

长沙市活禽批发市场空气中 H11N3 亚型禽流感病毒分子进化研究

张如胜¹, 扶会媛¹, 裴瑞青¹, 黄政¹, 罗璨¹, 陈静芳¹, 陈姗¹, 陈腊梅²

1. 长沙市疾病预防控制中心(长沙市卫生综合监督执法局), 湖南长沙 410007;

2. 开福区疾病预防控制中心(开福区卫生综合监督执法局)

摘要:目的 对长沙市活禽批发市场空气开展禽流感病毒(Avian influenza virus, AIV)分子监测和进化研究,为人感染 AIV 防控提供实验室数据。**方法** 采集长沙市活禽批发市场禽类销售店铺空气样品,开展 AIV 核酸检测和核苷酸测序,测序结果 BLAST 分析、关键氨基酸(amino acid, aa)位点比对及核苷酸进化分析。**结果** 27 份活禽批发市场空气样品 AIV 核酸阳性率 100%,获得 2 份空气样品的 AIV 核苷酸序列(CS17 和 CS11),CS17 的 HA 和 NA 基因核苷酸相似性最高的病毒分别为 A/duck/Bangladesh/38285/2019(H11N3)(98.47%)和 A/mallard/South Korea/JB21-58/2019(H5N3)(98.94%),CS11 的 HA 和 NA 基因核苷酸相似性最高的病毒分别为 A/environment/Fujian/EV01/2020(H11N3)(95.34%)和 A/duck/Wenzhou/771/2013(H7N3)(95.30%),CS17 内部基因来源于 H3N8、H4N6、H3N2 及 H6N1 病毒,CS11 内部基因来源于 H7N9、H3N2 等病毒,CS17 和 CS11 鉴定为 H11N3 亚型 AIV(分别简称为 H11N3-CS17 和 H11N3-CS11)。H11N3-CS17、H11N3-CS11 及 GISAID 下载的 101 株 H11N3 HA 蛋白裂解位点均为 1 个碱性 aa、受体结合位点为 Q 和 G,未发生 R293K(NA 蛋白)、S31N(M2 蛋白)、E627K 及 D701N(PB2)位点 aa 突变,未发生 69~73 位点(NA 蛋白)及 218~230 位点(NS1 蛋白)aa 缺失,发生了 L89V(PB2 蛋白)、N30D 和 T215A(M1 蛋白)aa 位点突变。H11N3-CS17、H11N3-CS11 HA 和 NA 基因属于欧亚大分支,H11N3-CS17 主要与孟加拉国及日本鸭 H11N3 病毒聚集形成一个亚分支,H11N3-CS11 主要与国内鸭及活禽市场环境 H11N3 病毒聚集形成一个亚分支。**结论** 从长沙市活禽批发市场空气中鉴定出 2 株 H11N3 亚型 AIV,表现为低致病性和禽类受体的分子特征,但具有不同的基因重配和进化亚分支,需要进一步监测。

关键词:活禽市场;空气;禽流感病毒;H11N3 亚型;基因;进化分析

中图分类号:R373.1 文献标志码:A 文章编号:1003-8507(2025)18-3410-08

DOI:10.20043/j.cnki.MPM.202504273

Molecular evolution of H11N3 avian influenza virus from air sampled at live poultry wholesale market, Changsha, China

ZHANG Ru-sheng*, FU Hui-yuan, PEI Rui-qing, HUANG Zheng, LUO Can, CHEN Jing-fang, CHEN Shan, CHEN La-mei

* Changsha Center for Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410007, China

Abstract: Objective To conduct molecular surveillance and evolutionary analysis of avian influenza virus (AIV) in air samples collected from the live poultry wholesale market in Changsha, providing laboratory data for the prevention and control of human AIV infections. **Methods** Air samples were collected from poultry stalls in live poultry wholesale market in Changsha. AIV nucleic acid detection and nucleotide sequencing were performed. The sequencing results were analyzed using BLAST, key amino acid (aa) residue alignment, and nucleotide evolutionary analysis. **Results** All 27 air samples from the live poultry wholesale market tested positive for AIV nucleic acid (100% positivity rate). Two AIV nucleotide sequences (CS17 and CS11) were obtained. For CS17, the HA and NA genes exhibited the highest nucleotide similarities to A/duck/Bangladesh/38285/2019 (H11N3) (98.47%) and A/mallard/South Korea/JB21-58/2019 (H5N3) (98.94%), respectively. For CS11, the HA and NA genes showed the highest nucleotide similarities to A/environment/Fujian/EV01/2020 (H11N3) (95.34%) and A/duck/Wenzhou/771/2013 (H7N3) (95.30%), respectively. Internal gene analysis revealed that CS17

基金项目:湖南省自然科学基金(2023JJ60399);湖南省卫生健康高层次人才重大科研专项(R2023169);湖南省卫生健康委科研项目(202203094936);长沙市自然科学基金项目(kq2403183)

作者简介:张如胜(1977—),男,硕士,主任技师,研究方向:新发传染病的分子流行病学研究

通信作者:陈腊梅, E-mail:1198919176@qq.com

originated from H3N8, H4N6, H3N2, and H6N1 viruses, while CS11 was derived from H7N9, H3N2, and related viruses. Both CS17 and CS11 were identified as H11N3 subtype AIV (abbreviated as H11N3 – CS17 and H11N3 – CS11, respectively). The H11N3 – CS17, H11N3 – CS11, and 101 H11N3 strains (retrieved from GISAID) exhibited conserved molecular features in their HA proteins. All strains retained a single basic amino acid (aa) at the HA cleavage site and preserved Q/G residues at the receptor – binding sites. No critical mutations were observed at R293K (NA protein), S31N (M2 protein), E627K, or D701N (PB2 protein), nor deletions in the 69 – 73 (NA protein) or 218 – 230 (NS1 protein) regions. Notably, specific mutations were identified: L89V (PB2 protein), and N30D and T215A (M1 protein). Phylogenetic analysis indicated that the HA and NA genes of both strains belonged to the Eurasian lineage. H11N3 – CS17 clustered into a subclade with H11N3 viruses from ducks in Bangladesh and Japan, while H11N3 – CS11 formed a subclade with H11N3 viruses from domestic ducks and live poultry market environments in China. **Conclusion** Two H11N3 subtype AIV strains were identified in air samples from the live poultry wholesale market in Changsha. These strains exhibited molecular features of low pathogenicity and avian receptor specificity but displayed distinct genetic reassortment and evolutionary subclades, warranting further surveillance.

Keywords: Live poultry market; Air sample; Avian influenza virus; H11N3 subtype; Gene; Evolutionary analysis

禽流感病毒 (Avian influenza virus, AIV) 来源于禽, 根据血凝素 (Hemagglutinin, HA) 和神经氨酸酶 (Neuraminidase, NA) 抗原性的差异, 可分为 18 个 HA 亚型 (H1 ~ H18) 和 11 个 NA 亚型 (N1 ~ N11), 全球已有多种亚型 AIV 跨物种感染人类, 其中长沙市已发现了人感染 H7N9、H5N6、H9N2 及 H3N8 等亚型 AIV 病例^[1-4], 且已发生病例均与活禽市场有流行病学关联^[4-7]。既往研究显示 AIV 可以通过气溶胶传播, 譬如人感染 AIV 的部分病例并未直接接触活禽或者可能被活禽排泄物污染的物品, 后续研究在部分病例关联的活禽市场空气中检出 AIV 污染, 提示活禽市场中 AIV 气溶胶传播是造成人类感染 AIV 的感染途径之一^[8-9]。既往长沙市辖区活禽市场环境 AIV 监测主要采集家禽口咽/泄殖腔拭子, 家禽粪便、家禽笼具涂抹、砧板涂抹、污水、家禽饮用水等环境样品^[10-11], 近年来已采集空气样品进行 AIV 等病原微生物监测研究^[12-14], 但辖区活禽市场空气中 AIV 的分子进化特征尚未有研究报道。

AIV 由 8 个独立的 RNA 片段 (PB2、PB1、PA、HA、NP、NA、M、NS) 组成, 片段之间容易发生重组、变异, AIV 的致病特征、受体特征、耐药性等与病毒基因编码氨基酸 (amino acid, aa) 位点密切相关^[15-17], 且已有研究表明 AIV 各基因片段发生了适应性变异, 导致病毒跨物种传播能力以及对哺乳动物的致病性增强^[18], 开展 AIV 的分子进化分析可以预警病毒传播至普通人群的风险。活禽批发市场作为中小型农贸市场供货源头的禽类场所, 禽种类繁多、来源广泛且交易量大, 市场空气中 AIV 污染状况及分子进化特征值得关注。本研究选择湖南省长沙市 1 家大型活禽批发市场开展空气中 AIV 监测及分子进化分析, 为人感染 AIV 疫情防控提供实验室数据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

作为监测点, 该市场主要面向辖区农贸市场提供鸡、鸭、鸽、鹅等各类活禽, 每日销售量在万只以上。本研究于 2022 年不定期 (4、5、6、8、9、11 月) 对家禽批发销售店铺进行空气样品采集, 按照店铺位置顺序每次采集 4 ~ 5 家店铺, 每个店铺每次采集 1 份空气样品, 共采集空气样品 27 份, 空气样品采集位置为店铺活禽圈养区, 圈养区面积约 4 ~ 6 m², 每个店铺每次采集 1 份样品, 采样位置距离地面 1.0 m 左右, 利用气溶胶采样器 (法国 Bertin CORIOLIS[®] μ) 在每个采样点以 200 L/min 的速度采集 10 min, 将总共 2.0 m³ 空气直接收集到含有 3 ml 病毒保存液 (北京友康生物科技有限公司) 的锥形小瓶中, 盖紧盖子并做好标记, 4℃ 冷藏送长沙市疾病预防控制中心实验室保存备用^[8,13-14]。

1.2 AIV 核酸检测 利用 Thermo KingFisher Flex 磁珠法核酸提取仪和 Fisher Scientific[™] LabServ[™] 预分装磁珠法病毒总核酸提取试剂盒 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司) 对收集的空气样品保存液进行常规核酸提取。利用 AIV 实时荧光 PCR 核酸检测试剂盒 (深圳梓健生物科技有限公司) 及 ABI 7500 型 Real-time PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司) 对提取的样品核酸进行 AIV 检测, 扩增条件及结果判定参照试剂盒说明书。

1.3 AIV 高通量核苷酸序列测定 采用《全国流感监测技术指南》(2017 年版) AIV 通用引物 (Uni-12/Inf1 : 5' – GGGGGGAGCAAAAGCAGG – 3', Uni-12/Inf3 : 5' – GGGGGGAGCGAAAGCAGG – 3', Uni-13/Inf1 : 5' – CGGGTTATTAGTAGAAACAAGG – 3'), illumina miseq 测序仪及配套试剂盒 (美国 illumina 公司) 对实时荧光 PCR 循环阈值 (Cycle Threshold value, CT) 小于 30 的 AIV 空气样品保存液阳性核酸进行高通量核苷酸测序, 测序下机数据使用 FastQC 软件对测序质量进行可视化, 采用 cutadapt 工

具切除接头序列并过滤低质量序列 reads,最后利用 SPAdes - 3.13.0 软件拼接后提交至国际基因序列数据库 (Genetic Sequence Database, Genbank), 在线基本局部相似性搜索工具 (Basic local alignment search tool, BLAST) 进行核苷酸相似性分析 (<http://BLAST.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.cgi>)。

1.4 AIV 基因组 aa 关键位点分析 从全球流感数据共享倡议 (Global Initiative on Sharing All Influenza Data, GISAID) 和美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 分别下载全部 H11N3 及 H9N2、H7N9、H6N6、H5N1、H5N6、H3N8 亚型 AIV 代表株基因编码 aa 序列,利用 BioEdit 软件将下载的 AIV 和本研究中空气来源的 H11N3 亚型 AIV 基因编码关键 aa 位点进行多重比对和分子特征分析。

1.5 AIV HA、NA 基因分子进化分析 从 GISAID 下载全部 H11N3 亚型 AIV HA 和 NA 基因核苷酸序列,首先利用 MEGA X 软件进行 DNA 序列 ALIGN Clustal W 比对,对首尾长度不一致的核苷酸序列进行删除,然后利用 MODELS 程序 Find Best DNA/Protein Models (ML) 进行进化分析模型预测,根据预测结果选择最优模型和方法构建 H11N3 亚型 AIV HA 和 NA 基因进化树。

2 结果

2.1 AIV 监测情况 利用 AIV 实时荧光 PCR 核酸检测试剂盒对 2022 年长沙市 1 家活禽批发市场来源

的空气样品进行检测,结果显示,27 份空气样品 AIV 核酸阳性率为 100% (27/27)。

2.2 AIV 高通量核苷酸测序结果 选择 9 份实时荧光 PCR CT 值小于 30 的 AIV 核酸阳性空气样品进行高通量核苷酸测序和 BLAST 比对,鉴定结果显示 2 株空气来源的 AIV 为 H11N3 亚型,其中编号为 CS17 的 H11N3 亚型 AIV (A/environment/Hunan/CS17/2022, H11N3 - CS17) HA 基因与孟加拉国鸭 H11N3 亚型 AIV (A/duck/Bangladesh/38285/2019) 核苷酸相似性最高 (98.47%), NA 基因与韩国野生绿头鸭 H5N3 亚型 AIV (A/mallard/South Korea/JB21 - 58/2019) 核苷酸相似性最高 (98.94%), 内部基因 PB2、PB1、PA、NP、M 及 NS 分别与日本环境 H3N8、越南鸭 H4N6、国内鸭 H3N2、韩国白额雁 H6N1、国内鸭 H4N6 及朝鲜斑嘴鸭 H3N8 亚型 AIV 核苷酸相似性最高。编号为 CS11 的 H11N3 亚型 AIV (A/environment/Hunan/CS11/2022, H11N3 - CS11) HA 基因与国内福建活禽市场环境 H11N3 亚型 AIV (A/environment/Fujian/EV01/2020) 核苷酸相似性最高 (95.34%), NA 基因与国内温州鸭 H7N3 亚型 AIV (A/duck/Wenzhou/771/2013) 核苷酸相似性最高 (95.30%), 内部基因 PB2、NP、M 及 NS 分别与国内浙江鸭 H7N9、广西鸡 H3N2、浙江鸭混合亚型及安徽鸭 H3N2 亚型 AIV 核苷酸相似性最高,本研究中的 H11N3 - CS17 和 H11N3 - CS11 病毒核苷酸序列 GenBank 登录号为: PV258289—PV258302。具体比对结果见表 1。

表 1 空气样品 CS17 和 CS11 H11N3 亚型 AIV 各基因 BLAST 核苷酸相似性分析

Table 1 The BLAST analysis of genes of H11N3 subtype AIV isolates CS17 and CS11 from air samples

毒株	基因	GenBank 登录号	最高相似性病毒株	相似性 (%)	
CS17	PB2	PV258289	A/environment/Japan/KU - 4h/2021 (H3N8)	2 267/2 280 (99.43)	
	PB1	PV258290	A/duck/Vietnam/HN5959/2019 (H4N6)	2 154/2 180 (98.81)	
	PA	PV258291	A/duck/China/402D27/2019 (H3N2)	2 117/2 151 (98.42)	
	HA	PV258292	A/duck/Bangladesh/38285/2019 (H11N3)	1 672/1 698 (98.47)	
	NP	PV258293	A/Anser albifrons/South Korea/22MC - 64/2022 (H6N1)	1 488/1 497 (99.40)	
	NA	PV258294	A/mallard/South Korea/JB21 - 58/2019 (H5N3)	1 395/1 410 (98.94)	
	M	PV258295	A/duck/China/JX02M/2023 (H4N6)	979/982 (99.69)	
	NS	PV258296	A/Spot - billed duck (Anas poecilohyncha)/Korea/KNU23/2022 (H3N8)	830/837 (99.16)	
	CS11	PB2	PV258297	A/duck/Zhejiang/S4488/2014 (H7N9)	2 214/2 280 (97.11)
		HA	PV258298	A/environment/Fujian/EV01/2020 (H11N3)	1 618/1 697 (95.34)
NP		PV258299	A/chicken/Guangxi/165C7/2014 (H3N2)	1 505/1 564 (96.23)	
NA		PV258300	A/duck/Wenzhou/771/2013 (H7N3)	1 338/1 404 (95.30)	
M		PV258301	A/duck/Zhejiang/4.29_HZBX008 - 0/2018 (mixed)	1 004/1 027 (97.76)	
NS		PV258302	A/duck/Anhui/LY/2021 (H3N2)	882/890 (99.10)	

2.3 AIV 全基因组 aa 关键位点分析 H11N3 - CS17 和 H11N3 - CS11 HA 蛋白裂解位点第 337 ~ 345 位 aa 为 PAIASRGLF, GISAID 下载的全部 101 株

H11N3 亚型 AIV (以下简称 101 株 H11N3 病毒) HA 蛋白裂解位点均为 1 个碱性 aa 序列 (51 株病毒为 PAIATRGLF, 46 株病毒为 PAIASRGLF, 4 株病毒为

(续表)

病毒蛋白	H11N3 - Bangladesh	H11N3 - North Carolina	H9N2 - 11197	H7N9 - CS1	H6N6 - GZ090	H5N6 - CS1	H5N1 - HN1	H3N8 - 1000
M2	S	S	N	N	S	N	S	N
NS1	S	A	S	S	S	S	S	S
	否	否	是	是	是	否	否	是

注: a: A/environment/Changsha/CS17/2022 (H11N3); H11N3 - CS17: A/environment/Changsha/CS17/2022 (H11N3); H11N3 - CS11: A/environment/Changsha/CS11/2022 (H11N3); H11N3 - EV01: A/environment/Fujian/EV01/2020 (H11N3); H11N3 - JS: A/duck/Jiangsu/10 - d4/2011 (H11N3); H11N3 - Bangladesh: A/duck/Bangladesh/38285/2019 (H11N3); H11N3 - North Carolina: A/blue - winged teal/North Carolina/NC674 - 362/2005 (H11N3); H9N2 - 11197: A/Lengshuitan/11197/2013 (H9N2); H7N9 - CS1: A/Changsha/1/2013 (H7N9); H6N6 - GZ090: A/environment/Guangdong/GZ090/2013 (H6N6); H5N6 - CS1: A/Changsha/1/2014 (H5N6); H5N1 - HN1: A/Hunan/1/2006 (H5N1); H3N8 - 1000: A/Changsha/1000/2022 (H3N8); A: 丙氨酸; D: 天冬氨酸; E: 谷氨酸; F: 苯丙氨酸; G: 甘氨酸; H: 组氨酸; I: 异亮氨酸; K: 亮氨酸; L: 亮氨酸; N: 天冬酰胺; P: 脯氨酸; Q: 谷氨酰胺; R: 精氨酸; S: 丝氨酸; T: 苏氨酸; V: 缬氨酸。

2.4 AIV HA、NA 基因进化树构建 根据模型预测结果, HA 和 NA 基因进化树模型分别选择广义时间可逆模型 (General Time Reversible Model, GTR) 和 Tamura 三参数模型 (Tamura 3 - parameter Model, T92), 方法选择最大似然法 (Maximum Likelihood Tree), 步展值 (bootstrap) 设为 1 000 次。H11N3 病毒 HA 和 NA 基因进化树均形成欧亚和北美两大分支, 本研究中的 H11N3 - CS17、H11N3 - CS11 属于欧亚大分支, 在欧亚大分支中, H11N3 病毒 HA 和 NA 基因已进化形成若干亚分支。

HA 基因进化树显示 H11N3 - CS17 与孟加拉国鸭 H11N3 病毒 (A/duck/Bangladesh/38285/2019) 亲缘关系近, 主要与孟加拉国和日本鸭 H11N3 病毒聚集形成一个亚分支, H11N3 - CS11 与国内福州鸭 H11N3 病毒 (A/duck/Fuzhou/D6/2020) 亲缘关系近, 主要与国内福建、浙江和江苏鸭及活禽市场环境 H11N3 病毒聚集形成一个亚分支。HA 基因欧亚大分支的另外几个亚分支分别由国内山东天鹅、瑞典和荷兰绿头鸭、澳大利亚野生水禽以及越南鸭 H11N3 病毒组成。北美大分支主要由美国马里兰州小种鸭及北美其他地区野生禽 H11N3 病毒组成。见图 1 (A)。

NA 基因进化树显示, H11N3 - CS17 与国内山东天鹅 H11N3 病毒 (A/Swan/Shandong/W4154/2021) 亲缘关系近, 主要与日本及孟加拉国鸭 H11N3 病毒聚集形成一个亚分支, H11N3 - CS11 与国内福建活禽市场环境 H11N3 病毒 (A/environment/Fujian/EV01/2020) 亲缘关系近, 主要与国内福建、浙江及江苏鸭等 H11N3 病毒聚集形成一个亚分支。其他亚分支由荷兰、瑞典、越南、日本、新西兰、澳大利亚鸭及野生禽 H11N3 病毒组成。北美大分支主要由美国等北美地区的野生禽 H11N3 病毒组成。见图 1 (B)。

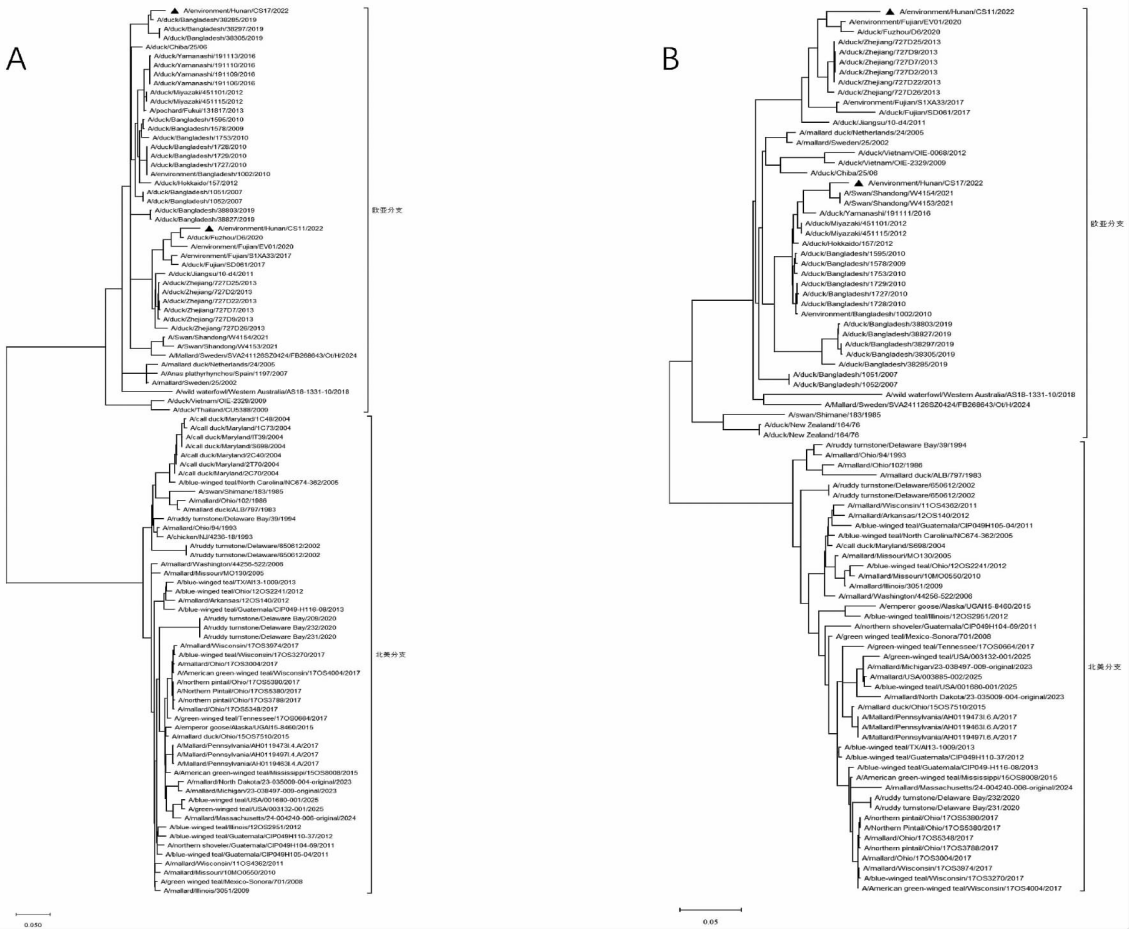
3 讨论

禽类感染 AIV 后通过呼吸道和消化道将病毒排

放到圈养环境中, 同时通过禽类扇动翅膀等方式将环境中的 AIV 形成气溶胶, 并持续污染圈养环境, 造成禽类和跨物种传播风险^[8]。本研究于 2022 年不定期采集 1 家活禽批发市场空气样品 27 份, 基本覆盖该市场大型家禽批发销售店铺, 在每个店铺的活禽圈养区采集 1 份空气样品进行 AIV 监测, 结果显示 2022 年长沙市活禽批发市场空气中 AIV 阳性率为 100% (27/27), 高于或等于国内外活禽市场空气中 AIV 污染阳性率, 譬如广东省广州市 (12/14, 85.71%)、江西省南昌市 (275/807, 34.10%)、越南河内 (27/30, 90.00%)、香港 (6/13, 46.15%) 及柬埔寨 (100%)^[8,19-21], 表明 2022 年长沙市活禽批发市场空气中 AIV 污染较重, 原因与本研究选择的活禽批发市场禽类数量及种类多, 禽类感染 AIV 后导致空气污染有关, 另外与新冠疫情期间市场环境消毒措施相对不规范等原因有关, 提示长沙市活禽批发市场需要加强通风消毒和个人防护, 降低 AIV 经气溶胶传播至市场中禽类和市民的风险。

H11 亚型 AIV 是一种低致病性 AIV, 包括 9 种不同 NA 亚型。自 1956 年首次从英格兰的家鸭中分离出 H11 病毒以来, 已有多个国家报道分离出该亚型的病毒, Kuratko 等^[22] 和 Pawar 等^[23] 分别从印度的白鹭和日本的绿头鸭中分离出 H11N1 病毒。Zhang 等人从中国东部活禽市场采集的鸡样品中分离出 H11N2 病毒^[24]。H11 病毒通常与其他亚型 AIV 共同感染, 在感染的鸭中没有发现显著的临床症状, 但已有研究表明能感染哺乳动物 (猪), 甚至人类^[25-26]。

目前, 已有从禽类及相关环境分离出 H11N3 病毒的研究报告。2009 年 4 月, 越南从家鸭中分离出 3 株 H11N3 病毒^[27]。2011 年, 中国江苏首次从鸭中分离出 H11N3 病毒^[28]。2020 年, 国内福建报道了来源于活禽市场鸭的 H11N3 病毒^[29-30]。考虑到实时荧光 PCR 检测 CT 值为 > 30 的样品难以测序成功^[14], 本研究从 27 份空气样品中选择 9 份 CT 值 < 30 的 AIV 阳性空气样品核酸进行测序, 成功获得 2 份



注:本研究的 H11N3 病毒标记为▲。

图 1 长沙市活禽批发市场环境 H11N3 亚型 AIV HA (A) 及 NA (B) 基因进化分析

Fig.1 Phylogenetic analysis of the HA (A) and NA(B) genes of the influenza H11N3 viruses isolates CS17 and CS11 from air samples at live poultry wholesale market in Changsha, China

H11N3 病毒 (H11N3 - CS17 和 H11N3 - CS11) 核苷酸序列,另外 7 份空气样品仅有 3 份获得部分 H9N2 亚型 AIV 序列。本研究中的 H11N3 - CS17 和 H11N3 - CS11 由不同来源的亚型 AIV 重配而成,其中 H11N3 - CS17 主要由南亚、东亚和国内鸭、野生绿头鸭及白额雁来源的 H11N3、H5N3、H3N8、H4N6、H3N2、H6N1 病毒重配而成,H11N3 - CS11 主要由国内禽来源的 H11N3、H7N3、H7N9、H3N2 等病毒重配而成,与 H11N3 - CS17 的重配基因片段来源不同。国内研究显示福建活禽市场环境 H11N3 病毒 (A/environment/Fujian/EV01/2020) 携带有鸭 H7N2 和 H4N6 等病毒基因,提示 H11N3 病毒可能在不同地区经历不同类型的重组,可能与鸟类的迁徙或通过家禽供应链传播病毒有关^[29]。

AIV 的基因特征与病毒致病性相关,可以根据 HA 蛋白裂解位点碱性 aa 的数量多少来判断病毒的致病性强弱,且 HA 蛋白的 RBS 区域 aa 如为 QSG 则表现为特异性结合 $\alpha - 2,3$ 禽类受体,LSS 则表现为

对 $\alpha - 2,6$ 人类受体亲和^[31]。本研究显示 H11N3 - CS17、H11N3 - CS11 及 101 株 H11N3 病毒均表现为低致病性分子特征和 $\alpha - 2,3$ 禽类受体特征,与 H9N2 和 H7N9 病毒代表株的人类受体不同,提示当前的 H11N3 病毒仅具有禽类受体结合能力,跨物种感染的风险较低^[29],且参与比对的全部 H11N3 病毒对神经氨酸酶抑制剂和金刚烷胺类药物敏感,与 H9N2、H7N9、H5N6 及 H3N8 病毒代表株表现为金刚烷胺类药物耐药不同。H11N3 - CS17、H11N3 - CS11 及 101 株 H11N3 病毒发生了 L89V (PB2 蛋白)、N30D 和 T215A (M1 蛋白) 突变,但未发生 E627K 和 D701N 突变,NA 蛋白 69 ~ 73 位点及 NS1 蛋白第 218 ~ 230aa 未发生缺失,提示病毒毒力暂未增强^[32]。

研究显示国内福建活禽市场环境 H11N3 病毒 (A/environment/Fujian/EV01/2020) 的所有基因片段都属于欧亚大分支^[29]。进化分析显示 H11N3 病毒欧亚大分支已进化形成若干亚分支,本研究中 2022 年分离的 H11N3 - CS17、H11N3 - CS11 属于不同的亚

分支,其中 H11N3 - CS17 的 HA 和 NA 基因主要与分离自孟加拉国和日本的鸭 H11N3 病毒聚集形成一个亚分支,H11N3 - CS11 的 HA 和 NA 基因主要与分离自国内鸭及活禽市场环境的 H11N3 病毒聚集形成一个亚分支,提示 H11N3 病毒通过重配正在不断进化,需要进一步加强 H11N3 病毒的分子监测^[29]。

本研究的局限性在于活禽批发市场空气 AIV 监测时间在 COVID - 19 爆发的防控阶段,采样时间不规律,且获得的 H11N3 病毒阳性空气样品未能成功分离培养,未进一步开展相关研究。

本研究显示 H11N3 病毒虽表现为低致病性和禽类受体结合的分子特征,且目前尚未有人类感染病例的报道,但全球范围内的 H11N3 病毒仍在持续进化与重配,形成了不同的亚分支。已有研究证实,该病毒具备感染哺乳动物及通过气溶胶传播的潜力^[29]。因此,在活禽市场等环境中污染的 H11N3 病毒仍存在跨物种传播至人类的可能性。建议相关部门加强活禽市场中罕见亚型低致病性 AIV 的监测,尽早推进疫苗研发,以降低活禽市场的 AIV 生物安全风险,从而有效防控跨物种传播及潜在的流感大流行。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Zhang RS, Chen TM, Ou XH, et al. Clinical, epidemiological and virological characteristics of the first detected human case of avian influenza A (H5N6) virus [J]. *Infection Genetics and Evolution*, 2016, 40: 236 - 242.
- [2] 李灵之,肖姍,徐明忠,等.长沙市 1 例人感染 H5N6 禽流感病毒遗传进化和基因特征[J]. *中国热带医学*,2024,24(6):680 - 685.
Li LZ, Xiao S, Xu MZ, et al. Analysis of the genetic evolution and gene characteristics of H5N6 avian influenza virus in a human infection case in Changsha City [J]. *China Tropical Medicine*, 2024, 24(6): 680 - 685. (In Chinese)
- [3] 刘晓蕾,袁洁,欧新华,等.长沙市首例人感染 H9N2 禽流感病毒的分离及基因特征分析[J]. *现代预防医学*,2016,43(17): 3225 - 3231.
Liu XL, Yuan J, Ou XH, et al. Isolation and molecular characteristics on the first case of human avian influenza (H9N2) in Changsha [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2016, 43(17): 3225 - 3231. (In Chinese)
- [4] Yang RG, Sun HL, Gao F, et al. Human infection of avian influenza A H3N8 virus and the viral origins: a descriptive study [J]. *The Lancet. Microbe*, 2022, 3(11): e824 - e834.
- [5] Shi JZ, Deng GH, Liu PH, et al. Isolation and characterization of H7N9 viruses from live poultry markets — Implication of the source of current H7N9 infection in humans [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2013, 58(16): 1857 - 1863.
- [6] Wan XF, Dong LB, Lan Y, et al. Indications that live poultry markets are a major source of human H5N1 influenza virus infection in China [J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(24): 13432 -

13438.

- [7] Zhang RS, Lei Z, Liu C, et al. Live poultry feeding and trading network and the transmission of avian influenza A (H5N6) virus in a large city in China, 2014 - 2015 [J]. *International Journal of Infectious Diseases*, 2021, 108: 72 - 80.
- [8] Zhou J, Wu J, Zeng XQ, et al. Isolation of H5N6, H7N9 and H9N2 avian influenza A viruses from air sampled at live poultry markets in China, 2014 and 2015 [J]. *Euro Surveillance: Bulletin European sur les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 2016, 21(35): 30331.
- [9] Liu B, Havers F, Chen EF, et al. Risk factors for influenza A (H7N9) disease - - China, 2013 [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2014, 59(6): 787 - 794.
- [10] 张如胜,陈静芳,黄政,等.2016—2018 年长沙市人群及活禽市场环境 H5N6 亚型禽流感病毒监测分析[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*,2021,35(1):96 - 100.
Zhang RS, Chen JF, Huang Z, et al. Analysis of surveillance results for H5N6 subtype avian influenza virus from population and live poultry market environment in Changsha city, 2016 - 2018 [J]. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology*, 2021, 35(1): 96 - 100. (In Chinese)
- [11] 李灵之,肖姍,欧新华,等.2018 - 2021 年湖南省长沙市活禽市场外环境禽流感病毒监测以及禽类职业暴露人群血清学分析[J]. *疾病监测*,2023,38(2):187 - 191.
Li LZ, Xiao S, Ou XH, et al. Surveillance for avian influenza virus in external environment of live poultry markets and serological analysis in population with occupational exposure in Changsha, Hunan, 2018 - 2021 [J]. *Disease Surveillance*, 2023, 38(2): 187 - 191. (In Chinese)
- [12] 张如胜,扶会媛,黄政,等.2020—2022 年长沙市某活禽批发市场环境中禽流感病毒监测分析[J]. *中国预防医学杂志*,2025, 26(1):61 - 64.
Zhang RS, Fu HY, Huang Z, et al. Analysis on avian influenza virus monitoring in the environment of a live poultry wholesale market in Changsha City from 2020 to 2022 [J]. *China Preventive Medicine*, 2025, 26(1): 61 - 64. (In Chinese)
- [13] 张如胜,扶会媛,罗臻,等.2022—2023 年长沙市活禽批发市场家禽及环境中人兽共患病病原体监测[J]. *现代预防医学*, 2024,51(11):2088 - 2093.
Zhang RS, Fu HY, Luo C, et al. Surveillance of zoonotic pathogens in poultry and environment in Changsha live poultry wholesale market from 2022 to 2023 [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2024, 51(11): 2088 - 2093. (In Chinese)
- [14] Zhang RS, Fu HY, Luo C, et al. Chlamydia psittaci detected at a live poultry wholesale market in central China [J]. *BMC Infectious Diseases*, 2024, 24(1): 585.
- [15] Sun J, Zhao L, Li X, et al. Novel H5N6 avian influenza virus reassortants with European H5N8 isolated in migratory birds, China [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2020, 67(2): 648 - 660.
- [16] Guan LZ, Shi JZ, Kong XT, et al. H3N2 avian influenza viruses detected in live poultry markets in China bind to human - type receptors and transmit in Guinea pigs and ferrets [J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2019, 8(1): 1280 - 1290.

(下转第 3423 页)

- Beijing[J]. *Disease Surveillance*, 2020, 35(12): 1136 - 1140. (In Chinese)
- [16] 马月. 青岛不同层级医疗机构医务人员对流感和流感疫苗知行行的比较研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2017.
- Ma Y. A comparative study on the knowledge, attitude and practice about seasonal influenza and seasonal influenza vaccine among healthcare workers in different level of medical institutions in Qingdao[D]. Qingdao: Qingdao University, 2017. (In Chinese)
- [17] 王志伟, 崔颖, 周琴, 等. 陕西省护士流感认知、罹患及疫苗接种情况调查[J]. *中国卫生统计*, 2021, 38(3): 449 - 452.
- Wang ZW, Cui Y, Zhou Q, et al. Influenza related knowledge awareness, incidence and influenza vaccination in nurses in Shanxi [J]. *Chinese Journal of Health Statistics*, 2021, 38(3): 449 - 452. (In Chinese)
- [18] Song Y, Zhang T, Chen LN, et al. Increasing seasonal influenza vaccination among high risk groups in China: Do community healthcare workers have a role to play? [J]. *Vaccine*, 2017, 35(33): 4060 - 4063.
- [19] 王长双, 姬艳芳, 赵升, 等. 河南省 2014—2018 年度儿童流感流行特征与疫苗接种现状分析[J]. *实用预防医学*, 2020, 27(5): 569 - 572.
- Wang CS, Ji YF, Zhao S, et al. Epidemic characteristics and vaccination status of childhood influenza in Henan province, 2014 - 2018[J]. *Practical Preventive Medicine*, 2020, 27(5): 569 - 572. (In Chinese)
- [20] Grohskopf LA, Sokolow LZ, Broder KR, et al. Prevention and Control of Seasonal Influenza with Vaccines[J]. *MMWR Recomm Rep*, 2016, 65(5): 1 - 54.
- [21] Napolitano F, Navaro M, Vezzosi L, et al. Primary care pediatricians' attitudes and practice towards HPV vaccination: A nationwide survey in Italy [J]. *PLOS One*, 2018, 13(3): e0194920.
- [22] Karlsson LC, Lewandowsky S, Antfolk J, et al. The association between vaccination confidence, vaccination behavior, and willingness to recommend vaccines among Finnish healthcare workers[J]. *PLOS One*, 2019, 14(10): e0224330.
- [23] Collange F, Zaytseva A, Pulcini C, et al. Unexplained variations in general practitioners' perceptions and practices regarding vaccination in France [J]. *European Journal of Public Health*, 2019, 29(1): 2 - 8.
- [24] 李娟, 李晓梅, 张朱佳子, 等. 北京市预防接种门诊人员 HPV 疫苗推荐和人群接种行为分析[J]. *中国公共卫生*, 2021, 37(12): 1737 - 1741.
- Li J, Li XM, Zhang ZJZ, et al. HPV vaccine - related recommendation and vaccination behavior among medical staff and attendees of immunization clinics in Beijing city [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2021, 37(12): 1737 - 1741. (In Chinese)
- [25] 张玲云, 邓慧, 毛一蒙, 等. 医护人员 HPV 疫苗推荐意愿的影响因素分析[J]. *复旦学报: 医学版*, 2023, 50(1): 40 - 47.
- Zhang LY, Deng H, Mao YM, et al. Analysis on the influencing factors of medical workers' willingness to recommend HPV vaccine [J]. *Fudan University Journal of Medical Sciences*, 2023, 50(1): 40 - 47. (In Chinese)

收稿日期: 2025-04-08

(上接第 3416 页)

- [17] Ge ZC, Gu M, Cai TY, et al. Phylogenetic tracing and biological characterization of a novel clade 2. 3. 2. 1 reassortant of H5N6 subtype avian influenza virus in China [J]. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2021, 68(2): 730 - 741.
- [18] Li C, Wang SG, Bing GX, et al. Genetic evolution of influenza H9N2 viruses isolated from various hosts in China from 1994 to 2013[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2017, 6(11): e106.
- [19] Bui VN, Nguyen TT, Nguyen - Viet H, et al. Bioaerosol sampling to detect avian influenza virus in Hanoi's largest live poultry market [J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2019, 68(6): 972 - 975.
- [20] Zeng XX, Liu MB, Zhang H, et al. Avian influenza H9N2 virus isolated from air samples in LPMS in Jiangxi, China [J]. *Virology Journal*, 2017, 14(1): 136.
- [21] Horwood PF, Horn SV, Yann S, et al. Aerosol exposure of live bird market workers to viable influenza A/H5N1 and A/H9N2 viruses, Cambodia [J]. *Zoonoses and Public Health*, 2023, 70(2): 171 - 175.
- [22] Koratkar SS, Pawar SD, Shelke VN, et al. Pathogenicity of avian influenza H11N1 virus isolated from wild aquatic bird Eurasian Spoonbill (*Platalea leucorodia*) [J]. *Indian Journal of Medical Research*, 2014, 139(5): 782 - 785.
- [23] Pawar S, Chakrabarti A, Cherian S, et al. An avian influenza A (H11N1) virus from a wild aquatic bird revealing a unique Eurasian - American genetic reassortment [J]. *Virus Genes*, 2010, 41(1): 14 - 22.
- [24] Zhang YE, Teng QY, Ren CC, et al. Complete genome sequence of a novel reassortant H11N2 avian influenza virus isolated from a live poultry market in eastern China [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(22): 12443.
- [25] Tuong HT, Nguyen NM, Sung HW, et al. Genetic characterization of avian influenza a (H11N9) virus isolated from Mandarin ducks in South Korea in 2018 [J]. *Viruses*, 2020, 12(2): 203.
- [26] Kayali G, Barbour E, Dbaibo G, et al. Evidence of infection with H4 and H11 avian influenza viruses among Lebanese chicken growers [J]. *PLOS One*, 2011, 6(10): e26818.
- [27] Nomura N, Sakoda Y, Endo M, et al. Characterization of avian influenza viruses isolated from domestic ducks in Vietnam in 2009 and 2010 [J]. *Archives of Virology*, 2012, 157(2): 247 - 257.
- [28] Chen CY, Zhao G, Gu XB, et al. Complete genomic sequence of a novel reassortant H11N3 influenza virus isolated from domestic ducks in Jiangsu, China [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(21): 11950 - 11951.
- [29] Jiang LN, Li JM, Cui H, et al. Etiologic characteristics of avian influenza H11 viruses isolated from the live poultry market in southeast coastal region in China [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1002670.
- [30] 王辰川, 李菁, 文法鑫, 等. 一株鸭源 H11N3 亚型禽流感病毒的遗传进化分析及对小鼠的致病性研究 [J]. *中国预防兽医学报*, 2023, 45(2): 115 - 121.
- Wang CC, Li J, Wen FX, et al. Phylogenetic analysis and pathogenicity in mice of an H11N3 subtype avian influenza virus isolated from a duck [J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2023, 45(2): 115 - 121. (In Chinese)
- [31] 舒跃龙, 蓝雨, 温乐英, 等. 我国分离人 H5N1 禽流感病毒血凝素基因特性的研究 [J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2006, 20(2): 8 - 10.
- Shu YL, Lan Y, Wen LY, et al. Analysis of human H5N1 virus hemagglutinin gene isolated from the mainland of China [J]. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology*, 2006, 20(2): 8 - 10. (In Chinese)
- [32] Jiao PR, Tian GB, Li YB, et al. A single - amino - acid substitution in the NS1 protein changes the pathogenicity of H5N1 avian influenza viruses in mice [J]. *Journal of Virology*, 2008, 82(3): 1146 - 1154.

收稿日期: 2025-04-14