 流行病学

禽流感一年四季均可发病,病禽是主要传染源,可经被病禽分泌物或排泄物所污染的空气通过呼吸道间接传播,也可通过候鸟的迁徙进行传播。禽流感的易感动物主要是鸡、鸭、鸽等禽类。

3 临床特点

按病原体的类型,禽流感可分为高致病性、低致病性和非致病性三大类。非致病性禽流感不会引起明显症状,仅使染病的禽体内产生病毒抗体。低致病性禽流感可使禽类出现轻度呼吸道症状,同时病禽采食量和产蛋量下降,并出现零星死亡。高致病性禽流感最为严重,发病急,传播快,发病率和死亡率较高。

4 诊断方法

4.1 病毒分离鉴定法

病毒分离鉴定法主要是采集死禽或活禽样本(对于泄殖腔拭子和粪便,需用过滤器过滤除菌,将上清液作为样本)进行接种,并通过血凝试验(HA)确定是否为禽流感病毒的一种方法。该法与 RT-PCR、酶联免疫吸附试验等方法相比,具有成本低、用时长、稳定性稍差等特点。

4.2 血清学方法

酶联免疫吸附试验(ELISA)、免疫荧光技术(IFIT)、琼脂凝胶扩散试验(AGP)等血清学方法克服了鸡胚中和试验的缺点,具有快捷、简便、特异的优点。试验证明,用 ELISA 检测型特异性抗原(抗体)的敏感性远高于 AGP,进行亚型的鉴定也比血凝抑制试验(HI)的敏感性高。

4.3 RT-PCR 方法

RT-PCR 方法是一种灵敏、特异、快速、准确的分子生物学诊断技术,不但可鉴定样品中 AIV 的型及亚型(H5/H7/H9),还可结合基因序列分析直接测定 AIV 的致病力。该方法的灵敏度是 HA 的 250 倍,是快速检测试纸条的 100 倍,较病毒分离法快速、特异性高,同时可避免野外取材时因混有其他病毒而造成误诊,是公认的能够在较短时间内作出确诊的方法。但成本较高,实验过程复杂,对实验环境、仪器设备、操作人员等要求高;同时,干扰因素多,有假阴性现象,诊断时不能作为唯一的判定依据。

5 疫苗研制

5.1 灭活全病毒疫苗

灭活全病毒疫苗一般是用甲醛灭活的禽流感病毒鸡胚尿囊液辅以佐剂制成的油乳剂疫苗。该疫苗安全性高,唐秀英等^[1]将 6 种不同亚型的禽流感病毒(H2N9、H3N8、H5N1、H5N2、H7N1、H9N2)分别接种鸡胚,发现保护率均达 90%~100%。当前,对高致病性禽流感疫苗的研究主要集中在灭活全病毒疫苗、病毒裂解疫苗、减毒疫苗等方面,且进展迅速。灭活全病毒疫苗和病毒裂解疫苗已完成 I、II 期临床研究,证明其安全、有效和稳定。

5.2 重组活载体疫苗

禽流感的发病率和死亡率都较高,研发安全高效的疫苗很重要。以新城疫病毒为载体、利用反向遗传操作系统研制出的重组二联活疫苗,可以给禽类提供双重保护。该疫苗与灭活苗相比,用量少,对新生雏鸡造成的副反应小,安全性高,可减少疫苗接种的次数,降低应激反应,操作简单、方便,免疫质量高。有试验表明,利用重组活载体疫苗 1 次免疫就可对 3 周龄的 SPF 鸡起到很好的保护作用,并可有效防止 AIV 的排出。

5.3 表位疫苗

表位疫苗是用抗原表位制备的疫苗,是近年来新兴的一种疫苗,相对传统疫苗,拥有较多优势。该种疫苗的研究方法也是今后最具开发前景的疫苗技术之一,在肿瘤性疾病、病毒性疾病的防治中有着独特的优势。表位疫苗设计的关键是筛选表位,表位的筛选包括蛋白质降解法、肽探针扫描技术、随机肽库技术、计算机表位预测。表位疫苗需要借助一定的载体才能发挥免疫作用,包括脂质载体、蛋白载体、佐剂等。目前,国内外学者还采用了多种方法(如串联重复、MAP 空间模式、表位修饰等)增强表位疫苗的免疫效果。表位疫苗主要包括病毒表位疫苗、细菌表位疫苗和寄生虫表位疫苗。目前研究报道的禽流感表位疫苗筛选候选表位的方法有单抗法、生物信息法、异源抗体对接法等,都取得了不错的效果。

参 考 文 献

- [1] 唐秀英,田国斌,于康震,等. 禽流感油乳剂灭活疫苗的研究[J]. 中国预防兽医学报,1999,21(6):401-405.

(责任编辑:郭会田)