

近三年我国部分 H9 亚型禽流感病毒的遗传进化和抗原差异性分析

赵坤坤¹ 洪素梅¹ 刘武杰¹ 白朝勇^{1,2}

(1. 国家兽用药品工程技术研究中心生物制品研究所病毒研究 II 室;

2. 普莱柯生物工程股份有限公司, 洛阳 471003)

前言

目前,在我国少部分免疫鸡群中仍然有 H9N2 亚型禽流感病毒的持续存在。禽流感灭活疫苗的免疫效果主要取决于疫苗株与流行株的抗原匹配性,匹配性越好,则免疫效果也就越理想。我国目前使用的疫苗毒株的分离年代均较早,而 H9N2 亚型禽流感病毒的主要抗原基因—HA 基因在疫苗免疫选择压力和自然进化的作用下,在最近几年已发生了较大的变异。为了明确当前的流行毒株与疫苗毒株其抗原性是否发生了明显的改变及这些改变是否足以影响疫苗的免疫效果,我们进行了该试验,以期为我国 H9 亚型禽流感的防控提供参考依据。

材料与方法

选取本实验室于 2009 ~ 2011 年从临床发病的鸡群中分离的 8 株 H9 亚型禽流感病毒 Dda、FJ-2、WS、DY、YD、DL、SDZC 和 SDWF 株,测定这 8 株病毒的 HA 基因序列,连同从 GenBank 中下载的序列进行遗传进化分析;制备 Dda、DL 和 SDWF 三株病毒的全病毒灭活疫苗,连同 2 种商品化疫苗免疫 5 日龄 AA 肉鸡,免疫后 37 天,采集自制疫苗免疫组的血清,进行交叉 HI 试验,测定这 3 株病毒之间的抗原相关性 R 值,同时使用 SDZC 株对 Dda、DL 和两种商品苗免疫的 4 组肉鸡进行攻毒,攻毒剂量为 10^6 EID₅₀/羽,攻毒后第 5 天采集喉头棉拭进行病毒分离;对 Dda、DL、SDWF 和 SDZC 四株病毒与 A/chicken/Shandong/6/96 (SD696) 株的 HA 基因氨基酸序列进行比较,分析差异位点,寻找分离株与疫苗

株抗原性差异的分子机制。

结果与分析

(1) 以 2007 ~ 2008 年为时间分隔点,2007 ~ 2008 年之前、之后中国流行毒株形成了两个不同的进化分支。尤其是从 2009 年开始,大部分的分离株都位于一个进化簇中,为目前的优势流行毒株。而当前使用的两种商品化疫苗,其疫苗株与 2009 ~ 2011 年大部分流行株的氨基酸序列同源性仅在 92% ~ 95% 之间,同源性较低。

(2) Dda 与 DL、SDWF 两株病毒之间的抗原性均有明显差异,R 值分别为 0.29 和 0.47,而 DL 与 SDWF 株之间则具有较小的抗原性差异,R 值为 0.54。使用分离毒株 SDZC 株进行攻毒,Dda 和 DL 两株分离株灭活疫苗免疫的肉鸡分别有 9/9 和 7/7 的排毒,两种商品化疫苗免疫的肉鸡也分别有 7/8 和 8/9 的排毒。说明 2009 年以后的流行株与疫苗株相比,不仅抗原性产生了明显的变化,而且这些分离株之间也出现了抗原性不同的毒株。

(3) Dda、DL、SDWF 和 SDZC 四株病毒与 SD696 株相比,在 HA1 蛋白的第 148、165、198、216、264、265、267、269 位(以 H9 计,下同)均发生了氨基酸替换,同时,SDWF 株在第 109 位、Dda 株在第 145 位也发生了改变,这些位点均位于 HA 蛋白的球状头部,都是已知的抗原决定簇位点,这些位点发生的变异均有可能影响这些病毒的抗原性。

参考文献(略)

作者简介:赵坤坤(1987-),男,河南洛阳人,预防兽医学硕士,主要从事水禽病毒性疫苗研究,Email:zhaokunkun.dy@163.com

通讯作者:白朝勇,Email:chybai63vp@yahoo.com.cn