



EGGS
PROGRAM

总第15期/2014年6月

亚洲 H5N1 禽流感十年免疫之路 家禽养殖业已完成的任务

Marcelo Paniago¹

¹Global Veterinary Services - Ceva Libourne

简介

自2003年底开始，印度尼西亚、泰国和越南等地均观察到了蛋鸡和种鸡群的高频率死亡，在某些病例中甚至高达100%。这是H5N1亚型禽流感病毒引起的毁灭性高致病性禽流感（HPAI）蔓延开来的最初迹象。随后，该疾病蔓延到整个亚洲大陆及其他地区，造成了家禽养殖业不可估量的严重损失。

也就是在十年前，2004年中期，亚洲一些国家迅速采用了针对该疾病的疫苗免疫措施，并仍然被印度尼西亚、中国和越南官方所使用。最近，孟加拉也采用了这种方法。除了亚洲，埃及也在2006年开始采用疫苗免疫措施。

在这十年中，在各不相同的野外及农场条件下，以及不同种类的禽类中，已使用了超过2000亿份的禽流感疫苗。如此广泛而长期的疫苗使用经验使得我们能够较完善地评估疫苗控制方法的缺点与成功之处。

本文试图分析亚洲H5N1亚型禽流感的疫苗防控情况，并对某些关键因素进行讨论，以此作为评估它们使用情况的基础，并作为流行地区控制及根除禽流感疫情爆发的辅助工具。

针对 H5N1 亚型高致病性禽流感的疫苗及免疫策略

据FAO报道，各国政府实施的以对抗高致病性禽流感的行动已取得了良好的控制效果，来保护公众健康，保障商品鸡群养殖者的经济利益，使他们免受H5N1的威胁。

毫无疑问，禽流感疫苗接种是其中的一项措施，疫苗在一些国家广泛应用，从而提高鸡群抗感染力，预防发病及死亡，减少呼吸道及消化道病毒的复制及排出，最小化病毒向易感禽类及包括人类在内的哺乳动物的传播。

事实上，在野外已使用的禽流感疫苗的数量相当惊人。从2002年到2010年，数据显示使用了超过1130亿羽份的疫苗，其中主要应用地区集中在四个国家：中国、印度尼西亚、越南及埃及，使用比例分别为91%，2.3%，1.4%和4.5%。

由于这四个主要国家自2010年起从未停止疫苗免疫，我们可以试着对之前2012年Swayne公布的数据进行更新。假定禽流感疫苗的使用趋势没有发生变化，而且也没有证据显示其它不同，那么这十年中所使用的疫苗数量应已超过了2000亿羽份。

最初仅有几种针对H5亚型有限数量的种毒株的全病毒灭活疫苗可供使用（H5N2，H5N3和H5N9）。除此之外，还有两种高致病性禽流感H5N1病毒野毒株，A/chicken/Legok(Indonesia)/2003和A/duck/Novosibirsk/02/2005，被迅速研制成了灭活疫苗并进行使用。



EGGS PROGRAM

然而，中国、埃及、印度尼西亚、香港和越南常常由于野毒株的抗原漂移而造成经典 H5 疫苗免疫失败。因此，要解决这种情况，需要及时研制新的疫苗毒株，针对时刻变化的高致病性禽流感病毒提供保护。

尤其是在印度尼西亚，使用和流行株非常接近的禽流感分离株研制出了全病毒灭活疫苗，并适时进行更新，在野外广泛使用取得了非常显著的成功。

尽管如此，使用高致病性的分离株作为疫苗种毒还是存在一定的问题。实际上，从生物安全性角度来说，这种做法对疫苗生产从业人员来说可能存在潜在的危害。而且，高致病性 H5N1 禽流感疫苗种毒往往在 48h 内致鸡胚死亡，使得尿囊液中病毒抗原滴度很低。

在 2004 年，反向遗传工程疫苗 Re-1 被研制出来并使用，它是一株重组病毒，其血凝素（HA）和神经氨酸酶（NA）基因来源于 H5N1 亚型病毒 A/goose/Guangdong/1996，其余基因来源于 A/PuertoRico/8/1934 (PR8)。确实，该技术使得我们可以及时更换疫苗毒株，以应对由于 HA 和 NA 基因构象变化造成的高致病性禽流感野毒突变株。因此，使用相同的技术，其他一些疫苗（Re-3，Re-4，Re-5，Re-6 等）也相继被研制出来，它们在抗原性上与 H5N1 流行株非常接近。

在一些国家也使用载体疫苗。实际上，有三种类型的该种疫苗已经商品化使用：首先，表达 A/Turkey/Ireland/1378/83 H5N8 禽流感病毒 HA 基因的禽痘病毒载体疫苗在越南广泛使用，但是在目前看来，直到该种疫苗的保护程度被证明之后，这种疫苗才开始使用。另一种疫苗是中国研制的表达 A/goose/Guangdong/1996 毒株 HA 和 NA 基因的 FPV 载体疫苗，在 2005 年中国大约使用了 6.15 亿羽份该种疫苗。

第二种类型的重组疫苗使用新城疫病毒作为载体，表达一些中国分离的 H5N1 病毒株 (A/goose/Guangdong/1/1996, A/duck/Anhui/1/2006 和 A/duck/Guangdong/S1322/2006) 的 HA 蛋白，到 2012 年为止在野外使用了大约 120 亿羽份疫苗。

最后一种是插入 H5N1 A/swan/HU/4999/2006 毒株 H5 基因的火鸡疱疹病毒（HVT）载体疫苗，该疫苗在埃及使用，而且最近引入到了孟加拉，并且非常成功。实际上，HVT 载体疫苗十分方便，因为它可以在孵化厅使用。而且，这种技术生产的疫苗显示出了更加广泛的保护效果。尽管还没有经过实验证实，该种疫苗很有可能可以提供持续时间很长的免疫保护，因为以相同 HVT 毒株作为载体的 ND 疫苗已证实具有这种特性，同样的，HVT 病毒的复制特性也有助于产生较长时期的免疫保护。表 1 总结了一些商品化禽流感疫苗的优点和不足。

抛去发展中国家免疫中存在的挑战和限制，疫苗接种策略已取得了一些成果，中国、印度尼西亚和越南等国家人类感染病例减少，家禽中的病例数量也减少了，人类和家禽生存环境的病毒压力也降低了。然而，除了这些积极影响之外，免疫策略中还是存在一些困难和争议。



EGGS PROGRAM

表1 高致病性禽流感疫苗的主要优点及缺点

疫苗	优点	缺点
全病毒灭活疫苗	<ul style="list-style-type: none"> 易于生产 可单独使用或与其它灭活抗原联合使用 免疫力持续时间长 	<ul style="list-style-type: none"> 在1日龄雏鸡应用时会受到母源抗体干扰 在注射疫苗时需要单独保定每只鸡 疫苗株必须与流行的野毒株相匹配 无法鉴别感染与免疫 在野外使用时缺少一致性 免疫对操作者存在风险（可能存在自身感染的风险） 局部组织免疫反应
反向遗传疫苗	<ul style="list-style-type: none"> 可随时更新当前流行的高致病性禽流感插入片段 生产过程安全 免疫力持续时间长 	<ul style="list-style-type: none"> 在1日龄雏鸡应用时会受到母源抗体干扰 在注射疫苗时需要单独保定每只鸡 无法鉴别感染与免疫 在野外使用时缺少免疫一致性 对操作者存在风险（可能存在自身感染的风险） 局部组织免疫反应
禽痘病毒载体疫苗	<ul style="list-style-type: none"> 与另一种常用疫苗同时使用 可在孵化处通过皮下途径与其他疫苗一起进行免疫 同时预防禽痘和禽流感 可以区分感染与免疫，因为该疫苗只含有禽流感病毒的HA基因 	<ul style="list-style-type: none"> 在1日龄雏鸡应用时会受到母源抗体干扰 禽痘病毒的主动免疫会降低免疫有效性 在注射疫苗时需要单独保定每只鸡
新城疫病毒载体疫苗	<ul style="list-style-type: none"> 可大规模使用 与另一种常用疫苗同时使用 可诱导呼吸系统的黏膜免疫 可以区分感染与免疫，因为该疫苗只含有禽流感病毒的HA基因 	<ul style="list-style-type: none"> 长期的安全性尚不明确 NDV的主动免疫会降低免疫反应 新城疫的母源抗体会抑制免疫
火鸡疱疹病毒载体疫苗	<ul style="list-style-type: none"> 针对流行H5亚型病毒的保护范围广泛 可逃避母源抗体 可在孵化器进行免疫（皮下途径） 可同时预防马立克氏病及禽流感 可以区分感染与免疫，因为该疫苗只含有禽流感病毒的HA基因 	<ul style="list-style-type: none"> 需要冷冻储存（液氮） 在注射疫苗时需要单独保定每只鸡 与传统的HVT疫苗存在冲突



EGGS PROGRAM

疫苗接种与高致病性禽流感地方性流行

如前文所述，在过去的十年中使用了超过2000亿份的禽流感疫苗。然而，人们担忧这样的接种策略是否造成了H5N1高致病性禽流感的地方性流行。实际上，在2012年Swayne就已经讨论过这个问题，根据该作者所述，通过检测一些选定国家的情况可以更好地回答这一问题。

简言之，由于孟加拉及印度东部没有使用过禽流感疫苗，但H5N1高致病性禽流感已成地方性流行。同样，在中国，2004年的前两个月，全国16个省共爆发了48个病例，在这些爆发发生之后开始进行免疫。在印度尼西亚，免疫开始于2004年中期，但第一例H5N1高致病性禽流感发生于2003年7月，到2004年6月为止共发生了312起爆发。越南直到2005年10月才开始进行免疫，但是截至2004年底，17%的鸡群发生了感染。最后，在埃及，在免疫开始实施之前，发生了383起爆发，在进行免疫的鸡群比例达到1%之前，发生了573起爆发。

这些数据说明疫苗免疫并没有促进中国、埃及、印度尼西亚或越南地区的H5N1高致病性禽流感地方性流行。实际上，在疫苗免疫实施之前这些国家的地方性流行趋势就已经很明显了。而且，如之前所述，孟加拉和印度东部并没有进行禽流感免疫，也存在H5N1高致病性禽流感地方性流行，并随后造成了经济损失及人群感染的风险。

然而，有必要指出日常不恰当的免疫会造成H5N1高致病性禽流感地方性流行的延长，使得病毒的监控更加复杂，延长病毒在野外的存在时间，使人们对预防和控制措施变得松懈和放松。

免疫与病毒突变

实际上，所有流感病毒在人类和动物中流行的过程中都会发生变化（如通过一系列的极其微小的突变造成基因的缓慢变化）。总体上，由于流感病毒基因序列上突变的累积效应，病毒的抗原特性也可能会出现变化。流感病毒之间同样经常出现重组，造成更大的变化。可以预见到，H5N1高致病性病毒同样持续演化，特别是在一些病毒呈地方性流行的禽类养殖地区。

然而，疫苗对于禽流感病毒突变是否存在影响仍然是一个存在争议的问题。一些研究指出疫苗的使用会对病毒突变产生促进作用，或者流行毒株与所使用疫苗的同源性很低时，可能会造成环境中病毒的排出增多，也可能造成可逃避免疫保护的毒株的选择性存活。

实际上，一项将接种疫苗国家——埃及和印度尼西亚，与非疫苗接种国家——尼日利亚、土耳其和泰国进行对比的实验显示，尽管很难得出H5N1疫苗接种与病毒演化之间存在直接联系的结论，但仍然可以看出，与没有进行疫苗接种的国家相比，使用H5N1禽流感病毒疫苗的国家之中流行的病毒的进化率和阳性选择位点数量更高了。

另一方面，在流行地区，事实证明通过使用合适的疫苗，结合完善的疫苗接种策略，对于降低病毒突变的出现频率取得十分重要的作用。

可以看出，免疫可以产生不同甚至相反的效果，这主要取决于如何使用疫苗，以及在野外如何进行免疫。合理使用高质量的疫苗，疫苗覆盖率较高可以减少流行病毒的数量，限制病毒的复制和排出。而且这样可以限制病毒发生突变的机会。相反的，使用质量差的疫苗，会导致免疫应答不良；错误的使用疫苗会使得鸡群呈现出免疫、部分免疫和没有免疫的混合状态，使病毒呈现地方性流行状态，病毒发生突变的速度加快。



EGGS PROGRAM

疫苗覆盖率

在分析禽流感疫苗与疾病地方性流行之间的关系，以及免疫与基因突变之间的关系时，免疫质量是一个关键的问题。如果免疫不恰当，可能会导致H5N1高致病性禽流感流行时间延长，同时可能导致抗原性发生突变。

衡量所有高致病性禽流感疫苗免疫策略的一个关键因素是疫苗覆盖率。为了达到群体免疫，并且避免病毒在鸡群中进行传播，疫苗覆盖率最低要达到60%，最佳覆盖率为80%。然而这不是一件容易的工作。

在香港曾经达到过最高的疫苗覆盖率，即100%的鸡群实现免疫。在数年的免疫中，各国疫苗覆盖率各不相同（如印度尼西亚，埃及）。也有可能低于20%，如巴基斯坦的覆盖率随时间持续变化。

实际上，在工业化环境下饲养的鸡群，被FAO分为1类和2类，由于良好的生物安全性，暴露的风险更低；相反，第3类和4类，分别包括半商品化养殖鸡群和农村养殖鸡群，存在暴露风险，从而存在感染的可能性。而且，小型承包养殖场进行大规模的疫苗接种活动时很难保证其有效性，因为并不能保证承包户之间的合作，散养家禽的捕捉很困难，因此免疫人员会很容易感到疲倦。而且，鸡群的快速替换意味着鸡群免疫力会迅速消失。因此毫不意外，3类和4类鸡群是最难达到高水平的免疫覆盖率的，正如埃及和印度尼西亚之间所表现，其免疫覆盖率仅为20%-40%，这对于建立全国范围内的群体免疫力来说太低了。

即使在1类和2类鸡群仍然存在一些问题。在这些鸡群中，只有长时间存活的种鸡和蛋鸡会进行高致病性禽流感疫苗程序性免疫。商品肉鸡很少进行免疫，这些鸡群很可能存在传染病毒的高风险。

由于存在这些问题，只有香港实现了所有鸡群的免疫。在其他国家，疫苗覆盖率仍旧持续低于实现群体免疫力的最低阈值。

疫苗保护力和免疫有效性

疫苗保护力可以简单的定义为诱导针对特定病毒感染的保护能力，而免疫有效性则是指疫苗的接种好坏及特定种类动物的免疫应答。

尽管在禽流感正确免疫的鸡群，仍然可能会发生禽流感的爆发。尽管在过去的十年中市场上疫苗的内在质量得到显著提高。实际上，这些免疫失败的情况很可能是由于疫苗存在问题（缺乏疫苗保护力）或免疫接种及鸡群免疫应答出现问题（缺乏免疫有效性）。

在一些地区出现了野毒株发生抗原漂移的现象，老的传统H5疫苗种毒丧失了有效性。因此，需要经常对疫苗种毒是否对野外流行株具有保护力进行评估。除此之外，一个国家不同地区流行的H5N1高致病性禽流感病毒很可能存在差异，疫苗对于这些不同流行毒株的保护力可能存在显著不同。

然而事实上，情况似乎更为复杂，鸡群缺乏足够的免疫保护可能与一系列的因素有关。包括了不正确的免疫技术，母源抗体和主动免疫的干扰，免疫抑制因子的存在，疫苗储存及使用不当，疫苗使用剂量过少，环境病毒压力过高，农民抵制对家鸭进行免疫以及家禽业过高的鸡群替换速度。



EGGS PROGRAM

生物安全

毫无疑问，禽流感危机对于整个亚洲的家禽养殖业来说具有毁灭性的影响。小规模养殖者甚至大型养殖公司的生意濒临破产，该行业的失业率显著上升。而且，对一些国家的乡村地区的家庭造成社会性影响，而且威胁到食品安全。然而，如果说禽流感危机还存在什么积极影响的话，那就是这些区域的养殖业工业化程度有所改善，生物安全也得到了改善。

事实上，如果说是禽流感改变了亚洲家禽养殖业并不夸张。越来越多的大型养殖股份公司建设了具有更好环境管理及新兴技术的禽舍。这些变化显著改善了农场环境以及生物安全状况，对于家禽生产的一些方面有着直接影响。鸡群的性能持续改善，这无疑提高了生产效率。更为重要的是，伴随着免疫的进行，生物安全措施的改善也可以帮助减少禽流感的爆发和病毒的流行。

然而，由于3类和4类鸡群数量众多，很少或甚至没有生物安全措施，那些毗邻生物安全极差农场的大型养殖场仍然面临动物健康问题，这对工业化养殖场和政府相关部门的动物健康管理者仍然是一项挑战。

最后的想法

毫无疑问，疫苗接种策略对于控制H5N1高致病性禽流感十分关键，避免家禽养殖业的毁灭性打击，可以减少疾病带来的直接损失，减少环境中的病毒数量，保障食品健康，减少病毒从禽类向人类的传播。

十年来，我们在疫苗免疫方面已得到了很多教训。H5N1禽流感病毒仍将继续演变，尤其是在一些呈地方性流行的地区。因此，必须经常对野外爆发的病毒进行分离与鉴定，这样我们可以研制应对这些变化的新疫苗。而且，引入更加有效的可以避免H5N1母源抗体干扰、可以大规模在孵化场应用、保护范围更广、免疫力持续时间更长的疫苗可能有助于提高疫苗免疫策略的有效性。

在持续使用禽流感疫苗十年后，对于印度尼西亚、中国和越南而言，与十年前相比离大体根除这种疾病又更进了一步。很明显，这种推断更多的是本文作者的个人看法，而不是一项细致的调查结果，但是，尽管距离实现这一目标仍然十分遥远，但这些国家都已经完成了这一漫长根除过程中的最初而且最为重要的一步。有必要强调，观察到的这些控制禽流感的进步，不仅仅是免疫以及使用更为有效的疫苗的结果，同样包含了该行业的改善以及随后的生物安全改善和对于疾病本身的不断加深的了解。

最后，高致病性禽流感的基本控制策略仍然是通过教育、生物安全、快速诊断技术、流行病学监测、感染鸡群及其污染物的快速扑灭来对高致病性禽流感进行直接根除。如果直接根除计划不能实现，疫苗免疫可以作为第二种选择或方法，来保证养殖者的经营和食品安全，控制临床发病，直到能够实现直接根除。