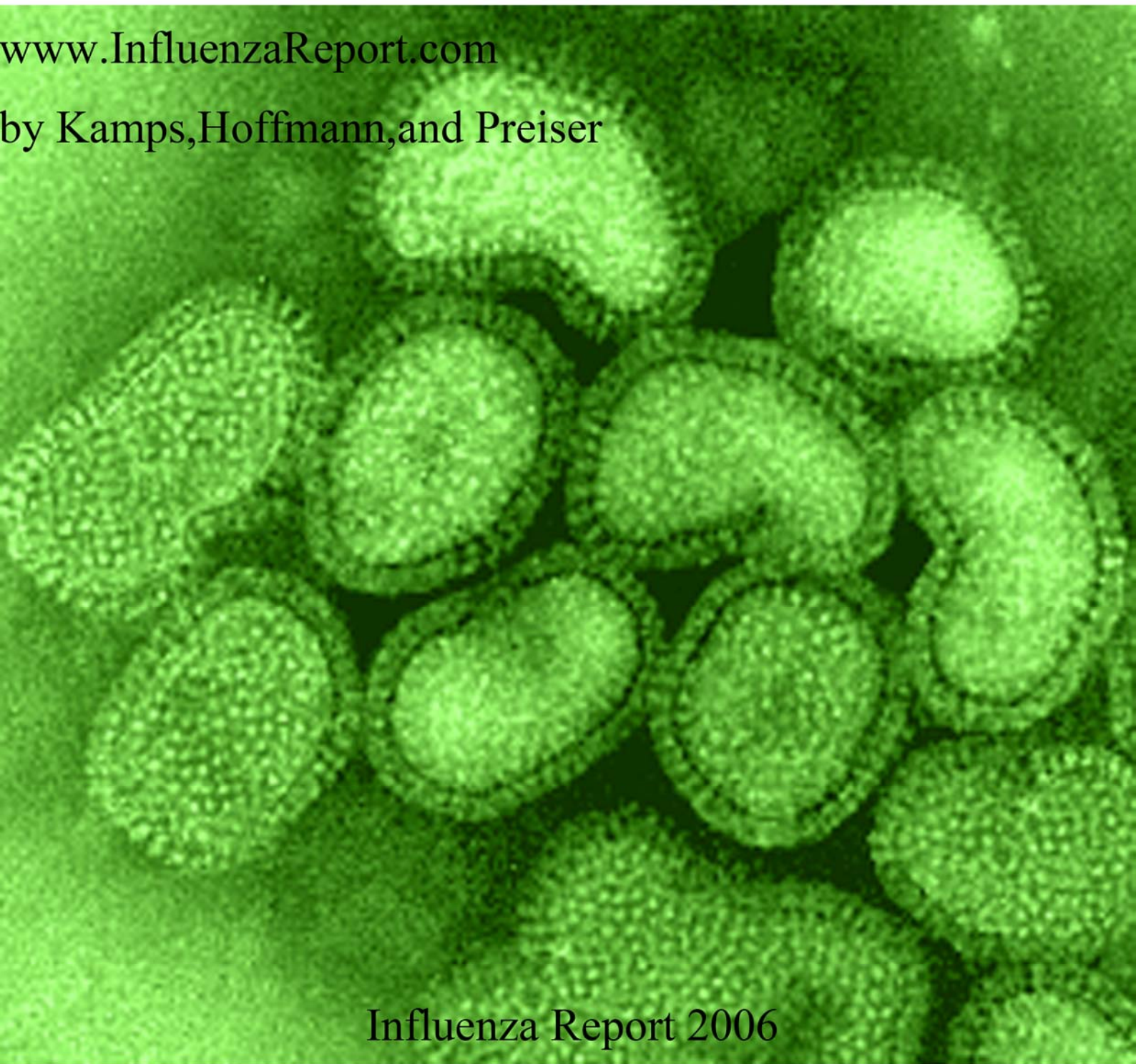


Adapted from

[www.InfluenzaReport.com](http://www.InfluenzaReport.com)

by Kamps, Hoffmann, and Preiser



Influenza Report 2006

# 2006 流感报告

主译 秦成峰

主审 秦鄂德 祝庆余

Adapted from  
[www.InfluenzaReport.com](http://www.InfluenzaReport.com)  
by Kamps, Hoffmann, Preiser et al.

# 2006 流感报告

## INFLUENZA REPORT 2006

秦成峰 主译

秦鄂德 祝庆余 审校

**Flying Publisher**

## 译者序

流感是人类历史上最为致命的瘟疫之一。在过去 400 年里，有记载的世界性“流感大流行”至少暴发过 31 次。尤其是 1918 年的 H1N1 “流感大流行”，波及全球 200 多个国家，罹难人数接近 1 亿，超过了历史上任何一次战争造成的伤亡。自 2003 年底以来，H5N1 高致病性禽流感病毒，不但引起世界范围内禽类高致病性禽流感的爆发流行，也不断引起人类感染和死亡。因此，人们非常担心目前的禽流感疫情很可能会导致新的一次人流感大流行！

B. S. 坎帕斯、C. 霍夫曼和 W. 普瑞瑟博士共同编著的《Influenza report 2006》对人类流感进行了系统和全面的总结，并以专门的章节对禽流感进行了详尽的介绍，内容涵盖病原学，免疫学，流行病学，疫苗学，致病机理，实验室诊断，临床表现，预防和治疗以及药物等各个方面。全书条理清楚，图表丰富，内容新颖，通俗易懂，指导性强，既可作为普通大众了解认识流感 / 禽流感的科普读物，又对临床医务人员和科研工作者具有重要的参考价值。

我的同事和朋友共同参与了本书的翻译，他们都是从事流感 / 禽流感一线工作的年轻科技人员，能够与他们共事，我深感荣幸。全书经秦鄂德和祝庆余两位教授审阅，他们在百忙之中挤出时间，逐字逐篇地认真校对，提出修改意见，感谢他们为此付出的辛勤劳动。感谢曹晓飞同志为本书制作了精美的封面。最后，我们殷切地希望，本书的翻译能够对普及流感 / 禽流感知识、控制流感疫情起到一定的促进作用。

由于我们的时间和水平有限，错误和不当之处在所难免，恳请各位读者提出宝贵意见。

秦成峰

2006 年 8 月 8 日

于北京

## 原著序

三十年前，传染病似乎已经走到了尽头。当时，肺结核已经得到了有效控制，天花几乎被彻底消灭了，大多数性传播疾病也能够很容易地治愈，其他诸如疟疾等传染性疾病也被乐观地认为早晚会在某天被彻底消灭。一些专家甚至急不可耐地宣称：人类在不久的将来将彻底摆脱传染病的威胁。当然，这都是发生在 1981 年以前，当时艾滋病尚未开始泛滥，丙型肝炎病毒和其他一系列导致人类严重疾病的病毒均尚未被发现。

人类的记忆总是不太好。事实上，只要稍微回顾一下人类医学史就会发现，自从人类选择了舒适安逸的生活方式后，传染病就一直伴随着我们。尤其是今天，拥挤的都市，频繁的交流，这些都极大地促进了病原体的快速传播，因而在防控传染病这一问题上必须高度重视。

在艾滋、丙型肝炎、耐药性结核和 SARS 之后，全球 65 亿人口必须面对另一次可怕的“流感大流行”。自 2003 年底以来，H5N1 禽流感毒株在全球三大洲家禽中不断暴发，并导致近 200 人发病，其中一半以上的患者已经死亡。尽管下一次“流感大流行”的时间和强度尚难以确定，但无论如何，我们得做好准备。

本书对人类流感和禽流感进行了全面概述，本书全文可在国际互联网上免费获得 ([www.influenzareport.com](http://www.influenzareport.com))。同时，我们计划在今年年底出版本书的第二版。

B. S. 坎帕斯

C. 霍夫曼

W. 普瑞瑟

于巴黎，汉堡，泰格堡

2006 年 3 月 26 日

## 原著编写人员

**Georg Behrens, M.D., Ph.D.**

Klinische Immunologie  
Zentrum Innere Medizin der  
Medizinischen Hochschule  
Carl-Neuberg-Straße 1  
D - 30625 Hannover  
Phone: +49 511 532 5393  
Fax: +49 511 532 9067

**René Gottschalk, M.D.**

Leiter der Abteilung Infektiologie  
Stellvertretender Amtsleiter  
Stadtgesundheitsamt Frankfurt/Main  
Braubachstr. 18-22  
D - 60311 Frankfurt  
Tel.: +49 69 212 36252  
Fax: +49 69 212 31498

**Lutz Gürtler, M.D., Ph.D.**

Friedrich Loeffler Institute for  
Medical Microbiology  
Martin-Luther-Str. 6  
D - 17487 Greifswald  
Tel: +49 3834 86 5560  
guertler@uni-greifswald.de

**Timm C. Harder, M.D., Ph.D.**

Friedrich Loeffler Institute  
Federal Research Institute for Animal Health OIE  
National Reference Laboratory for Avian Influenza  
Boddenblick 5a  
D - 17493 Greifswald - Insel Riems  
Tel: +49 3835 17 196  
Fax: +49 3835 17 275  
timm.harder@fli.bund.de

**Stephen Korsman, M.D.**

Medical Virology  
Tygerberg NHLS / Stellenbosch University  
PO Box 19063, Tygerberg 7505, South Africa

Phone: +27 21 938 9347  
Fax: + 27 21 938 9361  
snjk@sun.ac.za / skorsman@theotokos.co.za

**Gustavo Reyes-Terón, M.D.**

INER  
Servicio de Infectología  
Calzada de Tlalpan #4502  
Colonia Seccion XVI  
CP. 14080  
Mexico, D. F.  
Phone: +52 55 5666-7985  
reyesteran@iner.gob.mx

**Matthias Stoll, M.D., Ph.D.**

Abt. Klinische Immunologie  
Zentrum Innere Medizin der  
Medizinischen Hochschule  
Carl-Neuberg-Straße 1  
D 30625 Hannover  
Phone: +49 511 532 3637  
Fax: +49 511 532 5324  
stoll.matthias@mh-hannover.de

**Ortrud Werner, M.D.**

Friedrich Loeffler Institute  
Federal Research Institute for Animal Health OIE  
National Reference Laboratory for Avian Influenza  
Boddenblick 5a  
D - 17493 Greifswald - Insel Riems  
Tel: +49 38351 7152  
Fax: + 49 38351 7226  
ortrud.werner@fli.bund.de  
Contributors 9

**Gert van Zyl, M.D.**

Specialist: Medical Virology, NHLS Tygerberg, Coastal Branch  
Faculty of Health Sciences, Tygerberg Campus  
PO Box 19063, Tygerberg 7505, SOUTH AFRICA  
Tel: + 27 21 938 9691  
Fax: + 27 21 938 9361  
E-mail: guvz@sun.ac.za

## 编译人员

主 审

秦鄂德 祝庆余

主 译

秦成峰

翻译人员（以汉语拼音排序）

贝祝春 李晓峰 李 靖 林 磊 罗 渊

姜 涛 康小平 秦成峰 尉 雁 熊 伟

封面设计

曹晓飞

# 目 录

<b>第1章 流感 2006</b>	1
1. 全球冲击	2
2. 个体影响	6
3. 病毒	9
4. 个人处置措施	14
5. 全球管理	18
重要链接	23
访谈	24
参考文献	24
<b>第2章 禽流感</b>	46
1. 病毒	50
2. 自然宿主	53
3. 高致病性禽流感的致病机理	55
4. 临床表现	58
5. 病理学	59
6. 鉴别诊断	60
7. 实验室诊断	61
8. 传播	64
9. 流行病学	69
10. 经济后果	71
11. 控制高致病性禽流感的措施	72
12. 疫苗接种	73
13. 世界性大流行的危险	75
14. 结论	77
参考文献	78
<b>第3章 人类流感病毒</b>	111
1. 结构	111
2. 复制周期	115
参考文献	117
<b>第4章 致病机理与免疫学</b>	119
1. 致病机理	119
2. 免疫学	130
3. 结论	134
参考文献	134
<b>第5章 流行预案</b>	143
1. 导言	143
2. 流感大流行预案	145
3. 流行间期和大流行预警阶段	146
4. 流行期	154
5. 结论	157



参考文献	158
<b>第6章 疫苗</b>	165
1. 流感疫苗的发展	165
2. 疫苗的有效性	170
3. 副作用	172
4. 使用建议	172
5. 疫苗公司及其产品	176
6. 储备不足时流感疫苗的使用策略	178
7. 全球性大流行流感疫苗	179
推荐读物和音像资料	184
参考文献	185
<b>第7章 实验室诊断</b>	196
1. 流感的实验室诊断	196
2. 实验室检测方法	197
3. 流感疾病的鉴别诊断	203
4. 疑似流感病人的诊断	203
5. 流感检测的新进展和发展趋势	204
6. 结论	205
7. 关于流感检测的因特网资源	205
参考文献	206
<b>第8章 临床表现</b>	209
1. 人类流感的症状	209
2. 流感并发症	212
3. 人类感染禽流感	215
参考文献	217
<b>第9章 治疗和预防</b>	223
1. 抗病毒药物	223
2. 经典人流感的治疗	227
3. 人 H5N1 流感的治疗	231
4. 总结	234
参考文献	234
<b>第10章 药物</b>	248
1. 奥塞米韦	248
参考文献	268
2. 扎那米韦	270
参考文献	278
3. 金刚乙胺	284
参考文献	290
4. 金刚烷胺	295
参考文献	301

## 第一章 流感 2006

Bernd Sebastian Kamps & Gustavo Reyes-Terán

流感大流行与大部分自然灾害相似：我们明明知道它还要发生，可总是忽视它发生的时间和强度；但在其他很多方面，它们又不尽相同。东京或旧金山的地震仅持续几秒到几分钟——而流感大流行会一波接一波地传遍世界，并持续数月甚至数年。而且后果也截然不同：一次流感大流行导致的死亡人数可能要比最致命的海啸高数千倍。

流感大流行不可预期，引起流行的病毒株也难以预料。我们对下一次流行的病毒株致病性的强弱一无所知。下一次流行可能相对温和，像1968年和1957年的情况；也可能很凶险，像1918年的流行。我们不知道下次流行是否会由目前流行的H5N1亚型毒株或是其他流感病毒株引起。下一次的流行毒株会如何随着时间而进化、它会以多快的速度传遍全球、会发生几波流行等问题同样难以把握。我们甚至不知道哪一年龄段是后果严重的高危人群。我们更不知道下一次流感大流行将会有多少人罹难，可能是两百万、两千万，或者两亿人！

因此，卫生保健专业人士对新的流感大流行越来越敏感。由于1918年流感病毒和目前的H5N1病毒非常相似，现在H5N1病毒引起的禽流感在禽类中不断爆发并偶尔传染给人类。如果H5N1病毒获得人与人之间随意传播的能力，即使最保守的估计，也会出现几亿门诊病人、两千五百万以上住院病人，全球将会有几百万人死亡(WHO Checklist 2005)。

面对未知的威胁时，明智的做法是做好最坏的打算。由于这种威胁是全球性的，应对策略也必须是全球性的——由于我们的星球由200多个国家分而治之，所以这是一项错综复杂的任务。与不同的国家及其领导人打交道就像和幼儿园的孩子打交道一样，从这个角度讲，世界卫生组织正在从事一项了不起的工作。

在下面的各节中，我们将从抗击流感这场战役的各个方面进行阐述：这种疾病对全球和个体的影响、病毒本身、以及对这个可能成为医疗史上最具挑战性的医疗保健危机的全球性应对策略和个体处理措施。当我们谈论流感大流行时，重要的事情是要记住：流感大流行的严重程度几乎完全不同于季节性感冒。流感

大流行不是通常的流感。牢记这一点，你就不会把它们称作一个老虎，一个猫了。

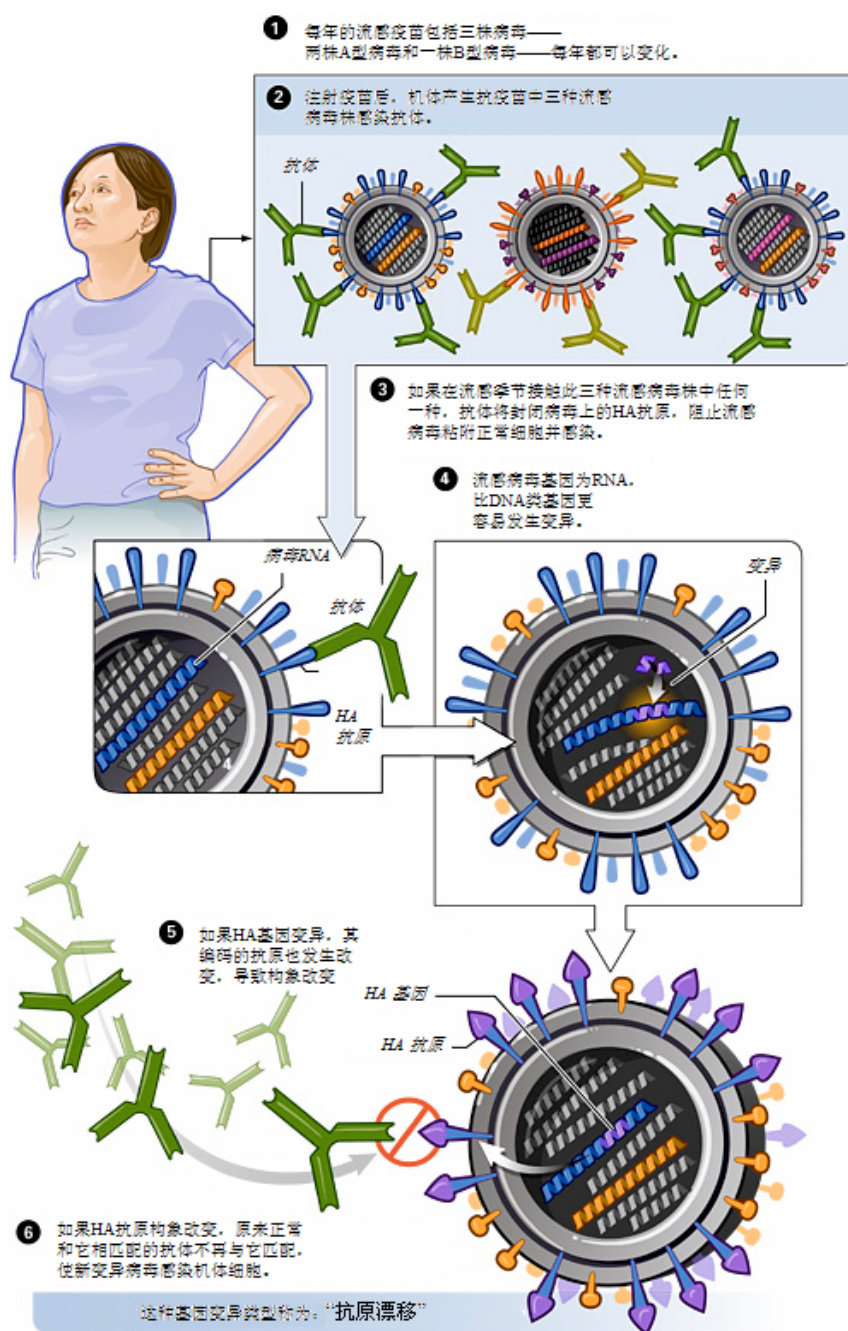


图 1-1 抗原漂移

## 1 全球冲击

### 1.1 流行和流感大流行

流感是一种严重的呼吸道疾病，可以使病人身体虚弱、引起多种并发症、需要入院治疗并可能致死，尤其是对于上年纪的病人，后果可能更为严重。一般认为，每年流感流行可引起约有三百万到五百万的严重病例，并导致30万—50万人

死亡。大于65岁、小于两岁以及那些健康状况不好的人（健康状况不好的人更容易产生流感并发症）是可能发生严重病情和死亡的高危人群(CDC 2005)。

甲型流感病毒颗粒上有两个表面糖蛋白——血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)，由于这两个糖蛋白上不断出现选择性的点突变，每隔一到两年就会产生新的地方性流行病毒株。新的变异毒株能够躲避人体的防御体系，所以我们无论是自然感染过还是接种过疫苗，机体都不会具有持续抵抗新病毒的免疫力，这一点有别于天花、黄热、脊髓灰质炎和麻疹。甲型流感病毒这种持续的、通常是很小的抗原性改变被称为“抗原漂移(antigenic drift)”，是流感频发的基础(图1-1)。此外，现在已有证据表明相同病毒亚型的不同进化系病毒株可以共同循环存在，并且能产生具有显著流行病学意义的重组体(Holmes 2005)。

	命名	导致的大流行	死亡总数
1889	H3N2	中等程度	?
1918	H1N1(“西班牙”)	毁灭性	5千万-1亿
1957	H2N2(“亚洲”)	中等程度	100万
1968	H3N2(“香港”)	轻	100万
?	?	?	?

\* H = 血凝素；N = 神经氨酸酶

与地方性流行不同，世界性流感大流行很少发生，大概每10到50年一次。从16世纪有文献记载以来(WHO 2005b)，在过去400年里，共有至少31次世界性大流行(Lazzari 2004)。在20世纪，发生过三次世界性流感大流行(表1-1)，其影响程度从毁灭性的、中等程度到较轻的不等(Simonson 2004)。1918年世界性流感大流行明显是禽源性的H1N1病毒引起的(Reid 1999)，而接下来的世界性流感大流行病毒株——1957年的H2N2和1968年的H3N2是含禽源病毒基因的重组病毒：1957年的病毒株有三个禽源基因片段（血凝素、神经氨酸酶和RNA多聚酶PB1），1968年的病毒株有两个禽源基因片段（血凝素和PB1）(Kawaoka 1989)。这种流感病毒抗原性较大的变化被称为“抗原转变(antigenic shift)”。(图1-2)





流感大流行的一个标志就是死亡病例向年轻人群偏移。1968年世界性流感大流行中流感相关的死亡人数的一半、1957年和1968年流感相关的死亡人数的大多数小于65岁(Simonson 1998)。

### 1.1.1 1918年

20世纪的第一次世界性流感大流行在1918—1919年的12个月间,以三个传染高峰几乎同时传遍了欧洲、亚洲和北美洲(Barry 2004, Taubenberger 2006)。这是流感流行史上最严重的一次,致死人数超过第一次世界大战死亡人数,一般认为至少有五千万人死亡(Johnson 2002)。第一个传染高峰从1918年春天开始,传染性高,但不具有显著的致死性。第二个传染高峰从九月份开始,是致死性的流感大流行。



图1—3: 1918年流感流行期间堪萨斯州法斯特的露营急诊医院。图片版权归华盛顿特区国立医疗卫生博物馆。

1918年的病毒具有极强的毒性,通过继发性细菌性肺炎引起大量病例的死亡。原发病毒性肺炎可使原本健康的年轻人两天内死亡。1918年的流感症状是如此的不同寻常,以至于开始人们把它误诊为登革热、霍乱或伤寒(Barry 2004)。

一些不太严重的病例,经历了典型的流感——3到5天发热,然后完全康复(Kilbourne 2006)。与后来的世界性流感大流行不同,1918年的大流行期间多数死者是15到35岁之间的年轻、健康人,99%的死者小于65岁。

科研人员分别对福尔马林固定保存的解剖肺组织标本和一个在1918年11月埋在永冻层中的流感患者的肺组织进行了研究，并测出了1918年H1N1病毒基因组的所有8个RNA片段的基因序列 (Taubenberger 2005)。根据这项研究证实，1918年流感病毒不是重组病毒（像1957年和1968年流感大流行的病毒株一样），而更可能是一个完全适应了人类的禽病毒样病毒（avian-like virus）。

### 1.1.2 1957年

1957年的世界性流感大流行由H2N2病毒株引起，该病毒引起的临床表现比1918年世界性流感大流行的病毒引起的症状轻微。尽管流行频繁暴发，但是死亡总数很低。病例死亡的特点更像是季节性流行，大多数死亡病例为婴儿和老人 (WHO 2005b)。患有慢性病的患者和孕妇尤其容易出现肺部并发症 (Louria 1957)。1957年世界性流感大流行估计造成全球100万—200万人死亡。

### 1.1.3 1968年

1968年世界性流感大流行也是一次轻型的大流行，这次流行的致死率甚至不及1967—1968年严重的地方性流行（最后一次H2N2流行）及1975—1976年和1980—1981年两次严重的H3N2引起的地方性流行 (Simonsen 2004)。估计这次总死亡人数在100万左右。在美国，大约50%的流感相关死亡病例为小于65岁的年轻人。血清考古学研究显示，77岁以上的老人有H3抗体，他们过去曾经暴露过这种新的大流行病毒 (Dowdle 1999)，故而在1968年H3N2流感大流行期间这些抗H3抗体可能保护这些老人（大于77岁）免受感染。

专家们曾经预测，1976年将会有一次新的流感大流行，但幸运的是，灾难并未发生。(Dowdle 1997, Gaydos 2006, Kilbourne 2006)。

## 1.2 当前状况

历史上大的世界性流感大流行平均每30年发生一次，而且，人们一致认为近期将会有另一次世界性流感大流行。目前人们还无法预测哪一个病毒株会是引起下一次流感世界性大流行的病毒株。一个可能的候选病毒株是禽H5N1病毒，因为它已经开始在东南亚许多地方野生水禽和家禽中流行，而且已从亚洲传到欧洲和

非洲。最近的研究显示，目前流行的毒株的多聚酶蛋白序列与1918年禽流感病毒的只有10个氨基酸差异，而且在近期流行的高致病性H5N1病毒中已发现许多相同的改变。

目前，H5N1禽流感仍主要是一种鸟类疾病。种属屏障仍未被跨越：虽然两年多来，在许多地方有成百上千万的家禽感染、死亡，但仅有不足200例实验室确认的人感染病例(WHO 200601)。1997年致病性H5N1禽流感在家禽中爆发期间，首次报道了人类感染病例(Yuen 1998)。目前没有充足的资料能够证明，H5N1病毒在与病人接触的医护人员、患者家庭成员之间造成有效的人—人传播(Katz 1999, Buxton Bridges 2000)。尽管在这些人群中检测到H5抗体——显示感染过这种病毒，但并没有出现严重病例。

感染高致病性H5N1禽流感病毒后，有多少人无症状或仅出现轻微临床症状，几乎还没有相关的资料。如果无症状感染常见的话，那么截至2006年3月26日报道的H5N1感染重症病人55%的死亡率(WHO 20060321)自然不必担忧了。然而，这些可能是偶发事件，至少在某些情况下是这样。在柬埔寨，对H5N1禽流感爆发流行并有4人死亡的村庄进行的一项研究显示，尽管在351位村民中许多村民明显接触过病禽，但他们的血液样本中均未检测到额外感染(Buchy, 私人通讯)。

到现在为止，高致病性禽流感主要感染小孩和年轻人。世界卫生组织网站公布的统计数字显示，从2003年12月到2006年2月9日期间共计116位禽流感患者，其中50%为16岁以下的年青人、75%小于30岁、90%小于40岁(Promed 20060211.0463)。这种年龄分布的原因(暴露危险、疾病报告偏见、宿主内在因素，等等)还不清楚。同样地，人的遗传因素在对H5N1流感病毒感染的敏感性和耐受力方面起多大作用也不清楚(Promed 20060216.0512)。

预计下一次世界性大流行将会产生20亿临床病例。做最好的设想，以1968年的轻型世界性大流行为例进行估计，预计会有200万到740万病例(WHO 2005b)。然而，如果按1918年流感病毒引起的死亡率和目前的人口进行推算，全球将有1.8亿到3.6亿人死亡(Osterholm 2005)。

## 2 个体影响

无论是地方性流行还是世界性流行，个体在流感爆发中的命运是充满变数



的。据估计，有大约一半的感染者没有临床症状和体征。其他感染者的临床表现也多种多样，有的仅表现为不发热的呼吸道症状，很像是普通伤风；有的可以表现为从轻微到衰弱不同程度的发烧病症(Hoffmann 2006a)，而且可能引起功能紊乱，进而影响肺、心、脑、肝、肾和肌肉的功能(Nicholson 2003)。

临床病程受病人年龄、此前的免疫状况、病毒特性、吸烟、复发率、免疫抑制以及怀孕等因素的影响(Nicholson 2003)。死亡多数是由原发性病毒性肺炎和继发性呼吸道细菌性感染所致，尤其是伴有肺部或心肺病变的患者。非常年少和年老者通常容易发生严重的并发症。然而，在世界性大流行中，死亡率有向年轻人群迁移的现象(Simonson 1998)。

在人体内，流感病毒的复制似乎仅局限于呼吸道上皮细胞，一旦病毒进入细胞内，通过关闭宿主的蛋白合成，会引起柱状上皮细胞复杂的细胞病变效应。关键的宿主细胞蛋白损失往往导致细胞死亡和坏死(Yuen 2005)。有许多个体因素影响感染某一流感病毒后导致的病情转归(Behrens and Stoll 2006)，而且影响宿主易感性的遗传因素也可能起重要作用。针对特定病毒表位的特异性免疫或一定程度的交叉免疫可能解释为什么大于65岁的人群在1918年流感大流行中感染率相对较低。不知道同样的机制是否也可以解释当前禽H5N1流感爆发中奇怪的年龄分布(ProMED 20060211.0463)。

人感染H5N1后异常严重，最初被归因于血凝素蛋白邻近切割位点的多个碱性氨基酸，因为这是高致病性禽流感病毒的一个显著特征(Subbarao 1998)。这些碱性氨基酸的存在使这种蛋白易于被不同组织中的蛋白酶切割，而且由于广泛的组织亲嗜性，能够形成肺外传播(Yuen 2005)。其他可能的解释有：干扰素可能在阻止病毒向呼吸道外传播中起关键作用，H5N1病毒株干扰这种先天性的抗病毒防御功能。研究表明，高致病性H5N1病毒的非结构蛋白(NS)能够抵抗干扰素和肿瘤坏死因子- $\alpha$ 的抗病毒效应(Seo 2002)。H5N1病毒似乎可以比H3N2或H1N1病毒诱导更高水平的前炎症细胞因子基因转录，它是巨噬细胞潜在的前炎症细胞因子诱导剂，最显著的是肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Cheung 2002)。这些机制可能最终导致细胞因子爆发式生成并导致死亡(Peiris 2004)。

在世界性世界性大流行期间的地方性流行中，流感康复很正常。然而，在人H5N1流感的严重病例中，目前的死亡率相当高(WHO 20060213)。呼吸困难、ARDS

和多器官功能衰竭是死亡病例的主要临床特征，从出现临床症状到死亡平均为9天(n=76) (<http://www.influenzareport.com/links.php?id=16>)。

### 3 病毒

传染性疾病是大型生物和微生物利益冲突的结果，人类不是地球上的唯一。

#### 3.1 成功的必要条件

要成为世界性大流行的病毒株，流感病毒必须符合一系列条件，它必须能够：

- 进入人体并在体内复制，
- 引起人发病，
- 很容易在人与人之间传播。

理想的世界性大流行病毒株必须比其它竞争病毒株具有更强的致病性。目前情况下，潜在的大流行病毒必须与已在流行的H3N2和H1N1病毒株竞争。

成功的必要条件是要有好的适应性：适应人体细胞；具有控制宿主细胞的生产机器的能力来产生新的子代病毒；能使感染个体咳嗽和打喷嚏以传播子代病毒。成功的另一前提就是毒力(Noah 2005, Obenauer 2006, Salomon 2006)和新奇性：如果出现的病毒是一种全新的病毒，大多数人对其只有微弱、甚至根本没有保护力。这种新病毒将不受限制地进入每个人体内，并会最终找到一个超过65亿人口的滋养地，这是世界上最大的生物数量群之一。

因为新病毒的抗原特征需要发生根本变换才能逃避整个人类的免疫系统，从一种占优势地位的流感病毒亚型向另一新的亚型病毒的过渡称为“抗原转变(antigenic shift)”。抗原转变是甲型流感病毒中导致新的血凝素和/或神经氨酸酶产生的一种主要变化。这种变化可能以如下方式发生：1) 两个亲本病毒基因片段重组，或2) 一种动物病毒渐进变异。重组发生需要两株新的大流行候选病毒感染同一人体宿主细胞，这两株候选病毒通常一株是禽源的病毒，另一株是已经在人类流行的病毒，比如H3N2或H1N1。在细胞内，这两种病毒的基因片段重新装配形成一种全新的病毒。1957和1968年流感大流行病毒株就是这种情况。

基因重排可能是产生潜在世界性流感大流行病毒的最好方式。最近对含有

1918年世界性流感大流行病毒基因的重组病毒的研究显示, 包含一个或多个1918年病毒基因的重组病毒的毒力比一起含有全部八个基因片段的病毒的毒力弱 (Tumpey 2005)。1918年病毒的确很特殊: 很明显, 它不是已经存在的两种病毒基因重排形成的病毒, 而是一种通过渐进的变异逐步适应人类的完全的禽病毒样病毒 (Taubenberger 2005)。很容易让人推测1918年 (n=1) 那样全新的人类适应性禽流感病毒比1957年和1968年 (n=2) 那样的重组病毒更有杀伤力, 但是这样的推测是不科学的。很有意思、但也让人担心的是, 在1918年病毒中发生的与标准的禽流感序列相区别的氨基酸变化, 在H5N1高致病性禽流感病毒株中也观察到, 提示这些变化可能促进病毒更容易在人细胞内复制, 并增强致病性 (Taubenberger 2005)。

### 3.2 病毒学

甲型和乙型流感病毒是有包膜的病毒, 其基因组由八个单股负链的RNA片段组成, 每个片段长度在890到2341个核苷酸之间 (Gürtler 2006)。病毒颗粒呈球状或杆状结构, 直径80到120nm (图1-4和图1-5)。从横断面看, 流感病毒体像一对称的意大利辣香肠匹萨饼, 中间为环状意大利辣香肠切片, 周边平衡分布着其他七个切片 (Noda 2006)。根据表面糖蛋白—血凝素 (HA) 和神经氨酸酶 (NA) 的不同, 甲型流感病毒可进一步分为16个H (H1-H16 [Fouchier 2005]) 和9个N (N1-N9) 亚型。HA是诱导产生中和抗体的主要中和抗原, 能够结合宿主细胞上的病毒受体。NA与子代病毒从细胞表面释放有关。目前, 只有H1N1和H3N2病毒在人群中流行。

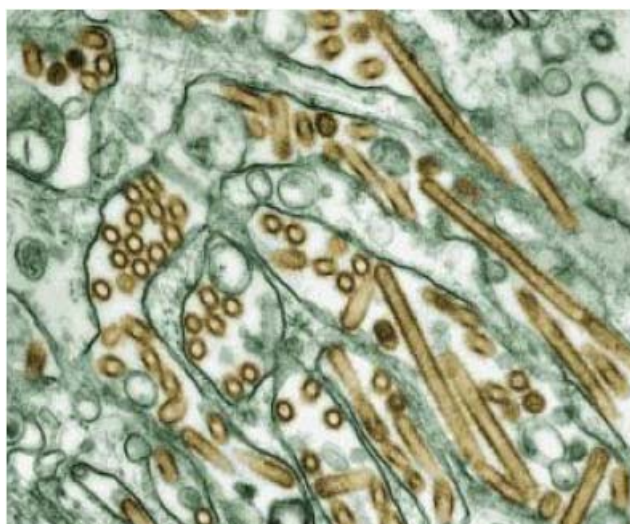


图1-4. 在MDCK细胞（绿色）中生长的H5N1亚型禽流感病毒（金黄色），透射电子显微镜照片。图片由公共健康图像库，CDC的Cynthia Goldsmith, Jacqueline Katz, and Sharif R. Zaki授权。 [http:// phil.cdc.gov/Phil/home.asp](http://phil.cdc.gov/Phil/home.asp)

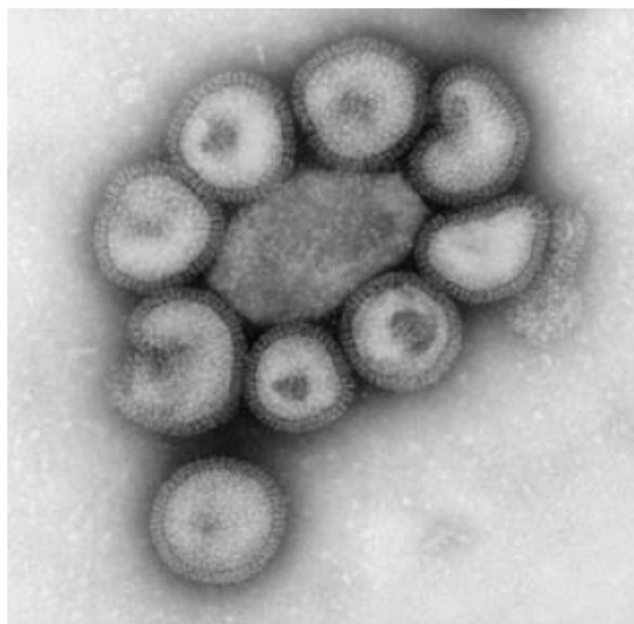


图1-5. 负染色透射电子显微镜照片，显示病毒体的超微结构。公共健康图像库，CDC的F. A. Murphy博士授权。 <http://phil.cdc.gov/Phil/home.asp>

### 3.3 自然储存宿主与存活

甲型流感病毒存在于许多物种体内，主要是鸟类，尤其水鸟。在水鸟中，感染部位主要在肠道，随水传播，而且无症状。东南亚的家养鸭子是甲型流感病毒的主要宿主，这些鸭子在H5N1病毒的产生和存在中发挥重要作用(Li 2004)。在泰国，H5N1病毒主要和放养鸭子的数量有关，与当地的小鸡、公鸡、湿地及人类也有一定关系。当地农民常年在生产双季水稻的湿地上用撒落的稻谷放养鸭子，很明显，这是高致病性禽流感维持和传播的关键因素(Gilbert 2006)。

高致病性禽病毒可以在环境中存活很长时间，尤其在低温环境（如污染了粪便的水中）。在水中，22℃时病毒可存活4天，而0℃时可存活30天。在冰冻物体中，病毒可能无限期存活。最近的研究显示，2004年分离的H5N1病毒更稳定，37℃可以存活6天，而1997年流行中分离的病毒仅能存活2天(WHO 20041029)。加热（56° C时3小时或60° C时30分钟）和常用的消毒剂，如福尔马林和含碘消毒剂

均可以杀死这种病毒。

### 3.4 传播

流感主要通过感染者咳嗽和打喷嚏时从鼻腔和咽部喷出的雾滴（直径大于 $5\mu\text{m}$ ）在人与人之间传播（图1-6）。这种小的颗粒不能保持悬浮在空气中，所以需要近距离（将近3-6英尺）密切接触才能传播。直接的皮肤与皮肤接触或间接的接触呼吸道分泌物（接触污染的表面，然后接触眼睛、鼻子或嘴）也可以传播。个体可以在症状出现前2天到症状出现后大约5天传播流感病毒。儿童可以传播10天或更长时间。



图1-6. 无障碍喷嚏可以向空气中释放出2000到5000充满细菌的雾滴。图像版权归

罗切斯特技术学院的Andrew Davidhazy教授并授权使用

(<http://www.rit.edu/~andpph>)

一般流感病毒具有高度的种属特异性，它们很少感染其他种属，这主要是缘于使用的受体的差异。禽流感病毒结合的细胞表面糖蛋白含末端 $\alpha$ 2-3连接的唾液酸残基，而人流感病毒结合的受体含末端 $\alpha$ 2-6连接的唾液酸分子。禽病毒要想在人与人之间顺利传播，基本的要求就是需获得结合表面有2-6键连接的受体的细胞的能力，这样它才能进入细胞并复制。单个氨基酸替代可明显改变禽H5N1病毒受体的特异性（Gambaryan 2006），目前还不知道哪些特异突变可以使H5N1病毒能够容易并稳定地在人-人之间传播，但使H5N1病毒突变并获得对人特异性的潜

在途径是存在 (Stevens 2006)。

自从1959年以来，只是偶尔发生人感染禽流感病毒；在数百种甲型禽流感病毒株中，已知只有四种可以引起人类感染：H5N1，H7N3，H7N7和H9N2 (WHO 200601)。除了H5N1外，人感染一般只引起轻微症状，很少有严重病症 (Du Ry van Beest Holle 2003, Koopmans 2004)。对于H5N1病毒，密切接触死鸟或病鸟（比如屠杀、掏内脏、售肉、制备）或在场地接触小鸡粪便可能是人感染的主要途径 (WHO 200601)。

### 3.5 H5N1：不断演化

目前，尽管通过感染的家禽接触病毒比较普遍，但是人类感染H5N1仍然相对较少。对H5N1病毒来讲，这说明限制这种禽病毒传播的种属屏障仍然较高——尽管已经流行了将近10年。然而，在过去几年中，H5N1病毒株好像变的具有更高的致病性和更广泛的活动范围：

- H5N1流感病毒株持续进化 (Li 2004)，一些克隆具有更广泛的结合特性，这反映了一定程度的对人类宿主的适应性 (Le 2005)。H5N1不仅在禽类中扩大了宿主范围 (Perkins 2002)，而且也扩大了哺乳动物宿主范围，可以自然地感染人、虎、豹子、家猫和石貂 (Keawcharoen 2004, Thanawongnuwech 2005, Amonsin 2006)。
- H5N1病毒在老鼠和雪貂中的致病性已经增强 (Zitzow 2002, Govorkova 2004)。
- 最近显示，鸭子对高致病性H5N1病毒株排毒可以高达17天 (Hulse Post 2005)。
- 在中国中部，2005年4月下旬，青海湖自然保护区有超过6000只迁徙候鸟死于H5N1禽流感病毒。这之前，野生鸟类死于高致病性禽流感病毒极为罕见 (WHO 20050818)。
- 新分离自不同地方的病毒（青海湖、尼日利亚、伊拉克、土耳其、俄罗斯、哈萨克和蒙古）具有一致且显著的变异，从而使这些病毒对鸟和小鼠具有更高的致死性。这样长时间的基因稳定性是很少见的，而且，很可能说明这种高致病性病毒现在至少已经适应某些种类的迁徙水禽，并且在进化平衡中与

这些水禽共存，并对其不造成明显的伤害，伴随这些鸟类沿着它们的迁徙路线传播(WHO 20060220)。

- 2005年在泰国中部进行的一项尚未公布的研究中，检测的629只狗中160只呈抗H5N1抗体阳性(Butler 2006)。
- 一般认为家猫对流感有抵抗力。然而，当给猫喂食感染H5N1病毒的小鸡后，猫会出现严重病症并能将病毒传染给其他猫(Kuiken 2004)。猫可能不仅可以通过呼吸道排毒，也可能通过消化道排毒(Rimmelzwaan 2006)，这意味着在哺乳动物宿主内和宿主间可能是通过潜在的、新的传播途径传播病毒。在2006年2月，在德国雷根岛的家猫(WHO 20060228)和石貂(WHO 20060309)体内发现了H5N1流感病毒，而此前两个星期当地有100多只野鸟死亡。
- 2003年和2004年的人H5N1分离株比1997年的H5N1人分离株对雪貂具有更强的致病性(Maines 2005)。

## 4 个人处置措施

尽量不接触病毒，如果接触了，尽力对其进行处理。应对流感，理论上有三种预防策略（暴露预防、注射疫苗、抗病毒药物预防）和一种治疗措施（抗病毒药物治疗）。但是，由于流感感染的特殊性——受感染个体在症状出现前的24—48小时内就具有传染性——加上现代社会流动性高、人口密度大，在地方性流行和世界性大流行期间，暴露预防实际上是不可能的。

### 4.1 流行病学预防

#### 4.1.1 接触预防

基本的个人卫生措施，尽管一个世纪以前就已经发明了，目前仍然是预防的核心。医生应鼓励病人家属经常洗手。一般情况下，不赞成人们接触病人的眼睛、鼻子或嘴。采取尽可能的措施减少打喷嚏和咳嗽的影响(WHO 2006a)。

#### 4.1.2 疫苗接种

疫苗接种是预防流感病毒的第二个基本措施。建议在北半球接种疫苗从十月份开始。根据正在流行的病毒株的详细调查，世界卫生组织每年都会发出关于疫

苗组成的推荐。对于野生型流感病毒的预防，建议高危人群中所有人都要接种疫苗来，包括65岁及以上者(CDC 2005)和慢性病患者，尤其是糖尿病患者、慢性呼吸道、心脏病患者以及由疾病或治疗副作用导致的免疫抑制患者。此外，一般建议所有医护人员每年接种流感疫苗(CDC 2006b)。流感疫苗接种率取决于许多变量，包括医生推荐和媒体宣传(Ma 2006)。

有过免疫基础的健康成人，接种一次的有效性就可高达80-100%，而没有免疫基础的成人（第一次接受流感免疫接种），接种两次后也可达到这个有效率。对于正患某些疾病（如人类免疫缺陷病毒（HIV）感染、恶性肿瘤、肾衰竭等）的人，有效性会偏低一些(Korsman 2006)；然而，保护作用最终取决于接种疫苗的个体和疫苗与正在流行的病毒株的匹配程度(Wong 2005)。

最近有学者综合评述了65岁及以上老人流感疫苗接种的有效性和效力。匹配良好的疫苗可以防止住院、肺炎、呼吸道疾病、心脏病以及死亡的发生。住在家中的老人比住在社区老人院的效果更好(Jefferson 2005)。灭活疫苗可减少慢性阻塞性肺病患者病情的恶化(Poole 2006)。两岁以上的儿童接种流感疫苗有效，但两岁以下儿童接种疫苗有效性还缺乏足够的证据(Smith 2006)。活疫苗的鼻腔喷雾剂似乎比灭活苗预防流感的效果更好。

## 4.2 抗病毒药物

对于疫苗没有覆盖的人群或疫苗接种无保护作用的个体，抗病毒药物可能是有用的替代措施。值得强调的是，尽管抗病毒药物有预防作用，但不能替代公共卫生服务机构推荐的年度疫苗接种。

适合使用抗病毒药物进行短期预防的人是那些仅在流行开始后才接种疫苗的高危病人，以及接触流感病人但没接种疫苗的高危人群。在某些情况下，使用的疫苗与目前流行的毒株不匹配时，疫苗仍有一定的预防作用。更详细的内容参见Hoffmann 2006b。

在目前使用的两类药物中，由于金刚烷胺类药物耐受的流感病毒在全球的流行从1994-1995的0.4%上升到2003-2004的12.3% (Bright 2005)，使金刚烷胺类药物（金刚烷胺、金刚乙胺）面临着巨大压力。一些专家认为，在中国耐药性流感病毒比率的升高与SARS出现后非处方金刚烷胺的使用增加有关(Hayden



2006)。在美国，2005年到2006年1月12日分离的120株甲型流感病毒（H3N2）中有109株（91%）在M2蛋白的第31位发生了一个氨基酸的变化，这一变化使流感病毒对金刚烷胺和金刚乙烷产生了耐药性（CDC 2006, Bright 2006）。根据这些结果，CDC发出临时建议，在美国随后的2005-06流感流行季，不用金刚烷胺和金刚乙烷预防或治疗甲型流感。在这期间，应选用奥塞米韦或扎那米韦用于流感的治疗和预防。

### 4.3 季节性流行的治疗

对于大多数青少年和年轻的成年病人而言，症状较轻的患者，可选择卧床休息并注意补充足够的水分（Hoffmann 2006b）。继发细菌性肺炎可用抗生素治疗。

较老的抗病毒药物—金刚烷胺和金刚乙烷—只对甲型流感病毒有效（CDC 2005）。然而，对于老人，缺乏相关研究资料；同时，这种药物有很多副作用；因此，在2005/2006季，**CDC不推荐使用这些药物**（见前面部分）。如果使用金刚乙烷和金刚烷胺，重要的是减少耐受抗病毒药物病毒的出现。因此，金刚烷胺和金刚乙烷治疗应尽可能避免连续使用，一般在治疗3-5天后或体征和症状消失24-48小时后停用（CDC 2005）。

较新的神经氨酸酶抑制剂允许用于治疗一岁和更大的儿童（奥塞米韦）或7岁和更大的儿童（扎那米韦）。这两种药物可用于症状出现不超过两天、无复杂急性病症的病人。建议使用药物治疗5天。

### 4.4 流感大流行的预防

新的世界性流感大流行一旦爆发，人类在地球上将无处可藏。任何人，无论是巴黎的乞丐，还是西方富裕国家的总统，最终都会感染这种病毒。即使在第一波流行中没有感染，也会在第二波或将来的流行中感染。如果新的病毒株成为人类流感大流行的驱动器，那么每个人都需要产生抵抗这种病毒的保护性抗体——因为病毒将会与我们相伴好多年。抗体对病毒感染具有保护作用，但是要想产生抗体，只有感染或接种相应的病毒疫苗。

在新流感病毒出现后较长的一段时间里，全世界 65 亿人口中的大部分人将没有疫苗可用。一旦新的病毒株开始在人—人之间形成有效的传播，至少也需要

6个月左右的时间才能生产出相应的疫苗，而生产足够65亿人口使用的疫苗至少需要几年的时间。因此，疫苗的供给会极度匮乏。同时，由于具备疫苗生产能力的厂家主要集中在澳大利亚、加拿大、法国、德国、意大利、日本、荷兰、英国和美国，疫苗分配也将受这些生产国的控制(Fedson 2005)。我们可以想象哪些人会首先获得疫苗接种。

因此，合理的推断是大多数人在较长时间内既无法接种疫苗，也得不到抗病毒治疗。由于没有疫苗供应或供应太迟，因而对于个人而言，只能寄希望于合理而有效地应对策略的出台。勇敢面对还是恐惧担忧，将是许多人需要面临的问题。

或许，我们只有坦然地面对新的流感，并期望它没那么严重，其他的事情就不是我们能做主的了。事实上，关于流感病毒感染的恰当时机，一直存在着一些相互矛盾的现象。

- 1918年流感大流行时，春季第一波流行的致死率低于秋天的第二波流行(Barry 2004)。有理由相信，第一波流行中的感染者对第二波流行具有一定的抵抗力。提示人们应尽早遭遇新的流感病毒。
- 然而，1918年第二波流行的详细资料却显示出相反的情况：在第二波流行中得病越晚，死亡的可能性越小，病情也越轻(Barry 2004)。第二波后期才波及的城市一般损失较低，而且被感染的病人症状也较轻。例如，美国西海岸城市受侵袭较晚，就比东海岸城市的死亡率低；澳大利亚直到1919年才遭受第二波流行的影响，死亡率也比其他任何发达国家都要低(Barry 2004)。

在传染病流行过程中观察到的普遍现象是：随着病原体在人群中的进化，毒力变得越来越低。这有助于选择第二波感染的做法，即尽量避免接触新的流感病毒。这种选择的另一个好处就是，大流行几个月之后，卫生系统最初面对流感大流行时的混乱局面也将有所缓解。

逃避流感的极端选择就是躲到地球的偏远地区——科西嘉的山村、利比亚的沙漠或美国的萨莫岛(Barry 2004)。这也许有效，也许是徒劳无功。如果不可避免地要直接面对新病毒，应采取戴口罩和远离人群、不去聚会等保护措施。然而，在各处都要戴口罩吗？要戴多长时间？此外，拥挤的巴黎超市的收银员该怎么办？伦敦地铁的司机该怎么办？德国中央邮局的职员该怎么办？如果几个月都

呆在家里而不去工作，哪来的收入？人们能从这个世界上隐退吗？能从这种生活方式中隐退吗？

#### 4.5 流感大流行的治疗

很难确定目前供应的抗病毒药物是否对引起下一次大流行的病毒株有效。神经氨酸酶抑制剂奥塞米韦和扎那米韦可能对战H5N1病毒引起的流感大流行非常重要(Moscona 2005)。但再重申一次，地球上的大多数人将得不到这种药物。这是由于抗病毒药物匮乏，生产容量又无法轻易地扩大。因此即便在储存了部分奥塞米韦的国家，这些短缺药物的分配也将在治疗中引发严重的道德问题。而在一些财富分配不均的国家（比如一些非洲、拉美国家以及美国），则可能导致社会动荡。

人类治疗 H5N1 病毒感染的经验非常有限，只有少数病人的临床报告资料(Yuen 1998, Chan 2002, Hien 2004, Chotpitayasunondh 2005, WHO 2005, de Jong 2005)。尤其是对于奥塞米韦治疗 H5N1 病毒感染的最佳剂量和用药时间，目前还不确定。下面是一些初步的建议(WHO 2005)：

- 尽早使用奥塞米韦。但由于 H5N1 病毒持续感染的死亡率很高，如有证据显示病毒正在复制，即使症状出现 8 天以上，也应考虑用奥塞米韦治疗(WHO 2005, de Jong 2005)
- 对于严重病例，可以加大奥塞米韦的用量（成人：150mg，每天两次）并延长治疗时期（7-10天或更长）(WHO 2006d)

尽管一般病人可以接受奥塞米韦，但在特殊情况下，高剂量（超过300mg/天）的药物可能产生胃肠道副作用。详细情况参见Hoffmann 2006b。

### 5 全球管理

流感大爆发的应对措施是限制地方性流行并减少全球性流感大流行。

#### 5.1 地方性流行的管理

在两次流行病爆发期间，可以通过接种疫苗来实行医疗干预（见CDC 2005摘要）。因为流感病毒经常变异，所以每年都要对疫苗成份进行再次确认。现在

已健全了疫苗生产的程序：每年，世界上 82 个国家的监测点首先考察流感病毒流行株，并预测其变异；然后，由世界卫生组织确认最可能于次年冬季流行的毒株；最后，疫苗生产厂家开始生产。下一个疫苗组分的判定通常在每年北半球冬季的二月份（WHO 2006c）和南半球冬季的九月份进行（详见Korsman 2006 和 <http://influenzareport.com/link.php?id=15> 上的数据）。预测流感病毒血凝素的演化和变异并不容易，而且并不是总能成功。当所预测的毒株不是当前流行株时，疫苗只能提供大约 30%的保护。

## 5.2 流感大流行的管理

可参考 Reyes-Terán 2006 和 WHO 2006c。

严重的世界性流感大流行很罕见，并且是不可预测的。但是应该对突发情况时需要对所面临问题的严重程度进行评估。流感大流行对人类健康的影响将会因感染人数、临床病例数、住院人数和死亡人数的不同而大相径庭。

预计下一次流感大流行的第一年中将会有近 20 亿人被新病毒感染，其中一半人可能会出现症状，而对住院人数和死亡人数的评估则不确定。一般认为，1957 年或 1968 年流感大流行的死亡人数约为 100 万，1918 年流感大流行的死亡人数约为 5000 万。据此分析，在下次大流行期间每 10 万人中将会有 26~2777 人死亡。考虑到现在的世界人口，下次大流行的死亡人数可达 170 万~1 亿 8000 万。

表 1-2: 19 世纪流感大流行的死亡人数及下次大流行死亡人数的估算			
	总人口	死亡人数	每十万人
1918	18 亿	5 000 万	2 777
1957	38 亿	100 万	26
1968	45 亿	100 万	27
下一次	65 亿	170 万—18 000 万	26—2 777

相关数据来自：<http://www.census.gov/ipc/www/world.html> 和 <http://Influenzareport.com/link.php?id=20>。

在法国、西班牙、德国等国家，各种原因导致的年死亡人数约为 900 人/10 万人。因此，破坏性流感大流行发生时，几个月的死亡人数即可达到正常年份的三倍，并且各个国家也将会发生不同程度的社会和经济崩溃。在当今这个对突发事件有着巨大媒体覆盖率的世界上，流感大流行导致的后果将会像战时情形那样。相反，一个像 1968 年那样温和的流感大流行，将不会被关注，甚至不会对各国的卫生体系和世界经济造成影响。

对世界可能再现 1918 年那样的流感大流行的忧虑，是基于目前流行的 H5N1 病毒拥有一些和 1918 年 H1N1 病毒类似的特征 (Taubenberger 2005)。然而，如果 H5N1 病毒是下一次流感大流行的候选毒株，那为什么到现在它还不具备人传人的能力？在过去的几年中，H5N1 病毒既有时间也有机会来突变成流感大流行毒株，但它为什么没有呢？并且，如果它在近 10 年内不这样，那么将来它会吗？现在已经明确，在 16 种血凝素亚型中，只有三种亚型 (H1, H2 和 H3) 可导致人间流感大流行 (1918, 1957, 1968 和可能的 1889 [Dowdle 2006])。并且曾有假设认为，H5 亚型病毒天生不能在人间流行，因为并不是所有病毒亚型都可以通过重配而产生有功能的流行株。但是，谁也不能断言 H5 亚型病毒不会导致人类流感大流行！

除了持续的突变可以将禽流感病毒转变成人流感病毒外，基因重组是另一种产生大流行病毒的途径。由后者导致的大流行发生于 1957 年和 1968 年。它们都相对温和，本质上也不同于 1918 年的大流行。一些初步的实验结果表明，1918 型病毒与人流感病毒重组后，毒力低于未重组的毒株 (Tumpey 2005)。我们还不知道这是否意味着重组病毒引起的大流行轻于禽流感病毒感染而导致的大流行？

1918 年的灾难也许永远不会再现，但那次流感大流行确实发生过。我们应该用最好的预案来应对最坏的情况。由于无法预计将来的大流行会导致每 10 万人中死亡 20 人还是 2000 人，因此国际社会应该将其当成 2000 人来应对。三条相应的防御计划是：控制措施、药物和疫苗。

### 5.3 控制措施

在源头上控制和消除大流行病毒的方法是使用药物预防和采取隔离措施 (Ferguson 2005, Longini 2005)。为此，世界卫生组织最近开始建立一个有

300 万份抗病毒药物的储存库，以便将来可以把药物分配到发生流感大流行的地方（WHO 20000824）。

如果在流感大流行在早期不能被有效控制，那么采取快速的介入措施至少可以延缓病毒在世界范围内的播散并争取到宝贵的时间。这一策略是否成功的金标准已经公布出来了（Ferguson 2005）。然而，还不知道使用库存的抗病毒药物是否是最佳策略，因为此前还从未尝试过如何将流感大流行阻止在初期而不继续发展。

#### 5.4 药物

一旦流感大流行肆虐，而疫苗又未能起效时，各国就会依赖于抗病毒药物。当人们的需求量远大于生产量时，许多政府都将贮存抗病毒药物（以胶囊或前体药物的形式）视作一种可行的选择方案。

到目前为止，关于贮存何种抗病毒药物的争论仍在进行。奥塞米韦作为病毒神经氨酸酶的主要抑制剂已经被大量贮存。最近从H5N1病毒感染的患者体内曾分离到奥塞米韦的抗药株，但其它治疗药物如扎那米韦等仍保持着对该毒株的敏感性(de Jong 2005)，因此贮备药物时也应将扎那米韦包括进来。

贮存金刚烷胺的价值还不清楚。2003年，从中国及泰国、越南、柬埔寨的H5N1病毒感染者和禽类中获得的同一谱系分离株对金刚烷胺均有耐药性(Hayden 2006)。然而，最近分离自印尼、中国、蒙古、俄罗斯和土耳其的流行毒株则保持了对金刚烷胺的敏感性(Hayden 2005)。

有证据表明，即使是贮存昂贵的神经氨酸酶抑制剂，若足够用于病人的治疗或亲密接触后的短期预防，也是可以发挥其经济效应的(Balicer 2005)。比起新加坡用贮存药物来治疗和预防流感的策略，单一治疗策略具有更好的经济价值：为40%的人口准备抗病毒药物，会拯救大约418条生命并节约4.14亿美元，而每个药物贮存周期仅需5260万美元的成本。对那些死亡率通常达78%的高危人群及病死率高于0.6%的流感大流行来说，提前预防是很有经济价值的。预防一场病死率为5%的流感大流行，可以挽回5万条生命和810亿美元(Lee 2006)。

一旦流感大流行爆发，在没有贮备的国家很可能买不到抗病毒药。因此有人建议，这些国家的政府应执行强制特许供应，允许本国非专利生产厂家在专利法

允许的范围内生产抗病毒药物，并以承受得起的价格从厂家购进(Lokuge 2006)。在欧洲，许多政府试着储备能覆盖25%人口的神氨酸酶抑制剂。达到这一“覆盖率”所需要的药物储量是根据5日的标准治疗剂量(75mg/日)计算出来的。但是对患者而言，当其用药剂量、时间均必需高于标准一倍(WHO 2005, WHO 2006d)时，针对25%人口而准备的库存药品会比预计中消耗的更快。

欲获得药物治疗流感的详细资料，参阅Hoffmann 2006b。

## 5.5 疫苗

在一个理想化的世界里，传染病爆发后的第二天，我们就会有65亿支疫苗和65亿支注射器，并且我们将会有足够的卫生人员来施行疫苗接种。

但是，很显然，我们没有生活在理想化的世界里。目前，全世界每年具有生产大约3亿支三价流感疫苗的能力，大部分疫苗是由9个国家生产的(Fedson 2005)。将3亿支三价流感疫苗转换为9亿支单价流感疫苗，可足够用来对4.5亿人进行一次初次疫苗接种和一次加强接种，前提是H5N1疫苗能够充分发挥免疫作用。流感疫苗目前是在鸡胚中制备的，这种方法在50多年前就已经被使用(Osterholm 2005)。采用新技术方法将会使疫苗的产量更高(Palese 2006)。完美的疫苗应该对甲型流感病毒的各个亚型都有广谱的防护作用(Neiryneck 1999, Fiers 2004, De Filette 2006)，但现在这些疫苗仅是实验性的，还没有开始工业化生产。

## 5.6 分配

当药物和疫苗供应不足时，医疗当局不得不决定谁有权使用这些药物和疫苗。谁应该首先使用这些供应不足的疫苗和抗病毒药物呢？年轻人还是老年人(Simonsen 2004)？如果用来检测药物使用功效的标准是“避免死亡的人数”，那么也许老年人应该优先使用——前提是他们对这些疫苗能够产生充分的免疫应答。但是如果我们考虑的是将损失生命的年数降到最低，疫苗或许应优先用于年轻人和中年人(Simonsen 2004)。

澳大利亚政府已经承认，在流感大流行期间，国内贮存的抗病毒药物将供不应求，并会为那些在机密配给名单上的人预留(Lokuge 2006)。这些人是谁呢？

内科医师、救火队员、警察部队、还是政治人物及其他重要人物？专家们强调，决定优先使用群体的权力机构需要在流感大流行爆发前形成并通过这项方案，并使其能灵活地适用于即将到来的、不同等级的灾难 (Simonson 2004)。

## 5.7 结论

来自流行病学研究的好消息是，过去的流感大流行为我们提供了预警信号。在1918年秋天，流感大流行的第二波死亡高峰来临之前，流感大流行已经于1918年春天发生了6个月 (Olson 2005)。亚洲H2N2亚型流感病毒的特性已在1957和1968年的大流行中表现出来：1957年的流感大流行始于初夏，但直到十月份才在美国导致显著的死亡率；在1968年的欧洲，从大流行毒株登陆到出现死亡高峰的时间持续了整整一年 (Simonson 2004)。

二十世纪流感大流行的研究成果使得我们能够了解，下一次大流行发生时有什么情况是我们可以预料的 (Simonson 2004)：

- 死亡率是很难预测的，但是极有可能向年轻人偏移，而且65岁以下的死亡病例将占据相当的比例。
- 流感大流行并不总像一场突然降临的风暴一样，过后就会出现晴空。相反，死亡率的攀升可能会持续数年之久，在此期间有效的疫苗也会需求旺盛。
- 在20世纪的三次流感大流行中，死亡主要发生在新病毒株刚刚出现的6~12月之内，说明对各年龄组死亡率和新流感病毒的及时监控，能够为疫苗及抗病毒药物的生产与分配提供充足的时间，以避免更高的死亡率。

下一场流感大流行即将到来，但是，谁也无法预料它将在什么时候到来，更不知道它会有多么严重。当新毒株是人流感和禽流感病毒的重组毒株时，它会像1957和1968年的两次大流行那样温和吗？还是像1918年的大流行那样严重？

只有未来能告诉我们会发生什么。

让我们做好准备！

(李靖 译)

## 重要链接

Influenza. Special Issue of the Journal of Emerging Infectious Diseases,



2006. <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/index.htm>

Pandemic Influenza: Confronting a Re-emergent Threat. Special Issue of the Journal of Infectious Diseases, 1997. <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/contents/v176nS1.html>

### 访谈

Interview with Dr. Jeffrey Taubenberger. Spanish and avian flu pandemics. Nature Podcast, 6 October 2006 - <http://www.nature.com/nature/podcast/v437/n7060/nature-2005-10-06.mp3>

Interview with Dr. Frederick Hayden on antiviral resistance in influenza viruses. 23 February 2006 - <http://content.nejm.org/cgi/content/full/354/8/785/DC1>

Interview with Dr. Anne Moscona on the clinical implications of oseltamivir resistance. 22 December 2005 - <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/25/2633/DC1>

Interview with Dr. Michael Osterholm on preparing for an influenza pandemic. 5 May 2005 - <http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/18/1839/DC1>

### 参考文献

1. Amonsin A, Payungporn S, Theamboonlers A, et al. Genetic characterization of H5N1 influenza A viruses isolated from zoo tigers in Thailand. *Virology* 2006; 344: 480-91. Epub 2005 Sep 27. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16194557>
2. Aoki FY, Macleod MD, Paggiaro P, et al. Early administration of oral oseltamivir increases the benefits of influenza treatment. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 123-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12493796> . Full text at <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/full/51/1/123>
3. Apisarnthanarak A, Kitphati R, Thongphubeth K, et al. Atypical avian influenza (H5N1). *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1321-4.

- <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no7/04-0415.htm>
4. Balicer RD, Huerta M, Davidovitch N, Grotto I. Cost-benefit of stockpiling drugs for influenza pandemic. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1280-2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16102319>. Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no08/04-1156.htm>
  5. Barry JM. 1918 revisited: lessons and suggestions for further inquiry. In: Board on Global Health. *The Threat of Pandemic Influenza: Are We Ready?* The National Academies Press 2004. Available from <http://darwin.nap.edu/books/0309095042/html/58.html>
  6. Basler CF, Reid AH, Dybing JK, et al. Sequence of the 1918 pandemic influenza virus nonstructural gene (NS) segment and characterization of recombinant viruses bearing the 1918 NS genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 2746-51. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11226311>. Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/98/5/2746>
  7. Behrens G, Stoll M. Pathogenesis and Immunology. In: *Influenza Report*. Kamps BS, Hoffmann C, Preiser W. Flying Publisher, Wuppertal, 2006. . Full text at <http://www.influenzareport.com/ir/pathogen.htm>
  8. Bright RA, Medina MJ, Xu X, et al. Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005: a cause for concern. *Lancet* 2005; 366: 1175-81. Epub 2005 Sep 22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16198766>
  9. Bright RA, Shay DK, Shu B, Cox NJ, Klimov AI. Adamantane resistance among influenza A viruses isolated early during the 2005-2006 influenza season in the United States. *JAMA* 2006; 295: 891-4. Epub 2006 Feb 2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16456087>
  10. Butler D. Thai dogs carry bird-flu virus, but will they spread it? *Nature* 2006; 439: 773. <http://amedeo.com/lit.php?id=16482119>
  11. Butler D. Wartime tactic doubles power of scarce bird-flu drug. *Nature*

- 2005; 438: 6. <http://amedeo.com/lit.php?id=16267514>
12. Buxton Bridges C, Katz JM, Seto WH, et al. Risk of influenza A (H5N1) infection among health care workers exposed to patients with influenza A (H5N1), Hong Kong. *J Infect Dis* 2000; 181: 344-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10608786> . Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v181n1/990819/990819.html>
  13. CDC 1997. Isolation of Avian Influenza A(H5N1) Viruses from Humans . Hong Kong, May-December 1997. *MMWR* 1997; 46: 1204-7. Full text at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00050459.htm>
  14. CDC 1998. Update: Isolation of Avian Influenza A(H5N1) Viruses from Humans . Hong Kong, 1997-1998. *MMWR* 1998; 46: 1245-47. Full text at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00050775.htm>
  15. CDC 2005. Centers for Disease Control. Prevention and Control of Influenza Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2005; 54 (RR08): 1-40. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5408a1.htm>
  16. CDC 2006. High levels of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses and interim guidelines for use of antiviral agents--United States, 2005-06 influenza season. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006; 55: 44-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16424859> . Full text at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5502a7.htm>
  17. CDC 2006b. Influenza vaccination of health-care personnel: recommendations of the healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC) and the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2006; 55: 1-16. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16498385> . Full text at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5502a1.htm>
  18. CDC 2006c. Increased antiviral medication sales before the 2005-06

- influenza season-- ew York City. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2006; 55: 277-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16543882> . Full text at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5510a3.htm>
19. Chan PK. Outbreak of avian influenza A(H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. *Clin Infect Dis* 2002; 34: Suppl 2: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11938498> . Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/CID/journal/issues/v34nS2/010992/010992.html>
  20. Cheung CY, Poon LL, Lau AS, et al. Induction of proinflammatory cytokines in human acrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of uman disease? *Lancet* 2002; 360: 1831-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12480361>
  21. Chotpitayasunondh T, Ungchusak K, Hanshaoworakul W, et al. Human disease from nfluenza A (H5N1), Thailand, 2004. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 201-9. Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol11no02/04-1061.htm>
  22. Claas EC, Osterhaus AD, van Beek R, et al. Human influenza A H5N1 virus related to a ighly pathogenic avian influenza virus. *Lancet* 1998; 351: 472-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9482438> . <http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140673697112120/fulltext>
  23. de Jong MD, Bach VC, Phan TQ, et al. Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting ith diarrhea followed by coma. *N Engl J Med* 2005; 352: 686-91. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15716562> . Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/7/686>
  24. de Jong MD, Tran TT, Truong HK, et al. Oseltamivir resistance during treatment of influenza (H5N1) infection. *N Engl J Med* 2005b; 353: 2667-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16371632> . Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/25/2667>

25. Demicheli V, Jefferson T, Rivetti D, Deeks J. Prevention and early treatment of influenza in healthy adults. *Vaccine* 2000; 18: 957-1030. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10590322>
26. Diggory P, Fernandez C, Humphrey A, Jones V, Murphy M. Comparison of elderly people's technique in using two dry powder inhalers to deliver zanamivir: randomised controlled trial. *BMJ* 2001; 322: 577-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11238150> . Full text at <http://bmj.bmjournals.com/cgi/content/full/322/7286/577>
27. Dowdle WR. Influenza A virus recycling revisited. *Bull World Health Organ* 1999; 77: 820-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10593030> . Full text at [http://whqlibdoc.who.int/bulletin/1999/Vol77-No10/bulletin\\_1999\\_77\(10\)\\_820-828.pdf](http://whqlibdoc.who.int/bulletin/1999/Vol77-No10/bulletin_1999_77(10)_820-828.pdf)
28. Dowdle WR. Influenza Pandemic Periodicity, Virus Recycling, and the Art of Risk Assessment. *Emerg Infect Dis*; 12: 34-9. Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol12no01/05-1013.htm>
29. Dowdle WR. Pandemic influenza: confronting a re-emergent threat. The 1976 experience. *J Infect Dis* 1997; 176: Suppl 1: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9240699>
30. Du Ry van Beest Holle M, Meijer A, Koopmans M, de Jager C. Human-to-human transmission of avian influenza A/H7N7, The Netherlands, 2003. *Euro Surveill* 2005; 10. Full text at <http://www.eurosurveillance.org/em/v10n12/1012-222.asp>
31. Fedson DS. Preparing for pandemic vaccination: an international policy agenda for vaccine development. *J Public Health Policy* 2005; 26: 4-29. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15906873> . Full text at <http://www.palgravejournals.com/jphp/journal/v26/n1/pdf/3200008a.pdf>
32. Ferguson NM, Cummings DA, Cauchemez S, et al. Strategies for

- containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia. *Nature* 2005; 437: 209–14. Epub 2005 Aug 3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16079797>
33. Fiers W, De Filette M, Birkett A, Neiryneck S, Min Jou W. A “universal” human influenza A vaccine. *Virus Res* 2004; 103: 173–6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15163506>
34. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79: 2814–22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15709000> . Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/79/5/2814?view=long&pmid=15709000>
35. Fouchier RA, Schneeberger PM, Rozendaal FW, et al. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 1356–61. <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/5/1356>
36. Gambaryan A, Tuzikov A, Pazynina G, Bovin N, Balish A, Klimov A. Evolution of the receptor binding phenotype of influenza A (H5) viruses. *Virology* 2006; 344: 432–8. Epub 2005 Oct 13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16226289>
37. Gao W, Soloff AC, Lu X, et al. Protection of mice and poultry from lethal H5N1 avian influenza virus through adenovirus-based immunization. *J Virol* 2006; 80: 1959–64. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16439551>
38. Garner JS, and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. Part II. Recommendations for isolation precautions in hospitals. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Am J Infect Control* 1996; 24: 32–52. Full text at at

- [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/gl\\_isolation\\_ptII.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/gl_isolation_ptII.html)
39. Gaydos JC, Top FH, Hodder RA, Russell PK. Swine Influenza A Outbreak, Fort Dix, New Jersey, 1976. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 9-14. Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-0965.htm>
  40. Gilbert M. Free-grazing Ducks and Highly Pathogenic Avian Influenza, Thailand. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 227-34. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16494747> . Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no02/05-0640.htm>
  41. Goto H, Kawaoka Y. A novel mechanism for the acquisition of virulence by a human influenza A virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 10224-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9707628> . Full text <http://www.pnas.org/cgi/content/full/95/17/10224>
  42. Goto H, Wells K, Takada A, Kawaoka Y. Plasminogen-binding activity of neuraminidase determines the pathogenicity of influenza A virus. *J Virol* 2001; 75: 9297-301. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11533192> . Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/19/9297?pmid=11533192>
  43. Govorkova EA, Rehg JE, Krauss S, et al. Lethality to ferrets of H5N1 influenza viruses isolated from humans and poultry in 2004. *J Virol* 2005; 79: 2191-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15681421> . Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/abstract/79/4/2191>
  44. Grtler L. Virology of Human Influenza. In: *Influenza Report*. Kamps BS, Hoffmann C, Preiser W. Flying Publisher, Wuppertal, 2006. . Full text at <http://www.influenzareport.com/ir/virol.htm>
  45. Hatta M, Gao P, Halfmann P, Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science* 2001; 293: 1840-2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11546875> . Full text at <http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/293/5536/1840>
  46. Hayden F, Klimov A, Tashiro M, et al. Neuraminidase inhibitor

- susceptibility network position statement: antiviral resistance in influenza A/H5N1 viruses. *Antivir Ther* 2005; 10: 873-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16430192>
47. Hayden FG, Atmar RL, Schilling M, et al. Use of the selective oral neuraminidase inhibitor oseltamivir to prevent influenza. *N Engl J Med* 1999; 341: 1336-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10536125> . Full text <http://content.nejm.org/cgi/content/full/341/18/1336>
48. Hayden FG, Belshe R, Villanueva C, et al. Management of influenza in households: a prospective, randomized comparison of oseltamivir treatment with or without postexposure prophylaxis. *J Infect Dis* 2004; 189: 440-9. Epub 2004 Jan 26. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14745701> . Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v189n3/31422/31422.html>
49. Hayden FG, Gubareva LV, Monto AS, et al. Inhaled zanamivir for the prevention of influenza in families. Zanamivir Family Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1282-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11058672> . Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/343/18/1282>
50. Hayden FG, Osterhaus AD, Treanor JJ, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza virus infections. GG167 Influenza Study Group. *N Engl J Med* 1997; 337: 874-80. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9302301> . Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/337/13/874>
51. Hayden FG. Antiviral Resistance in Influenza Viruses . Implications for Management and Pandemic Response. *N Engl J Med* 2006; Volume 354:785-8. Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/354/8/785>



52. Hedrick JA, Barzilai A, Behre U, et al. Zanamivir for treatment of symptomatic influenza A and B infection in children five to twelve years of age: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 410–7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10819336>
53. Herlocher ML, Truscon R, Elias S, et al. Influenza viruses resistant to the antiviral drug oseltamivir: transmission studies in ferrets. *J Infect Dis* 2004; 190: 1627–30. Epub 2004 Sep 28. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15478068> . Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/abstract/45/4/1216>
54. Hien TT, Liem NT, Dung NT, et al. Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med* 2004; 350: 1179–88. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14985470> . Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/350/12/1179>
55. Hoelscher MA, Garg S, Bangari DS, et al. Development of adenoviral-vector-based pandemic influenza vaccine against antigenically distinct human H5N1 strains in mice. *Lancet* 2006; 367: 475–81. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16473124>
56. Hoffmann C, Kamps BS. Clinical presentation. In: *Influenza Report*. Kamps BS, Hoffmann C, Preiser W. Flying Publisher, Wuppertal, 2006a. . Full text at <http://www.influenzareport.com/ir/cp.htm>
57. Hoffmann C, Kamps BS. Treatment and Prophylaxis. In: *Influenza Report*. Kamps BS, Hoffmann C, Preiser W. Flying Publisher, Wuppertal, 2006b. . Full text at <http://www.influenzareport.com/ir/tr.htm>
58. Hoffmann C, Rockstroh J, Kamps BS. *HIV Medicine* 2005. Flying Publisher, Wuppertal, 2005. . Full text at <http://www.HIVMedicine.com>
59. Holmes EC, Ghedin E, Miller N, et al. Whole-genome analysis of human influenza A virus reveals multiple persistent lineages and reassortment among recent H3N2 viruses. *PLoS Biol* 2005; 3: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16026181> . Full text at

- <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=16026181>
60. Hulse-Post DJ, Sturm-Ramirez KM, Humberd J, et al. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10682-7. Epub 2005 Jul 19. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16030144>
  61. Jefferson T, Rivetti D, Rivetti A, Rudin M, Di Pietrantonj C, Demicheli V. Efficacy and effectiveness of influenza vaccines in elderly people: a systematic review. *Lancet* 2005; 366: 1165-74. Epub 2005 Sep 22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16198765>
  62. Johnson NP, Mueller J. Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 "Spanish" influenza pandemic. *Bull Hist Med* 2002; 76: 105-15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11875246>
  63. Kaiser L, Wat C, Mills T, Mahoney P, Ward P, Hayden F. Impact of oseltamivir treatment on influenza-related lower respiratory tract complications and hospitalizations. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1667-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12885681> . Full text at <http://archinte.ama-assn.org/cgi/content/abstract/163/14/1667>
  64. Katz JM, Lim W, Bridges CB, et al. Antibody response in individuals infected with avian influenza A (H5N1) viruses and detection of anti-H5 antibody among household and social contacts. *J Infect Dis* 1999; 180: 1763-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10558929> . Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v180n6/990415/990415.html>
  65. Kawaoka Y, Krauss S, Webster RG. Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics. *J*

- Viol 1989; 63: 4603-8. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=2795713> . Full text at  
<http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=2795713>
66. Keawcharoen J, Oraveerakul K, Kuiken T, et al. Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 2189-91. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15663858> . Full text at  
<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol10no12/04-0759.htm>
67. Kilbourne ED. Influenza pandemics of the 20th century. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 9-14. Full text at  
<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-1254.htm>
68. Kiso M, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *Lancet* 2004; 364: 759-65. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15337401>
69. Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, et al. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. *Lancet* 2004; 363: 587-93. Full text at  
<http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS014067360415589X/fulltext>
70. Korsman S. Vaccines. In: *Influenza Report 2006*. Flying Publisher, Wuppertal, 2006 . Available from  
<http://www.influenzareport.com/ir/vaccines.htm>
71. Kuiken T, Rimmelzwaan G, van Riel D, et al. Avian H5N1 influenza in cats. *Science* 2004; 306: 241. Epub 2004 Sep 2. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15345779>
72. Lazzari S, Stohr K. Avian influenza and influenza pandemics. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 242.  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15259251> . Full text at

- <http://www.who.int/entity/bulletin/volumes/82/4/242.pdf>
73. Le QM, Kiso M, Someya K, et al. Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature* 2005; 437: 1108. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16228009>
74. Lee VJ. Economics of neuraminidase inhibitor stockpiling for pandemic influenza, singapore. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 95-102. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16494724> . Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-0556.htm>
75. Li KS, Guan Y, Wang J, et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 2004; 430: 209-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15241415>
76. Li S, Schulman J, Itamura S, Palese P. Glycosylation of neuraminidase determines the neurovirulence of influenza A/WSN/33 virus. *J Virol* 1993; 67: 6667-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8411368> . Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=8411368>
77. Lokuge B, Drahos P, Neville W. Pandemics, antiviral stockpiles and biosecurity in Australia: what about the generic option? *Med J Aust* 2006; 184: 16-20. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16398625> . Full text at [http://www.mja.com.au/public/issues/184\\_01\\_020106/lok10852\\_fm.html](http://www.mja.com.au/public/issues/184_01_020106/lok10852_fm.html)
78. Longini IM Jr, Nizam A, Xu S, et al. Containing pandemic influenza at the source. *Science* 2005; 309: 1083-7. Epub 2005 Aug 3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16079251>
79. Louria DB, Blumenfeld HL, Ellis JT, Kilbourne ED, Rogers DE. Studies on influenza in the pandemic of 1957-1958. II. Pulmonary complications of influenza. *J Clin Invest* 1959; 38: 213-65. Full text at

<http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=1362078>  
4

80. Ma KK, Schaffner W, Colmenares C, Howser J, Jones J, Poehling KA. Influenza vaccinations of young children increased with media coverage in 2003. *Pediatrics* 2006; 117: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16452325>
81. Maines TR, Lu XH, Erb SM, et al. Avian influenza (H5N1) viruses isolated from humans in Asia in 2004 exhibit increased virulence in mammals. *J Virol* 2005; 79: 11788–800. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16140756>
82. Matrosovich M, Tuzikov A, Bovin N, et al. Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals. *J Virol* 2000; 74: 8502–12. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10954551>. Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/18/8502>
83. Monto AS, Fleming DM, Henry D, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza A and B virus infections. *J Infect Dis* 1999; 180: 254–61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10395837>. Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v180n2/990003/990003.html>
84. Monto AS, Robinson DP, Herlocher ML, Hinson JM Jr, Elliott MJ, Crisp A. Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999; 282: 31–5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10404908>. Full text at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/abstract/282/1/31>
85. Moscona A. Neuraminidase inhibitors for influenza. *N Engl J Med* 2005; 353: 1363–73. <http://amedeo.com/lit.php?id=16192481>. Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/13/1363>

86. Neiryneck S, Deroo T, Saelens X, Vanlandschoot P, Jou WM, Fiers W. A universal influenza A vaccine based on the extracellular domain of the M2 protein. *Nat Med* 1999; 5: 1157-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10502819>
87. Nicholson KG, Aoki FY, Osterhaus AD, et al. Efficacy and safety of oseltamivir in treatment of acute influenza: a randomised controlled trial. Neuraminidase Inhibitor Flu Treatment Investigator Group. *Lancet* 2000; 355: 1845-50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10866439>
88. Nicholson KG, Wood JM, Zambon M. Influenza. *Lancet* 2003; 362: 1733-45. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14643124>
89. Noah DL, Krug RM. Influenza virus virulence and its molecular determinants. *Adv Virus Res* 2005; 65: 121-45. <http://amedeo.com/lit.php?id=16387195>
90. Noda T, Sagara H, Yen A, et al. Architecture of ribonucleoprotein complexes in influenza A virus particles. *Nature* 2006; 439: 490-492. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16437116>
91. Obenauer JC, Denson J, Mehta PK, et al. Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates. *Science* 2006; 311: 1576-80. Epub 2006 Jan 26. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16439620>
92. Olson DR, Simonsen L, Edelson PJ, Morse SS. Epidemiological evidence of an early wave of the 1918 influenza pandemic in New York City. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 11059-63. Epub 2005 Jul 26. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16046546> . Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/102/31/11059>
93. Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med* 2005; 352: 1839-42. Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/18/1839>
94. Palese P. Making better influenza virus vaccines? *Emerg Infect Dis*

2006. Available from  
<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-1043.htm>
95. Peiris JS, Yu WC, Leung CW, et al. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet* 2004; 363: 617-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14987888>
96. Perkins LE, Swayne DE. Pathogenicity of a Hong Kong-origin H5N1 highly pathogenic avian influenza virus for emus, geese, ducks, and pigeons. *Avian Dis* 2002; 46: 53-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11924603>
97. Peters PH Jr, Gravenstein S, Norwood P, et al. Long-term use of oseltamivir for the prophylaxis of influenza in a vaccinated frail older population. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49: 1025-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11555062>
98. Poole P, Chacko E, Wood-Baker R, Cates C. Influenza vaccine for patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16437444>
99. ProMED 20060211.0463. Avian influenza, human Worldwide (02); Demographics of human avian influenza. Archive number 20060211.0463. Available at <http://www.promedmail.org/>
100. ProMED 20060216.0512. Avian Influenza, human: Genetic risk? Promed number 20060216.0512. Accessed on 17 February 2006 . Available at <http://www.promedmail.org/>
101. ProMED 20060224.0603. South Korea - asymptomatic human infection. Promed number 20060224.0603. Accessed on 25 February 2006 . Available at <http://www.promedmail.org/>
102. ProMED 20060322.0893. Avian Influenza's Human-attack Pathway Revealed. Promed number 20060322.0893. Accessed on 23 March 2006 . Available at <http://www.promedmail.org/>

103. Reid AH, Fanning TG, Hultin JV, Taubenberger JK. Origin and evolution of the 1918 "Spanish" influenza virus hemagglutinin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 1651-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9990079> . Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/96/4/1651>
104. Reyes-Terán. Pandemic Preparedness. In: *Influenza Report*. Kamps BS, Hoffmann C, Preiser W. Flying Publisher, Wuppertal, 2006a. . Full text at <http://www.influenzareport.com/ir/pp.htm>
105. Rimmelzwaan GF, van Riel D, Baars M, et al. Influenza A Virus (H5N1) Infection in Cats Causes Systemic Disease with Potential Novel Routes of Virus Spread within and between Hosts. *Am J Pathol* 2006; 168: 176-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16400021>
106. Salomon R, Franks J, Govorkova EA, et al. The polymerase complex genes contribute to the high virulence of the human H5N1 influenza virus isolate A/Vietnam/1203/04. *J Exp Med* 2006; Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16533883>
107. Schonberger LB, Bregman DJ, Sullivan-Bolyai JZ, et al. Guillain-Barre syndrome following vaccination in the National Influenza Immunization Program, United States, 1976-- 1977. *Am J Epidemiol* 1979; 110: 105-23. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=463869>
108. Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses. *Nat Med* 2002; 8: 950-4. Epub 2002 Aug 26. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12195436>
109. Shortridge KF. Pandemic influenza: a zoonosis? *Semin Respir Infect* 1992; 7: 11-25. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1609163>
110. Shortridge KF. Pandemic influenza: a zoonosis? *Semin Respir Infect* 1992; 7: 11-25. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1609163>
111. Simonsen L, Clarke MJ, Schonberger LB, Arden NH, Cox NJ, Fukuda K.



- Pandemic versus epidemic influenza mortality: a pattern of changing age distribution. *J Infect Dis* 1998; 178: 53-60. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9652423> . Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/cgi-bin/resolve?JIDv178p53PDF>
112. Simonson L. Pandemic influenza and mortality: past evidence and projections for the future. In: Board on Global Health. *The Threat of Pandemic Influenza: Are We Ready?* The National Academies Press 2004. Available from <http://darwin.nap.edu/books/0309095042/html/89.html>
113. Smith S, Demicheli V, Di Pietrantonj C, et al. Vaccines for preventing influenza in healthy children. *Cochrane Database Syst Rev* 2006. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16437500>
114. Stevens J, Blixt O, Tumpey TM, Taubenberger JK, Paulson JC, Wilson IA. Structure and Receptor Specificity of the Hemagglutinin from an H5N1 Influenza Virus. *Science* 2006; Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16543414>
115. Subbarao K, Klimov A, Katz J, et al. Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness. *Science* 1998; 279: 393-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9430591> . Full text at <http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/279/5349/393>
116. Taubenberger JK, Morens DM. 1918 influenza: the mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 15-22. Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-0979.htm>
117. Taubenberger JK, Reid AH, Krafft AE, Bijwaard KE, Fanning TG. Initial genetic characterization of the 1918 "Spanish" influenza virus. *Science* 1997; 275: 1793-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9065404> . Full text at <http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/275/5307/1793>

118. Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G, Fanning TG. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature* 2005; 437: 889-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16208372>
119. Thanawongnuwech R, Amonsin A, Tantilertcharoen R, et al. Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 699-701. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15890122> . Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no05/05-0007.htm>
120. Thorson A, Petzold M, Chuc NTK, Ekdahl K. Is Exposure to Sick or Dead Poultry Associated With Flulike Illness? *Arch Intern Med* 2006; 166: 119-123. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16401820>
121. Tiensin T, Chaitaweesub P, Songserm T, Chaisingh A, Hoonsuwan W, Buranathai C, et al. Highly pathogenic avian influenza H5N1, Thailand, 2004. *Emerg Infect Dis* [serial on the Internet]. 2005 Oct 19. Available from <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no11/05-0608.htm>
122. Treanor JJ, Hayden FG, Vrooman PS, et al. Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza: a randomized controlled trial. US Oral Neuraminidase Study Group. *JAMA* 2000; 283: 1016-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10697061> . Full text at <http://jama.amaassn.org/cgi/content/full/283/8/1016>
123. Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science* 2005; 310: 77-80. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16210530>
124. Tumpey TM, Garcia-Sastre A, Mikulasova A, et al. Existing antivirals are effective against influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 13849-54. Epub

- 2002 Oct 4. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=12368467> . Full text at  
<http://www.pnas.org/cgi/content/full/99/21/13849>
125. Tumpey TM, Garcia-Sastre A, Mikulasova A, et al. Existing antivirals are effective against influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 13849–54. Epub 2002 Oct 4. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=12368467> . Full text at  
<http://www.pnas.org/cgi/content/full/99/21/13849>
126. Uiprasertkul M, Puthavathana P, Sangsiriwut K, et al. Influenza A H5N1 replication sites in humans. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1036–41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16022777>
127. Welliver R, Monto AS, Carewicz O, et al. Effectiveness of oseltamivir in preventing influenza in household contacts: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 748–54. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11176912> . Full text at <http://jama.amaassn.org/cgi/content/abstract/285/6/748>
128. WHO 20000824. Donation of three million treatments of oseltamivir to WHO will help early response to an emerging influenza pandemic. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2005/pr36/en/index.html> . Access 14 January 2006.
129. WHO 2004. WHO interim guidelines on clinical management of humans infected by influenza A(H5N1). Available from [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/clinical\\_almanage/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/clinical_almanage/en/index.html) . accessed on 14 January 2006.
130. WHO 20041029. Laboratory study of H5N1 viruses in domestic ducks: main findings. [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/labstudy\\_2004\\_10\\_29/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/labstudy_2004_10_29/en). Accessed 30 October 2005.

131. WHO 2005. The Writing Committee of the World Health Organization (WHO). Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* 2005; 353: 1374-85. Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/extract/353/13/1374>
132. WHO 20050818. Geographical spread of H5N1 avian influenza in birds. Available from [http://www.who.int/csr/don/2005\\_08\\_18/en](http://www.who.int/csr/don/2005_08_18/en). Accessed on 26 January 2006.
133. WHO 20051223. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO. 23 December 2005. Accessed at [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/cases\\_table\\_2005\\_12\\_23/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2005_12_23/en/index.html)
134. WHO 2005b. Avian influenza: assessing the pandemic threat. Available from [http://www.who.int/csr/disease/influenza/WHO\\_CDS\\_2005\\_29/en](http://www.who.int/csr/disease/influenza/WHO_CDS_2005_29/en). Accessed on 16 January 2006
135. WHO 200601. Avian influenza ("bird flu"). Fact sheet. January 2006. Available from [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/avianinfluenza\\_factsheetJan2006/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/avianinfluenza_factsheetJan2006/en/index.html). Accessed on 26 January 2006.
136. WHO 20060114. Cumulative number of confirmed human cases of avian Influenza A/(H5N1) reported to WHO. Available from [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/en). Accessed on 17 January 2006.
137. WHO 20060220. Avian influenza: significance of mutations in the H5N1 virus. Available from [http://www.who.int/csr/2006\\_02\\_20/en/index.html](http://www.who.int/csr/2006_02_20/en/index.html). Accessed on 25 February 2006.
138. WHO 20060228. H5N1 avian influenza in domestic cats. Available from [http://www.who.int/csr/don/2006\\_02\\_28a/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2006_02_28a/en/index.html). Accessed on 28 February 2006.

139. WHO 20060309. Avian influenza . H5N1 infection found in a stone marten in Germany. Available from [http://www.who.int/csr/don/2006\\_03\\_09a/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2006_03_09a/en/index.html) . Accessed on 15 March 2006.
140. WHO 20060321. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO. Accessed on 23 February 2006 from [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/cases\\_table\\_2006\\_03\\_21/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2006_03_21/en/index.html)
141. WHO 2006a. World Health Organization Writing Group. Nonpharmaceutical interventions for pandemic influenza, national and community measures. Emerg Infect Dis. 2006 Jan. Available from <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-1371.htm>
142. WHO 2006b. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2006-2007 northern hemisphere influenza season. Available at <http://www.who.int/csr/disease/influenza/recommendations2007north/en/index.html> . Accessed on 14 March 2006.
143. WHO 2006c. WHO pandemic influenza draft protocol for rapid response and containment. Available at <http://InfluenzaReport.com/link.php?id=18> . Accessed 17 March 2006.
144. WHO 2006d. Advice on use of oseltamivir. Available from <http://InfluenzaReport.com/link.php?id=17>; accessed 17 March 2006.
145. WHO Checklist 2005. WHO checklist for influenza pandemic preparedness planning. Available from [http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2005\\_4/en/index.html](http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_4/en/index.html) . Accessed on 16 January 2006.
146. WHO Situation Updates. Available from [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/updates/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/updates/en/index.html) . Accessed on 26 January 2006.

147. Winkle S. Kulturgeschichte der Seuchen. Komet; Frechen 1997. 148.  
Wong SS, Yuen KY. Influenza vaccination: options and issues. Hong Kong Med J 2005; 11: 381-90. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16219958> . Full text at <http://www.hkmj.org.hk/hkmj/abstracts/v11n5/381.htm>
149. Yuen KY, Chan PK, Peiris M, et al. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. Lancet 1998; 351: 467-71. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9482437> . Full text at <http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140673698011829/fulltext>
150. Yuen KY, Wong SS. Human infection by avian influenza A H5N1. Hong Kong Med J 2005; 11: 189-99. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15951584> . Full text at <http://www.hkmj.org.hk/hkmj/abstracts/v11n3/189.htm>
151. Zambon MC. Epidemiology and pathogenesis of influenza. J Antimicrob Chemother 1999; 44: Suppl : 3-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10877456> . Full text at [http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/44/suppl\\_2/3](http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/44/suppl_2/3)
152. Zitzow LA, Rowe T, Morken T, Shieh WJ, Zaki S, Katz JM. Pathogenesis of avian influenza A (H5N1) viruses in ferrets. J Virol 2002; 76: 4420-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11932409> . Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/abstract/76/9/4420>

## 第二章 禽流感

Timm C. Harder & Ortrud Werner

### 导言

高致病性禽流感 (Highly pathogenic avian influenza, HPAI)，起初也称鸡瘟，最早于1878年在意大利被发现，并认定为是一种可感染鸟类和鸡的传染性疾病 (Perroncito 1878)。由于此病多发于意大利Po河流域的上游，因此也被称作Lombardy疾病。尽管Centanni 和Savonuzzi在1901年就已经发现了一种可导致该病的滤过性病原体，但直到1955年Schäfer才将其鉴定为甲型流感病毒。野生水鸟是禽流感病毒的自然宿主，由于低致病性甲型流感病毒能以一种平衡的状态与这些宿主共存，因此鸟类感染此病后一般呈亚临床症状 (Webster 1992, Alexander 2000)。

低致病性禽流感病毒 (low pathogenic avian influenza virus, LPAIV) 从禽类等储存宿主传播给鸡和火鸡等易感家禽时 (也称为特异性转移)，一般只引发轻微症状。然而，如果家禽能维持若干次循环感染，这些毒株就可能发生一系列突变以适应新的宿主。甲型流感病毒H5和H7亚型不但可以调节自身以适应宿主，而且有可能通过插入突变的方式转变为一种高致病禽流感病毒 (HPAIV)，从而导致严重的致死性疾病。这种高致病禽流感病毒可能是由感染了H5和H7亚型低致病性禽流感病毒的家禽产生的。

家禽中流行的高致病性禽流感具有突然发生、症状严重及病程短的特征，易感动物的死亡率接近 100%。由于高致病性禽流感会给家禽业造成巨大的经济损失，因此该病在兽医界受到广泛关注，世界各国政府对此也高度重视，要求一经发现禽流感必须立即上报。H5 和 H7 亚型流感病毒引发的低致病性禽流感可能会转变为高致病性禽流感，因此该病一经发现也要求上报 (OIE 2005)。幸运的是，1997 年以前高致病性禽流感只是一种罕见的疾病，二十世纪 50 年代到 1997 年期间，世界范围内有记载的爆发性禽流感也仅有 24 次 (表 2-1)。

然而，近来禽流感已经受到世界范围内的广泛重视。新近发现的一株高致病性的 H5N1 亚型流感病毒可能于 1997 年以前就在中国南方出现，现已在东南亚的禽类中稳定存在，并已经从鸟类传播到哺乳动物（猫，猪及人类），这表明该病毒已经出人意料的突破了种属屏障(Perkins and Swayne 2003)。尽管此前也有人感染禽流感病毒报道(Koopmans 2004, Hayden and Croisier 2005)，但人类已被感染、感染者病情严重且已有死亡的事实，已经让人们担心可能会爆发 H5N1 病毒的大规模流行(Klempner and Shapiro 2004; Webster 2006)。下面将要讨论的一系列事件表明，H5N1 病毒对几种哺乳动物的致病性也已逐步增强。由此引发的全世界公众对 H5N1 病毒大规模流行的担忧，也就不足为奇了(Kaye and Pringle 2005)。

年份	国家/地区	感染家禽	病毒株
1959	苏格兰	两个鸡群（已报道）	A/chicken/Scotland/59 (H5N1)
1963	英格兰	29,000 只种火鸡	A/turkey/England/63 (H7N3)
1966	安大略省 (加拿大)	8,100 只种火鸡	A/turkey/Ontario/7732/66 (H5N9)
1976	维多利亚 (澳大利亚)	25,000 只产蛋鸡、 17,000 只嫩鸡 16,000 只鸭	A/chicken/Victoria/76 (H7N7)
1979	德国	一个 160,000 只的鸡群、 80 只鹅	A/chicken/Germany/79 (H7N7)
1979	英格兰	3 个商业化农场中的火鸡 (总数未报道)	A/turkey/England/199/79 (H7N7)
1983- 1985	宾夕法尼亚	分布在 452 个群体中的	A/chicken/Pennsylvania/1370/83 (H5N2)



	(美国)*	17,000,000 只禽类; 绝大多数为鸡和火鸡,也有一些鹧鸪和几内亚家禽	
1983	爱尔兰	死亡 800 只火鸡、捕杀 8,640 只火鸡、28,020 只鸡、270,000 只鸭	A/turkey/Ireland/1378/83 (H5N8)
1985	维多利亚 (澳大利亚)	24,000 只种鸡、27,000 只产蛋鸡、69,000 只小鸡、118,418 只未指明种类的鸡	A/chicken/Victoria/85 (H7N7)
1991	英格兰	8,000 只火鸡	A/turkey/England/50-92/91 (H5N1)
1992	维多利亚 (澳大利亚)	12,700 只嫩鸡、5,700 只鸭	A/chicken/Victoria/1/92 (H7N3)
1994	昆士兰 (澳大利亚)	22,000 只产卵期的鸡	A/chicken/Queensland/667-6/94 (H7N3)
1994-1995	墨西哥*	无法得到感染禽类的总数,捕杀了 360 个鸡群	A/chicken/Puebla/8623-607/94 (H5N2)
1994	巴基斯坦*	3,200,000 只种鸡和非种嫩鸡	A/chicken/Pakistan/447/95 (H7N3)
1997	香港 (中国)	1,400,000 只鸡和少于	A/chicken/HongKong/220/97 (H5N1)

		该数目的多种其它家禽	
1997	新南威尔士 (澳大利亚)	128,000 只种嫩鸡、 33,000 只非种嫩鸡、 261 只鹌鹑	A/chicken/New South Wales/1651/97 (H7N4)
1997	意大利	约 6,000 只鸡、火鸡、 几内亚家禽、鸭、鹌 鹑、鸽子、野、鸡	A/chicken/Italy/330/97 (H5N2)
1999- 2000	意大利*	413 家农场, 约 14,000,000 只家禽	A/turkey/Italy/99 (H7N1)
2002- 2005	东南亚*	中国、香港、印度尼 西亚、日本、柬埔寨、 老挝、马来西亚、韩 国、泰国、越南的约 150,000,000 只家禽	A/chicken/EastAsia/2003-2005 (H5N1)
2002	智利		A/chicken/Chile/2002 (H7N3)
2003	荷兰*	荷兰: 255 家农场的 30,000,000 只家禽; 比利时: 8 家农场的 3,000,000 只家禽; 德 国: 1 家农场的 80,000 只嫩鸡	A/chicken/Netherlands/2003 (H7N7)
2004	加拿大 (B.C.)*	53 个群体, 17,000,000 只鸡	A/chicken/Canada-BC/2004 (H7N3)
2004	美国 (TX)	6,600 只用于烘焙的 嫩鸡	A/chicken/USATX/2004 (H5N2)
2004	南非	23,700 只平胸鸟类、	A/ostrich/S.Africa/2004 (H5N2)

		5,000 只鸡	
--	--	----------	--

1 修改自Capua and Mutinelli, 2001

\* 爆发期间，禽流感蔓延到许多农场并导致巨大的经济损失。其它的大部分禽流感只局限于一定地区，或者没有蔓延到索引中的农场。

## 1 病毒

流感病毒是一种球形或杆状、有包膜的单股负链 RNA 病毒，基因组分为 8 个节段。流感病毒属正粘病毒科，根据核蛋白和基质蛋白抗原性的不同，分为甲型、乙型和丙型。禽流感病毒属于甲型流感病毒。最近，在流感病毒结构及复制策略方面已经发表了多篇优秀的综述（例如 Sidoronko 和 Reichl 2005）。

甲型和乙型流感病毒的主要抗原表位是跨膜糖蛋白血凝素（H 或 HA）和神经酰胺酶（N 或 NA），二者可诱导亚型特异的免疫反应，从而在各个不同的亚型内产生完全保护，而在亚型间只能产生部分交叉保护。根据这些糖蛋白抗原性的差异，目前将甲型流感病毒分为 16 个 H 亚型（H1 - H16）和 9 个 N 亚型（N1-N9）。从系统发生学角度分别对 H 和 N 基因的核苷酸序列及其编码的蛋白质序列进行了分析，所获结果也为上述分类提供了佐证 (Fouchier 2005)。

按照一般的命名规则，流感病毒的名称中应当包括流感病毒的型别、宿主种类（若是感染人则可省略此项）、分离地区、序列号和分离年份。对于甲型流感病毒，还应当以括号的形式标明血凝素和神经酰胺酶亚型。引起最近爆发的禽流感的病毒为 H5N1 亚洲谱系，其亲代毒株是从中国广东省的一只鹅体内分离到的，因此将其命名为 A/goose/Guangdong/1/96 (H5N1) (Xu 1999)；从香港第一例感染 H5N1 禽流感病毒的病人体内分离到的毒株则命名为 A/HK/156/97 (H5N1) (Claas 1998)。

血凝素镶嵌于病毒包膜内，是由 562—566 个氨基酸组成的、已被糖基化和酰基化的蛋白。其位于包膜外侧的呈刺突状的球形头部与细胞受体结合有关，该细胞受体由末端为神经氨酸衍生物的寡聚糖组成 (Watowich 1994)。神经酰胺酶是另外一个跨膜糖蛋白，具有唾液酸酶活性，并在病毒出膜时释放位于被感染细

胞表面的子代病毒。该功能不仅可以避免释放过程中病毒的聚集，而且还可能有助于病毒穿透上皮组织的粘液层以完成对细胞的吸附 (Matrosovich 2004a)。神经酰胺酶的这个特性也使其成为一个值得研究的抗病毒药物靶标 (Garman and Laver 2004)。病毒的 HA 和 NA 之间有拮抗效应，二者相互协调地发挥作用是病毒有效吸附和释放的关键 (Wagner 2002)。

甲型流感病毒通过成熟的 HA 糖蛋白三聚体附着于细胞表面，吸附分为不同的层次，此过程是通过识别受体末端不同类型的唾液酸（N-乙酰基或 N-羟乙酰基神经氨酸）、次末端与半乳糖连接的不同的糖苷键、以及细胞表面唾液酸寡聚糖内部区段的组分来完成的 (Herrler 1995, Gambaryan 2005)。不同流感病毒宿主的特定组织表达多种唾液酸寡聚糖。病毒 HA 和 NA 糖蛋白针对某一宿主的特异受体类型而做出的适应性改变，对于病毒的有效复制至关重要 (Ito 1999, Banks 2001, Matrosovich 1999+2001, Suzuki 2000, Gambaryan 2004.)。这意味着病毒经种间传播后，HA 蛋白的受体结合部位要发生形态上的变化 (Gambaryan 2006)。图 2-1 概述了甲型流感病毒受体的偏好特性。禽流感病毒普遍对 2-3 连接的唾液酸有最高的亲和力，这是因为该型唾液酸是易感宿主内源性上皮组织（肠道，肝脏）的主要受体 (Gambaryan 2005a, Kim 2005)。与此相反，人流感病毒主要对人呼吸道无纤毛上皮细胞上以 2-6 方式连接的唾液酸有较高的亲和力。这种受体的偏好性也属于种间屏障的范畴，该屏障可阻止禽流感病毒以非经口方式传播给人 (Suzuki 2000, Suzuki 2005)。然而最近发现，在人气管中存在着有纤毛的上皮细胞，该细胞带有密度较低的与禽流感受体类似的糖配体 (Matrosovitch 2004b)，而鸡的细胞中也存在低密度的人源性唾液酸受体 (Kim 2005)。这也解释了为什么人仍有感染某种禽流感病毒的可能性 (Beare and Webster 1991)。这两种类型的受体均以较高密度的形式存在于猪及鹌鹑体内，因此也使这些物种成为禽流感和人流感病毒的感染对象 (Kida 1994, Ito 1998, Scholtissek 1998, Peiris 2001, Perez 2003, Wan and Perez 2005)。

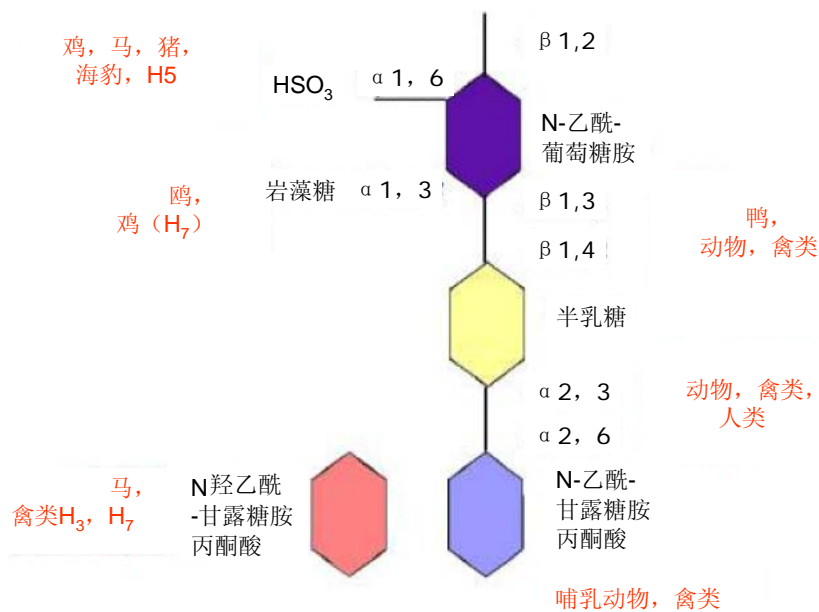


图2-1 甲型流感病毒受体偏好特性一览（数据来源于Gambaryan 2005）

一旦成功与适当受体结合，病毒颗粒就以依赖和非依赖网格蛋白的机制陷入内涵体中(Rust 2004)。病毒可以通过融合自身和内涵体-溶酶体膜来避免其在内涵体中被降解：这个过程是在 pH5.0 条件下，由质子经病毒 M2 通道的转运、M1 蛋白立体结构的重排而引发的一系列级联反应以及 HA 同源三聚体的形成来完成的。它使得每个 HA 单体高亲脂性的融合区暴露出来，这些融合区插入内涵体膜，从而启动病毒与溶酶体膜的融合(Haque 2005, Wagner 2005)。之后，病毒包被于核衣壳蛋白中（核衣壳蛋白复合体，RNP）的 8 个基因组 RNA 区段释放到胞质中。接着这些区段被转运到核内，以完成病毒 mRNA 的转录和病毒基因组 RNA 的复制，这是一个由病毒和细胞因子共同调控的复杂过程(Whittaker 1996)。RNA 依赖的 RNA 聚合酶是由病毒的 PB1、PB2 和 PA 蛋白形成的复合物，其形成依赖于衣壳化的 RNA。病毒蛋白的翻译和包被基因组 RNA 的核衣壳蛋白组装完成后，子代病毒便以出芽的方式从已插入病毒糖蛋白的细胞膜释放。病毒核衣壳蛋白与病毒包膜蛋白之间的排列是由位于包膜蛋白下壳状的病毒 M1 蛋白介导完成的。如果病毒处于最适条件，那么它在完全允许的细胞内的繁殖是一个快速（不到 10 个小时）高效的过程(Rott 1979, Neumann 2004)。

由于病毒中 RNA 依赖的 RNA 聚合酶纠错能力较低, 因此流感病毒极易发生突变, 每个复制周期内突变率高达  $5 \times 10^{-5}$ , 这意味着每个基因组在一个复制周期内就要有一个核苷酸发生突变(Drake 1993)。如果病毒在宿主体内复制的过程中选择压力(如中和抗体、受体结合处于次佳条件及化学抗病毒药物)起作用的话, 那么与之对应的有选择性优势的突变株就会被筛选出来, 并成为该宿主体内病毒准种中的优势毒株。假如 HA 和 NA 糖蛋白的抗原决定簇受免疫驱动的机制的影响, 那么这个过程就称为 *抗原漂移 (antigenic drift)* (Fergusson 2003)。

*抗原漂移 (antigenic shift)* 是指在一个复制周期内抗原决定簇突然发生重大变化的现象, 即 H 和 N 亚型发生转变。当细胞同时感染两种或两种以上不同的甲型流感病毒亚型后这种现象就会发生。由于病毒基因组区段向子代病毒的分配与每个区段的来源无关, 因此就会产生携带有不同亲代病毒遗传信息的子代病毒(即所谓的 *重组体*) (Webster and Hulse 2004, WHO 2005)。1957 年 (H2N2) 和 1968 年 (H3N2) 的流感大流行正是由人类和禽类病毒的重组引发的, 而 1918 年的西班牙流感则是由禽类流感引起的。

## 2 自然宿主

野生水鸟, 特别是雁形目(鸭和鹅)、鸥和岸禽类成员, 携带所有型别的甲型流感病毒, 因此, 它们也最有可能是甲型流感病毒的贮存宿主(Webster 1992, Fouchier 2003, Krauss 2004, Widjaja 2004)。一般认为, 所有鸟类对流感病毒都十分易感, 也发现有些家禽类如鸡、火鸡、几内亚鸡、鹌鹑和雉鸡感染病毒后均容易发病。

一般来说, 甲型禽流感病毒并不会导致自然宿主发病, 而是与宿主维持一种进化意义上的均衡状态, 这可以从分子水平上的低  $N/S$  (非同义突变比同义突变) 突变比信号反映出来, 这个突变比表明, 流感病毒的进化保持着单纯性(Gorman 1992, Taubenberger 2005)。宿主与病毒间似乎存在一种稳定的彼此耐受的平衡状态, 在临床上表现为宿主没有症状而病毒却能高效复制。每克鸟类的排泄物可携带鸡胚半数感染剂量(EID<sub>50</sub>)  $10^{8.7}$  倍的病毒。高度易感的家禽感染病毒后, 即便是野生型病毒, 都会发病。这种表型的病毒也称为低致病性禽流感, 一般来说

只会使家禽的产蛋量有暂时的小幅降低，或者使肉类家禽的体重有所下降 (Capua and Mutinelli 2001)。然而，H5 和 H7 型毒株则有可能在传播后突变为一种高致病的形式，并适应新的家禽类宿主。由于在野生鸟类体内从未观察到这种高致病形式的 H5、H7 和其它亚型的病毒 (Webster 1998)，因此有人甚至会认为这种高致病形式的禽流感病毒是人造的，并且只可能是人造病毒与自然平衡系统相互作用后造就的结果。

一旦家禽中出现高致病性禽流感病毒，它们就会平行地从家禽回传给野生禽类。野生禽类对高致病性禽流感病毒所致疾病的易感性显著依赖于鸟的种类、年龄和毒株。在亚洲谱系的 H5N1 型高致病性禽流感病毒出现之前，高致病性禽流感病毒只会偶尔感染野生禽类并且有严格的地域限制，因此，从流行病学的角度来讲，野生禽类对高致病性禽流感病毒的传播并无重要作用。然而自 2005 年初这个判断可能从根本上改变了。2005 年初，中国西北地区的青海湖自然保护区内，数千只水鸟爆发流行 H5N1 相关的高致病性禽流感。该病毒又在 2005 年进一步向欧洲传播 (OIE 2005) (图 2-2)。整个过程的细节及导致的后果在下面论述。

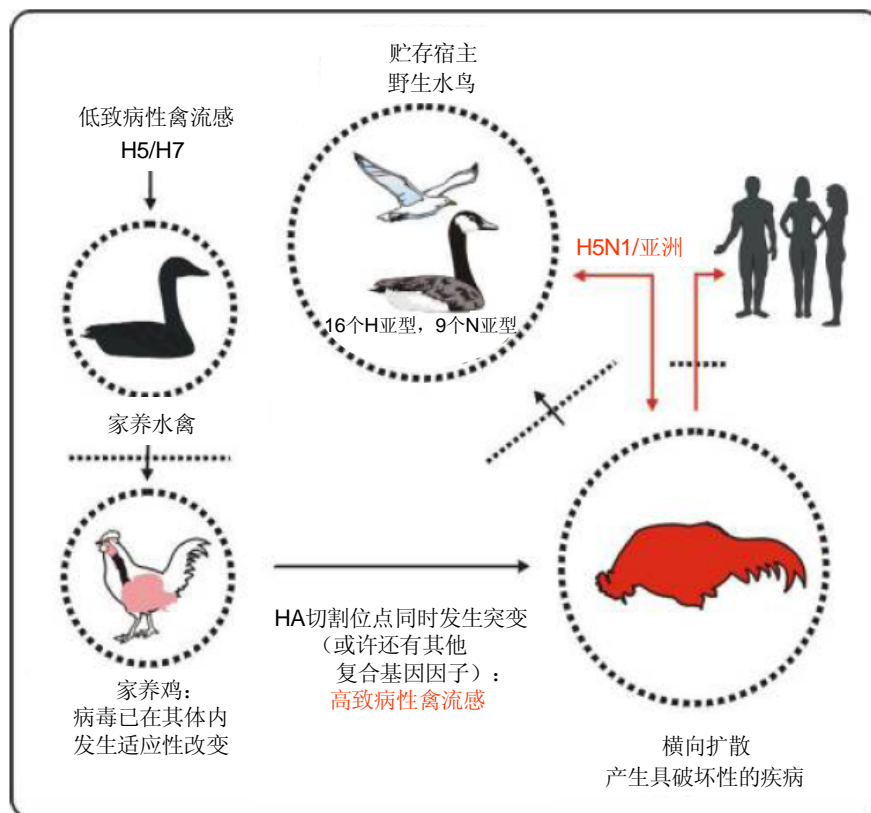


图2-2 禽流感的致病机理和流行病学

HA，血凝素蛋白；虚线和箭头表示种间屏障

### 3 高致病性禽流感的致病机理

甲型流感病毒具备病毒的一般特性,其致病力具有多基因特征且主要依赖于多个基因间的最佳相互作用。而这些相互作用影响着病毒的宿主和组织嗜性、复制效率、病毒侵入免疫系统的机制及其它方面。此外,宿主与物种特有的因素也可促发病毒感染。而当病毒形成经种间传播后,这些特有的因素也就无法预知了。迄今为止,高致病性禽流感均是由甲型流感病毒的 H5 和 H7 亚型引起的。然而,事实上仅有少数几种 H5 和 H7 的代表亚型表现出高致病性(Swayne and Suarez 2000)。通常情况下, H5 和 H7 亚型病毒以低致病性的形式稳定存在于自然宿主体内。这些病毒通过多种不同途径从贮存宿主向家禽传播。在易感家禽体内经过数轮循环感染之后(也可能是发生了适应性变异),这些病毒会以跃进的方式突变为高致病性的形式(Rohm 1995)。

核苷酸测序的研究表明,绝大多数高致病性禽流感病毒的 HA 基因具有共同的特征,而针对家禽来说,HA 正是病毒毒力的标签之一(Webster 1992, Senne 1996, Perdue 1997, Steinhauer 1999, Perdue and Suarez 2000):

甲型流感病毒必须拥有 HA 蛋白才具有感染性,该蛋白是由 HA<sub>0</sub> 前体蛋白水解后形成的以二硫键连接的 HA<sub>1-2</sub> 二聚体(Chen 1998)。新产生的 HA<sub>2</sub> 亚基的 N 末端有一个融合肽,由一个高亲脂性区域组成(Skehel 2001)。该区域在病毒包膜与溶酶体膜融合过程中至关重要,因为它负责启动病毒基因组片段进入细胞质的过程。高致病性禽流感病毒的 HA 切割位点由位于-1/-4 (H5) 和 -1/-3 (H7) 的两个碱性氨基酸组成(Wood 1993)。这些位点对组织特异性的胰岛素样蛋白酶敏感,该酶常表达于呼吸道和胃肠道上皮细胞表面。因此,人们认为高致病性禽流感病毒大多在这些部位高效复制,至少在自然宿主体内是这种情况。与此相反的是,低致病性禽流感病毒的切割位点一般还包括另外的碱性氨基酸(精氨酸或赖氨酸),这使得该位点更易被枯草杆菌蛋白酶样内切蛋白酶作用,该酶的特异作用位点的最小共有序列为-R-X-K/R-R- (Horimoto 1994, Rott 1995)。事实上,这种类型的蛋白酶(如弗林蛋白酶和前体蛋白转化酶)在全身的各个组织中都有活性。因此,携带有这些突变的病毒就可以不受限制地在全身各组织中复制。这一点也为发生过的几次禽流感所证实。例如,意大利曾先有一株 H7N1 亚型低致



病性禽流感病毒在火鸡和鸡类中流行了数月，但到 1999 年 12 月，突然出现一株 H7N1 亚型的高致病性禽流感病毒，并引发了严重的疾病，而该病毒与先前流行的病毒相比仅在切割位点上有所不同(Capua 2000)。

推测 H5 和 H7 亚型病毒编码 HA 基因的 RNA 具有不同的二级结构，这有助于病毒聚合酶参与的、被称为重复拷贝的机制，在编码 HA 蛋白内切酶中富含嘌呤的切割位点区域产生插入突变（密码子副本）(Garcia 1996, Perdue 1997)。这种突变方式连同其它突变机制，如核苷酸置换或区段内重组(Suarez 2004, Pasick 2005)，都可能会引入额外的碱性氨基酸残基。后者也为实验所证实，即用定点突变法将低致病性禽流感病毒在体内或体外连续传代后可产生高致病性禽流感病毒（Li 1990, Walker and Kawaoka 1993, Horimoto and Kawaoka 1995, Ito 2001）。相反地，通过回复突变去除多元碱性切割位点可以减弱高致病性禽流感病毒的毒力（Tian 2005）。

然而，有一些病毒株编码 HA 切割位点的核苷酸序列及其应有的表型和致病性与预测的并不一致：智利一株以片段间重组的方式产生的 H7N3 亚型 高致病性禽流感病毒，仅在-1、-4 和-6 位是碱性氨基酸残基（Suarez 2004）。H5 亚型的病毒中也有相当多这样的例子。另外，从得克萨斯州分离到的 H5N2 亚型病毒虽存在与高致病性禽流感病毒一致的切割位点序列，而在临床上则归为低致病性禽流感病毒（Lee 2005）。这些数据再次强调了流感病毒与生俱来的多基因性和复杂性。

幸运的是，高致病性禽流感病毒的爆发似乎很少见。在过去的五十年里，世界范围内报道的由高致病性禽流感病毒引发的高致病性禽流感仅有 24 次（表 2-1）。

此外，高致病性禽流感病毒可以感染哺乳动物，特别是人类。其中亚洲谱系的 H5N1 亚型的表现尤为如此(WHO 2006)。该病毒对宿主依赖的致病性已在多个动物模型中进行了研究：如小鼠(Lu 1999, Li 2005a)、雪貂(Zitzow 2002, Govorkova 2005)、短尾猴(Rimmelzwaan 2001)及猪(Choi 2005)。感染的发生依

赖于病毒株和宿主的种类。和小鼠相比，病毒对雪貂的致病性与对人的更为相似 (Maines 2005)。

许多被认为与病毒致病性相关的遗传标记定位于 H5N1 亚型病毒 Z 基因型的不同区段。其中，人们感兴趣的是病毒如何通过 NS-1 基因产物来干扰包括干扰素系统在内的宿主第一道防线的防御机制。利用反向遗传学技术进行的研究表明，一些 H5N1 亚型病毒的第 92 位含有谷氨酸的 NS-1 蛋白可以阻碍干扰素及肿瘤坏死因子- $\alpha$  发挥抗病毒作用，从而增强病毒在感染宿主体内的复制并降低宿主对病毒的清除速率 (Seo 2002+2004)。此外，NS-1 蛋白可介导宿主细胞因子网络的破坏，由此导致的变态反应可导致部分肝损伤 (Cheung 2002, Lipatov 2005)。然而，病毒自身的突变并非真正是对哺乳动物致病的必要条件 (Lipatov 2003)。因此，基因间最佳的相互作用达到一定程度后，病毒似乎才表现出对哺乳动物宿主依赖的致病特异性 (Lipatov 2004) (表 2-2)。

表 2-2 与亚洲谱系高致病性 H5N1 病毒导致哺乳动物致病性增强的相关基因位置一览

基因， 蛋白质	突变位置	所起作用	参考文献
HA	多元的 内部蛋白酶水解 位点	有利于病毒的全 身扩散和复制（家 禽，哺乳动物）	多篇不同文献
NA	茎区 19-22 个氨基 酸缺失	适于在鸡和火鸡 体内增殖（？）	Matrosovich 1999, Giannecchini 2006
PB2	627 位赖氨酸	在老鼠体内各部 位的复制增强	Hatta 2001, Shinya 2004
	701 位天门冬氨酸	对老鼠的致病性 增强	Li 2005

PB-1	13 位苯丙氨酸， 678 位的天门冬氨酸	聚合酶活性增强； 有利于早期种特异性的适应性变化过程？	Gabriel 2005
NP	319 位赖氨酸		
NS-1	92 位谷氨酸	易于逃避天然免疫反应，降低猪对病毒的清除作用	Seo 2004

#### 4 临床表现

禽流感通常有数天的潜伏期（但极少数可达 21 天）。潜伏期之后，根据分离株的特征，感染的病毒量，毒株类型及禽类育龄的不同，禽流感的临床表现多种多样，临床症状也不确定 (Elbers 2005)。因此，不可能仅根据临床表现对禽流感进行诊断。

感染低致病性禽流感病毒后，症状可能有个体差异，如羽毛褶皱，产蛋量暂时减少，体重减轻并伴随轻微的呼吸系统疾病 (Capua and Mutinelli 2001)。一些低致病性毒株，如已经适合在家禽体内高效复制的亚洲谱系 H9N1，可能会导致更为明显的症状以及更高的死亡率 (Bano 2003, Li 2005)。

感染高致病性禽流感病毒后，鸡和火鸡的患病特征为突发性、且病情严重，48 小时内病死率达 100% (Swayne and Suarez 2000)。病毒在感染种群中的传播与其饲养方式有关：放养式饲养的种群以森林中的植被为食，可能直接接触病毒并与多种动物混合生存。因此，流感在放养种群中的传播速度要快于圈养的种群，但仍需数天时间才能完全传播开来 (Capua 2000)。通常只有一部分特定的种群受到影响。许多鸟类无任何征兆地死亡，以至于开始的一段时间里，往往怀疑鸟类是因中毒而死 (Nakatami 2005)。值得注意的是，一株特定的高致病性禽流感病毒可能只诱发一种禽类产生严重的疾病：1997 年在香港的活禽市场经历毁灭性的打击前，20% 的鸡体内存有 H5N1 高致病性禽流感病毒，但仅有 2.5% 的鸭和鹅体内存在该病毒。而其它所有的鸡形目，燕雀目和鸚鵡目物种体内的病毒检测结果均呈阴性，而且实际上也只有鸡最终发病 (Shortridge 1998)。

在工业化的家禽养殖基地内，家禽的饮水及进食量在逐渐减少后又突然增加，产蛋期的家禽停止产蛋，可作为其发生系统性疾病的征兆。感染了高致病性禽流感病毒的鸟类常表现为反应呆滞和行动迟缓，还可能会出现诸如头部无羽毛部位发生浮肿，鸟冠、下颚垂肉和腿部发紫，绿色水样便及呼吸困难等症状。产蛋期的禽类起初会产外壳变软的蛋，但随着病情的发展，产蛋会迅速停止。而对该病毒欠敏感的禽类如鸭、鹅及行禽类的症状主要表现在神经系统，包括震颤、姿势反常（斜颈）和行动协调方面出现问题（运动失调）。在 1979 年德国爆发的一次高致病性禽流感期间，鹅会不自主的在池塘内游成一个窄圈。这些鹅也成为第一个显著的并最终导致人们怀疑其患高致病性禽流感的诸多征兆之一。

人患禽流感后的临床表现将在‘人流感的临床表现’一章中详细讨论。

## 5 病理学

### 5.1 低致病性禽流感（LPAI）

该病对机体的损伤因毒株及宿主的年龄和种类不同而改变。一般来讲，只有火鸡和鸡表现出大体和微观上的病理损伤，特别是那些已经适应宿主的病毒导致的机体损伤更是如此(Capua and Mutinelli 2001)。感染后的火鸡可检测到鼻窦炎，气管炎及肺泡炎，虽然细菌的二次感染也有助于这些炎症的产生。有报道火鸡还可患胰腺炎。而鸡类感染后最常见的症状是呼吸道产生轻微损伤。此外，损伤也集中于生殖器官的表层（卵巢，输卵管，卵黄性腹膜炎）。

### 5.2 高致病性禽流感（HPAI）

高致病性禽流感导致的机体病理学改变与临床表现相一致。目前，将病理学上的改变暂时分为四类(Perkins and Swayne 2003)：

(i) 过急性（机体在感染后 24-36 小时内死亡，常见于一些鸡形目的物种）和急性疾病没有大体病理学的改变，已报告的症状包括如下几个方面：离散分布的心包积水，轻微的肠内出血以及偶尔出现的小肠系膜和心包浆膜淤血(Mutinelli 2003a, Jones and Swayne 2004)。感染了亚洲谱系 H5N1 病毒的鸡

有时会出现痔斑，气管中积存大量粘液(Elbers 2004)，也可能出现体腔渗出液及肺水肿。过去教科书中经常描述的胃粘膜微出血仅见于感染了 H5N1 亚型病毒的家禽中(Elbers 2004)。在全身不同的组织中均可见各种组织学损伤(Mo 1997)，并可检测到病毒抗原。病毒最先出现于上皮细胞，之后在心肌层，肾上腺和胰腺中可观察到病毒感染的细胞。神经细胞及脑神经胶质细胞也可被病毒感染。就发病机理讲，流感病毒的发病过程可能类似于内皮细胞倾向性病毒，在这个过程中，激活的内皮细胞和白细胞可导致细胞因子释放出现系统性紊乱，从而更易导致心肺组织或多器官衰竭(Feldmann 2000, Klenk 2005)。

(ii) 在病症迟发型和病程延长的动物中，常见的病症为神经系统疾病和组织学上的非化脓性脑损伤。然而，从其它器官中也可分离到病毒(Perkins and Swayne 2002a, Kwon 2005)。该病症已见于经实验室感染亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒的鹅，鸭，鹌鹑及其它物种。而产卵期鸟类出现的症状为卵巢和输卵管炎症及随后出现的卵泡破裂，也称卵黄念珠性腹膜炎。

(iii) 研究发现，病毒在鸭、鹅和家雀体内的复制受到限制。这些鸟类只表现出症状轻微的间质性肺炎、肺泡炎，也会偶发淋巴细胞和组织细胞心肌炎(Perkins and Swayne 2002a, 2003)。

(iv) Perkins and Swayne 进行的实验发现，鸽子和椋鸟可抵抗 H5N1 的感染。然而，Werner 等(将发表)用最近分离到的 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒感染鸽子后，可诱发 16 只中的 5 只鸽子出现因非化脓性脑炎引发的延迟性神经疾病(Klopfleisch 2006)。

## 6 鉴别诊断

在高致病性禽流感的鉴别诊断过程中一定要考虑到以下疾病，因为它们可导致突发性疾病的发生并伴有高病死率或鸡冠和肉垂充血：

- 新城疫（禽类流感样病毒病）
- 传染性喉气管炎（鸡）
- 鸭瘟

- 急性中毒
- 急性禽霍乱及其它败血病
- 细菌性鸡冠和肉垂的蜂窝组织炎

几种亚急性的高致病性禽流感在临床上更容易混淆。因此，快速的实验室诊断对如何进一步采取措施至关重要 (Elbers 2005)。

## 7 实验室诊断

### 7.1 标本采集

应当从新鲜尸体和发病的鸟群中采集标本。理论上讲，足量的标本才具有统计学意义，而且诊断应建立在群体基础上。在采集疑似患高致病性禽流感的鸟标本时，必须遵循安全可靠的标准以避免采集人员接触到可能感染人类的高致病性禽流感病毒 (Bridges 2002)。CDC 已提出了采集标本的指导方针 (CDC 2005)。

在病毒学分析中，从排泄腔和口腔中获得的拭取物一般要考虑到实验室研究的可靠性。拭取物应当与 2-3 ml 无菌并含有抗生素和蛋白（例如，0.5%~ 10% 的牛血清白蛋白或脑心浸液）的等渗运送培养液混合。

尸检应当在安全条件下进行，以避免禽流感的传播。在此过程中用采集到的脑、气管/肺、脾脏及肠内含物标本来分离病毒。

若进行血清学检验，还应采集原始血清样本。采集的样本数应当满足参数为患病率 30%、可信区间 95% 的统计学检验的要求。

### 7.2 标本的运输

拭取物、组织及血液应当冷藏运输。若运送时间超过 48 小时，这些标本应当冷冻并与干冰一起运输。任何情况下都应当严格遵守运送安全规程（例如 IATA 规程）以避免流感的传播及在运输过程中对运送人员造成意外感染。运送标本之前，最好在采集标本之前，就应当与指定的诊断实验室取得联系。

### 7.3 诊断程序

### 7.3.1 禽流感病毒感染的直接检测

为了(i)用经典方法分离病毒并对病毒进行分类(见2005年OIE操作手册)及(ii)在分子水平上对病毒基因组进行检测并阐明其特征,基本上采取两种平行的诊断措施。

(i)分离禽流感病毒的常规方法是将拭取物或组织匀浆接种于9-11日龄的鸡胚,接种常采用绒毛尿囊腔途径(Woolcock 2001)。根据病毒类型的不同,鸡胚在5天的观察期内可能存活也可能死亡,鸡胚或尿囊膜也无特征性的损伤(Mutinelli 2003b)。而接种了高致病性禽流感病毒的鸡胚通常在48小时内死亡。在收集的尿囊液中可以检测到促血细胞凝集因子。血球凝集试验(HA)的敏感度低,该试验要求每毫升液体中至少含有 $10^{6.0}$ 个病毒颗粒。对于一些低致病性禽流感病毒来说,如果接种物中病毒含量低,则应将其在鸡胚中连续传代两次,以达到HA所需的病毒含量。如果是高致病性禽流感病毒,用稀释后的接种物进行第二次传代有利于得到最佳的血球凝集试验结果。

用抗16个H亚型(单抗)特异的抗血清进行的血球凝集抑制试验,可以对有促血细胞凝集作用的病毒分离物进行相关抗原性鉴定,在此实验中,由于禽副粘病毒也有血球凝集的活性,因此试验需设禽副粘病毒的抗血清对照。然后,用亚型特异的血清进行NA抑制实验以确定病毒的NA亚型(Aymard 2003)。如果分离到的是H5和H7亚型病毒,还需确定其静脉致病指数以将其分为低致病或高致病生物型(Allan 1977)。该指数可以通过将鸡胚培养的病毒静脉接种于10只6周龄的鸡来测定(尿囊液经10倍系列稀释后,每只鸡接种0.1ml的稀释液,其中尿囊液中HA的滴度应大于1/16)。接种后,观察鸡的临床症状10天以上。统计分析结果,根据公式计算所得的指数值若大于1.2,则表明是高致病性禽流感病毒。还可选另外一种鉴定方法,即当接种后的10只鸡中有7只在观察期内死亡,则表明分离到的是高致病性禽流感病毒。

上述经典的操作规程在5天内就可完成对高致病性禽流感病毒的诊断,但需要2周以上的时间才能排除禽流感病毒的存在。此外,高质量的诊断试剂(无特定病原体的鸡胚,H和N亚型特异的抗血清)和技术娴熟的实验人员也是完成病

毒诊断的必要条件。目前，细胞培养在分离禽流感病毒方面的敏感度还无法与鸡胚培养相比(Seo 2001)。

一种更为快速的诊断方法是采用分子生物学技术，特别在需要排除感染时尤为适用。该方法也应当遵循一系列具有先后次序的操作规程：首先通过反转录多聚酶链式反应(RT-PCR)检测是否存在甲型流感病毒特异的RNA，其靶标是流感病毒基因组中最保守的M基因(Fouchier 2000, Spackman 2002)，或者是核衣壳蛋白基因(Dybkaer 2004)。当获得阳性结果后，再通过RT-PCR扩增H5和H7亚型病毒的HA基因来检测是否甲型流感病毒(Dybkaer 2004, Spackman 2002)。若结果也为阳性，就可以在形成蛋白酶切割位点的HA基因测序完成后，进行分子水平的致病性诊断(低致病性还是高致病性)。含有多个碱性氨基酸的分离株为高致病性禽流感病毒。多种PCR方法和其它DNA检测技术被用来检测亚洲谱系的H5N1亚型流感病毒(Collins 2002, Payungporn 2004, Ng 2005)。通过规范的RT-PCR和后续对HA-2亚单位的序列分析可以完成对非H5/H7亚型病毒的鉴定(Phipps 2004)。每个NA亚型也有其特异引物。病毒特征的全部鉴定可能需要3天时间，特别是采用实时PCR技术后(Perdue 2003, Lee and Suarez 2004)。然而，正在发展的DNA芯片技术将使禽流感病毒的定型工作进一步简化(Li 2001, Kessler 2005)。排除诊断可能在1个工作日内完成。

分子诊断学的缺点是需缴付购买仪器及消耗品所需的费用，尽管如此，如果可能的话，该方法可以用比鸡胚分离病毒更少的人力和更短的时间来完成对大量标本的分析。然而应当注意的是，与鸡胚分离病法相比，每个PCR或杂交反应有其自身的不准确性，这是由于引物或探针与病毒基因组结合位点可能存在特异性突变，从而造成假阴性结果。

因此，将分子水平的方法(如用于筛选)和经典的方法(如对分离的病毒作最终的特征鉴定及指示病例诊断的确证)结合使用，可能有助于互相弥补这两种方法的不足。

采用免疫荧光法、酶联免疫吸附试验(ELISA)和扩散试验(dip-stick lateral flow)可以快速检测组织压印片和冷冻切片中的病毒抗原。目前，这些



技术都没有病毒分离法和 PCR 法的敏感性高，因此，其结果可能很难在指征病例的诊断中得到认可 (Davison 1998, Selleck 2003, Cattoli 2004)。上述方法在兽医领域内还是刚刚起步，需要不断发展。

### 7.3.2 禽流感病毒感染的间接检测

对种群基础的血清学检测适用于筛查目的 (Beck 2003)。而对于检测鸟类血清或产卵期鸟类卵黄中的禽流感病毒特异性抗体来说，用标准的亚型抗原进行血凝抑制试验仍旧是金标准。还可以用琼脂糖凝胶免疫沉淀试验和酶联免疫吸附试验来检测抗病毒核衣壳蛋白的组特异性抗体（流感病毒A型）(Meulemans 1987, Snyder 1985, Jin 2004)。竞争性ELISA方法无需利用种特异性抗体结合物就可检测所有鸟类的血清标本 (Shafer 1998, Zhou 1998)。目前，已报道了一种检测H7特异性抗体的ELISA方法，但还没有类似的方法用于检测禽类血清中的H5特异性抗体。

亚型特异性抗体的动力学依赖毒株的特性，而且主要依赖于宿主种类。对于鸡类，接触病毒后的第二周即可检测到甲型流感病毒特异性抗体，而卵黄中的抗体则延缓几天后出现 (Beck 2003)。鸭科动物体内抗体的产生和检出变化更大 (Suarez and Shultz-Cherry 2000)。

## 8 传播

### 8.1 禽类之间的传播

低致病性禽流感病毒一般在野生水鸟中形成稳定的循环 (Webster 1992)。禽类之间的感染循环依赖粪-口传播链。除宿主间直接传播外，通过含有病毒的水体和污染物的间接传播也是病毒传播的一条重要途径。这与哺乳动物（人类、猪和马）中流感病毒的感染不同，后者主要以气溶胶的方式传播。鸟类排泄物中，最高病毒滴度可达每克粪便含  $10^{8.7}$  鸡胚半数感染剂量 (EID<sub>50</sub>) 的病毒 (Webster 1978)，而平均滴度将很低。虽然禽流感病毒的生态学特征较为脆弱 (Stallknecht 1990a+b, Lu 2003)，但在环境中，特别是在水表仍具有惊人的维持其传染的能力。悬浮于水中的病毒在 17° C 时，传染性能保持 100 天以上。在 -50° C 以下

病毒可无限期的保存。Ito 等（1995）和 Okazaki 等（2000）提供的数据表明，古北区的禽流感病毒在冬天无自然宿主迁移的情况下仍能够在结冰的湖水中保存。当禽类在春天返回繁殖后代时，这些禽类及其后代（易感）就会被融化的水中偶尔释放出的病毒再次感染。根据以上的病毒传播方式得出如下假设：流感病毒可以在冰冻的环境中长时间存活 (Smith 2004)。因此，古老的病毒及其基因型也可能会从这种储存库中释放而再次流行开来 (Rogers 2004)。

低致病性禽流感病毒的 H5 和 H7 亚型病毒感染易感禽类是随后一系列感染发生的基础，这可能导致其重新发展为高致病性禽流感病毒。当家禽自由游荡并与野生禽类共用水源，或者食用已被感染的野生禽类污染的水或食物，病毒就极有可能由野生禽类传播给家禽 (Capua 2003, Henzler 2003)。通过直接接触分泌病毒的动物及其分泌物，或者接触被含有病毒的物质污染的载体，禽类就会被感染。一旦家禽受到感染，机体就会分泌足够量的高致病性禽流感病毒，以确保其在一种家禽内及各种家禽间持久的水平传播。在此之前，该病毒可能适合也可能不适合被感染的家禽。一旦低致病性禽流感病毒转变为高致病性禽流感病毒，后者也会以相同的方式传播。在被称为“湿漉漉”的市场内，出售的活禽处在密集拥挤的情况下，这会成倍增加病毒传播的机会 (Shortridge 1998, Bulaga 2003)。

生物安全措施的目的是将大量的家禽隔离以避免其接触病毒，该方法可有效阻止病毒通过机械工具在农场间传播，这些机械工具包括被污染的设备，运输工具，饲料，笼子或特殊面料的鞋。对 1999/2000 年间意大利爆发流行的高致病性禽流感的分析表明，如下情形存在引发病毒传播的危险：被感染的禽类迁移(1%)，运送禽类到屠宰场途中的接触 (8.5%)，被感染动物周围半径为 1 公里范围内的区域 (26.2%)，运送饲料、寝具或动物尸体的卡车 (21.3%)，其它通过交换农场人员和机器等而发生的间接接触 (9.4%)。意大利爆发的这次禽流感过程中没有病毒以空气形式传播的迹象。然而，在荷兰 (2003) 和加拿大 (2004) 爆发的禽流感过程中，病毒是经空气传播的 (Landman and Schrier 2004, Lees 2004)。活的传播媒介如啮齿类和蝇类可能是机械载体，但其自身不会被禽流感病毒感染，它们在病毒传播过程中的作用也未阐明，但可以肯定这些不是病毒传播的主要因素。

在亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒出现之前，高致病性禽流感病毒不大可能会由家禽再次回传而感染野生禽类。然而在 2005 年 4 月，中国西北地区的青海湖出现了亚洲谱系 H5N1 病毒相关疾病，该病致使数千只斑头雁和其它迁徙的鸭类、鸬鹚和海鸥发生感染 (Chen 2005, Liu 2005)。因此，在今后的预防概念中必须考虑到由野生禽类介导的亚洲谱系 H5N1 病毒的传播 (讨论如下)。

自 2003 年末，亚洲出现了一些 H5N1 病毒，该病毒对鸡类有高致病性，对鸭类并不致病 (Sturm-Ramirez 2005)。用这些分离的病毒株进行实验性感染，通过基因分析和在细胞中形成空斑的能力测定，揭示这些病毒株是一种异源病毒混合物 (Hulse Post 2005)。感染了这些病毒并存活下来的鸭类在第 17 天分泌出一种病毒，该病毒已经丧失了对鸭类的致病性。用临床征兆来对 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒进行初筛时，鸭类可能成为该病毒的“特洛伊木马” (Webster 2006)。

## 8.2 向人类的传播

禽流感病毒传播给人类并导致机体出现明显临床疾病的事件比较罕见。例如东南亚地区数百万人有接触 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒的潜在危险，实际记录的感染人数虽然在过去几年里稳定增长，但总量还是相对较低的。  
([http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/en))

1997 年在香港首次发现亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒可诱发人类产生呼吸道疾病，当时 18 例感染者中有 6 例死亡。从流行病学的角度看，这些病例与活禽市场爆发的高致病性 H5N1 病毒有关 (Yuen 1998, Claas 1998, Katz 1999)。与感染的活禽或被粪便严重污染的物体和水面有密切接触的人，感染禽类中 H5N1 病毒的危险性最大。实际上在禽类的屠宰、拔毛及烹饪过程中也有接触病毒的危险 ([http://www.who.int/csr/don/2005\\_08\\_18/en/](http://www.who.int/csr/don/2005_08_18/en/))。禽类尸体中的所有组织 (包括禽肉)，均可发现亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒。在这样的一些事例报告中，还有一个人在宰杀并烹饪一只病鸡后得病死亡，而其家庭成员吃过熟禽肉后却安然无恙 ([http://www.who.int/csr/don/2005\\_10\\_13/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2005_10_13/en/index.html)) (表 2-3)。

表 2-3 人类感染禽流感病毒的资料*					
日期	国家/地区	病毒株	病例（死亡数）	症状	来源
1959	美国	H7N7**	1	呼吸道疾病	国外游客
1995	英国	H7N7	1	结膜炎	宠物鸭（与候鸟同处一湖）
1997	香港	H5N1**	18（6）	呼吸道疾病/肺炎	家禽
1998	中国(广东)	H9N2	5	未知	未知
1999	香港	H9N2	2	呼吸道疾病	家禽；未知
2003（1月）	香港	H5N1**	2（1）	呼吸道疾病	未知
2003（3月）	荷兰	H7N7**	89（1）	结膜炎（肺炎，死者出现呼吸系统机能不全症状）	家禽
2003（12月）	香港	H9N2	1	呼吸道疾病	未知
2003	纽约	H7N2	1	呼吸道疾病	未知
2004	越南	H5N1**	3（3）	呼吸道疾病	家禽
2004	越南	H5N1**	29（20）	呼吸道疾病	家禽
2004	泰国	H5N1**	17（12）	呼吸道疾病	家禽
2005	加拿大	H7N3**	2	呼吸道疾病	家禽
2005	越南	H5N1**	61（19）	呼吸道疾病	家禽
2005	泰国	H5N1**	5（2）	呼吸道疾病	家禽
2005	中国	H5N1**	7（3）	呼吸道疾病	家禽
2005	柬埔寨	H5N1**	4（4）	呼吸道疾病	家禽

2005	印度尼西亚	H5N1**	16 (11)	呼吸道疾病	家禽
2006	土耳其	H5N1**	3 (3)	呼吸道疾病	家禽

\* 来源：禽流感 - 世界大流行威胁的评估。世界卫生组织，[http://www.who.int/csr/disease/influenza/WHO\\_CDS\\_2005\\_29/en/](http://www.who.int/csr/disease/influenza/WHO_CDS_2005_29/en/)，访问于2006年1月6日。

\*\* 对家禽有高致病性

1999年香港 SAR 地区有两名儿童感染 H9N2 毒株后出现轻微的类似感冒的症状，2003年12月中旬，该地区的另一名儿童也出现相似的情况 (Saito 2001, Butt 2005)。在那段时期，H9N2 病毒在禽类中流行，导致高度易感的禽类如火鸡和家鸡出现严重的症状并大量死亡。

目前，还没有证据表明经过正确烹饪的禽肉或禽产品是人类感染亚洲谱系 H5N1 的来源。按照一般的规则，世界卫生组织推荐禽肉应彻底做熟，这样禽肉内部的各个部分就可达到 70° C。流感病毒在这个温度下即可灭活，因此，经过这种方式处理的被 H5N1 病毒污染的禽肉就可安全地食用 (WHO 2005)。

### 8.3 向其它哺乳动物的传播

在一些适宜的情况下，禽流感病毒可传播给不同种类的哺乳动物。此时，病毒经过几轮复制和适应性改变后成为新的流行毒株。特别指出的是，猪常常参与这种“组间易位”的过程。欧洲猪群中主要流行的是类似禽流感 H1N1 的病毒 (Heinen 2002)，一种人-禽重排病毒 H1N2 于 1992 年在英国首次分离到，其流行区域正在不断扩大 (Brown 1998)。在美国流行的则是由经典的 H1N1、人类的 H3N2 和禽类的亚型病毒重新组合形成的三联重排病毒 (H3N2)。在猪群体内还发现其它可能来源于禽类的亚型病毒 (如 H1N7, H4N6) (Brown 1997, Karasin 2000)。在中国东部的猪群中度流行的是禽源 H9N2 病毒 (Xu 2004)。除猪以外，在海洋哺乳动物和马的体内也发现过禽源的甲型流感病毒 (Guo 1992, Ito 1999)。

在泰国，一家动物园内的老虎及其它大型猫科动物因食用含有病毒的死鸡后发生了 H5N1 的自然感染 (Keawcharoen 2004, Quirk 2004, Amosin 2005)。随后

这些动物出现严重的病症并大量死亡。就在这家动物园内，还发现了病毒可在猫科动物间传播(Thanawongnuwech 2005)。这是有关流感病毒感染猫科动物的首次报道。实验发现，家养的欧洲短发猫也可被 H5N1 病毒感染(Kuiken 2004)。

2004 年，为了寻找接触 H5N1 流感病毒的证据，对越南 3000 份户外散养的猪血清样本进行了检测(Choi 2005)。病毒中和试验和 Western blot 分析的结果表明只有 0.25% 的样品血清学阳性。实验发现，2004 年在亚洲人和禽类体内分离到的 H5N1 病毒能够感染猪。感染后的 4 天，观察到猪有轻微咳嗽和体温升高的症状。至少到 6 天才可在上呼吸道组织中分离到病毒。鼻拭取物中病毒的滴度在感染后的第 2 天达到高峰，但经实验室感染的动物没有将病毒传播给与其发生接触的猪。亚洲流行的具有高致死率的 H5N1 病毒似乎能够在自然状况下感染猪。然而发生这种感染的几率很低。在实验条件下禽类和人类 H5N1 病毒均不会在猪群之间传播(Choi 2005)。从这些观察的结果来看，目前猪群在亚洲谱系 H5N1 病毒的流行中并不起重要作用。

2003 年，在荷兰、比利时和德国的禽类中爆发了一次高致病性 H7N7 禽流感。这次禽流感导致与感染动物及其尸体接触的 89 名禽类工人发生感染，并出现了轻微病症，其中大部分人患有结膜炎(Koopmans 2004)。一名兽医感染后出现急性呼吸窘迫症并最终死亡(Fouchier 2004)。此外在荷兰的禽流感爆发期间，用病毒学和血清学方法确定了在一些家庭接触中感染的是 H7N7 型病毒，其中 4 人患有结膜炎(Du Ry van Beest Holle 2005)。有报道指出，在意大利和日本，H9、H7 和 H5 亚型低致病性禽流感病毒在适宜的情况下也可感染人(Zhou 1996, Puzelli 2005, Promed 20060110.0090)。

在一则无法验证的报道中提到(Promed Mail 20050826)，越南一家自然公园 3 只珍稀的灵猫中 1 只因感染 H5N1 病毒而死亡。感染来源不明。而就在相邻笼内的另外 20 只同种灵猫却没有发病。

在香港的活禽市场 20% 的鸡亚洲谱系 H5N1 流感病毒阳性，却从未在活禽市场的鼠类、兔子和其它不同的哺乳动物体内检测到该病毒(Shortridge 1998)。

## 9 流行病学

## 9.1 家禽

2003 年底之前，高致病性禽流感被认为是禽类罕见的疾病。自 1959 年以来，世界范围内爆发的禽流感也仅有 24 次（见表 2.1）。其中大部分发生于欧洲和美洲。爆发的绝大多数禽流感局限在一定地区内，只有 5 次导致在多个农场中扩散，而国际间的流行也仅有一次。已爆发的禽流感均未达到 2004 年亚洲爆发的 H5N1 禽流感的规模(WHO 2004/03/02)。迄今为止，爆发的所有高致病性禽流感都是由 H5 和 H7 亚型流感病毒引起的。

在过去爆发的禽流感当中，非法贸易或非法运送已被感染的活禽或未经加工的禽类产品，以及通过人类迁徙活动（旅行者、难民等）造成与病毒无意识的接触，是导致高致病性禽流感病毒扩散的主要因素。

2003 年末一种新的高致病性禽流感爆发模式被证实。从 2003 年 12 月中旬到 2004 年 2 月早期，韩国、越南、日本、泰国、柬埔寨、老挝、印度尼西亚及中国都发生了由亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒引发的禽流感。这种几个国家同时爆发如此大规模的高致病性禽流感的情形是从未有过的。遏制疾病的所有努力都已失败。目前认为，尽管已经捕杀了大约 1.5 亿只禽类，但在印度尼西亚和越南的许多地区及柬埔寨、中国、泰国的一些地区、可能也包括老挝，H5N1 已经流行开来。

引发这次禽流感的病毒最初于 1997 年被发现，该病毒是若干病毒发生重组后的重配株，其中至少包括源于家鹅的 H5N1 病毒（A/goose/Guangdong/1/96，提供 HA）和可能源于鸭的 H6N1 病毒（A/teal/Hong Kong/W312/97，提供 NA 及内部蛋白），二者再与其它未知的禽流感病毒进行多个循环的重配(Xu 1999, Hoffmann 2000, Guan 2002b)。目前还发现了几株 H5N1 谱系的不同基因型的病毒(Caughen 2000, Guan 2002a+2003)。2003 年 12 月以来，引发禽流感爆发的禽流感病毒主要是“Z”基因型(Li 2004)。

2005 年 4 月，禽流感在动物中的流行达到了另一个水平。当时，H5N1 毒株首次大范围地感染野生禽类(Chen 2005, Liu 2005)。在中国西北的青海湖，数千只迁徙的斑头雁及这个地区的数种鸥类和鸬鹚均发生了感染。2005 年夏季和

初秋，临近的蒙古、哈萨克斯坦和西伯利亚南部首次爆发 H5N1 型禽流感，怀疑这是由鸟类迁徙造成病毒传播而引发的。2005 年末，沿着整个禽类迁徙路线从亚洲内陆到中东和非洲，直达土耳其、罗马尼亚、克罗地亚半岛都爆发了禽流感。上述爆发的禽流感地区（除蒙古和克罗地亚），家禽和野生水鸟都被感染。家禽中的指征病例经常出现在野生水鸟栖息的湖泊和沼泽附近。这似乎表明水鸟的迁徙导致了病毒的传播。但应当注意的是，到目前为止，只在濒死和死亡的水鸟体内检测到亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒。水鸟中 H5N1 的真实情形以及其在感染传播中所起的作用仍然是个谜。目前，还只是推测，孵育期间的野生水鸟可能携带病毒长距离迁徙，或者某些感染了 H5N1 病毒的动物仍然能够活动。

但与此同时，中国的研究已经揭示，麻雀体内存在更多亚洲谱系 H5N1 病毒的新基因型(Kou 2005)。能从体内分离到病毒的麻雀和实验感染这些病毒的鸭子均未出现任何病症。然而鸡一旦感染病毒，就会引发全面的高致病性禽流感。由于同一种群的不同麻雀携带着若干不同基因型的病毒，而这些病毒可能是由来源不明的不同禽流感病毒发生重配后产生的。由此推测，在一段时间（数月）之前类似 H5N1 的病毒就已传播给这些鸟类了。这些数据表明了另外一条导致禽流感形势恶化的途径：麻雀因其生活习惯而成为野生禽类和家禽之间的理想媒介，并且可能在这些动物种群中来回传输高致病性禽流感病毒。泰国和香港也报道，个别麻雀（发病或死亡）发生 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒的局限性感染。燕雀类的鸟如麻雀、棕鸟或燕子的居住场所与人的居住区密切相连，高致病性禽流感病毒在这些鸟群中的流行不仅给当地家禽业带来巨大压力，也会增加人类暴露病毒的危险(Nestorowicz 1987)。

## 9.2 人类

截止 2005 年 12 月 30 日，已报告人感染 H5N1 病毒 142 例。该病在人间的流行目前限于柬埔寨、印度尼西亚、泰国和流行最重的越南（65.5%的病例在越南），其中死亡 72 例（占总感染人数的 50.7%）。

更多详细资料见“流行病学”一章。

## 10 经济后果



就整体而言，高致病性禽流感的爆发对个体农户及感染地区的家禽养殖业都是灾难性的打击（见表 2-1）。经济损失中通常部分是由患了高致病性禽流感的家禽直接死亡造成的。为阻止疾病蔓延而采取的措施也需要大笔开销。发展中国家的营养水平同样会遭到破坏，因为家禽是这些国家一个重要的动物蛋白来源。禽流感一旦爆发便会广泛传播，很难控制，也许要用几年时间（WHO/2004/01/22）。

## 11 控制高致病性禽流感的措施

高致病性禽流感可能会对经济造成毁灭性的影响，所以世界各国政府对高致病性禽流感均高度关注并制定了严格的法律（Pearson 2003, OIE Terrestrial Animal Health Code 2005）。应对高致病禽流感采取的措施需依据感染地区高致病性禽流感的流行情况而定。在欧盟（EU），高致病性禽流感不是地方性流行病，一般禁止预防接种禽流感疫苗。因此，由于临床病症是毁灭性的，人们预料家禽中爆发高致病性禽流感所造成的影响极其严重。结果，当面临这样的禽流感爆发时就应采取强力的控制措施，如销毁一切被病毒感染和与病毒接触的禽类与物品，目的是直接根除高致病性禽流感病毒并且遏制其爆发。

为达到这些目的，各个国家在出现禽流感指征病例的地区周围建立起半径不同的控制和监测区（欧盟各国制定的半径 3~10 千米不等）。为防止疫情向其它农场进一步扩散而采取的标准控制措施是对受感染及接触了病毒的农场进行检疫、迅速捕杀所有被感染和接触了病毒的禽类并妥善的处置禽类尸体（OIE - 陆生动物健康法）。在疫情爆发期间，对国内和国家间的活禽及禽类产品运输要进行严格的限制。

此外，为降低动物体内低致病性病毒发展成为高致病性禽流感病毒的危险，非流行地区应该通过检测并捕杀发生急性感染的动物来控制禽类中低致病性 H5 和 H7 亚型禽流感病毒。

在一些家禽高密度聚集饲养（Marangon 2004, Stegemann 2004, Mannelli 2005）和小院散养占优势（Witt and Malone 2005）的地区，这种根除的理念可能会产生特殊问题。由于家禽聚集地相互靠得很近且养殖场的结构交叉缠绕，疾病传播速度要快于采取的扑杀措施。因此，在 1999/2000 年意大利爆发的禽流感中，

不但捕杀了所有被感染和与病毒接触的禽类，而且捕杀了发生感染的农场周围半径 1 千米以内所有被感染危险的禽类。然而，根除工作用了 4 个月时间，捕杀了 1300 万只禽类(Capua 2003)。2003 年荷兰和 2004 年加拿大爆发的禽流感，在高致病性禽流感病毒成功消除后，还在受感染农场周围半径一至数千米的范围内建立了无任何家禽的缓冲区。由于疾病本身及采取的扑杀措施，使这两个国家分别损失了 3000 万和 1900 万只家禽。1997 年，香港政府在三天内扑杀了该地区的全部家禽（12 月 29、30、31 日，120 万只家禽）。这种旨在迅速根除高致病性禽流感病毒的措施是以扑杀未感染动物为代价的，这种措施可能适宜于商业化的农场和城市环境。然而，这将对家禽业造成巨大打击，而且捕杀缓冲区内健康、未被感染的动物的行为也会引发公众伦理方面的关注。

上述这些措施在以传统方式饲养家禽的农村地区难以实行。这些地区的鸡和鸭可自由的四处游荡，并与野生禽类混杂在一起或共用水源。此外，家鸭还会吸引野生鸭类，这也为病毒在野生禽类和家禽间的传播提供了一条重要途径(WHO 2005)。这些环境条件可能为高致病性禽流感病毒的流行提供了场所。

高致病性禽流感在一个地区的流行会给当地的家禽养殖带来持久的压力。如果对一个国家的家禽业造成致命的毁坏，或者导致发展中国家肉类蛋白的供应发生严重短缺，上述提及的措施就不能在长时间内得到支持，因此还必须考虑其它措施。

在这些情况下，接种疫苗已被广泛应用，它可能成为非流行区根除疫情爆发的辅助手段。

## 12 疫苗接种

在兽医界接种疫苗有以下 4 个目的：（i）防止动物得病，（ii）防止强毒性病毒感染，（iii）防止动物分泌病毒，（iv）接种疫苗动物感染的血清学鉴别（也称 DIVA 原理）。

在流感疫苗接种领域，目前既没有商品化的也没有经过试验检测能满足上述全部需要的疫苗(Lee and Suarez 2005)。绝大多数的疫苗可以保护动物免于由

高致病性禽流感病毒感染引发的临床疾病。虽然接种疫苗的动物感染强毒性野病毒或分泌强毒性病毒的危险通常会降低，但无法完全避免。这就可能在已彻底完成疫苗接种的流行区内引起一个重要的流行病学问题：在疫苗的“保护作用下”，表现健康的疫苗接种禽类有可能再感染并分泌野病毒。减少病毒分泌的效果对于根除强毒性野病毒的主要目标是很重要的。这种效果可以通过复制因子  $r_0$  来量化。假设一个经免疫后被感染的禽群死于感染的数量少于其它的禽群 ( $r_0 < 1$ )，那么从数学角度讲就易于消灭这种强毒性病毒 (van der Goot 2005)。当接种疫苗以防止禽类感染动物致病的 H5N1 病毒时，减少病毒的分泌量也可降低病毒感染人类的危险，因为穿过禽—人种间屏障似乎需要大剂量的病毒。采用 DIVA 技术，在疫苗接种的禽中通过免疫血清学方法可以追踪野病毒感染。

在实际使用过程中，有几个先决条件需要遵守：

- 由于病毒间有可能发生基因重排，对于 H5 和 H7 亚型病毒，还有因同时发生突变而导致致病性增强的危险，所以疫苗不能用有复制能力的流感病毒。因此，减毒活疫苗已经弃用。

- 家禽对高致病性禽流感的防御主要依赖于血凝素特异性抗体。因此，用作疫苗的病毒应当是与野生病毒相同的 HA 亚型。用于人类的流感疫苗需要与流行的野生病毒达到理想的匹配，而对于家禽则并非一定如此。由疫苗诱导的同源亚型交叉免疫可能足以对家禽起到保护作用，这是因为目前还未进行广泛的疫苗接种，所以禽流感病毒还未发生由疫苗引发的抗原漂移现象。

- 应当采用标记物策略 (DIVA) (Suarez 2005)。还可以用未免疫的“哨兵”禽来监测病毒的流行。

目前已发展了多种不同的疫苗概念。多数仍是灭活、加佐剂的全病毒疫苗。使用时，对每个动物应分别用针和注射器进行免疫。

灭活的同源性疫苗是以实际流行的高致病性禽流感病毒株为基础研制的，可以诱导很好的免疫保护，但是不能从血清型上区分已免疫的和已感染的禽类。因为疫苗是用当前流行的高致病性禽流感病毒制备的，所以疫苗投入使用要有一段固有的滞后期。

相反，当疫苗病毒表达与野生病毒相同的 HA、不同的 NA 亚型时（例如，H5N9 疫苗 H5N2 病毒），异源性灭活疫苗就可以作为标记疫苗。通过检测 NA 特异性抗体就可以区分免疫的还是自然感染的禽类 (Cattoli 2003)。但是这些方法费时而且敏感性不高。即便如此，也可将这类疫苗保存于由若干 H5 和 H7 亚型和不同 NA 亚型共同组成的疫苗库中备用。反向遗传学技术给疫苗的生产带来了极大便利，该技术可以按要求制备遗传背景优良的 HxNy 疫苗制品以供人用和兽用 (Liu 2003, Neumann 2003, Subbarao 2003, Lee 2004, Chen 2005, Stech 2005)。目前，异源性灭活疫苗是在 H5N1 热点地区如东南亚、莫斯科、巴基斯坦和意大利北部的野外使用。使用灭活疫苗作为 DIVA 系统使用，建议检测 NS-1 特异性抗体。自然感染的禽类可产生高滴度的这种抗体，而当使用灭活疫苗时该抗体的滴度会很低。

以可感染家禽的病毒或细菌基因组为骨架构建的重组活基因工程载体疫苗能够表达 H5 和 H7 血凝素基因(例如鸡痘病毒 [Beard 1991, Swayne 1997+2000c]，禽传染性喉气管炎病毒 [Lueschow 2001, Veits 2003] 或新城疫病毒 [Swayne 2003] 等)。活疫苗可以水溶液或喷雾剂的形式大规模使用。考虑到 DIVA 的具体差异，针对载体病毒禽类体内的预先存在的免疫会严重干扰疫苗接种的成功率。在墨西哥和美国收集了一些用鸡痘病毒重组疫苗进行的野外实验。

最后，实验还证实，重组血凝素蛋白和表达血凝素蛋白的质粒 DNA 都可成功地作为疫苗来使用。

目前，东南亚的几个国家正准备在全国范围内进行疫苗接种。

### 13 世界性大流行的危险

造成世界范围内的大流行必须同时满足以下三个条件：

- 一种在人群未曾见过的流感病毒 HA 亚型出现(或再次出现)至少有一代；
- 这种病毒能够感染人并在人体有效复制；
- 在人与人之间易于传播和维持。

这表明，新的人流感大流行的威胁不是仅与 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒的出现相关。迄今，H5N1 只满足了上述两个条件，即对大多数人来说，这是一种新的流感病毒亚型，并且它已经感染了人，在至今已感染的 140 多人引起严重疾病并显出高致死率。大多数人没有针对 H5N1 样病毒的免疫保护。如果通过逐步适应或与已适应人类的病毒发生重组，亚洲谱系 H5N1 流感病毒获得上述特性，一次新的流感大流行会即将来临(Guan 2004)。体外试验显示，亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒的 HA 蛋白受体结合位点上两个氨基酸同时发生了置换(Q226L and G228S)，使得该病毒像其它已适应人类的甲型流感病毒一样更适于与人的 2-6 型受体结合 (Harvey 2004)。Gambaryan 等(2006)已经鉴定了两株人类流感病毒，这两株病毒源于一对 2003 年在香港感染了 H5N1 病毒的父子，与其它所有从人和禽类分离到的 H5N1 亚型病毒不同相反，由于在 HA1 受体结合位点的 227 位氨基酸发生了突变，这两株病毒与 2-6 型受体显示出更高的亲和力。

当读到这篇文章时，没有人能知道或预见到这种情况可能仅在酝酿的过程中，或者可能已经发生。这种事件发生的机率与家禽中循环传播的病毒量直接相关，也与人暴露于病毒的危险相关。因此，从源头进行 H5N1 的防治，也会降低由该病毒引发流感大流行的危险。然而，在互联网的邮件和论坛里提出了另一种与主流认识不同的观点：在保护人类免于感染 H5N1 病毒的过程中，将花费在研究人 H5 特异性疫苗费用的十分之一用于根除家禽中的 H5N1 病毒，其效果也许要好于对人进行疫苗接种。

自 1997 年从人类中分离到 H5N1 病毒以来，该病毒在向人类宿主大规模流行的道路上还有最后一步没有迈出。然而目前的研究表明，过去几年的时间，H5N1 病毒对哺乳动物的毒力已经增强，宿主范围也已扩大：

1. 在 1999 年到 2002 间中国大陆及 2003 年以来越南，从表面健康的家鸭中分离到的 H5N1 病毒对哺乳动物的致病力逐渐增强(Chen 2004)。
2. H5N1 病毒的宿主范围已经扩大，现在能自然感染并杀死过去认为对禽流感病毒感染有抵抗力的哺乳动物（猫，虎）([http://www.who.int/csr/don/2004\\_02\\_20/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2004_02_20/en/index.html))。

然而，在关注亚洲 H5N1 病毒状况的同时，不能忽略其它可能、甚至具有造成更大规模流行潜能的流感病毒的出现，可能在此期间已经出现。例如在上世纪八十年代前亚洲还未发现 H9N2 亚型病毒株，现在不仅在亚洲家禽中广泛流行，而且已有效地传染给了中国东南和东部地区的猪群 (Shortridge 1992, Peiris 2001, Xu 2004)。这些病毒的受体特异性与其它人类适应流感病毒的相似 (Li 2005b, Matrosovich 2001)。H9 亚型病毒有广泛的宿主范围，遗传上具有多样性，可以直接感染人类。引起香港人感染的 H9N2 病毒甚至与 1997 年的 H5N1 亚型病毒基因型有亲缘关系 (Lin 2000)。

## 14 结论

最近十年，作为一种对家禽有毁灭性的疾病，高致病性禽流感的重要性大幅度提高。H5 和 H7 亚型低致病性禽流感病毒从其贮存宿主传入野生水鸟是这个过程的起点。仍需阐明的是：在贮存宿主中流行的低致病性 H5 和 H7 是否一直在变化，如果在变化，那又是为什么？关于在东南亚家禽中流行的亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒常引起迁徙鸟类感染的状况，预示高致病性禽流感的流行病学向迁徙的野生水鸟流行的转移似乎即将到来。这将对横贯大陆的家禽业产生严重的后果。人类暴露的危险与家禽中逐渐增长的具潜在感染人类能力的动物病毒直接相关。

就禽类和兽医层面而言，许多问题仍没有答案：

1. 亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒是否已经在野生鸟类和候鸟中传播开来？
2. 高致病性禽流感病毒在维持对家禽强毒力的情况下，还能在野生禽类中进化为弱毒原型病毒吗？
3. 陆生哺乳动物在高致病性禽流感病毒的传播中是否起作用？
4. 编码 HA 蛋白内切酶切割位点的序列仅易于在 H5 和 H7 亚型病毒中发生突变吗？

5. 在家禽中大规模接种抗 H5N1 禽流感疫苗对亚洲防止病毒传播或加速病毒抗原漂移及逃逸有什么影响？

6. H5 和 H7 亚型低致病性禽流感病毒在其自然贮存宿主体内的转换也在潜在地影响进化平衡吗？

尤其是第一个问题极其重要，而且不仅在兽医领域。亚洲谱系 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒在候鸟中的流行将会给家禽带来持久的威胁。只有采取严格的生物安全措施，包括禁止家禽自由的四处走动，才能消除这种威胁。另外，必须考虑给家禽进行大规模的疫苗接种。其次，病毒在野生禽类的流行可能导致环境中（湖泊，海岸等）出现 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒，也就带来了可能使人类暴露病毒的另一个潜在危险。目前为止，还没有野生禽类或环境中的病毒向人类传播的报道。所有报道的人感染禽流感的病例（包括最近土耳其出现的病例）均显示，需要病毒在家禽体内增殖并且人与家禽密切接触才能发生感染。

目前，动物与人均可感染的 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒在禽类造成的次大流行的复杂性和潜在影响，要求科学家、政治家和公众协调配合、谨慎行动。

(李晓峰 译)

## 参考文献

1. Alexander DJ. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 2000; 74: 3-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10799774>
2. Allan WH, Alexander DJ, Pomeroy BS, Parsons G. Use of virulence index tests for avian influenza viruses. *Avian Dis* 1977; 21: 359-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=907578>
3. Amonsin A, Payungporn S, Theamboonlers A, et al. Genetic characterization of H5N1 influenza A viruses isolated from zoo tigers

- in Thailand. *Virology* 2005; Sep 26; [Epub ahead of print]  
Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=16194557>
4. Aymard M, Ferraris O, Gerentes L, Jolly J, Kessler N. Neuraminidase assays. *Dev Biol (Basel)* 2003;115: 75-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15088778>
  5. Banks J, Speidel ES, Moore E, Plowright L, Piccirillo A, Capua I, Cordioli P, Floretti A, Alexander DJ. Changes in the haemagglutinin and the neuraminidase genes prior to the emergence of highly pathogenic H7N1 avian influenza viruses in Italy. *Arch Virol.* 2001;146: 963-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11448033>
  6. Bano S, Naeem K, Malik SA. Evaluation of pathogenic potential of avian influenza virus serotype H9N2 in chicken. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 817-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575070>
  7. Beard CW, Schnitzlein WM, Tripathy DN. Protection of chicken against highly pathogenic avian influenza virus (H5N2) by recombinant fowlpox viruses. *Avian Dis* 1991; 35: 356-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1649592>
  8. Beare AS, Webster RG. Replication of avian influenza viruses in humans. *Arch Virol.* 1991;119: 37-42. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1863223>
  9. Beck JR, Swayne DE, Davison S, Casavant S, Gutierrez C. Validation of egg yolk antibody testing as a method to determine influenza status in white leghorn hens. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 1196-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575141>
  10. Becker WB. The isolation and classification of Tern virus: influenza A-Tern South Africa—1961. *J Hyg (Lond)* 1966; 64: 309-20. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=5223681>
  11. Belshe RB. The origins of pandemic influenza--lessons from the 1918 virus. *N Engl J Med.* 2005; 353:2209-11.



12. Bridges CB, Lim W, Hu-Primmer J, et al. Risk of influenza A (H5N1) infection among poultry workers, Hong Kong, 1997–1998. *J Infect Dis* 2002; 185: 1005–10. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11930308> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v185n8/011256/011256.html>
13. Brown IH, Harris PA, McCauley JW, Alexander DJ. Multiple genetic reassortment of avian and human influenza A viruses in european pigs, resulting in the emergence of an H1N2 virus of novel genotype. *J Gen Virol* 1998; 79: 2947–2955. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9880008>
14. Brown IH, Hill ML, Harris PA, Alexander DJ, McCauley JW. Genetic characterisation of an influenza A virus of unusual subtype (H1N7) isolated from pigs in England. *Arch Virol* 1997; 142: 1045–50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9191869>
15. Bulaga LL, Garber L, Senne DA, et al. Epidemiologic and surveillance studies on avian influenza in livebird markets in New York and New Jersey, 2001. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 996–1001. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575100>
16. Butt KM, Smith GJ, Chen H, Zhang LJ, Leung YH, Xu KM, Lim W, Webster RG, Yuen KY, Peiris JS, Guan Y. Human infection with an avian H9N2 influenza A virus in Hong Kong in 2003. *J Clin Microbiol.* 2005 Nov;43(11):5760–7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16272514>
17. Capua I, Mutinelli F. Low pathogenicity (LPAI) and highly pathogenic (HPAI) avian influenza in turkeys and chicken. In: Capua I, Mutinelli F. (eds.), *A Colour Atlas and Text on Avian Influenza*, Papi Editore, Bologna, 2001, pp. 13–20
18. Capua I, Mutinelli F, Marangon S, Alexander DJ. H7N1 avian influenza

- in Italy (1999–2000) in intensively reared chicken and turkeys. *Av Pathol* 2000; 29: 537–43
19. Capua I, Marangon S, dalla Pozza M, Terregino C, Cattoli G. Avian influenza in Italy 1997–2001. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 839–43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575074>
  20. Cattoli G, Terregino C, Brasola V, Rodriguez JF, Capua I. Development and preliminary validation of an ad hoc N1–N3 discriminatory test for the control of avian influenza in Italy. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl:1060–2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575111>
  21. Cattoli G, Drago A, Maniero S, Toffan A, Bertoli E, Fassina S, Terregino C, Robbi C, Vicenzoni G, Capua I. Comparison of three rapid detection systems for type A influenza virus on tracheal swabs of experimentally and naturally infected birds. *Avian Pathol* 2004; 33: 432–7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15370041>
  22. Cauthen AN, Swayne DE, Schultz–Cherry S, Perdue ML, Suarez DL. Continued circulation in China of highly pathogenic avian influenza viruses encoding the hemagglutinin gene associated with the 1997 H5N1 outbreak in poultry and humans. *J Virol* 2000; 74: 6592–9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10864673> – Full text <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/14/6592>
  23. Centanni E, Savonuzzi O, cited by Stubbs E.L.: "Fowl plague." *Diseases of Poultry*. 4th ed.; 1965.
  24. Centers for Disease Control (CDC). Interim Guidance for Protection of Persons Involved in U.S. Avian Influenza Outbreak Disease Control and Eradication Activities. Accessed on 28th-Dec-2005: <http://www.cdc.gov/flu/avian/pdf/protectionguid.pdf>
  25. Chen J, Lee KH, Steinhauer DA, Stevens DJ, Skehel JJ, Wiley DC. Structure of the hemagglutinin precursor cleavage site, a determinant of influenza pathogenicity and the origin of the labile

- conformation. *Cell* 1998; 95: 409-17. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=9814710>
26. Chen H, Deng G, Li Z, et al. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10452-7. Epub 2004 Jul 2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15235128> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/28/10452>
27. Chen H, Smith GJ, Zhang SY, Qin K, Wang J, Li KS, Webster RG, Peiris JS, Guan Y. Avian flu: H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature* 2005; 436: 191-2. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=16007072>
28. Cheung CY, Poon LL, Lau AS, Luk W, Lau YL, Shortridge KF, Gordon S, Guan Y, Peiris JS. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? *Lancet* 2002; 360: 1831-7. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=12480361>
29. Choi YK, Nguyen TD, Ozaki H, Webby RJ, Puthavathana P, Buranathal C, Chaisingh A, Auewarakul P, Hanh NT, Ma SK, Hui PY, Guan Y, Peiris JS, Webster RG. Studies of H5N1 influenza virus infection of pigs by using viruses isolated in Viet Nam and Thailand in 2004. *J Virol* 2005; 79: 10821-5 16051873
30. Claas EC, Osterhaus AD, van Beek R, et al. Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet* 1998; 351: 472-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9482438>
31. Collins RA, Ko LS, So KL, Ellis T, Lau LT, Yu AC. Detection of highly pathogenic and low pathogenic avian influenza subtype H5 (EurAsian lineage) using NASBA. *J Virol Methods* 2002; 103: 213-25. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=12008015>
32. Crawford J, Wilkinson B, Vosnesensky A, et al. Baculovirus-derived hemagglutinin vaccines protect against lethal influenza infections

- by avian H5 and H7 subtypes. *Vaccine* 1999; 17: 2265-74.  
Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=10403594>
33. Davison S, Ziegler AF, Eckroade RJ. Comparison of an antigen-capture enzyme immunoassay with virus isolation for avian influenza from field samples. *Avian Dis.* 1998; 42: 791-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9876850>
34. Drake JW. Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90:4171-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8387212> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/reprint/90/9/4171>
35. Du Ry van Beest Holle M, Meijer A, Koopmans M, de Jager C. Human-to-human transmission of avian influenza A/H7N7, The Netherlands, 2003. *Euro Surveill* 2005; 10 [Epub ahead of print]. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=16371696>
36. Dybkaer K, Munch M, Handberg KJ, Jorgensen PH. Application and evaluation of RT-PCR-ELISA for the nucleoprotein and RT-PCR for detection of low-pathogenic H5 and H7 subtypes of avian influenza virus. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 51-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14974847>
37. Elbers AR, Kamps B, Koch G. Performance of gross lesions at postmortem for the detection of outbreaks during the avian influenza A virus (H7N7) epidemic in The Netherlands in 2003. *Avian Pathol* 2004; 33: 418-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15370039>
38. Elbers AR, Koch G, Bouma A. Performance of clinical signs in poultry for the detection of outbreaks during the avian influenza A (H7N7) epidemic in The Netherlands in 2003. *Avian Pathol* 2005; 34: 181-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16191700>
39. Feldmann A, Schafer MK, Garten W, Klenk HD. Targeted infection of endothelial cells by avian influenza virus A/FPV/Rostock/34 (H7N1)

- in chicken embryos. *J Virol* 2000; 74: 8018-27.  
Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=10933711> - Full text at  
<http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/17/8018>
40. Ferguson NM, Galvani AP, Bush RM. Ecological and immunological determinants of influenza evolution. *Nature*. 2003; 422: 428-33.  
Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12660783>
41. Fouchier RA, Bestebroer TM, Herfst S, Van Der Kemp L, Rimmelzwaan GF, Osterhaus AD. Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4096-101. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11060074>
42. Fouchier RA, Olsen B, Bestebroer TM, et al. Influenza A virus surveillance in wild birds in Northern Europe in 1999 and 2000. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 857-60. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575077>
43. Fouchier RA, Schneeberger PM, Rozendaal FW, Broekman JM, Kemink SA, Munster V, Kuiken T, Rimmelzwaan GF, Schutten M, Van Doornum GJ, Koch G, Bosman A, Koopmans M, Osterhaus AD. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 1356-61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14745020> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/5/1356>
44. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79: 2814-22.  
Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=15709000>
45. Gabriel G, Dauber B, Wolff T, Planz O, Klenk HD, Stech J. The viral polymerase mediates adaptation of an avian influenza virus to a mammalian host. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 18590-5.

- Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=16339318>
46. Gambaryan AS, Tuzikov AB, Pazynina GV, Webster RG, Matrosovich MN, Bovin NV. H5N1 chicken influenza viruses display a high binding affinity for Neu5Acalpha2-3Galbeta1-4(6-HS03)GlcNAccontaining receptors. *Virology*. 2004; 326: 310-6.
  47. Gambaryan A, Yamnikova S, Lvov D, et al. Receptor specificity of influenza viruses from birds and mammals: new data on involvement of the inner fragments of the carbohydrate chain. *Virology* 2005;334: 276-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15780877>
  48. Gambaryan A, Tuzikov A, Pazynina G, Bovin N, Balish A, Klimov A. Evolution of the receptor binding phenotype of influenza A (H5) viruses. *Virology* 2006; 344: 432-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16226289>
  49. Garcia M, Crawford JM, Latimer JW, Rivera-Cruz E, Perdue ML. Heterogeneity in the hemagglutinin gene and emergence of the highly pathogenic phenotype among recent H5N2 avian influenza viruses from Mexico. *J Gen Virol* 1996; 77: 1493-504. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8757992>
  50. Garcia A, Johnson H, Srivastava DK, Jayawardene DA, Wehr DR, Webster RG. Efficacy of inactivated H5N2 influenza vaccines against lethal A/Chicken/Queretaro/19/95 infection. *Avian Dis* 1998; 42: 248-56. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9645315>
  51. Garman E, Laver G. Controlling influenza by inhibiting the virus's neuraminidase. *Curr Drug Targets* 2004; 5: 119-36. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15011946>
  52. Giannecchini S, Campitelli L, Calzoletti L, De Marco MA, Azzi A, Donatelli I. Comparison of in vitro replication features of H7N3 influenza viruses from wild ducks and turkeys: potential implications for interspecies transmission. *J Gen Virol* 2006; 87:

- 171-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16361429>
53. Gorman OT, Bean WJ, Webster RG. Evolutionary processes in influenza viruses: divergence, rapid evolution, and stasis. *Curr Top Microbiol Immunol* 1992; 176: 75-97. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1600756>
54. Govorkova EA, Rehg JE, Krauss S, Yen HL, Guan Y, Peiris M, Nguyen TM, Hanh TH, Puthavathana P, Long HT, Buranathai C, Lim W, Webster RG, Hoffmann E. Lethality to ferrets of H5N1 influenza viruses isolated from humans and poultry in 2004. *J Virol* 2005; 79: 2191-2198. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15681421>
55. Guan Y, Peiris JS, Lipatov AS, et al. Emergence of multiple genotypes of H5N1 avian influenza viruses in Hong Kong SAR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002a; 99: 8950-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12077307> - Full text <http://www.pnas.org/cgi/content/full/99/13/8950>
56. Guan Y, Peiris JS, Poon LL, et al. Reassortants of H5N1 influenza viruses recently isolated from aquatic poultry in Hong Kong SAR. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 911-3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575085>
57. Guan Y, Peiris M, Kong KF, et al. H5N1 influenza viruses isolated from geese in Southeastern China: evidence for genetic reassortment and interspecies transmission to ducks. *Virology* 2002b; 292: 16-23. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11878904>
58. Guan Y, Poon LL, Cheung CY, Ellis TM, Lim W, Lipatov AS, Chan KH, Sturm-Ramirez KM, Cheung CL, Leung YH, Yuen KY, Webster RG, Peiris JS. H5N1 influenza: a protean pandemic threat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8156-61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15148370> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/21/8156>

59. Guo Y, Wang M, Kawaoka Y, Gorman O, Ito T, Saito T, Webster RG. Characterization of a new avianlike influenza A virus from horses in China. *Virology* 1992; 188: 245-55. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1314452>
60. Haque ME, Koppaka V, Axelsen PH, Lentz BR. Properties and Structures of the Influenza and HIV 2 Fusion Peptides on Lipid Membranes: Implications for a Role in Fusion. *Biophys J.* 2005; 89:3183-94. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16183890>
61. Harvey R, Martin AC, Zambon M, Barclay WS. Restrictions to the adaptation of influenza A virus H5 hemagglutinin to the human host. *J Virol.* 2004; 78: 502-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14671130> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/1/502>
62. Hatta M, Gao P, Halfmann P, Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. 2001; *Science* 293: 1840-1842. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11546875>
63. Hayden F, Croisier A. Transmission of avian influenza viruses to and between humans. *J Infect Dis* 2005;192: 1311-4.
64. Heinen P (2002). Swine influenza: a zoonosis. *Vet. Sci. Tomorrow*, September 2003. <http://www.vetscite.org/publish/articles/000041/print.html>
65. Henzler DJ, Kradel DC, Davison S, et al. Epidemiology, production losses, and control measures associated with an outbreak of avian influenza subtype H7N2 in Pennsylvania (1996-98). *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 1022-36. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575105>
66. Herrler G, Hausmann J, Klenk HD. Sialic acid as receptor determinant of ortho- and paramyxoviruses. In: Rosenberg A (ed), *Biology of the Sialic Acids*, Plenum Press NY, 1995: p. 315-336



67. Hoffmann E, Stech J, Leneva I, et al. Characterization of the influenza A virus gene pool in avian species in southern China: was H6N1 a derivative or a precursor of H5N1? *J Virol* 2000; 74: 6309–15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10864640> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/14/6309>
68. Horimoto T, Nakayama K, Smeekens SP, Kawaoka Y. Proprotein-processing endoproteases PC6 and furin both activate hemagglutinin of virulent avian influenza viruses. *J Virol* 1994; 68: 6074–8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8057485> - Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=8057485>
69. Horimoto T, Kawaoka Y. Molecular changes in virulent mutants arising from avirulent avian influenza viruses during replication in 14-day-old embryonated eggs. *Virology* 1995; 206: 755–9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7831837>
70. Hulse-Post DJ, Sturm-Ramirez KM, Humberd J, et al. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102: 10682–7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16030144>
71. Ito T, Kawaoka Y, Nomura A, Otsuki K. Receptor specificity of influenza A viruses from sea mammals correlates with lung sialyloligosaccharides in these animals. *J Vet Med Sci* 1999; 61: 955–8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10487239>
72. Ito T, Okazaki K, Kawaoka Y, Takada A, Webster RG, Kida H (1995). Perpetuation of influenza A viruses in Alaskan waterfowl reservoirs. *Arch. Virol.* 140, 1163–1172. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7646350>
73. Ito T, Goto H, Yamamoto E, et al. Generation of a highly pathogenic

- avian influenza A virus from an avirulent field isolate by passaging in chicken. *J Virol* 2001; 75: 4439-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11287597> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/9/4439>
74. Ito T, Couceiro JN, Kelm S, et al. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol* 1998; 72: 7367-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9696833> -Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/72/9/7367>
75. Jin M, Wang G, Zhang R, Zhao S, Li H, Tan Y, Chen H. Development of enzyme-linked immunosorbent assay with nucleoprotein as antigen for detection of antibodies to avian influenza virus. *Avian Dis* 2004; 48: 870-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15666868>
76. Jones YL, Swayne DE. Comparative pathobiology of low and high pathogenicity H7N3 Chilean avian influenza viruses in chicken. *Avian Dis* 2004; 48: 119-28. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15077805>
77. Karasin AI, Brown IH, Carman S, Olsen CW. Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada. *J Virol* 2000; 74: 9322-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10982381>
78. Katz JM, Lim W, Bridges CB, et al. Antibody response in individuals infected with avian influenza A (H5N1) viruses and detection of anti-H5 antibody among household and social contacts. *J Infect Dis* 1999; 180: 1763-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10558929> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v180n6/990415/990415.html>
79. Kawaoka Y, Naeve CW, Webster RG. Is virulence of H5N2 influenza viruses in chicken associated with loss of carbohydrate from the

- hemagglutinin? *Virology* 1984; 139: 303-16. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=6516214>
80. Kaye D, Pringle CR. Avian influenza viruses and their implication for human health. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 108-12. Epub 2004 Dec 7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15614699>
81. Keawcharoen J, Oraveerakul K, Kuiken T, et al. Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 2189-91. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15663858> - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol10no12/04-0759.htm>
82. Kessler N, Ferraris O, Palmer K, Marsh W, Steel A. Use of the DNA flow-thru chip, a three-dimensional biochip, for typing and subtyping of influenza viruses. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 2173-85. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=15131186>
83. Kida H, Ito T, Yasuda J, et al. Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs. *J Gen Virol* 1994; 75: 2183-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8077918>
84. Kim JA, Ryu SY, Seo SH. Cells in the respiratory and intestinal tracts of chicken have different proportions of both human and avian influenza virus receptors. *J Microbiol* 2005; 43: 366-9. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=16145552>
85. Klenk HD. Infection of the endothelium by influenza viruses. *Thromb Haemost* 2005 ; 94: 262-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16113814>
86. Klempner MS, Shapiro DS. Crossing the species barrier - one small step to man, one giant leap to mankind. *N Engl J Med* 2004; 350: 1171-2. Epub 2004 Feb 25. <http://amedeo.com/lit.php?id=14985471>
87. Klop•eisch R, Werner O, Mundt E, Harder T, Teifke JP. Neurotropism of highly pathogenic avian influenza virus A/chicken/Indonesia/2003 (H5N1) in experimentally infected pigeons (*Columbia livia*

- f. domestica*). Vet Pathol 2006; in press
88. Kodihalli S, Haynes JR, Robinson HL, Webster RG. Cross-protection among lethal H5N2 influenza viruses induced by DNA vaccine to the hemagglutinin. J Virol 1997; 71: 3391-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9094608> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/reprint/71/5/3391>
  89. Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, et al. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. Lancet 2004; 363: 587-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14987882>
  90. Krauss S, Walker D, Pryor SP, Niles L, Chenghong L, Hinshaw VS, Webster RG. Influenza A viruses of migrating wild aquatic birds in North America. Vector Borne Zoonotic Dis 2004; 4: 177-89. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15631061>
  91. Kuiken T, Rimmelzwaan G, van Riel D, et al. Avian H5N1 influenza in cats. Science 2004; 306: 241. Epub 2004 Sep 2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15345779>
  92. Kwon YK, Joh SJ, Kim MC, Sung HW, Lee YJ, Choi JG, Lee EK, Kim JH. Highly pathogenic avian influenza (H5N1) in the commercial domestic ducks of South Korea. Avian Pathol 2005; 34: 367-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16147575>
  93. Landman WJ, Schrier CC. Avian influenza: eradication from commercial poultry is still not in sight. Tijdschr. Diergeneeskd 2004; 129: 782-96. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15624878>
  94. Le QM, Kiso M, Someya K, et al. Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. Nature 2005; 437:1108. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16228009>
  95. Lee CW, Suarez DL. Application of real-time RT-PCR for the quantitation and competitive replication study of H5 and H7 subtype

- avian influenza virus. *J Virol Methods*. 2004; 119: 151-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15158597>
96. Lee CW, Swayne DE, Linares JA, Senne DA, Suarez DL. H5N2 avian influenza outbreak in Texas in 2004: the first highly pathogenic strain in the United States in 20 years? *J Virol* 2005; 79: 11412-21. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16103192>
97. Lee CW, Senne DA, Suarez DL. Generation of reassortant influenza vaccines by reverse genetics that allows utilization of a DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) strategy for the control of avian influenza. *Vaccine* 2004; 22: 3175-81. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15297071>
98. Lee CW, Suarez DL. Avian influenza virus: prospects for prevention and control by vaccination. *Anim Health Res Rev*. 2005; 6: 1-15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16164006>
99. Lees W. The 2004 outbreak of highly pathogenic avian influenza (H7N3) in British Columbia. *Cahnet Bull* 2004; 9: 4-10. <http://www.cahnet.org/bulletinsE/CahnetBulletin9english.pdf>
100. Li J, Chen S, Evans DH. Typing and subtyping influenza virus using DNA microarrays and multiplex reverse transcriptase PCR. *J Clin Microbiol*. 2001; 39: 696-704. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11158130>
101. Li KS, Xu KM, Peiris JS, et al. Characterization of H9 subtype influenza viruses from the ducks of southern China: a candidate for the next influenza pandemic in humans? *J Virol* 2003; 77: 6988-94. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12768017> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/77/12/6988>
102. Li KS, Guan Y, Wang J, et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 2004; 430: 209-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15241415>

103. Li SQ, Orlich M, Rott R. Generation of seal influenza virus variants pathogenic for chicken, because of hemagglutinin cleavage site changes. *J Virol* 1990; 64: 3297-303. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2191148> - Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=2191148>
104. Li C, Yu K, Tian G, Yu D, Liu L, Jing B, Ping J, Chen H. Evolution of H9N2 influenza viruses from domestic poultry in Mainland China. *Virology* 2005b; 340: 70-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16026813>
105. Li Z, Chen H, Jiao P, Deng G, Tian G, Li Y, Hoffmann E, Webster RG, Matsuoka Y, Yu K . Molecular basis of replication of duck H5N1 influenza viruses in a mammalian mouse model. 2005a; *J Virol* 79;12058-12064. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16140781>
106. Lin YP, Shaw M, Gregory V, Cameron K, Lim W, Klimov A, Subbarao K, Guan Y, Krauss S, Shortridge K, Webster R, Cox N, Hay A. Avian-to-human transmission of H9N2 subtype influenza A viruses:relationship between H9N2 and H5N1 human isolates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97: 9654-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10920197> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/97/17/9654>
107. Lipatov AS, Krauss S, Guan Y, et al. Neurovirulence in mice of H5N1 influenza virus genotypes isolated from Hong Kong poultry in 2001. *J Virol* 2003; 77: 3816-23. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12610156> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/77/6/3816>
108. Lipatov AS, Govorkova EA, Webby RJ et al. Influenza: Emergence and control. *J Virol* 2004; 78: 8951-8959. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15308692> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/17/8951>

109. Lipatov AS, Andreansky S, Webby RJ, Hulse DJ, Rehg JE, Krauss S, Perez DR, Doherty PC, Webster RG, Sangster MY. Pathogenesis of Hong Kong H5N1 influenza virus NS gene reassortants in mice: the role of cytokines and B- and T-cell responses. *J Gen Virol* 2005; 86: 1121-30. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15784906> - Full text at <http://vir.sgmjournals.org/cgi/content/full/86/4/1121>
110. Liu M, Wood JM, Ellis T, Krauss S, Seiler P, Johnson C, Hoffmann E, Humberd J, Hulse D, Zhang Y, Webster RG, Perez DR. Preparation of a standardized, efficacious agricultural H5N3 vaccine by reverse genetics. *Virology*. 2003; 314: 580-90. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14554086>
111. Liu J, Xiao H, Lei F, et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science* 2005; 309: 1206. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16000410>
112. Lu X, Tumpey TM, Morken T, Zaki SR, Cox NJ, Katz JM. A mouse model for the evaluation of pathogenesis and immunity to influenza A (H5N1) viruses isolated from humans. *J Virol* 1999; 73:5903-11. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10364342> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/73/7/5903>
113. Lu H, Castro AE, Pennick K, Liu J, Yang Q, Dunn P, Weinstock D, Henzler D. Survival of avian influenza virus H7N2 in SPF chickens and their environments. *Avian Dis.* 2003; 47: 1015-21. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575104>
114. Luschow D, Werner O, Mettenleiter TC, Fuchs W. Vaccination with infectious laryngotracheitis virus recombinants expressing the hemagglutinin (H5) gene. *Vaccine*. 2001 Jul 20;19(30):4249-59. <http://amedeo.com/lit.php?id=11457552>
115. Maines TR, Lu XH, Erb SM, et al. Avian influenza (H5N1) viruses isolated from humans in Asia in 2004 exhibit increased virulence in

- mammals. *J Virol* 2005; 79: 11788–800. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16140756>
116. Mannelli A, Ferre N, Marangon S. Analysis of the 1999–2000 highly pathogenic avian influenza (H7N1) epidemic in the main poultry–production area in northern Italy. *Prev Vet Med.* 2005 Oct 19; [Epub ahead of print]. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16243405>
117. Marangon S, Capua I, Pozza G, Santucci U. field experiences in the control of avian influenza outbreaks in densely populated poultry areas. *Dev Biol (Basel)* 2004; 119: 155–64. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15742627>
118. Marangon S, Capua I. Control of AI in Italy: from “Stamping-out”–strategy to emergency and prophylactic vaccination. In: *Proc. Internat. Conf on Avian In•uenza, Paris 2005; O. I. E., p. 29.*
119. Matrosovich MN, Zhou N, Kawaoka Y, Webster R. The surface glycoproteins of H5 influenza viruses isolated from humans, chicken, and wild aquatic birds have distinguishable properties. *J Virol.* 1999;73: 1146–55. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9882316> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/73/2/1146>
120. Matrosovich MN, Krauss S, Webster RG. H9N2 influenza A viruses from poultry in Asia have human virus–like receptor specificity. *Virology* 2001; 281: 156–62. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11277689>
121. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004b;101: 4620–4. Epub 2004 Mar 15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15070767> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/13/4620>
122. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD.



- Neuraminidase is important for the initiation of influenza virus infection in human airway epithelium. *J Virol.* 2004a; 78: 12665-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15070767> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/13/4620>
123. Meulemans G, Carlier MC, Gonze M, Petit P. Comparison of hemagglutination-inhibition, agar gel precipitin, and enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibodies against influenza viruses in chicken. *Avian Dis* 1987; 31: 560-3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2960313>
124. Mo IP, Brugh M, Fletcher OJ, Rowland GN, Swayne DE. Comparative pathology of chicken experimentally inoculated with avian influenza viruses of low and high pathogenicity. *Avian Dis* 1997;41: 125-36. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9087329>
125. Mutinelli F, Capua I, Terregino C, Cattoli G. Clinical, gross, and microscopic findings in different avian species naturally infected during the H7N1 low- and high-pathogenicity avian influenza epidemics in Italy during 1999 and 2000. *Avian Dis* 2003a; 47: Suppl: 844-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575075>
126. Mutinelli F, Habeloariid H, Capua I. Avian embryo susceptibility to Italian H7N1 avian influenza viruses belonging to different lineages. *Avian Dis* 2003b; 47: Suppl: 1145-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575131>
127. Nakatani H, Nakamura K, Yamamoto Y, Yamada M, Yamamoto Y. Epidemiology, pathology, and immunohistochemistry of layer hens naturally affected with H5N1 highly pathogenic avian influenza in Japan. *Avian Dis* 2005; 49: 436-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16252503>
128. Neumann G, Hatta M, Kawaoka Y. Reverse genetics for the control of avian influenza. *Avian Dis.* 2003;47(3 Suppl):882-7. Abstract:

- <http://amedeo.com/lit.php?id=14575081>
129. Neumann G, Brownlee GG, Fodor E, Kawaoka Y. Orthomyxovirus replication, transcription, and polyadenylation. *Curr Top Microbiol Immunol* 2004; 283: 121-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15298169>
130. Nestorowicz A, Kawaoka Y, Bean WJ, Webster RG. Molecular analysis of the hemagglutinin genes of Australian H7N7 influenza viruses: role of passerine birds in maintenance or transmission? *Virology* 1987; 160: 411-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3660587>
131. Ng EK, Cheng PK, Ng AY, Hoang TL, Lim WW. Influenza A H5N1 detection. *Emerg Infect Dis* 2005; 11:1303-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16102326> - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no08/04-1317.htm>
132. Normile D. Avian influenza. China will attempt largest-ever animal vaccination campaign. *Science*. 2005; 310: 1256-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16311302>
133. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.1.14. Avian influenza. [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_00037.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm) - Accessed 28 December 2005
134. OIE. Terrestrial Animal Health Code. Chapter 2.7.12. Avian influenza. [http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en\\_chapitre\\_2.7.12.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_2.7.12.htm) - Accessed 28 December 2005
135. OIE 2005 (World Organisation for Animal Health). Highly pathogenic avian influenza in Mongolia: in migratory birds. [http://www.oie.int/eng/info/hebdo/ais\\_55.htm](http://www.oie.int/eng/info/hebdo/ais_55.htm) - Accessed 31 octobre 2005.
136. Okazaki K, Takada A, Ito T, et al. Precursor genes of future pandemic influenza viruses are perpetuated in ducks nesting in Siberia. *Arch*

- Viol 2000; 145: 885-93. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=10881676>
137. Olsen CW. The emergence of novel swine influenza viruses in North America. Virus Res 2002; 85:199-210. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=12034486>
138. Pasick J, Handel K, Robinson J, et al. Intersegmental recombination between the hemagglutinin and matrix genes was responsible for the emergence of a highly pathogenic H7N3 avian influenza virus in British Columbia. J Gen Virol 2005; 86: 727-31. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15722533>
139. Payungporn S, Phakdeewirot P, Chutinimitkul S, Theamboonlers A, Keawcharoen J, Oraveerakul K, Amonsin A, Poovorawan Y. Single-step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for influenza A virus subtype H5N1 detection. Viral Immunol 2004; 17: 588-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15671756>
140. Pearson JE. International standards for the control of avian influenza. Avian Dis 2003; 47: Suppl: 972-5. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=14575096>
141. Peiris JS, Guan Y, Markwell D, Ghose P, Webster RG, Shortridge KF. Cocirculation of avian H9N2 and contemporary 'human' H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment? J Virol 2001; 75: 9679-86. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=11559800> - Full text at  
<http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/20/9679>
142. Perez DR, Lim W, Seiler JP, et al. Role of quail in the interspecies transmission of H9 influenza A viruses: molecular changes on HA that correspond to adaptation from ducks to chicken. J Virol 2003;77: 3148-56. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12584339> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/77/5/3148>

143. Perdue ML, Garcia M, Senne D, Fraire M. Virulence-associated sequence duplication at the hemagglutinin cleavage site of avian influenza viruses. *Virus Res* 1997; 49: 173-86. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9213392>
144. Perdue ML, Suarez DL. Structural features of the avian influenza virus hemagglutinin that influence virulence. *Vet Microbiol* 2000; 74: 77-86. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10799780>
145. Perdue ML. Molecular diagnostics in an insecure world. *Avian Dis* 2003; 47: 1063-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575112>
146. Perkins LE, Swayne DE. Pathogenicity of a Hong Kong-origin H5N1 highly pathogenic avian influenza virus for emus, geese, ducks, and pigeons. *Avian Dis* 2002a; 46: 53-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11924603>
147. Perkins LE, Swayne DE. Susceptibility of laughing gulls (*Larus atricilla*) to H5N1 and H5N3 highly pathogenic avian influenza viruses. *Avian Dis* 2002b; 46: 877-85. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12495048>
148. Perkins LE, Swayne DE. Comparative susceptibility of selected avian and mammalian species to a Hong Kong-origin H5N1 high-pathogenicity avian influenza virus. *Avian Dis.* 2003;47(3 Suppl):956-67. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575094>
149. Perroncito CE. [it. Typhoid epizootic in gallinaceous birds.] *Epizoozia tifoide nei gallinacei.* Torino:Annali Accademia Agricoltura 1878; 21:87-126.
150. Phipps LP, Essen SC, Brown IH. Genetic subtyping of influenza A viruses using RT-PCR with a single set of primers based on conserved sequences within the HA2 coding region. *J Virol Methods* 2004;122:119-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15488629>
151. ProMED 20050826.2527. Avian influenza H5N1, Civets 2005. Archive

- number 20050826.2527. Available at  
<http://www.promedmail.org/pls/promed>
152. ProMED 20060110.0090. Japan: Mild Avian Influenza Virus Infection Too Risky to Ignore. Archive number 20060110.0090. Available at  
<http://www.promedmail.org/pls/promed>
153. Puzelli S, Di Trani L, Fabiani C, et al. Serological analysis of serum samples from humans exposed to avian H7 influenza viruses in Italy between 1999 and 2003. *J Infect Dis* 2005; 192: 1318–22. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=16170747> – Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v192n8/34097/34097.html>
154. Quirk M. Zoo tigers succumb to avian influenza. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:716. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15593440>
155. Rimmelzwaan GF, Kuiken T, van Amerongen G, Bestebroer TM, Fouchier RA, Osterhaus ADME. Pathogenesis of influenza A (H5N1) virus infection in a primate model. *J Virol* 2001; 77: 3148–3156. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11413336> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/14/6687>
156. Rogers SO, Starmer WT, Castello JD. Recycling of pathogenic microbes through survival in ice. *Med Hypotheses* 2004; 63: 773–7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15488645>
157. Rohm C, Horimoto T, Kawaoka Y, Suss J, Webster RG. Do hemagglutinin genes of highly pathogenic avian influenza viruses constitute unique phylogenetic lineages? *Virology* 1995; 209: 664–70. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=7778300>
158. Rott R, Orlich M, Scholtissek C. Correlation of pathogenicity and gene constellation of influenza A viruses. III. Non-pathogenic recombinants derived from highly pathogenic parent strains. *J Gen Virol* 1979; 44: 471–7. Abstract:

- <http://amedeo.com/lit.php?id=521799>
159. Rott R, Klenk HD, Nagai Y, Tashiro M. Influenza viruses, cell enzymes, and pathogenicity. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 152: S16-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7551406>
160. Rust MJ, Lakadamyali M, Zhang F, Zhuang X. Assembly of endocytic machinery around individual influenza viruses during viral entry. *Nat Struct Mol Biol* 2004; 11: 567-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15122347>
161. Saito T, Lim W, Suzuki T, et al. Characterization of a human H9N2 influenza virus isolated in Hong Kong. *Vaccine* 2001; 20: 125-33. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11567756>
162. Sala G, Cordioli P, Moreno-Martin A, et al. ELISA test for the detection of influenza H7 antibodies in avian sera. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 1057-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575110>
163. Schäfer W. Vergleichende sero-immunologische Untersuchungen über die Viren der Influenza und klassischen Ge•ügelpest. *Zeitschr Naturforschung* 1955; 10b: 81-91
164. Scholtissek C, Hinshaw VS, Olsen CW. Influenza in pigs and their role as the intermediate host. In: Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ (eds.), *Textbook of In•uenza*, Blackwell Scientific, Oxford, 1998; p137-145
165. Selleck PW, Lowther SL, Russell GM, Hooper PT. Rapid diagnosis of highly pathogenic avian influenza using pancreatic impression smears. *Avian Dis* 2003; 47 (3 Suppl): 1190-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575140>
166. Senne DA, Panigrahy B, Kawaoka Y, et al. Survey of the hemagglutinin (HA) cleavage site sequence of H5 and H7 avian influenza viruses: amino acid sequence at the HA cleavage site as a marker of pathogenicity potential. *Avian Dis* 1996; 40: 425-37. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8790895>

167. Seo SH, Goloubeva O, Webby R, Webster RG. Characterization of a porcine lung epithelial cell line suitable for influenza virus studies. *J Virol* 2001; 75: 9517-25. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11533214> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/19/9517>
168. Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses. 2002; *Nat Med* 8: 950-954. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12195436>
169. Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. The NS1 gene of H5N1 influenza viruses circumvents the host antiviral cytokine responses. *Virus Res* 2004; 103: 107-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15163498>
170. Shafer AL, Katz JB, Eernisse KA. Development and validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of type A influenza antibodies in avian sera. *Avian Dis.* 1998; 42:28-34. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9533078>
171. Shinya K, Hamm S, Hatta M, Ito H, Ito T, Kawaoka Y. PB2 amino acid at position 627 affects replicative efficiency but not cell tropism of Hong Kong H5N1 influenza viruses in mice. *Virology* 2004;320: 258-266. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15016548>
172. Shortridge KF. Pandemic influenza: a zoonosis? *Semin Respir Infect* 1992; 7: 11-25. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1609163>
173. Shortridge KF, Zhou NN, Guan Y, et al. Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology.* 1998 Dec 20;252(2):331-42. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9878612>
174. Sidorenko Y, Reichl U. Structured model of influenza virus replication in MDCK cells. *Biotechnol Bioeng* 2004; 88: 1-14. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15384040>
175. Skehel JJ, Cross K, Steinhauer D, Wiley DC. Influenza fusion peptides. *Biochem Soc Trans.* 2001; 29:623-6. Abstract:

- <http://amedeo.com/lit.php?id=11498040>
176. Smith AW, Skilling DE, Castello JD, Rogers SO. Ice as a reservoir for pathogenic human viruses: specifically, caliciviruses, influenza viruses, and enteroviruses. *Med Hypotheses* 2004; 63: 560–6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15324997>
177. Snyder DB, Marquardt WW, Yancey FS, Savage PK. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody against avian influenza virus. *Avian Dis* 1985; 29: 136–44. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3985870>
178. Spackman E, Senne DA, Myers TJ, et al. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *J Clin Microbiol* 2002; 40:3256–60. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12202562>
179. Stallknecht DE, Shane SM, Kearney MT, Zwank PJ. Persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Dis* 1990a; 34: 406–11. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2142420>
180. Stallknecht DE, Kearney MT, Shane SM, Zwank PJ. Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Dis* 1990b; 34: 412–8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2142421>
181. Stech J, Garn H, Wegmann M, Wagner R, Klenk HD. A new approach to an influenza live vaccine: modification of the cleavage site of hemagglutinin. 2005; *Nat Med* 11: 683–689. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15924146>
182. Stegeman A, Bouma A, Elbers AR, et al. Avian influenza A virus (H7N7) epidemic in The Netherlands in 2003: course of the epidemic and effectiveness of control measures. *J Infect Dis* 2004; 190: 2088–95. Epub 2004 Nov 15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15551206> - Full text at



- <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v190n12/32647/32647.html> < /A>
183. Steinhauer DA. Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus. *Virology* 1999;258: 1-20. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10329563>
184. Sturm-Ramirez KM, Ellis T, Bousfield B, et al. Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J Virol* 2004; 78: 4892-901. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15078970> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/9/4892>
185. Suarez DL, Schultz-Cherry S. Immunology of avian influenza virus: a review. *Dev Comp Immunol.* 2000; 24: 269-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10717293>
186. Suarez DL, Senne DA, Banks J, Brown IH, Essen SC, Lee CW, Manvell RJ, Mathieu-Benson C, Moreno V, Pedersen JC, Panigrahy B, Rojas H, Spackman E, Alexander DJ. Recombination resulting in virulence shift in avian influenza outbreak, Chile. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 693-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15200862> - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol10no4/03-0396.htm>
187. Suarez DL. Overview of avian influenza DIVA test strategies. *Biologicals.* 2005; 33: 221-6 Epub 2005 Oct 28. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16257543>
188. Suzuki Y, Ito T, Suzuki T, Holland RE Jr, Chambers TM, Kiso M, Ishida H, Kawaoka Y. Sialic acid species as a determinant of the host range of influenza A viruses. *J Virol* 2000; 74:11825-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11090182> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/24/11825>
189. Suzuki Y. Sialobiology of influenza: molecular mechanism of host range variation of influenza viruses. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 399-408.

- Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15744059>
190. Swayne DE, Suarez DL. Highly pathogenic avian influenza. Rev Sci Tech 2000a; 19: 463–8. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=10935274>
191. Swayne DE, Beck JR, Kinney N. Failure of a recombinant fowl poxvirus vaccine containing an avian influenza hemagglutinin gene to provide consistent protection against influenza in chicken preimmunized with a fowl pox vaccine. Avian Dis 2000b; 44: 132–7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10737653>
192. Swayne DE, Beck JR, Mickle TR. Efficacy of recombinant fowl poxvirus vaccine in protecting chicken against a highly pathogenic Mexican-origin H5N2 avian influenza virus. Avian Dis 1997; 41: 910–22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9454926>
193. Swayne DE, Beck JR, Perdue ML, Beard CW. Efficacy of vaccines in chicken against highly pathogenic Hong Kong H5N1 avian influenza. Avian Dis 2001; 45: 355–65. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11417815>
194. Swayne DE, Garcia M, Beck JR, Kinney N, Suarez DL. Protection against diverse highly pathogenic H5 avian influenza viruses in chicken immunized with a recombinant fowlpox vaccine containing an H5 avian influenza hemagglutinin gene insert. Vaccine 2000c; 18: 1088–95. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10590330>
195. Swayne DE, Suarez DL, Schultz-Cherry S, et al. Recombinant paramyxovirus type 1-avian influenza-H7 virus as a vaccine for protection of chicken against influenza and Newcastle disease. Avian Dis 2003; 47: Suppl: 1047–50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575108>
196. Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G, Fanning TG. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. Nature. 2005 Oct 6;437(7060):889–93. Abstract:

- <http://amedeo.com/lit.php?id=16208372>
197. Thanawongnuwech R, Amonsin A, Tantilertcharoen R, et al. Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 699-701. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15890122> - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no05/05-0007.htm>
198. Tian G, Zhang S, Li Y, Bu Z, Liu P, Zhou J, Li C, Shi J, Yu K, Chen H. Protective efficacy in chicken, geese and ducks of an H5N1-inactivated vaccine developed by reverse genetics. *Virology* 2005; 341:153-62. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16084554>
199. Tumpey TM, Alvarez R, Swayne DE, Suarez DL. Diagnostic approach for differentiating infected from vaccinated poultry on the basis of antibodies to NS1, the nonstructural protein of influenza A virus. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 676-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15695663>
200. van der Goot JA, Koch G, de Jong MC, van Boven M. Quantification of the effect of vaccination on transmission of avian influenza (H7N7) in chickens. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102: 18141-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16330777> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/102/50/18141>
201. Veits J, Luschow D, Kindermann K, et al. Deletion of the non-essential UL0 gene of infectious laryngotracheitis (ILT) virus leads to attenuation in chicken, and UL0 mutants expressing influenza virus hemagglutinin (H7) protect against ILT and fowl plague. *J Gen Virol* 2003; 84: 3343-52. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14645915>
202. Wagner R, Matrosovich M, Klenk HD. Functional balance between haemagglutinin and neuraminidase in influenza virus infections. *Rev Med Virol* 2002; 12: 159-66. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11987141>
203. Wagner R, Herwig A, Azzouz N, Klenk HD. Acylation-mediated membrane

- anchoring of avian influenza virus hemagglutinin is essential for fusion pore formation and virus infectivity. *J Virol* 2005; 79: 6449–58. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15858028> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/79/10/6449>
204. Walker JA, Kawaoka Y. Importance of conserved amino acids at the cleavage site of the haemagglutinin of a virulent avian influenza A virus. *J Gen Virol* 1993; 74: 311–4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8429306>
205. Wan H, Perez DR. Quail carry sialic acid receptors compatible with binding of avian and human influenza viruses. *Virology*. 2005 Dec 1; [Epub ahead of print]. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16325879>
206. Watowich SJ, Skehel JJ, Wiley DC. Crystal structures of influenza virus hemagglutinin in complex with high-affinity receptor analogs. *Structure* 1994; 2: 719–31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7994572>
207. Webster RG, Yakhno MA, Hinshaw VS, Bean WJ, Murti KG. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 1978; 84: 268–78. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=23604>
208. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992; 56: 152–79. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1579108>
209. Webster RG. Influenza: An emerging disease. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 436–41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9716966> - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no3/webster.htm>
210. Webster RG, Hulse DJ. Microbial adaptation and change: avian influenza. *Rev Sci Tech*. 2004; 23: 453–65. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15702713>

211. Webster RG, Peiris M, Chen H, Guan Y. H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 3-8 - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-1024.htm>
212. Whittaker G, Bui M, Helenius A. The role of nuclear import and export in influenza virus infection. *Trends Cell Biol.* 1996 Feb;6(2):67-71. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15157497>
213. WHO 2004/01/22. Avian influenza H5N1 infection in humans: urgent need to eliminate the animal reservoir. [http://www.who.int/csr/don/2004\\_01\\_22/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2004_01_22/en/index.html) - Accessed 31 October 2005.
214. WHO 2004/03/02. Avian influenza A(H5N1)- update 31: Situation (poultry) in Asia: need for a longterm response, comparison with previous outbreaks. [http://www.who.int/csr/don/2004\\_03\\_02/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2004_03_02/en/index.html) - Accessed 31 Octobre 2005.
215. WHO 2004/08/20. Avian influenza: H5N1 detected in pigs in China. [http://www.who.int/csr/don/2004\\_08\\_20/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2004_08_20/en/index.html) - Accessed 30 October 2005.
216. WHO 2004/10/29. Laboratory study of H5N1 viruses in domestic ducks: main findings. [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/labstudy\\_2004\\_10\\_29/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/labstudy_2004_10_29/en) - Accessed 30 October 2005.
217. WHO 2005/08/18. Geographical spread of H5N1 avian influenza in birds - update 28. [http://www.who.int/csr/don/2005\\_08\\_18/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2005_08_18/en/index.html) - Accessed 31 October 2005.
218. WHO 2005. Avian Influenza: Assessing the pandemic threat. <http://www.who.int/csr/disease/influenza/H5N1-9reduit.pdf>
219. WHO 2006. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO.

- [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/en)
220. WHO Global Influenza Program Surveillance Network. Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 1515–21. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16318689> - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no10/05-0644.htm>
221. Widjaja L, Krauss SL, Webby RJ, Xie T, Webster RG. Matrix gene of influenza A viruses isolated from wild aquatic birds: ecology and emergence of influenza A viruses. *J Virol* 2004; 78: 8771–9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15280485> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/16/8771>
222. Witt CJ, Malone JL. A veterinarian's experience of the spring 2004 avian influenza outbreak in Laos. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 143–5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15766647>
223. Wood GW, McCauley JW, Bashiruddin JB, Alexander DJ. Deduced amino acid sequences at the haemagglutinin cleavage site of avian influenza A viruses of H5 and H7 subtypes. *Arch Virol* 1993;130: 209–17. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8503786>
224. Woolcock PR, McFarland MD, Lai S, Chin RP. Enhanced recovery of avian influenza virus isolates by a combination of chicken embryo inoculation methods. *Avian Dis* 2001; 45: 1030–5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11785874>
225. Xu X, Subbarao, Cox NJ, Guo Y. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/Goose/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology* 1999; 261: 15–9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10484749>
226. Xu C, Fan W, Wei R, Zhao H (2004). Isolation and identification of swine influenza recombinant A/Swine/Shandong/1/2003 (H9N2) virus. *Microbes Infect* 6: 919–25. Abstract:

- <http://amedeo.com/lit.php?id=15310468>
227. Yuen KY, Chan PK, Peiris M, et al. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet* 1998; 351: 467-71. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9482437>
228. Zhou N, He S, Zhang T, Zou W, Shu L, Sharp GB, Webster RG. Influenza infection in humans and pigs in southeastern China. *Arch Virol.* 1996;141(3-4):649-61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8645101>
229. Zhou EM, Chan M, Heckert RA, Riva J, Cantin MF. Evaluation of a competitive ELISA for detection of antibodies against avian influenza virus nucleoprotein. *Avian Dis* 1998; 42: 517-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9777152>
230. Zitzow LA, Rowe T, Morken T, Shieh WJ, Zaki S, Katz JM. Pathogenesis of avian influenza A (H5N1) viruses in ferrets. *J Virol.* 2002; 76: 4420-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11932409> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/76/9/4420>

### 第三章 人类流感病毒

Lutz Gürtler

人流感病毒属于正粘病毒科，该科包括甲（A）型、乙（B）型、丙（C）型流感病毒属和 Thogovirus 属。其中，只有甲、乙两型流感病毒对人类具有流行病学意义。

甲型和乙型流感病毒的主要抗原决定簇是血凝素（HA）和神经氨酸酶（NA），它们都是跨膜糖蛋白。基于这些糖蛋白的抗原性，甲型流感又可细分为 16 个 H 亚型（H1-H16）和 9 个 N 亚型（N1-N9）。新分离流感病毒株的完整命名应包括：型别（甲型或乙型）、宿主种类（人则省略）、分离地点、序号、分离年代，最后需在括号内标明 H、N 亚型。例如：A/goose/Guangdong/1/96（H5N1）。

流感病毒通常经空气飞沫传播，随后侵犯宿主的呼吸道粘膜。它们可以穿透呼吸道表面的粘液层，进入呼吸道上皮细胞以及其它类型的细胞。流感病毒复制很快，一般在感染 6 小时后，被感染细胞即可释放出子代病毒。有些病毒蛋白（如融合肽和 NS2），可作为毒素促进病毒的产生。在病毒复制早期常会伴随急性细菌感染，最常见的如：肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、流感嗜血杆菌等。（详细内容参见第四章）

#### 1 结构

流感病毒为有包膜的单链 RNA 病毒，形态具有多形性，平均直径为 120nm。病毒颗粒表面嵌有血凝素和神经氨酸酶刺突。（图 3-1）



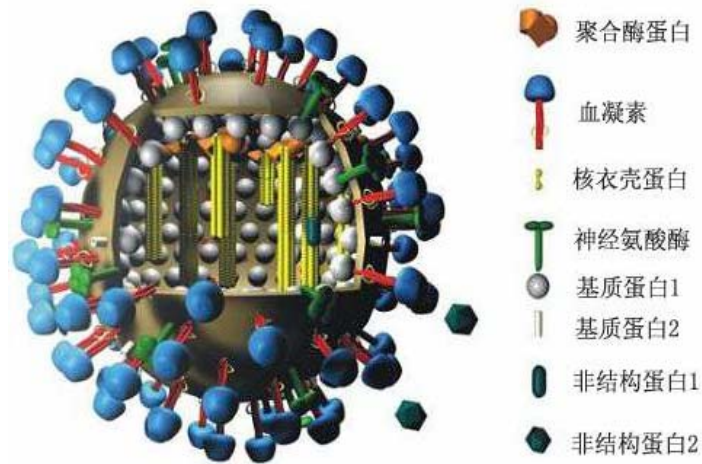


图 3-1. 甲型流感病毒结构图。图片版权归德国Marburg 病毒学研究所Dr. Markus Eickmann所有，经其授权获准使用。 - <http://www.biografix.de>

甲、乙型流感病毒的基因组由 8 个独立节段组成，并由核衣壳蛋白包被。这些节段与核衣壳蛋白一起构成核糖核蛋白复合体（ribonucleoprotein, RNP），其中每一个节段编码一种重要功能蛋白：

1. 聚合酶 B2 蛋白（PB2）
2. 聚合酶 B1 蛋白（PB1）
3. 聚合酶 A 蛋白（PA）
4. 血凝素（HA 或 H）
5. 核衣壳蛋白（NP）
6. 神经氨酸酶（NA 或 N）

7. 基质蛋白（M）： M1 蛋白的主要功能是构成基质；M2 蛋白只存在于甲型流感病毒中，可作为一种离子泵，降低并维持内含体的 pH 值。

8. 非结构蛋白（NS）：关于 NS2 的功能目前还只是一些假说，真正功能尚不清楚。

有活性的 RNA-RNA 聚合酶是由 PB2、PB1 和 PA 构成的，它负责病毒的复制和转录，具有核酸内切酶活性，并与核糖核蛋白复合体（RNP）相连。NS1 和 NS2 蛋白具有调节功能，可促进感染细胞内病毒成分的组装（见图 2-1）。

病毒的包膜为脂质双层膜，来源于病毒感染的细胞。包膜表面具有明显的刺突，主要由 HA、NA 及 M2 蛋白组成。脂质层包裹着由 M1 蛋白组成的基质。

丙型流感病毒的基因组含有 7 个节断，其表面只携带一种糖蛋白。由于丙型流感病毒对人的致病性很低，此处不予详述。

## 1.1 血凝素

血凝素（HA 或 H）是一种糖蛋白，含有 2/3 糖基化位点，分子量约为 76,000。血凝素为跨膜蛋白，其主要部分位于膜外，含有至少 5 个抗原结构域。HA 作为唾液酸（N-乙酰-神经氨酸）的受体，通过膜融合，介导病毒颗粒进入细胞。血凝素是流感病毒的主要抗原，抗原位点有：A、B（含有受体结合位点）、C、D 和 E。抗原位点位于分子头部，而底部包埋于脂质层中。血凝素分子包括茎区和融合基因结构域（fusigenic domain），融合基因结构域为病毒感染细胞时进行膜融合所必需的。在低 pH 条件下，融合肽转入分子内部，HA 分子形成三聚体，几个三聚体共同形成一个融合孔。

抗原位点的显著变异，可降低或抑制中和抗体的结合，由此可能会产生一种新的病毒亚型，并在未免疫的人群中传播。这一现象叫做**抗原漂移（antigenic drift）**。冬天在温带地区，流行性感冒的季节性爆发正是由于抗原漂移造成的。我们可以利用中和抗体对 HA 抗原位点的免疫反应来诊断个体感染，然而在老年人中，这一免疫反应有时也可能是由于新毒株的交叉反应所致。

**抗原转换（antigenic shift）**——也可称为基因重组或简称重组，在病毒 HA 发生转变时出现，如 H1 被 H5 所取代，则可导致嵌合病毒的产生。这通常发生在同时感染两种不同流感病毒的细胞中，是由于复制过程中病毒基因组节段相互交换而引起的。

基因重组现象常见于水禽，尤其是鸭子中。尽管这些禽类在感染后，极少出现相应的症状，但在此后几个月的时间内，它们都会持续地通过粪便向体外排放病毒。

## 1.2 神经氨酸酶

与血凝素相同，神经氨酸酶（NA 或 N）也是一种糖蛋白，存在于病毒颗粒表面并形成突起。它可形成四聚体结构，其平均分子量为 220,000。神经氨酸酶分子跨越脂质层，其主要部分位于胞外，并有一段小的胞质尾巴。

神经氨酸酶具有酶功能，可从细胞表面的 HA 分子、NA 分子、糖蛋白或糖脂上切割唾液酸。此外，神经氨酸酶是一个重要的抗原位点，而且很可能是病毒穿透呼吸道上皮粘液层所必需的。

抗原漂移同样可发生在神经氨酸酶分子中。神经氨酸酶携带有几个重要的氨基酸残基，一旦它们发生突变，可导致病毒对神经氨酸酶抑制剂产生抗性作用。已观察到的突变包括：

- R292K

- H274Y, R152K, E119V

（字母代表氨基酸 [R, 精氨酸; K, 赖氨酸; H, 组氨酸; Y, 酪氨酸; E, 谷氨酸; V, 缬氨酸]：前一个字母代表原来的氨基酸，后一字母表示突变后的氨基酸。）

当神经氨酸酶分子的 292 位精氨酸（R）被赖氨酸（K）取代后，可导致完全的抗性。这一突变与 N 基因上的单核苷酸转变有关，即从 AGA 转变为 AAA。神经氨酸酶分子 292 位氨基酸至关重要，该位置的突变不仅能导致病毒对奥塞米韦的抗性，也可导致对扎那米韦以及其它两种新前体药物的抗性。

## 1.3 M2 蛋白

当病毒颗粒被细胞摄取、进入内涵体时，M2 蛋白的离子通道活性增强，离子涌入病毒颗粒内，导致 pH 值降低。这样就使得血凝素-M1 间的连接键被破坏，病毒颗粒打开，血凝素分子内的融合肽移位，血凝素与内涵体膜的内层融合。于是，核糖核蛋白复合体（RNP）被释放到细胞质中，并转运至细胞核。在核中，RNP 发生解离，病毒 RNA 的合成被启动。

M2 蛋白活性可被金刚烷胺、金刚乙胺以及其它相关物质所抑制。

## 1.4 非结构蛋白（NS）

### NS1 蛋白可能具有的功能

人类 mRNA 分子的 5' 端含有一个 poly-A 尾巴。NS1 蛋白分子量为 26,000，可形成二聚体，抑制含 poly-A 尾巴的 mRNA 分子出核，这样可使病毒 RNA 被优先转运至核糖体，并得以翻译。NS1 蛋白可能还会抑制 mRNA 前体的剪切。另外，NS1 蛋白也可抑制病毒感染细胞中干扰素应答反应，促进完整病毒的生成。

### NS2 蛋白可能具有的功能

NS2 蛋白是一个小分子物质，其分子量为 11,000。在病毒颗粒中，它可能与 M1 蛋白结合而存在。一般认为，它的功能是促进新合成 RNP 的出核，加速病毒产生。

## 2 复制周期

### 2.1 病毒的吸附

通过血凝素分子头部外侧与细胞糖蛋白或糖脂上的唾液酸结合，从而使流感病毒结合到细胞表面。唾液酸与次末端半乳糖的连接键，决定了病毒的宿主特异性，该连接键在禽类中为  $\alpha$  (2-3)，在人类中为  $\alpha$  (2-6)。由于含糖类物质的唾液酸存在于生物体的多种细胞中，而血凝素又具有唾液酸结合能力，因此病毒可感染生物体内多种类型的细胞。

### 2.2 病毒的进入

病毒吸附细胞后，细胞通过网格蛋白受体介导的内吞过程摄入病毒。在细胞内，网格蛋白分子解离，病毒与内涵体融合，形成吞噬体。其内容物通常会随吞噬体内 pH 的逐步降低而释放。

### 2.3 病毒的脱壳

当 pH 降到一定程度时，M2 蛋白发挥活性，终止 pH 下降，并使 HA 融合肽段暴露。如上所述，这可使血凝素与内涵体膜融合，并将核糖核蛋白复合体（RNP）释放到胞质中。离子由内涵体涌入病毒颗粒内，导致不同的病毒蛋白发生解离；M1 蛋白的聚集作用被破坏，RNP 从 M1 蛋白复合体上解离。病毒脱壳过程，可在病毒吸附后 20-30 分钟内完成。

### 2.4 病毒 RNA 和蛋白的合成

核糖核蛋白复合体被转运至细胞核。在细胞核中，聚合酶与病毒 RNA 结合，依赖其内切核酸酶活性切割病毒 RNA，同时启动延伸反应。病毒 RNA 转录产物以 mRNA 形式存在，并与核蛋白限制性结合。两者再被转运至细胞质，在核糖体上合成病毒蛋白。有些病毒蛋白在 mRNA 水平已经被细胞内的酶类拼接，因此翻译后的产物不需再次剪切加工，如 M1 和 NS2 蛋白。有些新合成的病毒蛋白被转运至细胞核，与病毒 RNA 结合形成核糖核蛋白复合体。其它新合成的病毒蛋白，经内质网和高尔基体加工而糖基化。这些修饰过的蛋白转运至细胞膜，与脂质双层结合。当它们在细胞质膜上达到一定浓度后，核糖核蛋白复合体与 M1 蛋白聚合浓缩形成病毒颗粒。最终，这些颗粒排出细胞膜，经神经氨酸酶活性作用而释放。

从病毒进入细胞到产生新的病毒颗粒，平均需要 6 小时。

### 2.5 病毒的释放与感染性

免疫组织学照片显示，产生病毒的细胞主要集中于呼吸道粘液层、消化道及内皮层、心肌和脑中。在每毫升鼻腔分泌物中，含有数以百万的病毒颗粒，因此每 0.1 $\mu$ l 的气溶胶颗粒中，就含有 100 个以上的病毒颗粒。而流感病毒对人体的

感染剂量单位为 100-1000 个颗粒。在病毒感染早期，至少可以从病人血液以及其它体液中检测到病毒。

流感病毒感染性的保持依赖于温度、水中 pH 和盐浓度，以及 UV 照射。在 4℃ 的水中，流感病毒感染力的半衰期是 2-3 周。由于它以脂质双层形态存在，所以在正常环境条件下，其存活时间会更短。

流感病毒易被含醇消毒剂、氯、醛等灭活。在 70℃ 以上加热几秒钟，也可消除其感染力。

(林磊 译)

### 参考文献

1. Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ. Textbook of Influenza. Blackwell Science, Oxford, 1998.

2. Lamb RA, Krug RM. Orthomyxoviridae: The viruses and their Replication. In: Fields Virology fourth edition, Knipe DM, Howley PM eds, Lippincott, Philadelphia 2001, pp 1487-1531

3. Wright PF, Webster RG. Orthomyxoviruses. In: Fields Virology fourth edition, Knipe DM, Howley PM eds, Lippincott, Philadelphia 2001, pp 1533-1579

### 特别参考

Wetherall NT, Trivedi T, Zeller J, Hodges-Savola C, McKimm-Breschkin JL, Zambon M, Hayden FG. Evaluation of neuraminidase enzyme assays using different substrates to measure susceptibility of influenza virus clinical isolates to neuraminidase inhibitors: report of the

neuraminidase inhibitor susceptibility network. J Clin Microbiol 2003;  
41: 742-750.

## 第四章 致病机理与免疫学

Georg Behrens & Matthias Stoll

### 导言

众所周知，流感病毒反复暴发流行，并在所有年龄阶段的人群中引起急性发热呼吸系统疾病。流感的广泛流行主要是由于流感病毒本身具有的二个特点：一是可以通过基因重组或直接传播在禽类或猪宿主中循环，并不定期地传播给人类；二是一旦流感病毒在人群中稳定，其重要的免疫靶标抗原即迅速发生难以预见的变化。

流感病毒是一类可导致高发病率和高死亡率的传染性病毒。作为一种人类病原体，流感病毒早在 16 世纪就已经在人群中传播 (Cox & Kawaoka 1998)，导致发热性呼吸系统疾病，每隔 1~3 年暴发一次地区性流行。此外，由于新的流感病毒株出现时，人群普遍缺乏免疫力，因而导致每个世纪都会暴发几次全球性的流感大流行。这种大流行具有非流行季节暴发、传播快速、导致全球大流行，以及在所有年龄组甚至健康成人中均具有高发病率和高死亡率等特点。由于世界人口的增长和国际旅行的增多，流感的传播更为迅速和广泛。为了更深入地了解这种全球性流行的病毒性传染病，本章主要描述流感的致病机理和流感病毒与机体免疫系统之间的相互作用。

### 1. 致病机制

流感病毒的致病性和毒力决定于下列几个相互关联的因素：

#### a) 宿主方面

- 宿主细胞的病毒受体
- 病毒侵入和宿主细胞中病毒复制所必需的酶类
- 宿主的免疫状态
- 宿主个体和群体对某些病毒抗原表位的特异性免疫
- 免疫系统通过炎症反应有效控制病毒复制从而避免免疫损伤的能力

#### b) 病毒方面



- 病毒结合宿主细胞的能力
- 病毒脱落的能力
- 限制细胞病变以达到病毒复制和宿主抑制之间的平衡
- 在免疫选择的压力下进化并产生可以逃避免疫监视的抗原变异
- 不同动物来源的病毒株重组以逃避宿主的免疫监视
- 调节免疫应答以抑制宿主的防御反应

### 1. 1 病毒侵入：病毒颗粒如何进入宿主？

流感病毒主要通过气溶胶和飞沫在人与人之间传播，然后经呼吸道进入人体。人肺中大约有 3 亿个终末囊泡，称为肺泡，其功能是进行血液与吸入空气间的气体交换。肺泡的总吸收面积达  $80\sim 120\text{ m}^2$ ，在静止时换气率约 6L/分钟，大量的外来颗粒和雾化飞沫由此进入肺部，其中可能含有病毒。外来颗粒的沉积情况取决于它们的大小：尺寸非常小的颗粒不会被肺泡或支气管吸收，只有直径为  $1\sim 4\mu\text{m}$  的飞沫才可以沉积在小气道，而更大的颗粒则不能进入呼吸系统或沉积于上呼吸道（图 4-1 A）。

包括机械性屏障在内的宿主防御机制能够防止呼吸道感染。呼吸道被粘膜纤毛层所覆盖，纤毛层由纤毛细胞、粘液分泌细胞和腺上皮细胞共同组成（图 4-1 B）。鼻腔或者上呼吸道中的外来颗粒都会被粘液截留，带至咽喉并被吞咽。下呼吸道的外来颗粒则被上皮细胞的纤毛运动排出。在缺乏纤毛或粘液的肺泡中，巨噬细胞负责清除外来颗粒。

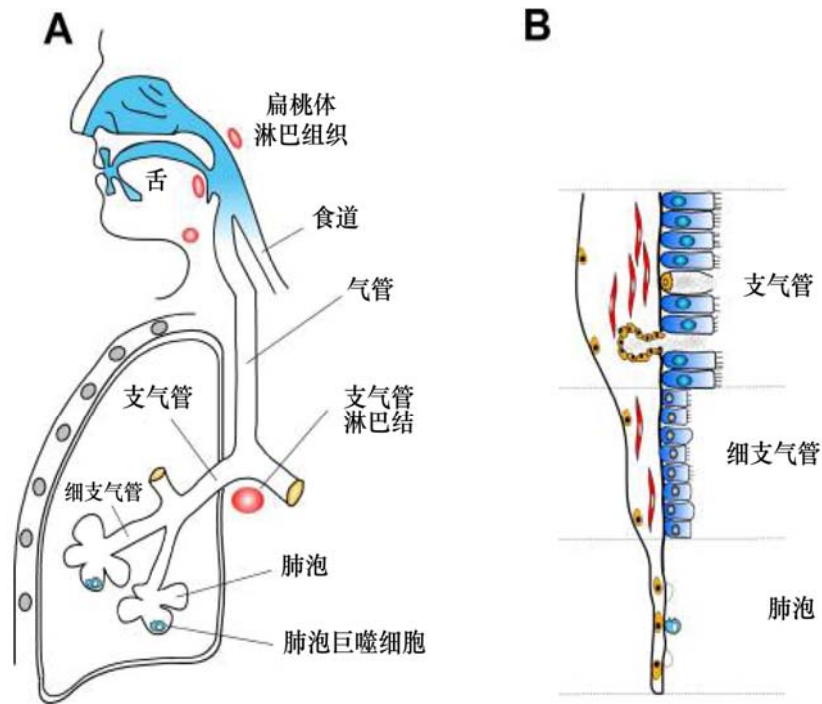


图 4-1. 流感病毒进入呼吸道的位点

(A) 图中所示为人呼吸道的解剖结构与功能。流感病毒首先感染上呼吸道和支气管、细支气管的纤毛细胞，可导致气管炎、支气管炎、细支气管炎和支气管肺炎等临床症状。沿呼吸道存在的淋巴结首先应激产生免疫应答。

(B) 呼吸道上皮组织包括粘液层（支气管）、纤毛细胞（支气管和细支气管）和巨噬细胞（肺泡），以抵御入侵的病原体。

## 1. 2 流感病毒与宿主细胞的结合

流感病毒的主要靶细胞是呼吸道柱状上皮细胞。这些细胞的表面若存在功能性病毒受体，则易于被流感病毒感染。因此，细胞受体是病毒亲嗜性的决定因素。但这种简单的模式并不能完全解释流感病毒的亲嗜性，因为流感病毒受体分布的细胞远较病毒亲嗜性细胞的种类多。

在流感病毒感染过程中，血凝素（hemagglutinin, HA）的受体结合位点是其结合到宿主细胞表面半乳糖链接的唾液酸受体上所必需的（Weis 1988）。血凝素结合位点的一些区段在不同亚型流感病毒中是高度保守的（Daniels 1984）。宿主可通过以下几种机制阻碍病毒的结合：（1）特异性免疫应答和分泌特异性 IgA 抗体；（2）非特异机制，例如粘膜纤毛清除或产生可以结合病毒血凝素的粘

蛋白；(3) 宿主受体（唾液酸）基因的多样化。宿主的病毒受体在同一物种中是高度保守的，但禽和人的流感病毒受体则有差别（Matrosovich 2000）。这使得禽流感病毒必须在血凝素受体结合位点上突变才得以实现跨种（从鸟至人）传播。猪同时具有唾液酸种类的多态性及其与人和鸟半乳糖链接的多态性。因此，禽流感病毒和人流感病毒均可感染猪，并在共感染得细胞中进行抗原编码基因的重组。最近的研究显示，人和鸟中的某种禽流感病毒可结合不同的靶细胞（Matrosovich 2004）。这可以解释九十年代末以来检测到的一些禽流感病毒直接从家禽传播到人的病例。H5N1 和其它亚型的甲型流感病毒可结合人眼中的受体（Olofson 2005）。

流感病毒从宿主细胞的结合位点上裂解下来是与病毒和受体的结合同样重要的过程。裂解是病毒神经氨酸酶(neuraminidase, NA)作用的结果(Chen 1998)。流感病毒的毒力依赖于神经氨酸酶与血凝素的协调。血凝素发生突变的烈性病毒需要在神经氨酸酶上发生相应突变以维持病毒的毒力（Baigent & McCauley 2003, Hulse 2004）。因此，研究发现，对神经氨酸抑制剂具有抵抗性的流感病毒其活性和毒力均有所降低（Yen 2005）。

一旦病毒通过与细胞受体的相互作用而粘附在细胞膜上，包膜和病毒形成的复合物就会被细胞内吞。H<sup>+</sup>离子进入晚期内吞泡中降低泡内 pH 值。经酸化作用，病毒血凝素构象重排并形成促融合蛋白（fusiogenic protein）。血凝素的环区卷曲螺旋，使病毒和内涵体膜相互靠近并最终发生融合。为使病毒 RNA 释放至细胞质中，酸性内涵体中的 H<sup>+</sup>离子利用 M2 离子通道进入病毒颗粒内部。导致病毒和内涵体膜融合后，病毒 RNA 在核蛋白复合体和 M1 蛋白的低 pH 敏感性结合被破坏，进而从 M1 蛋白上分离出来。病毒 RNA 随后以 ATP 依赖的方式进入细胞核进行转录和翻译（Flint 2004）。

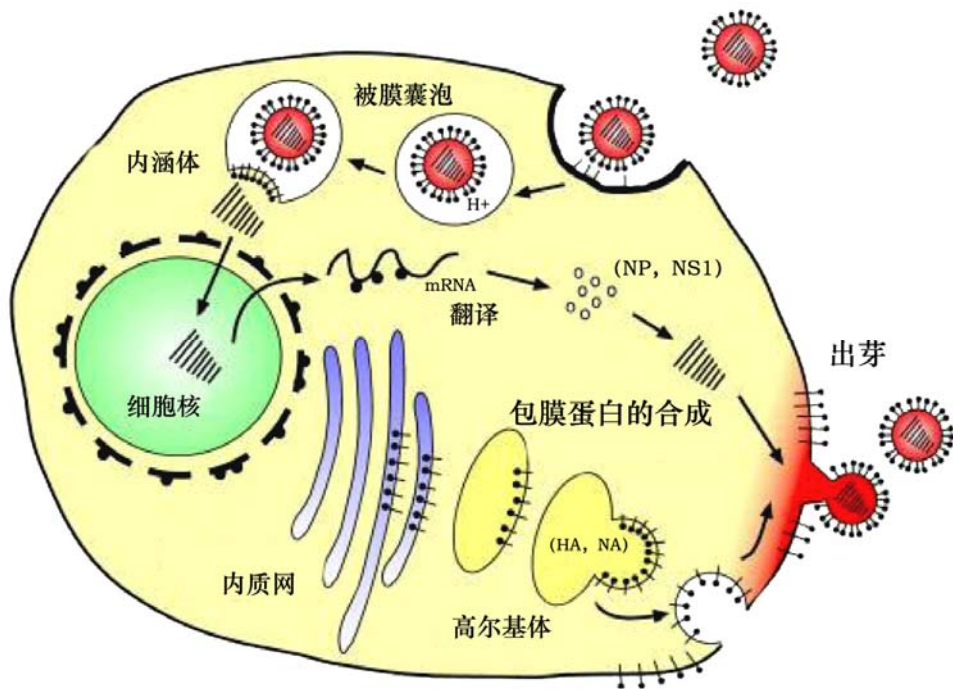


图4-2：甲型流感病毒的复制周期：病毒结合细胞，与内涵体膜融合，释放病毒RNA，RNA在细胞核内复制，合成结构蛋白和包膜蛋白，出芽并释放具有感染性的成熟病毒颗粒（改自 Cox & Kawaoka 1997）

### 1. 3 流感病毒在宿主中的主要复制部位？

病毒蛋白需要经过宿主细胞蛋白酶的裂解以形成成熟的病毒颗粒。因此，受体以外的因素决定了病毒复制的部位。在人体中，流感病毒的复制一般局限于上、下呼吸道上皮细胞。这是由于支气管上皮组织中的非纤毛克拉拉细胞可表达丝氨酸蛋白酶或克拉拉纤溶酶。纤溶酶可裂解细胞外颗粒的血凝素蛋白多肽链前体HA0，从而活化病毒颗粒的血凝素使其具有感染性。但一些烈性禽流感病毒株在血凝素裂解位点上存在插入突变，导致其可受普遍存在的蛋白酶作用。这可能导致了病毒亲嗜性的变化并在动物和人体中出现额外的病毒复制部位（Gamblin 2004）。禽流感病毒（H5N1）在人体中的组织亲嗜性尚难确定。在一个病例中，通过RT-PCR在肺、肠、脾等组织中检测出病毒RNA，但未检出病毒的正链RNA，表明病毒复制可能仅发生在肺和肠组织中（Uirasertkul 2005）。因此，H5N1病毒在人体中的复制可能仅发生于呼吸道和肠道，而与流感病毒在其它哺乳动物和禽类中的弥散性感染有所不同。

#### 1. 4 流感病毒在宿主中的传播

流感病毒一旦感染呼吸道上皮细胞，几小时即可开始复制并产生无数子代病毒颗粒。具有感染性的病毒颗粒从上皮细胞膜的顶端通过出芽方式排至呼吸道中。相邻细胞间的快速感染则有利于病毒在肺内的传播。

自然突变导致的血凝素裂解位点的变异可显著影响流感病毒的亲嗜性和致病性。其结果是突变病毒可被其它细胞的蛋白酶识别。这可以解释为什么香港许多禽流感（H5N1）患者出现胃肠道、肝、肾和呼吸系统的症状，以及为什么分离自患者的流感病毒对小鼠具有神经毒性（Park 2002）。但目前尚不清楚这些症状是否由血液传播所引起，或者是否意味着病毒可以不经肺部侵入宿主。但神经氨酸酶的突变可部分解释流感病毒泛嗜性的原因。例如，实验室来源的首株人流感病毒分离株变异体 WSN/33，它与大多数人流感病毒不同，可在缺少胰蛋白酶的情况下进行体外复制。该病毒具有一处复合读码框架的缺失，移去了神经氨酸酶 46 残基处的糖基化位点，导致了神经氨酸酶可以结合并“扣留”纤溶酶原，从而使得这种普遍存在的蛋白酶前体在局部高度聚集，促进了血凝素的裂解。这些研究发现揭示了甲型流感病毒及其它病毒对人体产生高致病性的一种机制（Goto & Kawaoka 1998）。有趣的是，对于基因重建的 1918 年西班牙流感病毒（H1N1）的研究则显示，另外一种神经氨酸酶介导血凝素裂解机制可能与病毒的复制和毒力相关（Tumpey 2005）。

最终，动物实验的结果表明，病毒结合位点决定了流感病毒在宿主中的传播途径。例如神经嗜性的 NWS 株腹腔接种时通过血液传播至脑，鼻腔接种时则通过感觉神经元传至中央神经系统（Flint 2004）。后一途径一项针对香港 H5N1 病毒株的研究相吻合（Park 2002）。

#### 1. 5 初期宿主的免疫应答

尽管流感是常见病，但目前对人患流感时体内特异的炎症模式或免疫反应的调节，以及细胞病变的发病机制并不完全清楚。由于禽流感是动物流行病，因此大多数研究资料来自动物实验。而动物模型的病理生理学与人体则差异很大。

##### 1. 5. 1 细胞因子与发热

问题的核心是主要局限于呼吸道的感染为何会产生剧烈的全身症状。同许多其它传染病一样,天然性和获得性免疫反应引起了主要的临床症状和体征并在最终控制了病毒感染。这些免疫机制可导致局部和全身效应。病毒感染后,呼吸粘膜上皮细胞和免疫细胞迅速产生的细胞因子可以激活免疫细胞。趋化因子是细胞因子的一个亚群,可作为免疫细胞的化学诱导物。例如,流感病毒感染可诱导人浆细胞和骨髓树突细胞分泌趋化因子作为不同免疫因子的协同诱导物(Piqueras 2005, Schmitz 2005)。作为最重要的内源性致热原,并涉及到发热这一病理过程的细胞因子包括白介素-1 $\alpha/\beta$  (IL-1 $\alpha/\beta$ )、肿瘤坏死因子 $\alpha/\beta$  (TNF $\alpha/\beta$ )、白介素-6 (IL-6)、干扰素 $\alpha/\gamma$  (IFN $\alpha/\gamma$ ),、白介素-8 (IL-8) 和巨噬细胞炎性蛋白-1 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein, MIP-1 $\alpha$ )。

在实验接种或者自然感染者的鼻咽洗液中大多可检测到这些细胞因子 (Brydon 2005)。表明这些局部或者全身产生的细胞因子随着外源性致热原 (例如流感病毒) 和巨噬细胞的相互作用到达了中枢神经系统。下丘脑中一小块被作器官血管丛终板 (Organum vasculosum laminae terminalis) 的区域是一个弱化的血脑屏障,能被致热原通过。在此,致热原可通过剂量依赖方式诱导前列腺素特别是前列腺素E2的生成。这些介质可提高体温调节系统的设定点,触发复合温度调节机制以提高体温。事实上,在流感病毒感染过程中,细胞因子与疾病的严重程度并不相关,这一现象表明细胞因子的多效性和信号传导通路间的相互干扰。

细胞因子的相关性在不同的流感病毒株或宿主个体间可能是不同的。1997年香港禽流感病毒 H5N1 株感染显示非结构蛋白基因表达产物可以诱导炎性细胞因子 (特别是 TNF $\alpha$ ) (Cheung 2002, Lipatov 2005)。有关确定其它能诱导细胞因子释放的病毒成分的研究显示,来自感染小鼠肺脏或流感病毒合成的双链 RNA 被注射到小鼠脑室后可以成为致热原。当感染细胞死亡时这种双链 RNA 被释放出来,并刺激细胞因子的产生。最近的研究指出,双链 RNA 敏感的 Toll 相关受体 (Toll-like receptor, TLR) 3 在肺上皮细胞中表达并且促使呼吸道上皮细胞产生免疫应答 (Guillot 2005, Akira & Takeda 2004)。有趣的是,当人启动抗流感病毒的天然性免疫应答时,相对 TLR3 介导的双链 RNA 而言,似乎更依赖 TLR8 介导的正链单股 RNA。病毒颗粒也可作为致热原,因为去除 RNA 但包括

病毒脂层、血凝素和神经氨酸酶的病毒小体也能够诱导发热。但单独的病毒成分却不能成为致热原，这似乎说明为什么全病毒疫苗可产生类似流感的病症而亚单位疫苗却不能产生的原因（Brydon 2005）。

### 1. 5. 2 呼吸道症状

支气管系统的高反应性（Utell 1980, Little 1978），小气道的大部分堵塞（Hall 1976）和扩散能力削弱（Homer 1973）是流感病毒感染的常见现象。高反应性和支气管堵塞可长期持续，特别是在变态反应性疾病中（Kondo & Abe 1991），而且可导致炎性细胞因子的产生，后者能干扰对雾化变应原的耐受（Tsitoura 2000）。

在人流感病毒感染过程中，严重的肺泡炎症在病毒性肺炎早期极少发生。通常上下呼吸道由于缺少纤毛细胞而出现长期炎症，导致透明膜充血或出血以及中性粒细胞和单核细胞的浸润（Yeldandi & Colby 1994）。

相对于早期病毒性肺炎而言，细菌的二次感染在人流感病程中较为常见，是导致老年人高发病率和死亡率的原因。几个可引起呼吸道细菌感染风险增加的因素已经明确，主要包括上皮细胞屏障破坏造成的柱状上皮细胞损伤，粘膜纤毛清除率的下降（Levandovski 1985），细菌粘附能力的增强（McCullers 2002）和中性粒细胞的功能性变化（Abramson 1986, Cassidy 1988）。

### 1. 5. 3 细胞病变效应

人流感病毒在呼吸道柱状上皮细胞可导致复杂的细胞病变效应，造成急性肺病和气管炎。流感病毒在呼吸道的感染和复制可造成宿主细胞蛋白合成下调而引起细胞损伤（Katze 1986, Sanz-Esquerro 1995）和细胞凋亡（Wiley 2001a）。细胞凋亡，亦称程序性细胞死亡，是一系列特定的细胞活动，最终可有效地清除细胞及其内含物。细胞凋亡可被不同的机制触发，其特征为一些形态学的变化，包括细胞骨架破裂，细胞质和染色体聚集，线粒体功能丧失，DNA 断裂，并最终形成称作凋亡小体（apoptotic bodies）的小包膜颗粒，后者可被吞噬细胞如巨噬细胞和树突状细胞清除。

流感病毒诱导的细胞凋亡是由 Fas 途径和 Fas 非依赖信号通路所介导的，例

如通过蛋白激酶 R 启动半胱天冬酶的级联反应，形成 FADD/半胱天冬酶-8 (protein kinase R, PKR) 复合物。PKR 是调节许多细胞凋亡程序的关键成分，它由 IFN 诱导并由 dsDNA 激活 (Brydon 2005)。细胞凋亡的第三条途径是流感病毒借助其神经氨酸酶激活转化生长因子 TGF- $\beta$  (Transforming growth factor, TGF)。神经氨酸酶可以通过促裂解作用激活细胞表面的 TGF- $\beta$ 。TGF- $\beta$  启动信号级联放大反应导致 c-Jun 氨基端激酶 (JNK) 或应激活化蛋白激酶 (Stress activated protein kinase, SAPK) 激活，引起转录因子活化和前凋亡基因表达上调。这一途径与 PB1 蛋白上读码框突变 (Chen 2001) 的小蛋白一起影响线粒体膜的稳定性，涉及到淋巴细胞的凋亡过程，这可解释在急性感染中观察到的淋巴细胞减少的原因。

流感病毒感染后引起的肺组织损伤与下列因素有关：细胞氧化应激，活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 的产生和一氧化氮合成酶-2 (Nitric oxide synthetase-2) 诱导的具有细胞毒性的氮中间产物。但抗氧化剂在体外对细支气管细胞凋亡的影响很小。

#### 1. 5. 4 H5N1 感染的症状

禽流感是由甲型流感病毒感染引起的禽类传染病。迄今为止，所有已暴发的高致病性禽流感都是由甲型流感病毒 H5 和 H7 亚型引起的。目前尚不清楚人体中的禽流感病毒 (H5N1) 是否引起前文所述的细胞病变效应。目前仅对少数急性或致死性的病例开展了相关研究。但是人感染禽流感后可能不发病或症状较轻 (Buxton Bridges 2000, Katz 1999)，发病率也可能被低估了。

人感染 H5N1 禽流感病毒的常见始发症状是高热，以及在住院病人中出现的肺炎、咽炎、肠炎、结膜炎和急性脑炎 (Yuen 1998, Tran 2004, Yuen & Wong 2005)。患早期肺炎的成年流感患者通常会发展为类似急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的病症。据报道，在 H5N1 禽流感死亡病例中，存在明显的活性噬血细胞综合征 (reactive hemophagocytic syndrome)。除弥漫性肺泡损伤和间质性纤维化这些肺部病变之外，还存在着广泛性肝中心小叶坏死、急性肾小管坏死和淋巴衰竭等肺外疾病 (To 2001)，尽管通过病毒分离、逆转录 PCR 和免疫染色等方法并未检测到病毒，但可溶性 IL-2 受体、IL-6 和 IFN- $\gamma$  的含量增加。此外，在其他



H5N1 感染病例的肺组织中检测到 TNF- $\alpha$  mRNA (Uiprasertkul 2005)。

与人流感病毒 H1N1 (Hayden 1998) 相比, 1997 香港 H5N1 病毒株被认为可以诱导包括 IL-10、IFN $\beta$ 、RANTES (Regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted,)、IL-6 及 NS 基因产物特异性 TNF- $\alpha$  (Cheung 2002, Lipatov 2005, Chan 2005) 在内的炎性细胞因子。研究推测, 在 H5N1 亚型禽流感病毒引起的致死性感染中, 病毒复制起始于呼吸道, 引发高细胞因子血症 (Hypercytokinemia) 和噬血细胞综合征, 可能是 H5N1 亚型禽流感病毒的发病机制与常见的人流感病毒亚型不同 (To 2001)。在 H5N1 亚型禽流感病毒引起的致死性感染病例中未发现细菌二次感染 (To 2001)。这个观察结果可能偏向于那些早期死亡的重症病例, 其假设并未考虑到二次感染的问题。

## 1. 6 流感病毒如何传播

呼吸道传播依赖于含有病毒的空气颗粒和气溶胶。气溶胶是在说话和正常呼吸的过程中产生的, 气溶胶从鼻腔排出时需要打喷嚏, 如果被感染则可以产生更多的鼻腔分泌物。一个喷嚏可以产生 20000 个左右的小液滴, 相当于几百次咳嗽的排出量。最大的液滴飞行几米就会落到地面。剩余液滴的移动距离依尺寸大小而定。直径 1~4  $\mu\text{m}$  的液滴可以悬浮很长时间并能够到达人体的下呼吸道。在志愿者中的流感病毒传播试验显示, 经支气管吸入小液滴优于经上呼吸道或结膜的接种大液滴 (Alford 1966, Little 1979, Bridges2003)。如果病毒在下呼吸道感染的早期进行复制, 则可以产生具有含有更多病毒且更具传染性的小液滴, 因为此时特异性的免疫监视尚未建立。H5N1 由动物到人的传播可能通过不同途径发生于与染病家禽的直接 (或间接) 接触中。

高发病率必然导致甲型流感病毒的暴发流行。欧洲和北美洲的冬季流感流行主要是由于长时间在通气不畅的房间内密切接触病毒所致。流感病毒的适应性强, 流感病毒可在相对低的温度和湿度环境下生存 (Hemmes 1960)。禽流感病毒 (H5N1) 可能并不适于飞沫传播, 它的潜伏期更长 (Chotpitayasunondh 2005), 理论上流行时不会有很多人同时发病。病毒在肠道复制和致病较呼吸道症状的出现早一周 (Apisarnthanarak 2004), 这使得特异性免疫反应起始于传染性飞沫散布之前。这导致禽流感病毒在鼻咽部位的复制要少于人流感病毒 (Peiris

2004), 但病毒复制的时间则延长了 (Beigel 2005)。迄今为止, H5N1 在人与人之间的传播还极为少见 (Buxton Bridges 20000, Ungchusak 2005) 且效率很低。总之, 禽流感病毒 (H5N1) 可能需要多条途径进行人与人之间的传播来最终达到足够产生全球性大流行的感染率。

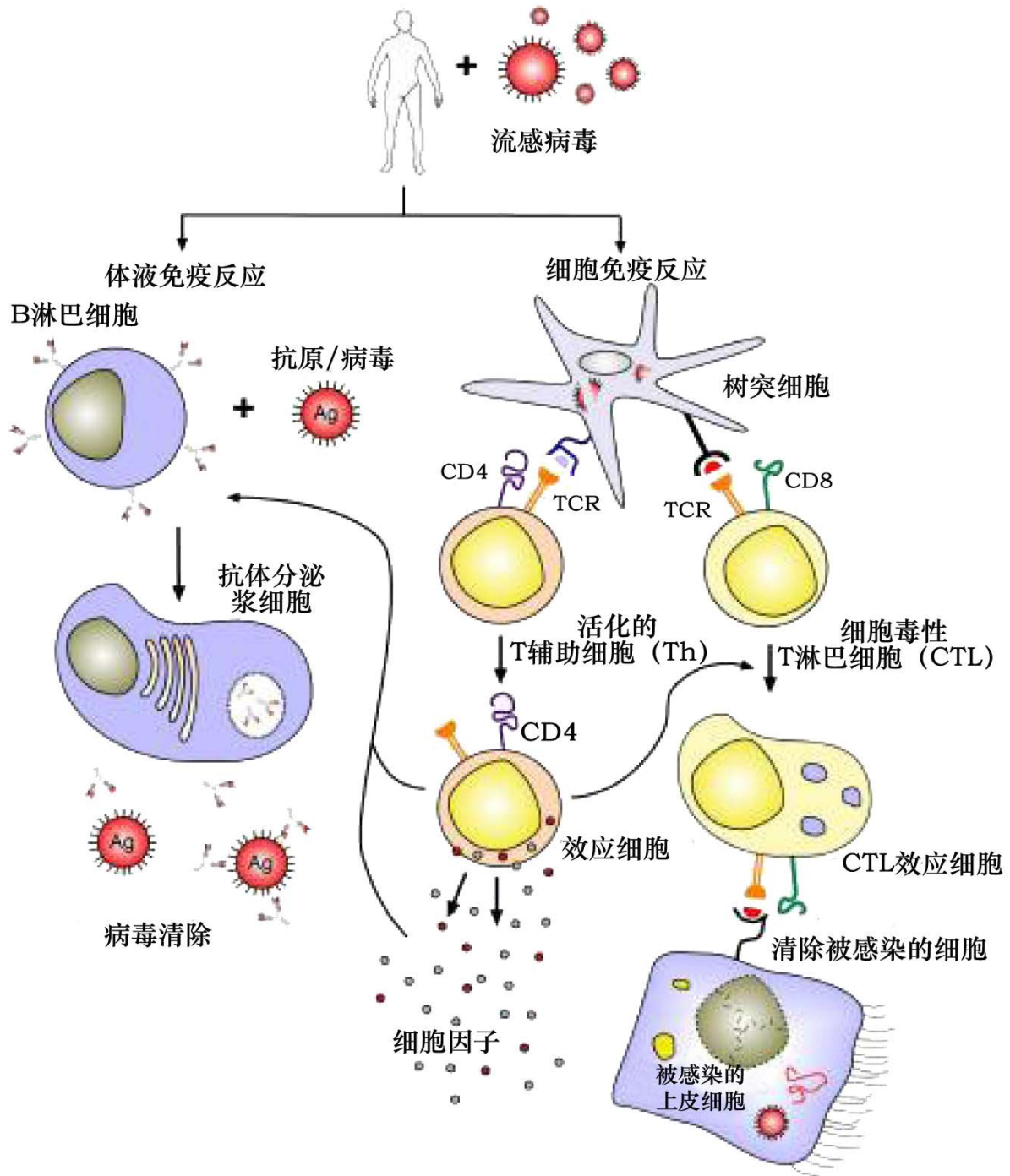


图 4-3 抗流感病毒感染的体液和细胞免疫应答:免疫系统的体液免疫部分由 B 淋巴细胞构成 (图左), 其通过与流感病毒相互作用分化为抗体分泌型浆细胞。细胞应答 (图右) 开始于树突细胞通过 MHC I (黑色) 和 II (蓝色) 分子介导的抗原递呈, 及其导致的抗原特异 T 细胞 (CD4 和 CD8) 的激活、增殖和分化。这些效应细胞可直接释放细胞因子或在识别特异抗原后产生细胞毒性 (改编自 Flint 2004)。细胞免疫记忆和流感病毒诱导的不同形式的天然免疫未在本图中显示。

## 2 免疫学

流感病毒感染宿主并启动一连串的免疫反应, 以激活各部分免疫防御系统。最初的自然免疫反应包括细胞因子的释放 ( $\text{IFN } \alpha / \beta$ )、中性粒细胞或自然杀伤细胞的汇集 (Mandelboim 2001, Achdount 2003) 与活化, 这是造成临床症状急性发作的主要原因 (见上文)。天然免疫是产生获得性免疫反应的必要先决条件, 首先是因为天然免疫应答限制了早期病毒复制和抗原负载, 其次是因为获得性免疫应答的抗原特异性淋巴细胞需要被天然免疫细胞在与病毒相互作用中产生的共刺激分子所激活 (图 4-3)。但流感病毒以编码非结构蛋白 1 (NS1) 的机制来逃避并抵抗  $\text{IFN } \alpha / \beta$  反应。非结构蛋白 NS1 似乎可隐藏病毒双链 RNA, 避免了可触发  $\text{IFN } \alpha / \beta$  释放的细胞传感器识别这种危险的双链 RNA 分子 (Garcia-Sastre 1998, Garcia-Sastre 2005)。

获得性免疫应答需要几天时间才能发挥效果, 但它有助于限制病毒的扩散和清除病毒, 最终建立免疫记忆, 产生对同亚型病毒再次感染的长期抵抗力。很少观察到流感病毒各亚型之间的交叉保护, 并且感染也基本上不会诱导甲型和乙型流感病毒间的交叉保护 (Treanor 2005)。流感病毒感染可诱导全身和局部的抗体 (体液免疫), 以及细胞毒性 T 细胞反应 (细胞免疫), 这两种免疫应答对于从急性感染中康复和抵御再次感染产生都是重要的。

### 2. 1 体液免疫反应

抗体 (例如 IgG, IgA) 是由 B 细胞分化而来的浆细胞产生的, B 细胞识别抗原并在 CD4T 细胞和 T 细胞衍生的细胞因子刺激下分化形成浆细胞 (图 4-3)。与 T 细胞不同, B 细胞可通过自身的天然形态识别抗原。其抗原特异性源自骨髓细

胞免疫球蛋白高变区编码基因的随机重排。早期 B 细胞进入循环并借助血液和淋巴液到达组织和淋巴器官。早期 B 细胞在淋巴结借助表面抗体识别同类抗原，被活化而由合成 IgM 转变为合成 IgG（类别转换），增加了免疫球蛋白的特异性和亲和力，并且在细胞因子存在的情况下继续分化为浆细胞或记忆 B 细胞。当 IgA 经上呼吸道粘膜上皮细胞转运，中和并清除病毒感染时，IgG 主要在下呼吸道产生免疫保护（Palladino 1995, Renegar 2004）。

流感病毒感染导致抗流感病毒糖蛋白血凝素、神经氨酸酶、以及基质蛋白和核蛋白抗体的全面产生。例如，血凝素特异性免疫球蛋白在病毒接种后 2 周内产生，包括 IgM、IgA 和 IgG。抗神经氨酸酶抗体与血凝素抑制抗体平行产生。感染后 4~7 周内抗体滴度达到顶峰，随后稳定下降。病毒感染几年后，即使不再接触病毒仍可在体内检测到该抗体。血凝素抗体可保护机体不受同类病毒的感染，诱导产生中和抗体是疫苗免疫的主要目标之一。血清中血凝素抑制抗体滴度在 1:40 以上或中和抗体滴度在 1:8 以上时即可抵御感染。但对老年人的全面保护则需要更高的抗体水平（Treanor 2005）。

相对于血凝素抗体，神经氨酸酶抗体并不能中和病毒的感染，但可以有效地抑制感染细胞释放病毒（Johansson 1989）。这是因为神经氨酸酶可裂解细胞的病毒受体唾液酸残基使新形成的颗粒被粘附。神经氨酸酶抗体可以减少病毒脱落，保护机体不发病或减轻病症。甲型流感病毒 M2 蛋白的抗体具有同样的效果，虽然通常针对内部抗原的抗体没有中和活性，消失也更快，并且似乎在保护性免疫中不具有重要作用。

针对流感病毒的粘膜免疫应答以鼻腔分泌物为基准，其特点是存在抗血凝素的 IgA 和 IgG1 抗体。粘膜抗血凝素的 IgG 抗体水平与血清抗体水平相关，表明来自全身组织的 IgG 抗体可以被动扩散，然而 IgA 是局部产生的。研究显示，对再次感染的抵抗力主要是由局部产生的血凝素特异性 IgA 抗体介导的，虽然 IgG 抗体可能发挥一定作用（Renegar 2004）。不论是粘膜抗体还是全身抗体，在足够的抗体水平下均可单独产生免疫保护，而且当血清和鼻腔中同时存在抗体时可以产生最佳的免疫保护（Treanor 2005）。抗体主要通过补体及抗体依赖的细胞毒作用来中和病毒，或通过裂解感染细胞以发挥对流感病毒的免疫效应。

从急性病毒感染中康复并清除了病毒的宿主通常可对同一种病毒产生免疫

记忆。然而，尽管存在有效的免疫，但急性感染仍能反复发生。这是因为流感病毒具有结构上的可塑性，它能耐受结构蛋白上大量的氨基酸置换而不丧失感染性。例如，介导病毒进入靶细胞的唾液酸受体结合蛋白血凝素，它暴露于持续的免疫压力之下，是中和抗体和细胞毒性 T 细胞的主要靶标。免疫选择或差别，造成了复制错误，导致血凝素蛋白的轻度变异，从而使病毒得以逃脱人体的免疫监视（抗原漂移）。这些变化是流感病毒每年暴发流行而且需要在每次流行前制造新疫苗的原因。与此相反，抗原转变主要改变的是病毒颗粒表面的蛋白，这是由于基因组或基因组各节段重组或重排，导致其编码出全新的表面蛋白。抗原漂移可能在每一次基因组复制时发生，而抗原转变则仅在某种情况下发生，发生的几率极小但可能是流感大流行的原因。

## 2. 2 细胞免疫反应

研究显示，树突细胞在启动和促进 T 淋巴细胞反应过程中具有非常重要的作用。树突细胞是由骨髓淋巴细胞衍生的，数量少但分布广，专门摄取、运输、处理和递呈抗原至 T 细胞（图 4-3）。其基本递呈过程是肺部树突细胞俘获来自病原体的抗原，活化后转移至局部引流淋巴结（Legge & Braciale 2003）。抗原被处理成可被主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex, MHC）分子递呈的肽段，固定于树突细胞的表面（Silver 1992）。在淋巴结，成熟的树突细胞可有效活化具有抗原肽-MHC 复合物受体的 T 细胞，产生特异性的免疫应答。（Shortman & Liu 2002）。被病毒感染的树突细胞产生的内源性抗原经处理，通过 MHC I 类分子递呈给 CD8 T 细胞。外源性抗原通过 MHC II 类分子递呈给 CD4 T 淋巴细胞。树突细胞可选择递呈摄取自感染细胞的抗原或传递抗原至淋巴结中的邻近树突细胞，后者可启动被称为交叉递呈的 CD8 T 细胞反应（Belz 2004, Heath 2004, Wilson 2006）。新被激活的 T 细胞具有效应细胞的功能并迁移至肺内感染部位，以发挥其抗病毒作用（图 4-3）。

自病毒感染中康复后，免疫记忆状态可保证个体能抵御同一种病原体的再次感染（Ahmed & Gray 1996）。记忆细胞是由不断增加的抗原特异性 T 细胞所维持的。相对于早期 T 细胞，抗原特异性 T 细胞对共刺激信号的需求减少，而且对抗原的再次刺激反应更快（Woodland & Scott 2005）。也有证据支持人肺内流感病

毒特异性 CD8 记忆 T 细胞的位点特异积累, 以便对肺部的再次感染产生直接免疫保护 (de Bree 2005, Wiley 2001b)。在流感病毒感染中, 相对于初次感染时病毒的清除主要依赖 CD8 T 淋巴细胞, 免疫记忆反应则有 CD4 和 CD8 两种 T 细胞亚群的参与, 并能抑制流感病毒的再次感染 (Woodland 2003)。

流感病毒感染的另一个重要免疫学特征是 CD4 T 淋巴细胞辅助 B 淋巴细胞产生血凝素抗体和神经氨酸酶抗体 (图 4-3)。CD4 T 辅助细胞识别血凝素上的抗原表位与识别抗体不同。T 辅助细胞 (Th) 可促进病毒特异的 CD8 细胞毒性 T 淋巴细胞的产生。Th 细胞可根据其产生的细胞因子类型进一步细分为 Th1 和 Th2 细胞。在鼠中, 流感病毒感染可诱导强烈的 Th1 反应, 但也能在感染动物的肺内检测到 Th2 细胞因子 (IL-4、IL-5、IL-6、IL-10)。一些证据显示, 保护性免疫是由 Th1 类应答所介导的。在流感病毒感染中, CD8 细胞毒性 T 淋巴细胞 (CD8 cytotoxic T lymphocytes, CTL) 识别递呈在 MHC I 类分子上的血凝素 HA 蛋白或内部蛋白 M、NP、PB2 的抗原表位 (Treanor 2005)。依据其抗原特异性, CTL 即可以呈亚型特异性, 也可以识别内部抗原, 广泛地与甲型流感病毒相互作用。采用过继转移 CTL 的动物实验展示了病毒感染过程中 CTL 的增值和迁移方式 (Lawrence & Braciale 2004, Lawrence 2005) 和它们在介导感染恢复中的能力。但它们对流感的抑制作用并非完全必要。

人体中内的 T 淋巴细胞反应在感染后 14 天达到顶峰, 流感病毒特异的 CTL 水平与成人中病毒复制的持续时间和水平降低有关。记忆 CD8 T 细胞可减轻疾病程度并促进再次感染的恢复。最近的动物实验显示, 肺部的回忆性免疫应答包含几个暂时的、解剖学上独立的阶段。第一阶段是由存在于肺气道中的记忆 T 细胞介导的 (Woodland & Radall 2004)。更为重要的是, 这些细胞可在病毒量非常低的时候就对感染的早期征象有所反应。当记忆 T 细胞因由于气道环境的限制而不能在对感染的反应中增殖时, 它们可产生细胞因子限制病毒复制和在上皮细胞中传播。回忆应答的第二阶段是由产生的免疫反应的数天中迅速补充到气道内的记忆 T 细胞所介导的。第三阶段是在二级淋巴组织出现的、因抗原刺激而增殖的记忆 T 细胞所介导的。这些记忆细胞在感染 5 天后于淋巴组织中增殖数天并仅补充至肺气道 (Woodland & Randall 2004)。尚不清楚这些产生于动物实验的复合模型能否适用于人体。但它有利于更好地理解流感中免疫反应的类型和有效记忆

T 细胞反应的产生与维持，进而利于改进未来的疫苗策略。

### 3 结论

在上文中，我们详细论述了流感病毒感染导致急性发热性呼吸系统疾病的全过程。其中病毒在肺内快速复制和扩散、导致局部和全身的炎症细胞因子释放是致病机制中最为明显的特征。上述事件与获得性免疫应答均有助于减少病毒载量、清除病毒和促进疾病康复。由感染或者接种引起的体液和细胞免疫应答可以向个体或群体提供针对相关病毒株的长效免疫保护。但流感病毒可通过抗原漂移和抗原转变的方式来减弱感染或者疫苗接种所引发的免疫应答，从而导致地区性流行和全球性大流行的暴发。基因组及其功能研究的不断深入，加上相关技术上的进步，将有助于更深入地了解历史上和当前流行的流感病毒株的致病机制。对流感病毒致病和人体肺组织免疫防御机制的认识，也将有助于发展更好的治疗方法和更为有效的疫苗以预防目前和未来可能出现的流感病毒变异株的流行。

(姜涛 译)

### 参考文献

1. Abramson JS, Wheeler JG, Parce JW, et al. Suppression of endocytosis in neutrophils by influenza A virus in vitro. *J Infect Dis* 1986; 154: 456-463.
2. Achdout H, Arnon TI, Markel G, et al. Enhanced recognition of human NK receptors after influenza virus infection. *J Immunol* 2003; 171: 915-923.
3. Ahmed R, Gray D. Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science* 1996; 272: 54-60.
4. Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 499-511.
5. Alford RH, Kasel JA, Gerone PJ, Knight V. Human influenza resulting

- from aerosol inhalation. *Proc Soc Exp Biol Med* 1966; 122: 800–804.
6. Apisarnthanarak A, Kitphati R, Thongphubeth K, et al. Atypical avian influenza (H5N1). *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1321–1324.
  7. Baigent SJ, McCauley JW. Influenza type A in humans, mammals and birds: determinants of virus virulence, host-range and interspecies transmission. *Bioessays* 2003; 25: 657–671.
  8. Beigel JH, Farrar J, Han AM, et al. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* 2005; 353: 1374–1385.
  9. Belz GT, Smith CM, Kleinert L, et al. Distinct migrating and nonmigrating dendritic cell populations are involved in MHC class I-restricted antigen presentation after lung infection with virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8670–8675.
  10. Bridges CB, Kuehnert MJ, Hall CB. Transmission of influenza: implications for control in health care settings. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 1094–1101.
  11. Brydon EW, Morris SJ, Sweet C. Role of apoptosis and cytokines in influenza virus morbidity. *FEMS Microbiol Rev* 2005; 29: 837–850.
  12. Buxton Bridges C, Katz JM, Seto WH. Risk of influenza A (H5N1) infection among health care workers exposed to patients with influenza A (H5N1), Hong Kong. *J Infect Dis* 2000; 181: 344–348.
  13. Cassidy LF, Lyles DS, Abramson JS. Synthesis of viral proteins in polymorphonuclear leukocytes infected with influenza A virus. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1267–1270.
  14. Chan MC, Cheung CY, Chui WH, et al. Proinflammatory cytokine responses induced by influenza A (H5N1) viruses in primary human alveolar and bronchial epithelial cells. *Respir Res* 2005; 6: 135.
  15. Chen W, Calvo PA, Malide D, et al. A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death. *Nat Med* 2001; 7: 1306–1312.



16. Cheung CY, Poon LL, Lau AS, et al. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? *Lancet* 2002; 360: 1831-1837.
17. Chotpitayasunondh T, Ungchusak K, Hanshaoworakul W, et al. Human disease from influenza A (H5N1), Thailand, 2004. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 201-209.
18. Cox NJ, Kawaoka Y. Orthomyxoviruses: Influenza. In: Topley & Wilson's *Microbiology and Microbial Infections*, 9th ed., Collier L, Balows A., Sussman M., eds., Edward Arnold, London Vol.1, 1997: 385-433.
19. Daniels RS, Douglas AR, Skehel JJ, et al. Antigenic analyses of influenza virus haemagglutinins with different receptor-binding specificities. *Virology* 1984; 138: 174-177.
20. de Bree GJ, van Leeuwen EM, Out TA, Jansen HM, Jonkers RE, van Lier RA. Selective accumulation of differentiated CD8+ T cells specific for respiratory viruses in the human lung. *J Exp Med* 2005; 202: 1433-1442.
21. Flint SJ, Enquist LW, Racaniello VR, Skalka AM. *Principles of virology. Molecular biology, pathogenesis, and control of animal viruses*. 2<sup>nd</sup> Edition, ASM Press, Washington, DC, USA, 2004
22. Gamblin SJ, Haire LF, Russell RJ, et al. The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin. *Science* 2004; 303: 1838-1842.
23. Garcia-Sastre A, Egorov A, Matassov D, et al. Influenza A virus lacking the NS1 gene replicates in interferon-deficient systems. *Virology* 1998; 252: 324-30.
24. Garcia-Sastre A. Antiviral response in pandemic influenza viruses. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 44-47.
25. Goto H, Kawaoka Y. A novel mechanism for the acquisition of virulence by a human influenza A virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:

10224-10228.

26. Guillot L, Le Goffic R, Bloch S, et al. Involvement of toll-like receptor 3 in the immune response of lung epithelial cells to double-stranded RNA and influenza A virus. *J Biol Chem* 2005; 280: 5571-5580.
27. Hall WJ, Douglas RG Jr, Hyde RW, Roth FK, Cross AS, Speers DM. Pulmonary mechanics after uncomplicated influenza A infection. *Am Rev Respir Dis* 1976; 113: 141-148.
28. Hayden FG, Fritz R, Lobo MC, Alvord W, Strober W, Straus SE. Local and systemic cytokine responses during experimental human influenza A virus infection. Relation to symptom formation and host defense. *J Clin Invest* 1998; 101: 643-649.
29. Heath WR, Belz GT, Behrens GM, et al. Cross-presentation, dendritic cell subsets, and the generation of immunity to cellular antigens. *Immunol Rev* 2004; 199: 9-26.
30. Hemmes JH, Winkler KC, Kool SM. Virus survival as a seasonal factor in influenza and polimyelitis. *Nature* 1960; 188: 430-431.
31. Horner GJ, Gray FD Jr. Effect of uncomplicated, presumptive influenza on the diffusing capacity of the lung. *Am Rev Respir Dis* 1973; 108: 866-869.
32. Hulse DJ, Webster RG, Russell RJ, Perez DR. Molecular determinants within the surface proteins involved in the pathogenicity of H5N1 influenza viruses in chickens. *J Virol* 2004; 78: 9954-9964.
33. Ishikawa E, Nakazawa M, Yoshinari M, Minami M. Role of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in immune response to influenza virus infection in mice. *J Virol* 2005; 79: 7658-7663.
34. Johansson BE, Bucher DJ, Kilbourne ED. Purified influenza virus hemagglutinin and neuraminidase are equivalent in stimulation of antibody response but induce contrasting types of immunity to

- infection. *J Virol* 1989; 63: 1239–1246.
35. Katz JM, Lim W, Bridges CB, et al. Antibody response in individuals infected with avian influenza A (H5N1) viruses and detection of anti-H5 antibody among household and social contacts. *J Infect Dis* 1999; 180: 1763–1770.
  36. Katze MG, DeCorato D, Krug RM. Cellular mRNA translation is blocked at both initiation and elongation after infection by influenza virus or adenovirus. *J Virol* 1986; 60: 1027–1039.
  37. Kondo S, Abe K. The effects of influenza virus infection on FEV1 in asthmatic children. The time-course study. *Chest* 1991; 100: 1235–1238.
  38. Lawrence CW, Braciale TJ. Activation, differentiation, and migration of naive virus-specific CD8+ T cells during pulmonary influenza virus infection. *J Immunol* 2004; 173: 1209–1218.
  39. Lawrence CW, Ream RM, Braciale TJ. Frequency, specificity, and sites of expansion of CD8+ T cells during primary pulmonary influenza virus infection. *J Immunol* 2005; 174: 5332–5340.
  40. Legge KL, Braciale TJ. Accelerated migration of respiratory dendritic cells to the regional lymph nodes is limited to the early phase of pulmonary infection. *Immunity* 2003; 18: 265–277.
  41. Levandowski RA, Gerrity TR, Garrard CS. Modifications of lung clearance mechanisms by acute influenza A infection. *J Lab Clin Med* 1985; 106: 428–432.
  42. Lipatov AS, Andreansky S, Webby RJ, et al. Pathogenesis of Hong Kong H5N1 influenza virus NS gene reassortants in mice: the role of cytokines and B- and T-cell responses. *J Gen Virol* 2005; 86: 1121–1130.
  43. Little JW, Douglas RG Jr, Hall WJ, Roth FK. Attenuated influenza produced by experimental intranasal inoculation. *J Med Virol* 1979; 3: 177–188.
  44. Little JW, Hall WJ, Douglas RG Jr, Mudholkar GS, Speers DM, Patel K.

- Airway hyperreactivity and peripheral airway dysfunction in influenza A infection. *Am Rev Respir Dis* 1978; 118: 295-303.
45. Mandelboim O, Lieberman N, Lev M, et al. Recognition of haemagglutinins on virus-infected cells by NKp46 activates lysis by human NK cells. *Nature* 2001; 409: 1055-1060.
  46. Matrosovich M, Tuzikov A, Bovin N, et al. Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals. *J Virol* 2000; 74: 8502-8512.
  47. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 4620-4224.
  48. McCullers JA, Rehg JE. Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor. *J Inf Dis* 2002; 186: 341-350.
  49. Mori I, Komatsu T, Takeuchi K, Nakakuki K, Sudo M, Kimura Y. In vivo induction of apoptosis by influenza virus. *J Gen Virol* 1995; 76: 2869-2873.
  50. Olofsson S, Kumlin U, Dimock K, Arnberg N. Avian influenza and sialic acid receptors: more than meets the eye? *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 184-188.
  51. Palladino G, Mozdzanowska K, Washko G, Gerhard W. Virus-neutralizing antibodies of immunoglobulin G (IgG) but not of IgM or IgA isotypes can cure influenza virus pneumonia in SCID mice. *J Virol* 1995; 69: 2075-2081.
  52. Park CH, Ishinaka M, Takada A, The invasion routes of neurovirulent A/Hong Kong/483/97 (H5N1) influenza virus into the central nervous

- system after respiratory infection in mice. *Arch Virol* 2002; 147: 1425-1436.
53. Peiris JS, Yu WC, Leung CW, et al. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. *Lancet* 2004; 363: 617-619.
54. Piqueras B, Connolly J, Freitas H, Palucka AK, Banchereau J. Upon viral exposure myeloid and plasmacytoid dendritic cells produce three waves of distinct chemokines to recruit immune effectors. *Blood* 2005; 107: 2613-2618
55. Renegar KB, Small PA Jr, Boykins LG, Wright PF. Role of IgA versus IgG in the control of influenza viral infection in the murine respiratory tract. *J Immunol* 2004; 173: 1978-1986.
56. Sanz-Ezquerro JJ, Zurcher T, de la Luna S, Ortin J, Nieto A. The amino-terminal one-third of the influenza virus PA protein is responsible for the induction of proteolysis. *J Virol* 1996; 70: 1905-1911.
57. Schmitz N, Kurrer M, Bachmann MF, Kopf M. Interleukin-1 is responsible for acute lung immunopathology but increases survival of respiratory influenza virus infection. *J Virol* 2005; 79: 6441-6448.
58. Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 151-161.
59. Silver ML, Guo HC, Strominger JL, Wiley DC. Atomic structure of a human MHC molecule presenting an influenza virus peptide. *Nature* 1992; 360: 367-369.
60. Taubenberger JK. Influenza virus hemagglutinin cleavage into HA1, HA2: no laughing matter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 9713-9715.
61. To KF, Chan PK, Chan KF, et al. Pathology of fatal human infection associated with avian influenza A H5N1 virus. *J Med Virol* 2001; 63: 242-246.
62. Tran TH, Nguyen TL, Nguyen TD, et al. Avian influenza A (H5N1) in 10

- patients in Vietnam. *N Engl J Med* 2004; 350: 1179–1188.
63. Treanor JJ. Influenza virus. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Churchill Livingstone; 2004: 2060–2085.
64. Tsitoura DC, Kim S, Dabbagh K, Berry G, Lewis DB, Umetsu DT. Respiratory infection with influenza A virus interferes with the induction of tolerance to aeroallergens. *J Immunol* 2000; 165: 3484–3491.
65. Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science* 2005; 310: 77–80.
66. Uiprasertkul M, Puthavathana P, Sangsiriwut K, et al. Influenza A H5N1 replication sites in humans. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1036–1041.
67. Ungchusak K, Auewarakul P, Dowell SF, et al. Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N Engl J Med* 2005; 352: 333–340.
68. Utell MJ, Aquilina AT, Hall WJ, et al. Development of airway reactivity to nitrates in subjects with influenza. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121: 233–241.
69. Weis W, Brown JH, Cusack S, Paulson JC, Skehel JJ, Wiley DC. Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its receptor, sialic acid. *Nature* 1988; 333: 426–431.
70. Wiley JA, Cerwenka A, Harkema JR, Dutton RW, Harmsen AG. Production of interferon-gamma by influenza hemagglutinin-specific CD8 effector T cells influences the development of pulmonary immunopathology. *Am J Pathol* 2001a; 158: 119–130.
71. Wiley JA, Hogan RJ, Woodland DL, Harmsen AG. Antigen-specific CD8(+) T cells persist in the upper respiratory tract following influenza virus infection. *J Immunol* 2001b; 167: 3293–3299.

72. Wiley JA, Tighe MP, Harmsen AG. Upper respiratory tract resistance to influenza infection is not prevented by the absence of either nasal-associated lymphoid tissue or cervical lymph nodes. *J Immunol* 2005; 175: 3186–3196.
73. Wilson NS, Behrens GMN, Lundie RJ, Systemic activation of dendritic cells by TLR ligands or malaria infection impairs cross cross-priming and anti-viral immunity. *Nat Immunol* 2006; 7: 165–172
74. Woodland DL. Cell-mediated immunity to respiratory virus infections. *Curr Opin Immunol* 2003; 15: 430–435.
75. Woodland DL, Randall TD. Anatomical features of anti-viral immunity in the respiratory tract. *Semin Immunol* 2004; 16: 163–170.
76. Woodland DL, Scott I. T cell memory in the lung airways. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2: 126–131.
77. Yeldandi AV, Colby TV. Pathologic features of lung biopsy specimens from influenza pneumonia cases. *Hum Pathol* 1994; 25: 47–53.
78. Yen HL, Herlocher LM, Hoffmann E, et al. Neuraminidase inhibitor-resistant influenza viruses may differ substantially in fitness and transmissibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4075–4084.
79. Yuen KY, Chan PK, Peiris M, et al. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet* 1998; 351: 467–471.
80. Yuen KY, Wong SS. Human infection by avian influenza A H5N1. *Hong Kong Med J* 2005; 11: 189–199.

## 第五章 流行预案

Gustavo Reyes-Teran & Rene Gottschalk

### 1 导言

#### 1.1 流感流行史

众所周知，世界范围内发生过的三次流感大流行都是由甲型流感病毒引起的。当甲型流感病毒的表面蛋白（血凝素或神经氨酸酶）发生显著突变，导致人群对突变病毒普遍缺乏免疫力，而病毒又可以在人体内复制，并引起人与人之间的传播时，一场大流行就在所难免。1918 年 H1N1 亚型病毒引起的西班牙流感、1957 年 H2N2 亚型病毒引起的亚洲流感、1968 年 H3N2 亚型病毒引起的香港流感均是因此而产生的。1918 年流感大流行引起的死亡人数保守地估计也有 2000 万~4000 万人。然而，最近来自非洲和亚洲的研究显示，世界范围内受害者的数目接近 5000 万~1 亿人（Johnson2002）。

流感专家估计，下一次流感大流行仅在工业化国家就可能导致约 1.3 亿病人到门诊就诊，200 万人住院，650 万人死亡。在发展中国家情况可能会更严重（世界卫生组织 2004）。1918 年的流感大流行若发生在今天，则可引起全球 1.8~3.6 亿人死亡（Osterholm 2005）。

#### 1.2 H5N1 流感大流行的先兆

截至 2006 年 1 月，远东地区有 9 个国家报告了 H5N1 亚型高致病性禽流感的暴发流行，包括朝鲜、越南、日本、泰国、柬埔寨、老挝、印尼、中国和马来西亚。这次暴发的禽流感在日本、马来西亚和朝鲜已被成功控制，但病毒在一些国家似乎呈地方性流行。东南亚的暴发流行导致 1.5 亿以上的禽类死亡，造成农业的重大损失，尤其是以饲养禽类为主要收入的农民。

最近，同一亚型的病毒又在俄罗斯、哈萨克、土耳其、罗马尼亚、克罗埃西亚的禽类中暴发，并远远超过了最初的流行范围（世界卫生组织 2005a，世界卫



生组织 2005b)。

已经证实，发生在越南、泰国、柬埔寨、印尼、中国和土耳其的人类 H5N1 禽流感病例，大多数与农村的病禽、死禽直接接触过（见表 5-1）。上报到世界卫生组织的人类 H5N1 禽流感病例数在世界卫生组织网页上定期被更新（世界卫生组织 2005c）。

表 5-1. 到 2006 年 1 月 25 日，上报到世界卫生组织的人类 H5N1 禽流感确诊病例数（世界卫生组织 2005c） \*

	病例数 * *	死亡数
越南	93	42
泰国	22	14
柬埔寨	4	4
印尼	19	14
中国	10	7
土耳其	4	2
总数	152	83

\* 世界卫生组织仅报告实验室确诊病例

\* \* 病例总数包括死亡数

最近的研究显示，1918 年流行株并不是 1957 和 1968 流行株那样的重组病毒，而可能是一个完全适应了人类的禽病毒样病毒（Taubenberger 2005）。许多证据表明，1918 年流感大流行是由适应了人体的禽流感病毒引起的。而最近流行并可致人死亡的 H5N1 亚型高致病性禽流感病毒与 1918 株病毒在多聚酶蛋白上有许多相似的变化（Taubenberger 2005），引起了人们的普遍担忧。

由于 H5N1 抗原新、对人类致病性强并可能具备在人与人之间传播的能力，世界卫生组织在 2005 年 4 月更新了它的流行预案（世界卫生组织 2005d），并反复重申在 1997 年对所有国家的呼吁：为应对这次“不可避免的、即将来临的”（B 世界卫生组织 2004）流感大流行做好准备。

## 2 流感大流行预案

为延缓流感大流行的传播及减少流行期间的发病、住院和死亡人数，必需做流行预案。有计划地保障基本需求，将降低流感大流行对经济和社会的影响（世界卫生组织 2004）。

流行病学模型显示，由于人口的卫生和营养状况较差以及医疗资源和监督机制有限，每次发生流行病总是最贫穷的国家受害更深（世界卫生组织 2004）。

### 2.1 大流行的阶段

为明确应对重大事件的行动步骤，世界卫生组织全球流感大流行预案计划分为几个阶段（世界卫生组织 2005d）。每个阶段都与国际和国家公共卫生机构的作用有关。根据实际流行情况，国家公共卫生机构的作用在每一阶段再被细分。世界卫生组织强调，各国制定或更新国内计划时应重视世界卫生组织全球流感大流行预案推荐的国内公共卫生机构的作用。新阶段的摘要见表 5-2。目前（2006 年 1 月），我们处于第 3 阶段，即新流感病毒亚型可引起人类疾病，但尚未在人群中有效传播。

表 5-2. 2005 年世界卫生组织全球流感大流行预案的阶段划分（根据世界卫生组织 2005d）

阶段/时期	事项
<b>流行间期</b>	
第 1 阶段	人群中未检测到新的流感病毒亚型。可引起人类感染的流感病毒亚型在动物中出现。人类感染或患病的风险很

第 2 阶段	低。 人群中未检测到新的流感病毒亚型。但流行于动物中的流感病毒亚型对人类造成巨大的威胁 <sup>a</sup> 。
<b>大流行预警阶段</b>	
第 3 阶段	人群中有新亚型病毒感染，但没有人与人之间的传播或只有极少数密切接触者被感染。
第 4 阶段	在少数人群中非常有限地传播，表明病毒不能很好地适应人体 <sup>b</sup> 。
第 5 阶段	在部分人群中有限传播，表明病毒正逐渐适应人体，但大规模流行尚未形成（重大流行风险） <sup>b</sup> 。
<b>大流行期间</b>	
第 6 阶段	大流行阶段：在广大人群中强烈而持续地传播。
<b>大流行后期</b>	返回到流行间期。

a. 第 1、2 阶段的划分是基于人类感染动物病毒株的风险，并参照目前所知的各种因素及其相关性。有关因素包括：病毒对动物和人的致病性、家畜与野生动物的发病率、病毒可致地方性动物病还是动物流行病（即地域上是局限还是广泛）、病毒基因组信息及其它信息。

b. 第 3、4、5 阶段的划分是基于流感大流行风险的评估。根据目前信息可以判断许多因素和大流行的相关性。有关因素包括：传播速率、地理位置和扩展方向、疾病严重性、人类株的基因型（如果起源于动物株）、病毒基因组相关信息及其它信息。

### 3 流行间期和大流行预警阶段

### 3.1 监督机制

监督机制被定义为“公共卫生机构系统收集、分析、解释特定的数据资料，以便对其进行评估、规划和实施的行为”，而不仅仅是资料收集(Flahault 1998)。因此，及时、准确、有效的监督机制是控制有流行倾向的传染病的基础（PPHSN 2004）。

为了有效地检测出由新型流感病毒引起的特殊发病人群或大多数病例，各国有必要建立人类疾病预警系统。加入全球流感监测网，有利于各国探查流感病毒大流行的潜在可能性。这种监测起效的基础在于，能否从家畜、野生动物或人类中分离到可在该地区流行，并具备引起大流行潜力的新型流感病毒株。

监督机制应该立即付诸行动。建立监督机制之前，各国应明确监督的对象。实验室确诊的速度将影响控制措施的实施。世界卫生组织强调：在分析流感病毒潜在大流行株时，应注意与引起普通流感的毒株相鉴别。

国际和国内的报告系统应负责说明新的国际卫生法规（IHR 2005）。

在流行间期和大流行预警期（第1—5阶段），各国监测的重点在于对动物与人体中潜在流行株的迅速鉴定、早期诊断和报告。受大流行威胁的国家还应确定暴发的范围，是否在人与人之间传播以及如何传播。这个阶段的工作应包括：实验室监测、临床病例报告（包含来自医院的报告）、对急性呼吸道疾病群发的预报、动物监测、鉴定非典型流感的相关实验室之间的合作。在受动物暴发流感影响的地区，还应该包括病例调查、接触史调查、人群调查和高风险人群的健康监测。在大流行前期，全面的监测机制还应包括肺炎监测和抗病毒药耐药性监测（世界卫生组织 2004）。

监督机制中的一线医院对于及时启动公共卫生措施和实验室监测是十分重要的。国家一线医院监测网应监测因急性呼吸道疾病住院的病人个体、难以解释的急性呼吸道疾病死亡病例或社区中群发的严重急性呼吸道疾病患者。为更好地应对流感流行，一线医院的医护人员应接受专门培训。此外，也应考虑对其他医务工作者、实验室人员、志愿者和相关地域之外的工作人员进行教育和培训。

### 3.2 建立实验室诊断

正如世界卫生组织所言（世界卫生组织 2005e），为快速进行实验室诊断，应建立拥有专门技术（例：流感诊断试验）的实验室。在流行间期，政府应有权使用至少一个以上的实验室，以提供常规流感病毒分型及其亚型的诊断，而不必过度使用鉴别诊断。应该让世界卫生组织知道这些实验室。这种实验室诊断最低应包括：免疫荧光（IF）和反转录多聚酶链反应（RT-PCR）。若不能提供流感病毒分型与亚型的诊断，政府应使用商业化的快速抗原检测试剂盒。为了建立必备的流行病学监测实验室，政府也可以在别国寻找此类资源。

在特定的时期，政府应拥有 3-4 级生物安全（BSL）实验室的详细目录。不过，通常发展中国家没有 BSL-4 或只有少量 BSL-3 实验室。因此，应利用 BSL-3 实验室为本地工作（这种方法将加快诊断），或者通过世界卫生组织协调其它国家的 BSL-3 和 BSL-4 实验室。在流行的早期阶段应加强检验，因为仅从流感样病人中并不能推测出流感流行株。而一旦开始流行，也不可能测试所有病人。实验室应不断给医务工作者提供最新信息。为使政府的流行预案包括抗病毒药的使用，实验室要有检测抗病毒药耐药性的设备。每日报告给政府和世界卫生组织的病例应尽可能包括感染源的信息（世界卫生组织 2005e）。

### 3.3 疫苗

为控制流感病毒感染，只有抗病毒治疗和疫苗可供选择（Yen 2005, Korsman 2006）。疫苗是对付流感最好的保护工具（van Danlen 2005），但是在新病毒株出现之前不可能研制疫苗。通常，一个疫苗的大规模研发和制造至少需要六个月时间（Flemming 2005）。即使到那时，由于全球生产能力有限及生产设施集中在发达国家，许多没有生产设施的国家在第 1 波流行期间将使用不到疫苗。

流行期间，拥有生产设施的国家必须支持和保障快速、大规模地生产疫苗。很多发达国家的政府认为，他们有责任在流行一开始就尽最大可能地提供防护。例如，为保障荷兰可获得未来流感大流行的疫苗，荷兰政府目前正与生产商谈判（van Danlen 2005）。同时，没有疫苗生产设备的国家应准备好一旦获得流行株疫苗就可实施的接种规划（世界卫生组织 2005e）

流行期疫苗使用计划应包括：人群免疫接种诊室的设计，医务人员培训计划，限定优先接种人群范围的方案，疫苗冷藏运输链的储备能力，目前和未来突发事件所需药品的认同，运输、储备、临床使用时的疫苗安全（如防盗）。优先接种人群可以包括患禽流感的动物和禽类饲养者、兽医、农民，以及流行即将来临时重要机构的工作人员和医务人员（世界卫生组织 2005e）。

### 3.4 抗病毒药物

抗病毒药物包括 M2 抑制剂（离子通道阻滞剂）金刚烷胺和金刚乙胺，以及神经氨酸苷酶抑制剂奥塞米韦和扎那米韦（Hoffmann 2006b）。耐药株的出现是任何抗病毒药使用者所关心的。使用 M2 抑制剂可导致 30% 的个体产生耐药突变株（Hayden）。此外，M2 抑制剂在体外对 H5N1 无效（Lipatov 2004）。

神经氨酸苷酶抑制剂使用后，耐药突变株从最初的儿童约 4%~8% 和成人 <1%（McKimm -Breschkin 2003, Stilianakis 2002），到后来日本儿童的 18%（Kiso 2004）。最近，有两个越南病人在使用奥塞米韦期间产生了甲型流感（H5N1）耐药突变株（de Jong 2005）。从两例患者体内分离的对奥塞米韦具有高水平耐药性（Gubareva 2001）的甲型流感病毒（H5N1），其神经氨酸苷酶 H274Y 被替换。尽管两位患者均按推荐的剂量和时间使用奥塞米韦（75mg，每日两次，持续 5 天；小于 13 岁的儿童据体重减少剂量），而且治疗也始于最佳时机（症状出现后的 48 小时内），但两个病人还是都死了。这些研究表明，耐药性毒株的出现导致了对这些病人治疗的彻底失败。作者同时认为，旨在改善抗病毒疗效的方案（比如，使用较高剂量、给药期延长、或者联合治疗）需要进一步评估。

应尝试新的抗病毒药给药途径，已有报道称严重的流感病例由于腹泻的影响，药代动力学已发生改变（Hien 2004）。

幼儿、智力受损或共济失调的病人不能适当地吸入扎那米韦（Imuta 2003）。可是，鉴于在目前推荐的方案中奥塞米韦耐药性的出现，以及扎那米韦不易出现耐药突变（Moscona 2005），扎那米韦还应该纳入甲型流感病毒（H5N1）感染的治疗库中。

### 3.5 药物储备

近来一些政府正在储备奥塞米韦。各国储备的数量主要依赖于当前的资源和人口多少。世界卫生组织建议各国提前储备药物 (Addott 2005)。比如, 荷兰政府大约储备了 22.5 万粒奥塞米韦 (Groeneveld 2005)。然而, 大多发展中国家负担不起储备抗病毒药物的费用。

最近, 为了研究储备援助药物的费用和最佳抗病毒方案, 研究人员利用以前流感流行的资料 (各病期病例数, 内科医生出诊记录, 住院人数和死亡数) 对以色列人进行了调查, 初步计算了医疗费用和工作日的经济损失, 但不包括人员死亡的潜在价值 (Balicer 2005)。研究假设, 大流行开始后, 使用奥塞米韦进行三级预防: 包括治疗期用药、长期预防性用药和流感病人 (处于确诊的治疗期病人) 密切接触者的短期预防性用药。前两级预防的对象是整个人群或高风险人群。五种措施中的每一个都要比较成本, 估计储备药物的花费, 计算收支比例。结果最好的比例是一个称为“靶向预防” (Longini 2004) 的策略, 即储备抗病毒药作为单独管理或接触病人后的短期预防。靶向预防的目的是使用最少的药物达到最好的效果。因此, 在发展中国家为节省资源, 靶向预防更为重要。

抗病毒药物在发展中国家是有和无的问题, 而发达国家则是多和少的问题 (见表5-3)。

表 5-3. 荷兰卫生部推荐的抗病毒药使用方案 (Groeneveld 2005)

1. 当荷兰开始出现大流行	
治疗	预防性治疗
确诊患者 <sup>a</sup>	确诊患者的家属、同居者和密切接触者
2. 大流行或病毒从国外大规模侵入	
神经氨酸苷酶抑制剂短期使用	治疗 风险人群 <sup>b</sup> 、医务工

作者<sup>e</sup>及相关工作人员<sup>a</sup>

### 治疗

表现流感症状的患  
者

### 预防性治疗

个别患者<sup>d</sup>、医务工  
作者<sup>e</sup>及相关工作人员<sup>e</sup>

---

a. 尽可能监测首发症状后的病情发展；若 48 小时之内未获治疗，以后治疗有效的可能性较小。

b. 有严重呼吸道、肺部或心血管异常的患者，一旦感染流感病毒，很可能出现心肺功能失代偿的情况，胰岛素依赖型糖尿病患者也有这种可能。

c. 所有负责诊断、治疗、护理流感病人的工作者及后勤必需物品的管理者。

d. 治疗医生认为适宜的。

e. 紧跟病毒流行的疫苗接种。

必须坚决制止私人储备奥塞米韦（Brett 2005, Moscona 2005），因为自行用药可能会出现剂量或疗程不足的问题，更容易出现奥塞米韦耐药突变株。此外，自行储备奥塞米韦将使本来就短缺的资源更加紧张。

每家医院都应储备治疗金黄色葡萄球菌和其它继发感染的抗生素。

### 3.6 常规措施

为控制急性感染，相应的非医疗性工作也可以介入。在泰国，政府允许不同层次的**社区参与**对抗 H5N1 禽流感。2004 年 10 月，政府部门的指导书同意公共卫生工作者、兽医、乡村志愿者等参与国家监督活动（Barnett 2005）。泰国 2004 年 17 例、2005 年仅 5 例 H5N1 禽流感病例的事实反映了其抗 H5N1 禽流感病毒措施的成功（世界卫生组织 2005c）。内部协调肯定涉及非医疗部门（尤其是农业、经济和社会的相关部门）。计划书中还应包括医疗领域以外的专业机构（例：法律、教育、旅游）。



有效的事前**风险交流**可以减少事件发生期间的交流障碍（USDHHS 2002）。对高风险人群和普通大众的风险教育可以有效缓解社会的紧张情绪。通过大众传播媒介（电视、收音机），普通人群可了解卫生部和预防部门的控制措施，因该禁止的行为、危险行为和其他相关信息。大众传播媒介应普及有关流感前兆的知识，以引起社会的警觉。

对医务人员进行流行预警的**培训活动**可以有效促进他们正确使用个人防护装备、遵守感染控制程序。

最后，**流行演习**训练对于流行真正发生时如何处置是很有用的。越南首都河内约1000名医务工作者和群众参加了政府组织的禽流感紧急行动演习。演习由政府组织、涉及禽流感发生地（Long Bien）四分之一的市民、医院和军队（Thanhien 2005）。

### 3.7 季节性流感接种

为降低季节流感与潜在流行株双重感染的机会，给高危人群接种流感疫苗可便于区分患病类型。对下述高危人群推荐使用灭活流感疫苗（ACIP 2005）：

- 年龄≥65岁者；
- 护理慢性病患者或其仪器设备者；
- 有慢性心肺系统疾病的儿童及成人（包括哮喘，但高血压不是高危因素）；
- 流行前有规律地随访或收入院治疗慢性代谢性疾病（包括糖尿病）、肾功能不全、血红蛋白异常或免疫抑制（包括药物或HIV引起的免疫抑制）的儿童与成人；
- 患某些可引起呼吸困难、咳痰障碍或需要吸痰处理的疾病的儿童与成人（认知障碍、脊索损伤、癫痫或其它神经肌肉疾病）；
- 长期接受阿司匹林治疗的儿童和青少年（6月—18岁），感染流感后可能引起Reye's综合征；
- 在流感季节怀孕的妇女；
- 6~23个月的幼儿。

### 3.8 战略实施

最重要的因素之一是政府与社会自发地普及有关知识。没有这个关键因素，就没有政府阻止流行的进一步行动。高水平的政策和实施对于流行预案的制定很有必要。强有力的地方合作与联网不仅可使计划涉及的部门相互合作，也有助于提高国际威望，从而使政策实施（世界卫生组织 2004）。过去，尤其是1918年，大流行的史料表明，一场大流行事件可以给任何一个国家的政治、经济和社会结构造成毁灭性的影响（PPHSN 2004）。

### 3.9 法律和伦理问题

流行发生前必须有相应的立法。当国家处于危难之中（如传染病大流行），应该有国家法律保障公共卫生措施的有效实施。例如，检疫法通常规定，机构或个人应以采取必要措施消除或控制传染病的传播（PPHSN 2004）。为控制流行，类似的强制措施如疫苗接种也很必要。

### 3.10 资金

资源有限的国家需要制定一个基于现有资源和人口规模的可行性流感大流行预案计划。高层的政策支持对于分配应急（比如流感）资金至关重要。计划要包括应对流行的基金管理机构的认证。

### 3.11 控制高致病性禽流感的全球策略

由于高致病性禽流感（HPAI）可能蔓延至新的区域，在候鸟迁徙沿线的国家由于风险较高，需要提前采取有效的干涉，包括改善监督、检测能力和应急预案。为了阻止病毒建立和维持在新寄居地的生态系统，必须监测和控制疾病，公众教育要与专业兽医、医务人员、农民、市场商人、家禽运输者、禽蛋收集者的教育培训一起进行（FAO 2005）。

FAO和OIE与世界卫生组织协作，自发开展全球根除和控制高致病性禽流感的措施。这项措施的最终目标是消灭亚欧家禽饲养区的高致病性禽流感，阻止高致病性禽流感进入未感染的国家，把人类感染流行的威胁降到最低，促进健康家禽

的生产，增强区域和国际间禽类产品的贸易，改善食品和饲料安全，改善所有禽类饲养者的生活条件，尤其是农村贫困人口（FAO 2005）。

控制高致病性禽流感有许多先成的可行方法：(1)使用部分屏蔽的禽类屋舍和净化水来控制家禽与野生禽类的接触；(2)从湿地驱逐水禽来控制家禽与水禽和鹌类的接触；(3)筛选和使用疫苗阻止H5/H7流感病毒在鹌类的发病和传播；(4)减少禽、猪、人之间的接触，生产有效的疫苗和抗病毒药（Webster 2006）。

## 4 流行期

流行期间，对主要监控对象应加以限制。专家认为，成功的控制很大程度上有赖于确认早期流行株引起的病例（Ferguson 2004）和监测连续发病的高比例人群（Ferguson 2005）。因此，完善的监督机制对于流行控制的成功至关重要。

### 4.1 监督

流行病监督包括以下事项：流行株引起的疑似或确诊病例的入院，疑似或确诊流感病例的死亡，重要指定服务点的员工缺勤，常规和流行株疫苗（若可获得）的用法，流行株疫苗应用的不利事件，流行株疫苗效力计算的资料收集，与肺炎链球菌疫苗管理和使用（若疫苗可获得并使用）有关的不利事件，可获得的抗病毒药的使用管理等。每日向政府和世界卫生组织上报病例，包括可能的感染源的信息（世界卫生组织 2005e）。

### 4.2 处置和住院治疗

若被感染的病人很少，甲型H5N1流感的疑似或确诊病人应住院隔离，进行临床观察、适当的诊断性化验和抗病毒治疗。对病人及家属进行个人卫生和防止传染措施的健康教育。给氧和改善通气等支持疗法是基本措施。甲型H5N1流感的疑似病人在等待实验室化验结果期间，应立即接受神经氨酸酶抑制剂治疗（WC世界卫生组织 2005）。细节见（Hoffmann 2006）。

### 4.3 医务人员

医务人员应使用高效面罩（NIOSH认证的N-95或类似物）、长袖大衣、口罩或护目罩，接触病人时戴手套。如果严格实施以上措施，由于直接接触病人或病人的环境而导致医护人员感染的数量将很有限。应该对高风险操作（如产生气溶胶的操作）的医务人员提前进行预防性治疗（WC世界卫生组织 2005）。

#### 4.4 地区性预防和限制社交范围的措施

可使用一些模型来估计流感相关的发病率和死亡率。但发达国家现行的模式对发展中国家未必有用，后者需考虑一些其他相关因素。

最近，通过模拟东南亚流感传播发现，新病毒的基本复制数若低于1.8（Ferguson 2005），采取地区性预防和限制社交距离的措施是可以在早期阶段消除流行的。基本复制指数 $R_0$ （Anderson 1992）可衡量任何病原菌的传染性， $R_0$ 是指在完全易感人群当中通过典型的原发病例产生二级病例的平均数。若 $R_0 > 1$ ，则疾病可以传播，若 $R_0 < 1$ ，则疾病传播链将不可避免地被阻断。因此，控制的目标是把 $R_0$ 降到1以下。然而，通过模拟，Ferguson提出为了最大可能地成功，必需满足一些关键条件：(1)原发病例群的快速确定，(2)快速敏感的病例检测和目标人群的有效治疗，(3)对目标人群进行有效治疗的系统保障，(4)充足的药物储备，(5)执行政策人员之间的合作，尤其是上述的限制社交距离的人员，(6)政策研发、传染病检测和实施控制策略方面的国际合作。若新流行株的 $R_0$ 超过1.8，则不可能成功控制传播。

模拟类似、随机的流感模式时（Longini 2005），抗病毒预防、提前疫苗接种和检疫的联合应用能封闭 $R_0$ 高达2.4的病毒株。事实上，世界卫生组织欢迎先前提到的有关流感应答模式的文件（世界卫生组织 2005g）。不过，世界卫生组织有一些模型的关键参数。如Longini认为，奥塞米韦对流感病毒有效，但并非对所有禽流感病毒都有效（Chung 2005）。而且在泰国，奥塞米韦对50%的病人无效（Fergusson 2005）。为应对曾经突变过的禽流感，要求有偶然事故计划，以应对更糟糕的变故。这种最坏变故模式为资源分配提供了有价值的信息，如通气孔数目、重症监护室的数量、甚至火葬设备都是必需的（Chung 2005）。

过去在流行期采用限制社交范围的措施对于控制未来流行起了重要作用（世

界卫生组织 2005f)。这些措施包括限制旅行或活动范围(离开或进入疫区), 封闭学校, 禁止大众集会, 隔离感染者和可疑感染者, 检疫来自疫区的个人和旅游者(世界卫生组织 2005e)。不过, 成功用于SARS的活动范围控制措施对于流感是否有效, 还需要进一步论证。原因是SARS病人发病前无传染性, 而流感病人在症状出现前已有传染性(Ho 2004)。

#### 4.5 追踪有症状病例

因症状出现前已有强传染性, 而使用接触者追踪的方法预防流感是很困难的。另外, 对流感接触者的追踪也不可行, 因为这个病的潜伏期(2天)和传染期(3-4天)都很短。

#### 4.6 边界管理

SARS暴发期间, 为飞机乘客测量体温是常用方法。发热乘客禁止上飞机。每个机场附近的医院有指定诊室, 诊断和治疗机场的发热病人(Ho 2004)。但是, 只有有症状的流感病人才能被红外体温检测仪筛选出来。

#### 4.7 卫生和消毒

研究认为, 咳嗽时掩嘴以避免唾液飞溅等控制呼吸道疾病的推荐方法更为合理有效(CDC 2003)。流感病毒在物体表面有活力, 可经手或污染物传播(世界卫生组织 2006)。绝大多数对照研究得出的结论是洗手对于降低上呼吸道感染有明显效果。尽管研究中涉及的多数上呼吸道感染是由病毒引起, 但仅少数是由流感病毒引起的(世界卫生组织 2006)。目前尚未见专门针对流感的相关研究。

#### 4.8 信息交流

在流行病的不同阶段, 可以通过信息交流缓解紧张情绪。应确定最适宜有效的传播媒介。建议流行间期与随后阶段指定政府发言人出面缓解紧张情绪。可靠的信息易被公众接受, 如世界卫生组织、CDC、FAO。发言人最好是政府人员或专家。在保证报道可信的同时应避免产生恐惧害怕情绪(PPHSN 2004)。

## 5 结论

流感大流行可引起灾难性后果，对人类健康、全球经济及许多国家的政治和社会稳定将造成难以估算的损失。坚实的财政保障和良好的媒介基础可以减轻灾难的后果。但发展中国家面临的问题是，可能没有抗病毒药物储备或储备不足以及没有合适和足够的疫苗。

发展中国家流感大流行的风险与人与禽的密切接触有关。在非洲、拉丁美洲和东南亚一些国家，人们与家禽居住在一起。在东南亚或其它地区，活禽市场对人类构成严重的威胁（Webster 2004）。为减少人禽接触，在全球许多地方需要普及家禽处理的相关知识，以及从根本上改变人与饲养动物间的相互关系（World Report 2005）。在获得足够的H5N1疫苗之前，发展中国家应该在食品生产、家禽处理、避免水源污染方面采取相应的预防措施（Hayden 2005）。总之，发展中国家的流行预案应考虑将一部分资金用于观念转变和卫生改善。

世界卫生组织为降低流感大流行风险而概括的5个关键行动方案：

- 减少人类暴露
- 增强快速遏制能力（根据靶向预防的策略储备充足的抗病毒药物）
- 巩固早期警报系统
- 加快患病人群的调查
- 提高医疗保健容量。

一旦新的大流行病毒株开始在人类中传播，流感传播的速度将很大程度上依赖于病毒的早期检测和国际合作的快速开展，包括提供预防用抗病毒药物等国际援助。所以，除政府预案外还应积极寻求与周边国家的合作（Ho 2005）。世界卫生组织执行主席Lee Jong-Wook警告说：“没有国际合作，就没有国家自身的安全。”

2005年11月在日内瓦召开的世界卫生组织会议上，几个低收入国家的代表很关心流行发生时药物与疫苗的公平分配。许多贫穷国家没有能力储备药物、生产疫苗或非专利药（World Report 2005）。当西方国家在储备抗病毒药和开发疫

苗时，中低收入国家担心的是他们无法使用这些救命药。但是，这次会议并没有提出关于流行发生时医疗和疫苗公平分配的建议（Enserink 2005）。

发达国家对发展中国家的支持应该早于流行发生。流感大流行开始后再支持就太晚了。流行没有国界，所以应尽可能早地进行国际合作和资源公平分配。

（尉雁 译）

## 参考文献

1. ACIP 2005. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). July 13, 2005 /54 (Early Release); 1-40.

2. Anderson RM, May RM. Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control. Oxford Univ. Press, Oxford, 1992.

3. Axbott A. Avian flu special: What's in the medicine cabinet? Nature 435;407-409.

4. Balicer RD, Huerta M, Davidovitch N, Grotto I. Cost-benefit of stockpiling drugs for influenza pandemic. Emerg Infect Dis 2005; 11: 1280-2.

5. Barnett DJ, Balicer RD, Lucey DR, et al. A systematic analytic approach to pandemic influenza preparedness planning. PLoS Med 2005; 2: 1-7.

6. Brett AS, Zuger A. The run on tamiflu - should physicians prescribe on demand? N Engl J Med 2005; 353:2636-37.

7. Brown H. Nations set out a global plan for influenza action. Lancet 2005; 366: 1684-5.

8. BWHO 2004. World is ill-prepared for "inevitable" flu pandemic.

Bull World Health Organ 2004; 82:317–318.

9. CDC 2003. Centers for Disease Control and Prevention. Respiratory hygiene/cough etiquette in healthcare settings 2003 Dec 17 [cited 2005 Nov 18].

10. Chotpitayasunondh T, Ungchusak K, Hanshaoworakul W, et al. Human disease from influenza A (H5N1) , Emerg Infect Dis 2005; 11: 201–9.

11. Chung PH. Preparing for the worst-case scenario. Science 2005; 310:1117–8.

12. CP/BSB 2003. Clinical Pharmacology/Biopharmaceutics Summary Background 2003.

13. de Jong MD, Thanh TT, Khank TH, et al. Oseltamivir resistance during treatment of influenza A (H5N1) infection. N Engl J Med 2005; 353: 2667–72.

14. Enserink M. Meeting seeks global consensus, highlights global disparities. Science 2005; 310: 1103.

15. Fal Falsey AR, Criddle MM, Kolassa JE, McCann RM, Brower CA, Hall WJ. Evaluation of a handwashing intervention to reduce respiratory illness rates in senior day-care centers. Infect Control Hosp Epidemiol 1999; 20: 200–2.

16. FAO 2005. FAO Avian influenza disease emergency. Update on the avian influenza situation (as of 12/11/2005) – Issue no. 36.

17. FAO, OIE, WHO 2005. A Food and Agriculture Organisation (FAO) , World Organisation for Animal Health (OIE) in collaboration with World Health Organisation (WHO) Global Strategy for the Progressive Control



of Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) . November 2005.

18. Ferguson NM, Cummings DA, Cauchemez S, et al. Strategies for containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia. *Nature* 2005; 437: 209-14.

19. Ferguson NM, Fraser C, Donnelly CA, Ghani AC, Anderson RM. Public health risk from the avian H5N1 influenza epidemic. *Science* 2004; 304: 968-69.

20. Flahault A, Dias-Ferrao V, Chaberty P, Esteves K, Valleron AJ, Lavanchy D. Flu Net as a tool for global monitoring of influenza on the Web. *JAMA* 1998; 280: 1330-2.

21. Fleming D. Influenza pandemics and avian flu. *BMJ* 2005;331:1066-9.

22. Fraser C, Riley S, Anderson RM, Ferguson NM. Factors that make an infectious disease outbreak controllable. *PNAS* 2004; 101: 6146-51.

23. Groeneveld K, van der Noordaa J. Use of antiviral agents and other measures in an influenza pandemic. *The Neth J Med* 2005; 63: 339-43.

24. Gubareva LV, Kaiser L, Matrosovich MN, Soo-Hoo Y, Hayden FG. Selection of influenza virus mutants in experimentally infected volunteers treated with oseltamivir. *J Infect Dis* 2001; 183: 523-31.

25. Hayden F, Croisier A. Transmission of Avian Influenza Viruses to and between Humans. *The J Infec Dis* 2005;192: 1311-4.

26. Hayden FG. Antivirals for pandemic influenza. *J Infect Dis* 1997; 176 Suppl 1:S56-61:

27. Hien TT, Nguyen TL, Nguyen TD, et al. Avian influenza A (H5N1)

in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med* 2004; 350: 1179–88.

28. Ho MS, Su IJ. Preparing to prevent severe acute respiratory syndrome and other respiratory infections. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 684–9.

29. Hoffmann C, Kamps BS. Drugs. In: *Influenza Report 2006*; Wuppertal 2006.

30. Hoffmann C, Korsman S, Kamps BS. Treatment and Prophylaxis. In: *Influenza Report 2006*; Wuppertal 2006.

31. IHR 2005. *International Health Regulations 2005*.

32. Imuta F, Toyoda M, Toyoda T. New application method of zanamivir with a straw. *Pediatr Int* 2003; 45: 366–7.

33. Johnson NP, Mueller J. Updating the accounts: Global mortality of the 1918–20 “Spanish” influenza pandemic. *Bull Hist Med* 2002; 76: 105–15.

34. Kiso M, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *Lancet* 2004; 364: 759–65.

35. Korsman S. Vaccines. In: *Influenza Report 2006*; Wuppertal 2006.

36. Lipatov AS, Govorkova EA, Webby RJ, et al. Influenza: emergence and control. *J Virol* 2004; 78: 8951–9.

37. Longini IM Jr, Halloran ME, Nizam A, Yang Y. Containing pandemic influenza with antiviral agents. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 623–33.

38. Longini IM Jr, Nizam A, Xu S, Ungchusak K, Hanshaoworakul W,

Cummings DA, Halloran ME. Containing pandemic influenza at the source. Science. 2005 Aug 12;309 (5737) :1083-7.

39. McKimm-Breschkin J, Trivedi T, Hampson A, et al. Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to zanamivir and oseltamivir. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 2264-72.

40. Moscona A. Oseltamivir resistance--disabling our influenza defenses. N Engl J Med 2005; 353: 2633-6.

41. Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. N Engl J Med 2005; 352: 1839-42.

42. PPHSN 2004. Pacific Public Health Surveillance Network Guidelines for Influenza Preparedness & Control and Influenza Pandemic Preparedness (Part II) . Prepared in Consultation with the PPHSN Influenza Specialist Group (ISG) .

43. Stilianakis NI, Perelson NS, Hayden FG. Drug resistance and influenza pandemics. Lancet 2002; 359: 1862-3.

44. Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G, Fanning TG. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. Nature 2005; 437: 889-93.

45. Thanhnien 2005.

46. USDHHS 2005. United States Department of Health and Human Services 2005. Draft pandemic influenza preparedness and response plan. Annex 9: Communication and education.

47. van Dalen PJ, Wijdenes C. Preparing for the next influenza

pandemic. *Neth J Med* 2005; 63: 337-8.

48. Vardi A, Levin I, Berkenstadt H, et al. Simulation-based training of medical teams to manage chemical warfare casualties. *Isr Med Assoc J* 2002; 4: 540-4.

49. WCVHO 2005. The Writing Committee of the World Health Organisation (WHO) Consultation on Human Influenza A/H5. Avian Influenza A (H5N1) Infection in Humans. *N Engl J Med* 2005; 353: 1374-85.

50. Webster RG, Peiris M, Chen H, Guan Y. H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Emerg Infect Dis* 2006; 12:3-8.

51. Webster RG. Wet markets—a continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza? *Lancet*. 2004 Jan 17;363 (9404) :234-6.

52. WHO 2004: Informal consultation on influenza pandemic preparedness in countries with limited resources. Kuala Lumpur, Malaysia 23-25 June 2004. Department of Communicable Disease Surveillance and Response.

53. WHO 2005a: Geographical spread of H5N1 avian influenza in birds - update 28. Situation assessment and implications for human health. 18 August 2005.

54. WHO 2005b: Geographical Spread of H5N1 in Birds—update 34: 20 October 2005.

55. WHO 2005c: Situation Updates: Accessed on January 25, 2006.

56. WHO 2005d: WHO global influenza preparedness plan: The role of WHO and recommendations for national measures before and during pandemics.

57. WHO 2005e: Checklist for influenza pandemic preparedness planning 2005.

58. WHO 2005f: Avian influenza: assessing the pandemic threat.

59. WHO 2005G: WHO Statement.

60. WHO 2006. World Health Organisation Writing Group. Nonpharmaceutical interventions for pandemic influenza, international measures. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12: 81-7.

61. Yen HL, Herlocher LM, Hoffmann E, et al. Neuraminidase inhibitor-resistant influenza viruses may differ substantially in fitness and transmissibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4075-84.

## 第六章 疫苗

Stephen Korsman

### 导言

疫苗是能引起宿主免疫系统产生应答的生物制剂，当机体的免疫系统接触疫苗所针对的特异病原体时，即使机体从未接触过这种病原，也能识别并诱导产生保护性免疫应答。

流感病毒在人类中已流行传播了 300 多年，数年即有一次暴发流行，全球性的流感大流行则数十年暴发一次。流感流行每年可导致 25 万~50 万例死亡，300 万~500 万重病例，全球约共有 5~15% 的人被感染（WHO 2003）。目前，全球每年可生产 3 亿人份三价流感疫苗—这仅够西方国家的流感预防之用，而不能满足全球性流感大流行的需求（Fedson 2005）。

接种流感疫苗可有效避免发病和死亡，特别在高危人群和在例行免疫的情况下，世界卫生组织（WHO）指出“接种流感疫苗是最有效的预防措施”（WHO 2005e）。对于全球性流感大流行而言，“在流行期间中疫苗和抗病毒药物是降低发病率和死亡率最重要的应对措施。”（WHO 2005d）

### 1. 流感疫苗的发展

#### 1. 1 历史

疫苗接种源自中国，古代中国人曾将天花病人的脓液接种健康人以预防天花的感染。这种方法在 18 世纪前传入欧洲，爱德华·詹纳（Edward Jenner）在 1796 年采用牛痘进行预防接种（vaccinate, vacca 是牛的拉丁名）以预防天花感染。1931 年，研究发现流感病毒可在鸡胚中生长；到了 40 年代，美国军方研制出第一种有效的灭活流感疫苗，并应用于第二次世界大战期间的流感预防（Baker 2002, Hilleman 2000）。随着疫苗学和免疫学的巨大发展，疫苗变得更为安全并可被批量生产。如今，随着分子生物学的不断发展，我们已可通过改造流感病毒的基因来制造新型的流感疫苗（Couch 1997, Hilleman 2002）。

## 1. 2 疫苗的生产

目前使用的流感疫苗均由鸡胚培养的流感病毒制成,含有用于制造该年度流感疫苗的三株流感病毒的蛋白抗原各 $15\mu\text{g}$ —两株甲型流感病毒(H1N1和H3N2)和1株乙型流感病毒。从疫苗病毒株的选择到最终研制成疫苗成品的过程耗时较长,一般需6~8个月。

### 1. 2. 1 每年流感疫苗候选株的选择

目前,全球共有82个国家的110个国家流感监测中心和4个世界卫生组织合作中心在整个年度时刻着监控流感的流行趋势,收集流感病毒的基因组信息并鉴定其基因变异的情况。根据监测的结果,世界卫生组织将会预测下一年冬季最有可能暴发流行的流感病毒株并告知疫苗生产商,后者随即开始着手准备生产相应的流感疫苗。

世界卫生组织每年2月份和9月份分别预测北半球和南半球冬季的流感流行株。2006年2月预测的相关细节可在世界卫生组织网站上查询(WHO 2005k)。

为北半球2004年底到2005年初的冬季流感疫苗推荐的病毒株为(WHO 2005H-i):

- A/ New Caledonia /20/99 (H1N1)
- A/Fujian/411/2002 (H3N2)
- B/Shanghai/361/2002

为2005年南半球冬季流感疫苗推荐的病毒株为:

- A/ New Caledonia /20/99 (H1N1)
- A/Wellington/1/2004 (H3N2)
- B/Shanghai/361/2002

为2005~2006年北半球冬季流感疫苗推荐的病毒株为:

- A/ New Caledonia /20/99 (H1N1)
- A/ California /7/2004 (H3N2)
- B/Shanghai/361/2002

为 2006 年南半球冬季流感疫苗推荐的病毒株为：

- A/New Caledonia/20/99 (H1N1)
- A/California/7/2004 (H3N2)
- B/Malaysia/2506/2004

例如，A/ New Caledonia /20/99 (H1N1)，意思就是甲型流感病毒，H1N1 亚型，1999 年第 20 株分离自新喀里多尼亚群岛 (New Caledonia) 的病毒株。疫苗中的 H1N1 甲型流感病毒成分是不变的，而 H3N2 亚型则随时变化。从实际流感流行情况看，所预测的 2004 年度 A/Fujian/411/2002 病毒株并不准确。2004/2005 冬季流感疫苗应用的效果也非常不理想。

### 1. 2. 2 疫苗的生产过程

世界卫生组织预测下一年冬季流行的流感病毒株后，疫苗厂商即开始制备新的病毒疫苗株。如果所选择的疫苗株与以前的疫苗相同，则可缩短这一研制周期。

首先，CDC 或者其他流感参比实验室，选择要使用的疫苗病毒株与不能致病也不能在人体内复制的 PR8 株流感病毒(H1N1 A/PR/8/34)混合培养(Beare 1975, Neumann 2005)，致使基因重组产生含有疫苗株的血凝素 (haemagglutinin, HA) 和神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 基因以及来自 PR8 株流感病毒 6 段其它基因的重组病毒。随后将重组病毒于鸡胚中培养 2~3 天，收集尿囊液，密度梯度离心以浓缩纯化病毒。采用甲醛或者  $\beta$ -丙内酯灭活病毒，再经去污剂裂解，然后纯化 HA 和 NA 蛋白，最后以血凝素为准标定疫苗的浓度(Hilleman 2002, Potter 2004, Treanor 2004)

大约在 6 月/7 月份疫苗将被测试以确保足够的产量、纯度和效力。随后，将分别制备的三种疫苗病毒株一两株甲型流感病毒株和一株乙型流感病毒株混合，测定疫苗成分并包装进行销售。

### 1. 2. 3 生产能力

目前，全世界每年共可生产大约 3 亿人份的三价流感疫苗，其中大多数疫苗由澳大利亚，加拿大，法国，德国，意大利，日本，荷兰，英国和美国这 9 个国



家生产。在 2003 年, 仅有 7900 万份疫苗在这些国家和西欧国家之外的地区使用。在匈牙利、罗马尼亚和俄罗斯则有超过 1380 万份疫苗被生产和应用 (Fedson 2005)。

此外, 每年全球大概共可生产 400~500 万人份减毒流感疫苗。

### 1. 3 流感疫苗的类型

目前使用的流感疫苗类型可分为灭活疫苗和活毒疫苗。其他类型的流感疫苗还在研制中, 此外, 一些新型的流感疫苗涉及基因操作, 无法归到当前任何一种疫苗范畴。

#### 1. 3. 1 灭活疫苗

灭活疫苗可分为全病毒灭活疫苗和裂解疫苗或者叫亚单位疫苗。

全病毒疫苗是最先被研制成功的流感疫苗。将流感病毒接种到鸡胚尿囊膜中进行培养然后浓缩, 再经甲醛和  $\beta$ -丙内酯灭活即为灭活流感疫苗。随着技术的进步, 病毒浓缩纯化的方法逐渐被离心纯化法所取代, 后来则采用密度梯度离心法进行病毒浓缩纯化, 这种方法是采用密度梯度离心将特定密度的病毒颗粒在梯度密度的溶液中沉降至某一密度层。最近, 滤膜纯化法也开始应用在灭活流感病毒疫苗的纯化上 (Hilleman 2002, Potter 2004)。

全病毒疫苗安全且耐受性好, 在成人和儿童中有效率为 60~90%。

裂解疫苗的生产方法与全病毒灭活疫苗相同, 但病毒颗粒需要进一步采用去污剂进行裂解, 过去也曾使用过乙醚。

亚单位疫苗含有纯化的血凝素蛋白和神经氨酸酶蛋白, 其他的病毒成分均被去除。裂解和亚单位疫苗引起的局部反应较全病毒灭活疫苗更为轻微, 而且一次免疫即可诱导足够高的抗体水平 (Couch 1997, Hilleman 2002, Potter 2004)。但如果发生全球性流感大流行, 单次免疫的效果并不能保证, 因此必需进行两次免疫接种。

灭活流感疫苗一般采用肌肉注射方式, 皮下注射 (Belshe 2004, Copper 2004, Kenney 2004) 和鼻内接种 (粘膜) 途径 (Langley 2005) 在灭活流感疫苗上尝试已在研究中。

### 1. 3. 2 活病毒疫苗

采用鼻内接种途径的冷适应减毒流感疫苗 (Cold-adapted live attenuated influenza virus, CAIV) 从 2003 年 7 月起在美国开始使用, 这种疫苗在前苏联地区早已被使用多年。疫苗为插入疫苗株血凝素和神经氨酸酶基因的减毒流感病毒。所使用的减毒流感病毒株为 A/Ann Arbor/6/60 (H2N2) 和 B/Ann Arbor/1/66 (Hoffman 2005, Palese 1997, Potter 2004)。该减毒株为低温适应, 即病毒在 25°C 下正常生长, 而在正常人体体温下毒力减弱。这种冷适应导致 3 个病毒多聚酶基因位点发生稳定突变, 分别命名为 PA, PB1 和 PB2 (Hilleman 2002, Potter 2004)。

减毒活病毒疫苗采用鼻粘膜途径进行免疫的优点是可诱导局部中和抗体、细胞免疫应答、交叉免疫和更长的免疫应答持续时间 (Couch 1997)。

需要注意的是 CAIV 疫苗在免疫缺陷患者中的使用的安全性问题, 以及疫苗病毒株间的相互干扰问题, 这可导致免疫效果降低。当减毒疫苗对鼻粘膜表面的损害远小于野生毒力流感病毒时, 可能会导致人体对二次感染敏感。但对免疫力正常的人, 减毒疫苗似乎不存在安全性问题。使用减毒疫苗最需要担心的是基因突变回复的可能—减毒突变可能会回复至野生型—以及与野生流感病毒的重组导致新病毒株的产生。但迄今为止的研究还未发现这些问题 (Youngner 1994)。

### 1. 3. 3 发展中的疫苗和技术

**1. 3. 3. 1 细胞培养技术,** 马达犬肾细胞 (MDCK) 和非洲绿猴肾细胞 (Vero) 已被批准用于人用疫苗的生产, 并有可能在疫苗制造中最终取代鸡胚, 这可极大地提高生产效率并减少病毒培养过程中的劳动密集程度。但建立用于疫苗生产的细胞培养设施费时耗力, 而且对于这类疫苗生产技术, 大多数疫苗生产商也是刚刚开始着手进行。

**1. 3. 3. 2 反向遗传学技术**可以对流感病毒基因组进行特定操作, 还可按需更换基因组片段 (Palase 1997, Palese 2002b)。根据该方法已建立了几种基于质粒 (Neumann 2005) 构建新病毒疫苗的方法, 但目前尚未用于商业疫苗的生产。利用这种包括流感病毒的基因和启动子的小环状质粒 DNA, 转染细胞后可生成病毒

基因组和蛋白形成新的病毒颗粒。该方法如果大规模使用，则可替代繁重工作，简化并加速新疫苗的研制。对活减毒疫苗而言，不需要鸡胚培养以筛选重配正确的重组病毒（6个基因来自减毒疫苗株，血凝素和神经氨酸酶基因来自新疫苗的候选株），疫苗制造商就可简单地将2个基因片段插入质粒即可。

**1.3.3.3 DNA 疫苗**的效果已用在多种病毒和细菌病原体中进行验证。其工作原理是病毒相关抗原以DNA形式接种机体后被抗原提呈细胞摄取，随后在胞质中表达病毒蛋白。这些病毒蛋白可被机体免疫系统识别并诱导体液免疫和细胞免疫反应（Hilleman 2002）。

**1.3.3.4 针对流感病毒保守蛋白的疫苗**已在考虑中，候选的保守蛋白为M2蛋白和NP蛋白。由于这些保守性蛋白不会发生类似HA和NA的抗原漂变，依据这种蛋白的诱发的免疫力，有望生产不需要每年“重建”的流感疫苗。这种疫苗也列于世界卫生组织针对全球性流感流行的疫苗议程（Couch 2005）之中。尽管这种疫苗已在实验动物中经过验证，但尚缺乏人体临床实验数据。针对HA蛋白保守区的“属特异”的HA疫苗也在考虑之列（Palese 2002b）。

**1.3.3.5 疫苗佐剂**已在其他病原的多种疫苗中应用，目前正在观察在流感疫苗上的应用效果。佐剂的目的在于提高疫苗的免疫应答水平，从而降低抗原剂量或者提高免疫效果，或者两者兼备。铝佐剂是目前美国唯一注册的佐剂。油水乳剂MF59则自1997年已在欧洲应用于流感疫苗（Wadman 2005）。使用奈瑟氏脑膜炎菌外膜蛋白作为疫苗佐剂在早期的临床实验中已被证明有效（Langley 2005）。

**1.3.3.6 NS1 基因缺失或者降低NS1活性的减毒技术**目前正在研究中。NS1可以产生一种抑制IFN $\alpha$ 的蛋白。如果野生型流感病毒感染人体，NS1蛋白会抑制具有抗病毒效果的IFN $\alpha$ 。免疫系统可抵御NS1缺陷病毒的感染，这种缺陷病毒有希望诱导免疫应答而不致病（Palese 2002b）

**1.3.3.7 复制缺陷型的流感病毒**是将野生型流感病毒的M2或者NS2基因缺失制成的（Hilleman 2002， Palese 2002b）。这种复制缺陷病毒仅能进行一次复制，不能形成具有感染性的病毒颗粒。病毒蛋白的表达则可诱导免疫反应，而这种缺陷型病毒不会感染其他细胞或传播他人。

## 2 疫苗的有效性

抗体反应是衡量疫苗免疫应答或者疗效的血清学标准，抗体水平通过血凝抑制测定。如果人被同亚型的流感病毒感染过，那么不同类型疫苗诱导的抗体水平是相似的。但如果人没有被同亚型病毒感染过或者疫苗接种过，裂解疫苗和亚单位疫苗诱导的抗体水平就很低，需要再次免疫。

对于已接受过免疫的健康成人，单次免疫的疗效为 80~100%。而在未经免疫的成人中，需要两次免疫才能达到同样的效果。对于其他的人群，疫苗效果则更差。

表 6-1: 流感疫苗在不同人群中的疗效\*

人群	疗效
健康成人和大多数儿童	80~100%
肾衰竭（慢性）患者	66%
肾移植患者	18~93%
血液透析患者	25~100%
骨髓移植患者	24~71%
癌症患者	18~60%
HIV 感染者	15~80%

\*改编自 Pirofzki 1998, Potter 2004, Musana 2004

疫苗的有效性，即预防效果，通常相对较低，在儿童和 65 岁以下的健康人群中，疫苗的有效率为 70%~90%。在 65 岁龄以上成人中，疫苗的有效性则降低为 30%~40%。但高于 65 岁人群的疫苗的预防死亡有效率为 20%~80%，并且每年重复免疫较单次免疫能显著降低死亡风险（Govaert 1994, Gross 1995, Nichol 1994, Partriarca 1985, Voordow 2004）。Gurfinkel 的一项研究发现在心肌梗塞（MI）患者中，年度死亡风险（疫苗组为 6%，对照组为 13%）、死亡并发症、再发 MI 或者再次住院（22%对 37%）的风险降低，这可能是由于非特异的免疫应激效果。目前正计划评估流感疫苗对急性冠状动脉综合征的影响。

对医护人员进行流感疫苗接种也可降低流感易感人群被感染的风险。

研究表明，在健康福利中提供疫苗接种的相关费用是非常有效的，对健康人口的调查证明了这一点（Bridges 2000, Langley 2004, Monto 2000, Wilde

1999)。它可以降低人们的工作成本，当健康福利中包括疫苗时，减少了人们因病而导致工作上缺席的天数。接种疫苗的人们将不用再担心因生病而导致的工作力低下及病假。对医护人员接种疫苗更加重要，因为他们经常在身体高热的情况还坚持继续工作。之前的研究表明，对医护人员进行接种后，极大地减少了疗养院以及医院中的流感的传染（Pachuki 1989, Potter 1997）。

### 3 副作用

除了鸡蛋过敏外，格林巴里综合征（Guillain-Barre syndrome）是流感疫苗最严重的副作用。但是出现几率很低：年度报告显示其发病几率从 1993~1994 年度的是十万分之 0.17 降低到 2003~2004 年度的十万分之 0.04（Haber 2005）

发生频率最高的副作用是注射部位的持续 1~2 天的疼痛，发红和肿胀（10~64%），全身性的副作用例如头痛，发热，不适和肌痛的发生几率为 5%（Belshe 2005, Musana 2004, Potter 2004）。这些副作用很多会导致局部的免疫反应，产生干扰素而引起全身性的副作用。全病毒疫苗的局部副作用较亚单位或裂解疫苗更为普遍，皮内注射亦较肌肉接种更易引起局部副作用。

由于灭活疫苗不含活病毒，因此不会导致流感病毒感染，但呼吸系统疾病通常错误地被认为是接种了流感疫苗的结果。活减毒疫苗含活病毒，但其副作用出现的几率很低，鼻漏、淤血、喉咙痛和头痛是最为常见的症状，偶尔会出现腹痛，呕吐和肌痛（Musana 2004）。这些疫苗并不推荐对 5 周龄以下儿童使用，虽然 Piedra 等的一项研究表明流感疫苗可在出生 18 个月后的儿童中安全使用（Piedra 2005）。对于 18~34 个月的儿童接种疫苗是否会造成小儿哮喘加剧也还有争议（Bergen 2004, Black 2004, Glezen 2004）。但应该注意的是所有这些疫苗均应避免在免疫缺陷患者中使用。

## 4 使用建议

### 4.1 标识

#### 4.1.1 接种对象

对于主要接种人群可采用 FLU-A 简单记忆法（Musana 2004）。

F—设施（Facilities）例如休养所或者慢性病疗养所。

L—传播给高危人群的可能性（Likelihood）—医护人员或者看护人员可将流感病毒传播给患者，也包括在其他机构的高危人群的服务人员以及与高危个体生活在一起的人。

U—潜在（Underlying）的医学病症，例如糖尿病、慢性心脏或者肺病、怀孕、癌症、免疫缺陷、肾病、器官移植受者和其他。

A—年龄（Age）大于 65 岁，或者出生 6—23 个月内。

由于患流感的风险在 50 岁以上人群中呈线性增长，一些国家除了 65 岁以上老年人外，也对 50 岁~64 岁间成人进行流感疫苗接种。研究显示，保健专家对英国这项政策存有争议（Joseph 2005）。在美国推荐对 50 岁以上人群进行免疫接种，而加拿大则对 6 个月龄以上所有人群实施疫苗接种。

在流感大流行期间，一些其他人群也是接种的重点—远东地区的家禽饲养人员必需接种疫苗以预防流行的人类流感。尽管这种疫苗并不能对禽流感病毒产生免疫，但是可以防止禽流感和人流感病毒的双重感染，从而降低人体同时存在两类流感病毒的可能。同样，建议对去流感流行地区的旅客进行人流感疫苗免疫接种（Beigel 2005）。

#### 4. 1. 2 疫苗接种指南

4.1.2.1 世界卫生组织提出需要进行流感疫苗接种的人群建议（WHO 2005b-c, WHO 2005f）：

- 疗养院老年和残疾居民。
- 老年人，慢性心脏病、肺病、代谢疾病或者肾病患者或免疫缺陷患者等未收容至疗养院的个体。
- 所有大于 6 月龄患有上述病症的个体。
- 高于国家限定年龄的老龄个体，不考虑其他危险因素。

对于其他人群的免疫应基于本国有关数据和能力而定，例如高危人群的接触者，孕妇，健康护理人员和其他在社会中具有重要作用的人群，和 6~23 月龄的儿童。

4.1.2.2 CDC 指南内容雷同，略有补充（Harper 2004, CDC 2005）

- 疗养所和长期疗养院的居民

- 2~64 岁患有潜在慢性疾病的个体
- 6~23 月龄的儿童
- 65 岁龄以上的成人—高危
- 50 岁龄以上的成人—推荐
- 在流感流行季节怀孕的所有妇女
- 6~18 月龄的长期进行阿司匹林治疗的儿童
- 接触患者的医护人员
- 外出护理人员和接触 0~23 月龄儿童的家庭

4. 1. 2. 3 南非的指南 (Schoub 2005), 将需要免疫接种的人群分为 4 类:

- 1 类—危险个体 (有并发流感的危险)
  - 65 岁以上人群
  - 慢性肺病或者慢性心脏病患者
  - 免疫抑制患者
  - 孕妇—如果孕妇的妊娠中期或者晚期为冬季, 那么应该在妊娠初期进行免疫接种。
  - 患有慢性肺病或者心脏病以及免疫抑制的儿童, 考虑到患雷依氏综合征 (Reye's syndrome) 风险的可能, 服用阿司匹林的儿童也应进行免疫。
- 2 类 包括高危个体—医护人员, 老年人和高危病人的护理人员以及与高危个体共同生活的人。
- 3 类 工作场所人群的免疫接种
- 4 类 个体防护

4. 1. 2. 4 澳大利亚的指南 (Hall 2002)

- 65 岁以上成人
- 土著居民和托雷斯海峡岛上 50 岁以上居民
- 大于 6 月龄并患有慢性疾病需要常规医疗随访或者住院治疗者
- 6 岁龄以上且患有慢性肺病或者循环系统疾病 (不包括哮喘) 的患者
- 疗养所或长期疗养院居民
- 6 个月~18 岁龄之间的长期服用阿司匹林的儿童和青少年 (因为阿司匹林

治疗如果导致发热则有雷依氏综合征发生的危险)。

- 医护人员和其他为上述高危人群护理的工作人员
- 其他人群包括孕妇、出国旅行者和 HIV 患者。

大多数国家推荐的流感疫苗接种人群指南大致相同。加拿大对于疫苗接种人群有类似的建议，但推荐对出生 6 个月以上的所有人群进行流感疫苗接种 (Orr 2004)。

如果发生全球性的流感大流行，接种人群的范围将扩展到每一个人。但是，最优先进行疫苗接种的应是一线工作人员例如医护人员，以及军警人员。

## 4. 2 禁忌症

### 4. 2. 1 流感疫苗的禁忌症为：

- 鸡蛋过敏—因流感疫苗在鸡胚中制备，因此可能会发生严重的变态反应例如过敏症，尽管较为少见。
- 急性发热者—应推迟疫苗接种。轻微发热患者如上呼吸道轻度感染或者过敏性鼻炎则不应视为禁忌症。
- 过去认为妊娠初期是禁忌期。但 2004 年对 ACIP 推荐的建议进行了修改，目前的指南规定在妊娠的任何时期均可进行疫苗接种 (Better 2005, Harper 2004)。
- 早先认为格林巴里综合征 (Guillain-Barresyndrome) 为禁忌症，但在灭活流感疫苗使用上现在则不再视这种疾病为禁忌症 (Fleming 2005)。

### 4. 2. 2 流感减毒活疫苗的禁忌症 (Medimmune 2005)：

- 年龄小于 5 岁或者大于 65 岁者
- 免疫缺陷患者 - 不宜使用减毒活疫苗，而应接种灭活流感疫苗。但对免疫缺陷患者的可能接触者进行疫苗接种时应慎重，这在 2004 年疫苗短缺时引发了争论。HIV 感染者在感染早期尚无显著的免疫抑制，可使用某些减毒活疫苗例如麻疹疫苗和水痘疫苗。流感减毒活疫苗在 HIV 感染者中应用的资料虽少但显示这种疫苗在 CDC A1-2 级的成人和 N1-2 或者 A1-2 级的儿童中可安全使用，均无症状或者仅有轻微发病，成人 CD4 计数高于 200 个/ $\mu$ l (King 2000, King 20001)。所有的研究均表明者接种减毒疫苗未必会导



致显著的副作用。但是，应该注意少数患者可能会产生不良反应，因此除非有足够的研究证据，否则应对疫苗接种高度谨慎。

- 格林巴里综合征患者 (Guillain-Barré syndrome)
- 18 岁以下接受阿司匹林治疗的儿童不应进行活疫苗接种，否则有雷耶氏综合征 (Reye's syndrome) 发病的危险。但这些儿童可接种灭活疫苗。
- 其他，
  - 尚未明确哮喘患者被野生型流感病毒感染的安全性
  - 尚未明确减毒活疫苗在孕妇中对婴儿致畸和对母乳的安全性问题，孕妇应采用灭活疫苗进行免疫接种。
  - 减毒活疫苗不宜采用注射的方式接种—而应采用鼻腔喷雾的途径进行黏膜接种。
  - 避免与其他疫苗同时使用—活疫苗接种之前或之后 4 周内，灭活疫苗接种前或者接种后 2 周内均应避免接种其他疫苗。

#### 4. 3 剂量/使用方法

##### 4. 3. 1 灭活疫苗

儿童

- 6~35 个月者：大腿一侧注射 0. 25ml ( 如果有肌肉则注射三角肌)
- 3~8 岁者：大腿一侧注射 0. 5ml (如果有肌肉则注射三角肌)

成人

- 9 岁龄以上者：三角肌注射 0. 5ml

##### 4. 3. 2 减毒活疫苗

儿童 (5~8 岁)

- 初次免疫者：接种 2 次，每次 1 人份，间隔 60 天
- 已接种过流感疫苗者：每个季度接种 1 人份

成人 (9~49 岁)

- 每个季度接种 1 人份

#### 5 疫苗公司及其产品

流感疫苗的FDA网址为 <http://www.fda.gov/cber/flu/flu.htm>。

表 6-2 为目前用于临床的流感疫苗及其说明书的 FDA 网址

表 6—2 流感疫苗及其制造商

制造商	商品名	FDA 网址	说明书网址
Sanofi Pasteur	Fluzone	<a href="http://www.fda.gov/cber/products/inf">http://www.fda.gov /cber/products/inf</a>	<a href="http://poisonevercure.150m.com/vaccines/package_inserts/AP-Fluzone_2003-04">http://poisonevercure.150m.com/vaccines/package_inserts/AP-Fluzone_2003-04</a>
	Fluzone- Preservati d	<a href="http://www.fda.gov/cber/products/inf">http://www.fda.gov /cber/products/inf</a>	<a href="http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=62">http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=62</a>
	Inactivate d		<a href="http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=16610">http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=16610</a>
	Influenza		<a href="http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=13">http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=13</a>
	Inflexal V		<a href="http://www.medsafe.govt.nz/Profs/DataSheet/v/Vaxigripinj.htm">http://www.medsafe.govt.nz/Profs/DataSheet/v/Vaxigripinj.htm</a>
	Vaxigrip		<a href="http://home.intekom.com/pharm/ranbaxy/mutagrip.html">http://home.intekom.com/pharm/ranbaxy/mutagrip.html</a>
	Mutagrip		
GlaxoSmit hKline	Fluarix	<a href="http://www.fda.gov/cber/products/inf">http://www.fda.gov /cber/products/inf</a>	<a href="http://emc.medicines.org.uk/emc/assets/c/html/displaydoc.asp?documentid=20">http://emc.medicines.org.uk/emc/assets/c/html/displaydoc.asp?documentid=20</a>
Chiron Vaccines	Fluvirin	<a href="http://www.fda.gov/cber/products/inf">http://www.fda.gov /cber/products/inf</a>	<a href="http://home.intekom.com/pharm/cipla/fluvirin.html">http://home.intekom.com/pharm/cipla/fluvirin.html</a>
	Enzira		<a href="http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=16">http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=16</a>
Wyeth	Agrippal		<a href="http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=77">http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=77</a>
Solvay Healthcar	Influvac Sub-Unit		<a href="http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=20">http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=20</a>
	Invivac		<a href="http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=15161">http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=15161</a>
MASTA	MASTAFLU		<a href="http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=12737">http://emc.medicines.org.uk/eMC/assets/c/html/DisplayDoc.asp?DocumentID=12737</a>
SmithKlin eBeecham	X-Flu		
MedImmune Vaccines	FluMist*	<a href="http://www.fda.gov/cber/products/inf">http://www.fda.gov /cber/products/inf</a> <a href="http://www.fda.gov/cber/products/inf/med081805.htm">lmed081805.htm</a>	<a href="http://poisonevercure.150m.com/vaccines/package_inserts/flumist.pdf">http://poisonevercure.150m.com/vaccines/package_inserts/flumist.pdf</a>

\*FluMist 是目前唯一的流感减毒活疫苗，其余均为灭活疫苗。

## 6 储备不足时流感疫苗的使用策略

### 6.1 节省疫苗的方法

目前正在研究减少疫苗用量的方法。其中最重要的方法是使用佐剂以及利用在启动免疫应答的中起重要作用的专职抗原提呈细胞—树突状细胞（dendritic cell, DC）。

目前许多疫苗使用佐剂，例如白喉/破伤风/百日咳（DtaP）和流感杆菌（Hib）疫苗。常用的佐剂包括铝佐剂（一种铝盐混合物），脂质体，油水乳剂如 MF59，脑膜炎奈瑟氏菌荚膜蛋白，免疫刺激复合物（immunostimulating complexes, ISCOMs）和白介素 IL-2。这些佐剂均可增强疫苗的免疫应答水平，使较低剂量的疫苗免疫即可产生充分的免疫保护（Couch 1997, Langley 2005, Potter 2004）。

皮下接种的疫苗可刺激树突状细胞（DC），诱导 T 细胞应答和 T 细胞依赖的抗体形成（La Montagne 2004, Steinman 2002）。皮下接种途径在乙肝和狂犬疫苗上应用效果良好，最近已用于流感疫苗的研究（和一项始于 1948 年的研究），取得了很大的进展（Weller 2005）。使用标准肌肉注射剂量（15  $\mu$ g）的 40%，20%和 10%的抗原量经皮下途径可产生与肌肉注射全剂量相当的免疫应答水平（Belshe 2004, Cooper 2004, Kenney 2004）。虽然皮下注射可产生保护性抗体，但不如肌肉注射接种方式诱导的抗体持久。60 岁以上受试者的皮下接种似乎仅产生较弱的免疫应答，这一年龄群体可能更适合采用肌肉注射方式接种疫苗（Belshe 2004）。皮下和肌肉途径免疫的剂量与免疫效果的关系目前还不清楚（Kilbourne 2005），需要进行更深入的研究。皮下注射途径的缺点是会出现局部反应如疼痛和红肿加重；虽然这些局部反应程度还是较轻的。

### 6.2 定量配给的方法及争议

在类似 2004/5 年间的流感流行及全球性流感大流行情况所导致的疫苗短缺情况下，应优先对医务人员、从事养禽业的工人和其他一线工作的人群进行疫苗接种。但领导者应明确优先接种疫苗的人群范围以发挥相关重要作用的作用，其他的人群则需要等待疫苗厂商生产出更多的疫苗（MacReady 2005, Treanor 2004）才能进行免疫接种。在全球性流感大流行中，会出现流感疫苗短缺的局面，但 2004/5 年疫苗短缺时的处理经验显示大多数应急处理措施都较为妥当（Lee

2004)；当时一些公司收购疫苗导致了无论个人还是公共卫生部门都无法购买到获得流感疫苗 (MacReady 2005)。如果发生全球性 H5N1 流行，英国对在蔓延至全国情况下是否对医护人员及从事养禽业的人群进行优先疫苗免疫存在争议 (Day 2005)。

## 7 全球性大流行流感疫苗

本节的目的是为流感疫苗的研制提供详尽的参考。疫苗研究是一个快速发展的领域，不断取得的研究成果将使流感疫苗学和普通疫苗学的面貌大为改观。当十年后我们回过头来再看目前所研制的这些流感疫苗，将会觉得它们较为原始，所采用的技术也将过时。本节将概述当前流感疫苗研究的方向、面临的问题及未来的目标。

### 7.1 发展

众所周知，流感疫苗不仅对预防季节性流感而且对预防未来可能暴发的流感大流行都是极其重要的武器，因此现在我们必须做好准备。

世界卫生组织正与各国政府首脑和全球的疫苗厂商合作，以应对当前 H5N1 禽流感流行所引起的对可能暴发的流感大流行的恐慌 (WHO 2005g)。

虽然禽流感仍在流行之中，H5 亚型的禽流感病毒原始株如 A/Duck/Singapore/97 (H5N3) 已被鉴定用于疫苗研制 (Stephenson 2005)。需要注意的是尽管人类流感病毒仅发现 H1, H2, H3, N1 和 N2 几个亚型，但在禽流感病毒上则不能仅关注 H5 亚型，而忽视 H2, H6, H7 和 H9 亚型病毒株 (Kilbourne 1997)。

目前最迫切的任务是 a) 抗流感病毒药物的储备，b) 与流行的流感病毒株相匹配的疫苗，c) 加快疫苗的测试和批准过程，和 d) 提高疫苗的大批量生产能力，以满足全球人口的免疫接种。目前，这些工作才刚刚起步。

研制与流行毒株相匹配的疫苗需要对全球性流感的流行毒株有足够的了解，但我们并不能明确下一次流感大流行的流行毒株。当前的任务是研究多株流感病毒，其中大多为 H5 亚型毒株，因为目前 H5 亚型毒株似乎最有可能是禽流感流行的起源。

研制疫苗的技术仍然需要全力发展。目前，已有一些方法正用于候选流感疫

苗的研制。

- 利用 Vero 或者 MDCK 细胞系的细胞培养系统：这将大大提高疫苗生产能力。将这类细胞培养在微载体—玻璃珠上从而解决大量培养的问题（Osterholm 2005）。但该技术真正用于生产尚需几年的时间，而且其费用亦是一大问题（Fedson 2005）。
- 利用反向遗传学技术研制流感疫苗：例如，将 H5N1 病毒株的毒力相关基因去除。由于当前高致病性 H5N1 禽流感患者死亡率很高，因此降低病毒毒力非常重要。虽然当前 H5N1 流行的死亡率并不一定反映了最终流感大流行的死亡率，但在 H5N1 毒株用于疫苗之前必须对病毒株的致病性给予足够的重视。
- 质粒 DNA 疫苗系统：已经建立几个质粒形式的流感疫苗，其他的则尚在研究之中。其原理是首先将减毒的流感病毒株中的 6 个基因分别构建成重组质粒，一旦流行的毒株被确定，即可将其 HA 和 NA 基因同样导入质粒，然后通过病毒基因重配获得含有该流行毒株 HA 和 NA 基因的重组质粒 DNA，这种 DNA 即可作为疫苗使用。但目前 DNA 疫苗研制成功的经验还很有限。
- 正在测试种的非致病 H5N3 病毒和佐剂：免疫反应将只针对 H5，但其重要的方面是使用减毒株（Horimoto 2001）。
- 应考虑采用冷适应减毒的流感病毒株作为疫苗，但这类减毒活疫苗易发生重组。而且疫苗对某些特殊人群如老年人和儿童的安全性的评估也需要花费大量时间。
- 目前已有禽用 H5N2 灭活疫苗并在 2002~2004 年间有效预防了 H5N1 病毒的感染，但人们所期望的是人用流感疫苗应与禽用疫苗相匹配（Lipatov 2004）

## 7. 2 模拟疫苗

为了能够在流感暴发时快速生产安全性好且具有免疫原性和免疫保护作用的流感疫苗，世界卫生组织已要求疫苗厂商和科学家们着手研制与流感流行毒株相近的流感疫苗。即使这种疫苗不能立即应用，但它验证了疫苗研制的原理是正确的、技术是可行的，并且能够准备就绪可立刻投入真正的流感疫苗生产—因此

命名为“模拟疫苗”。模拟疫苗的优势在于研制已建立的疫苗在进入市场前并不需要长时间的研究。这些疫苗需要包含人体还未接触的病毒抗原，例如 H5N1 抗原，并且公司需要进行一样严格的临床实验以确定疫苗的免疫原性、剂量和安全性，直至疫苗最终被批准使用。

目前，用于预防季节性流感流行灭活疫苗的绿色通道已准备就绪—包括从病毒株的鉴定到诊室的疫苗注射整个过程共花费 6~8 个月的时间。同样，还需要建立针对全球性流感大流行的疫苗系统 (Fedson 2005, WHO 2004a-b)。

### 7. 3 生产能力

理想的疫苗生产能力为全球 120 亿人份的流感疫苗，这可保证每人免疫接种 2 人份。但实际上我们尚无生产如此多流感疫苗的能力。

目前，即使将所有疫苗厂家全部转为生产流感疫苗，那么全世界也仅能生产 3 亿人份/年的三价流感疫苗，9 亿人份的单价流感疫苗。考虑到每人至少需要接种 2 针，因此当前流感疫苗的生产能力仅能满足 4.5 亿人所需。更为重要的是人用禽流感疫苗剂量仍不清楚，相关研究表明可能会高于目前所用的人流感疫苗剂量 (Fedson 2005)。

历史上全世界已因疫苗短缺而遭受过重大损失—最近的一次是 2004/5 冬季，类似于 1968 年流感大流行时的那种危险局势。此外，很多国家没有疫苗生产设施，不得不依赖其他国家生产的疫苗。但疫苗生产国能共享其疫苗供应么？

### 7. 4 过渡

Osterholm 医生在采访中曾谈到流感暴发流行的应对问题 (Osterholm 2005)。

“假设流感大流行爆发于”今晚？一年内？或者十年内？我们应该如何应对？

有关对 Osterholm 医生的采访内容见新英格兰医学杂志，可在线收听或者下载 (<http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/18/1839/DC1>)

如果现在暴发全球性流感大流行，那么我们至少在流行期间前 6 个月中只能采取非疫苗的预防方法。尽管如此，疫苗的生产仍将不能满足全部之需，因此必

须采取疫苗配给和治疗优先体系。疫苗和药物的生产将必须提高并持续至大流行的晚期，因为短时间内生产的提高并没有影响。全世界的医疗系统都必须事先充分筹划以在不必担心流感大流行的压力情况下处理可能出现的疫苗分配问题——但目前这一体系处理分配和疫苗管理的能力还值得怀疑。由于第二波流行的死亡率要高于第一波，因此疫苗可能仅用于流感大流行第二波的流行。

如果全球性流感流行在一年内爆发，我们可能已在研制模拟疫苗上有了一些经验，因此采用目前研究的多种疫苗技术可更快的研制出流感疫苗。但这还是有明显的延误，疫苗数量可能依然不足，仍然需要实行配给。

我们并不清楚大流行何时爆发——但是必须先开始着手准备。如果大流行延后几年暴发，我们那时可能已有足够的疫苗生产能力，从而使得损失降至最低。

## **7. 5 解决方案**

世界卫生组织已提供不同策略（WHO 2005d）并且与全世界各国政府、科学家、疫苗和制药公司以及其他重要的参与者合作以最终解决这些问题。

### **7. 5. 1 用于加速研制预防流感全球性大流行的疫苗策略**

缩短流感暴发和疫苗生产之间的这段疫苗研制的时间。

1. 全球性流感流行的模拟疫苗的生产 and 临床验证。研究结果需要经统一的医学评定小组进行评估以给予疫苗的使用许可。但评估小组不得为其各自国家的疫苗进行评估。为尽快启动疫苗的生产，应事先通过模拟实验以确定疫苗的免疫效果，类似于当前的流感疫苗仅需对其免疫原性和安全性加以确认，从而大大缩短了疫苗的研制周期。

2. 必须加大全球的疫苗生产能力：例如，改为基于细胞培养的疫苗。另一个提高产量的重要方法是促进疫苗的消费——使用更多的疫苗不仅可减少流感的流行和避免同时被两株流感病毒感染人体后病毒重组的可能，而且最终疫苗的消费将带动了疫苗产量的提升。

### **7. 5. 2 提高疫苗效果**

1. 节省疫苗的方法，例如采用皮下注射方法可降低疫苗的用量——疫苗中每

个病毒株可降低 1 $\mu$ g 的剂量，这种方法尚需更深入的研究。如果我们使用当前疫苗抗原剂量的 1/8，那么目前 9 亿人份的单价疫苗将变为 72 亿人份的疫苗—足够 36 亿人所需，超过全球人口的半数（Fedson 2005）。

2. 佐剂效果的评估：免疫原性的增强使得仅需更少的抗原即可产生保护性免疫反应。

3. 通过模拟疫苗研究及临床实验以确定最低的抗原用量和最优的免疫程序（Fedson 2005, Kilbourne 2005）。

4. 新的疫苗技术也需要建立，例如反向遗传学，通过对流感病毒表位的认识以设计更为有效的疫苗。

## 7. 6 争议

许多新流感疫苗研制及使用上的相关问题还需要解决（Fedson 2005, Osterholm 2005）。

财政：对基于质粒的细胞培养病毒方法的专利和在不同国家的法律涵义需要调查和处理。知识产权的拥有者以何种方式受益？研究的模拟疫苗可能并不能销售和使用，那么由谁来资助这一费用？

配给：疫苗短缺的情况下，高危人群及控制流感流行的一线工作人员将首先接受疫苗免疫。在这种情况下，“高危人群”的定义将可能需要调整—如是否包括儿童？在英国，优先接种疫苗人群是家禽饲养者还是医护人员已引起了争议（Day 2005）。

合理的权益：非疫苗生产国，贫穷国家和发展中国家将需要分享疫苗的贮备。

债务问题：由于疫苗接种的增加，因此债务问题变得更值得关注。几个国家已经立法限定和/或补偿疫苗公司的债务—鼓励国家的这种立法可使疫苗公司更好地自主研制新型疫苗和增加当前疫苗的储备。当流感疫苗投入广泛使用时，这样的立法将显得更为重要。

## 7. 7 组织

Barnett 利用 Haddon 矩阵展示了在流感流行期间，从流行前到流行后的不同时期应该如何规划和组织。



世界卫生组织将在这一过程中发挥重要作用。2001 年制定了全球流感监控议程 (Webby 2003, Stohr 2005)。其作用是增强我们的监控能力, 从而可以更好地监测并应对流感暴发流行。此外为了预防流感全球性大流行, 尚需提高对流感病毒的了解, 并加强对疫苗验收和应用 (WHO 2005j)。

世界卫生组织也需要尽可能的引导对疫苗生产、立法、和加速疫苗研究和应用等问题的处理。世界卫生组织还需要帮助解决在资金、专利和知识产权、平衡发展中国家与不生产疫苗国家, 以及在疫苗储备不足以供给超过 60 亿人所需时的疫苗配给等方面的争论。

## 7. 8 理想世界—2025

“我们的目标是研制基于细胞培养的新型流感疫苗, 而且这种疫苗针对所有亚型的流感病毒, 适用于全世界, 不需要年年更换。我们需要来自国际社会的公共资金以负担在全球性流感流行期间所需的巨额费用。” (Osterholm 2005)

(姜涛 译)

### 推荐读物和音像资料

#### 音像资料

- Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med* 2005; 352: 1839-42. [http:// content.nejm.org/cgi/content/full /352/18/1839/DC1](http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/18/1839/DC1)
- Belshe RB. The origins of pandemic influenza--lessons from the 1918 virus. *N Engl J Med* 2005; 353: 2209-11. <http://content.nejm.org/cgi/content/full /353/21/2209/DC1>

#### 在线资源

- US Department of Health and Human Services. The official U.S. government Web site for information on pandemic flu and avian influenza. <http://pandemicflu.gov/research/>
- Centers for Disease Control (CDC), USA. Influenza (flu). <http://www.cdc.gov/flu/>

- World Health Organisation (WHO). Epidemic and Pandemic Alert and Response Influenza. <http://www.who.int/csr/disease/influenza/en/index.html>
- World Health Organisation (WHO). Epidemic and Pandemic Alert and Response Avian Influenza. [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/en/index.html)
- World Health Organisation (WHO). Responding to the avian influenza pandemic threat. Recommended strategic actions. 2 September 2005 [http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2005\\_8/en/index.html](http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_8/en/index.html)
- WHO. Recommendations for Influenza Vaccine Composition. <http://www.who.int/csr/disease/influenza/vaccinerecommendations1/en/>
- Journal of Infectious Diseases, 1997, vol 176, suppl 1, Pandemic Influenza: Confronting a Re-emergent Threat <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/contents/v176nS1.html>

## 参考文献

1. Baker JP, Katz SL. Childhood vaccine development: an overview. *Pediatr Res* 2004; 55: 347-56. Epub 2003 Nov 19. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14630981>
2. Barnett DJ, Balicer RD, Lucey DR, et al. A Systematic Analytic Approach to Pandemic Influenza Preparedness Planning. *PLoS Med* 2005; 2: <http://amedeo.com/lit.php?id=16255619>
3. Beare AS, Schild GC, Craig JW. Trials in man with live recombinants made from A/PR/8/34 (H0 N1) and wild H3 N2 influenza viruses. *Lancet* 1975; 2: 729-32. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=52768>
4. Beigel JH, Farrar J, Han AM, et al. Avian influenza A (H5N1) infection

- in humans. N Engl J Med 2005; 353:1374-85.  
<http://amedeo.com/lit.php?id=16192482>
5. Belshe RB, Newman FK, Cannon J, et al. Serum antibody responses after intradermal vaccination against influenza. N Engl J Med 2004; 351: 2286-94. Epub 2004 Nov 3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15525713>
  6. Belshe RB. The origins of pandemic influenza--lessons from the 1918 virus. N Engl J Med 2005; 353: 2209-11. <http://amedeo.com/lit.php?id=16306515>; for audio content: <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/21/2209/DC1>
  7. Bettes B, Hawks D, Schulkin J. Influenza Vaccination in Pregnancy: Practices Among Obstetrician-Gynecologists --- United States, 2003--04 Influenza Season. MMWR Weekly 2005; 54: 1050-1052. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5441a4.htm>
  8. Bridges CB, Thompson WW, Meltzer MI, et al. Effectiveness and cost-benefit of influenza vaccination of healthy working adults: A randomized controlled trial. JAMA 2000; 284: 1655-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11015795>
  9. Centres for Disease Control. Interim Guideline: Planning for a Possible U. S. Influenza Vaccine Shortage, 2005-06. (Accessed on 20 November 2005 at <http://www.cdc.gov/flu/professionals/vaccination/pdf/vaccshortguide.pdf>)
  10. Cooper CL, Davis H, Cameron DW. Influenza vaccination with 1/10th the full dose. N Engl J Med 2004; 351:2339-40. <http://amedeo.com/lit.php?id=15564552>
  11. Couch RB, Keitel WA, Cate TR. Improvement of inactivated influenza virus vaccines. J Infect Dis 1997; 176:Suppl 1: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9240693>
  12. Cassetti MC, Couch R, Wood J, Pervikov Y. Report of meeting on the

- development of influenza vaccines with broad spectrum and long-lasting immune responses, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 26-27 February 2004. Vaccine 2005; 23: 1529-33. <http://amedeo.com/lit.php?id=15754468>
13. Day M. Experts disagree over who should get avian influenza vaccine. BMJ 2005; 331: 986. <http://amedeo.com/lit.php?id=16254300>
  14. Fedson DS. Preparing for pandemic vaccination: an international policy agenda for vaccine development. J Public Health Policy 2005; 26: 4-29. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15906873>
  15. Fleming D. Influenza pandemics and avian flu. BMJ 2005; 331: 1066-9. <http://amedeo.com/lit.php?id=16269494>
  16. Glezen WP, Piedra PA, Longini IM, Halloran ME. Safety of cold-adapted live influenza vaccine. Pediatr Infect Dis J 2004; 23: 593-4 <http://amedeo.com/lit.php?id=15194854>
  17. Govaert TM, Thijs CT, Masurel N, Sprenger MJ, Dinant GJ, Knottnerus JA. The efficacy of influenza vaccination in elderly individuals. A randomized double-blind placebo-controlled trial. JAMA 1994; 272: 1661-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7966893>
  18. Gross PA, Hermogenes AW, Sacks HS, Lau J, Levandowski RA. The efficacy of influenza vaccine in elderly persons. A meta-analysis and review of the literature. Ann Intern Med 1995; 123: 518-27. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7661497>
  19. Gurfinkel EP, Leon de la Fuente R, Mendiz O, Mautner B. Flu vaccination in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions (FLUVACS) Study. Eur Heart J 2004; 25: 25-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14683739>
  20. Haber P, DeStefano F, Angulo FJ, et al. Guillain-Barre syndrome following influenza vaccination. JAMA 2004;292: 2478-81. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15562126>

21. Hall R. Influenza vaccination. *Australian Prescriber* 2002; 25:5-7.
22. Harper SA, Fukuda K, Uyeki TM, Cox NJ, Bridges CB. Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2004; 53: 1-40. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15163927>
23. Hien TT, de Jong M, Farrar J. Avian influenza--a challenge to global health care structures. *N Engl J Med* 2004; 351: 2363-5. <http://amedeo.com/lit.php?id=15575048>
24. Hilleman MR. Realities and enigmas of human viral influenza: pathogenesis, epidemiology and control. *Vaccine* 2002; 20: 3068-87. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12163258>
25. Hilleman MR. Vaccines in historic evolution and perspective: a narrative of vaccine discoveries. *Vaccine* 2000; 18: 1436-47. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10618541>
26. Hoffmann E, Mahmood K, Chen Z, et al. Multiple gene segments control the temperature sensitivity and attenuation phenotypes of ca B/Ann Arbor/1/66. *J Virol* 2005; 79: 11014-21. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16103152>
27. Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:129-49. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11148006>
28. Joseph C, Elgohari S, Nichols T, Verlander N. Influenza vaccine uptake in adults aged 50-64 years: Policy and practice in England 2003/2004. *Vaccine* 2005; Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16289767>
29. Kenney RT, Frech SA, Muenz LR, Villar CP, Glenn GM. Dose sparing with intradermal injection of influenza vaccine. *N Engl J Med* 2004; 351: 2295-301. Epub 2004 Nov 3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15525714>
30. Kilbourne ED. Intradermal vaccination against influenza. *N Engl J Med*

- 2005; 352: 1044-6 <http://amedeo.com/lit.php?id=15762000>
31. Kilbourne ED. Perspectives on pandemics: a research agenda. *J Infect Dis* 1997; 176: Suppl 1: Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=9240691>
32. King JC Jr, Fast PE, Zangwill KM, et al. Safety, vaccine virus shedding and immunogenicity of trivalent, coldadapted, live attenuated influenza vaccine administered to human immunodeficiency virus-infected and noninfected children. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 1124-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11740317>
33. King JC Jr, Treanor J, Fast PE, et al. Comparison of the safety, vaccine virus shedding, and immunogenicity of influenza virus vaccine, trivalent, types A and B, live cold-adapted, administered to human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected adults. *J Infect Dis* 2000; 181: 725-8. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=10669363>
34. La Montagne JR, Fauci AS. Intradermal influenza vaccination--can less be more? *N Engl J Med* 2004; 351:2330-2. Epub 2004 Nov 3. <http://amedeo.com/lit.php?id=15525715>
35. Langley JM, Faughnan ME. Prevention of influenza in the general population. *CMAJ* 2004; 171: 1213-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15534315>
36. Langley JM, Halperin SA, McNeil S, et al. Safety and immunogenicity of a Proteosometrade mark-trivalent inactivated influenza vaccine, given nasally to healthy adults. *Vaccine* 2005; Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16303215>
37. Lasky T, Terracciano GJ, Magder L, et al. The Guillain-Barre syndrome and the 1992-1993 and 1993-1994 influenza vaccines. *N Engl J Med* 1998; 339: 1797-802. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9854114>
38. Lee TH. Rationing influenza vaccine. *N Engl J Med* 2004; 351: 2365-6. <http://amedeo.com/lit.php?id=15575049>

39. Lipatov AS, Govorkova EA, Webby RJ, et al. Influenza: emergence and control. *J Virol* 2004; 78: 8951-9. <http://amedeo.com/lit.php?id=15308692>
40. Macready N. Distribution anomalies hinder access to flu vaccine in the US. *BMJ* 2005; 331: 1044. <http://amedeo.com/lit.php?id=16269489>
41. Manian FA. Intradermal vaccination against influenza. *N Engl J Med* 2005; 352: 1044-6 <http://amedeo.com/lit.php?id=15761999>
42. MedImmune Vaccines, Inc. FluMist 2005-2006 Formula. 2005. <http://www.fda.gov/cber/label/inflmed080505LB.pdf>
43. Monto AS. Preventing influenza in healthy adults: the evolving story. *JAMA* 2000; 284: 1699-701. <http://amedeo.com/lit.php?id=11015802>
44. Musana KA, Yale SH, Mazza JJ, Reed KD. Practical considerations to influenza vaccination. *Clin Med Res* 2004; 2: 256-9. <http://amedeo.com/lit.php?id=15931366>
45. Neumann G, Fujii K, Kino Y, Kawaoka Y. An improved reverse genetics system for influenza A virus generation and its implications for vaccine production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 16825-9. Epub 2005 Nov 2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16267134>
46. Nichol KL, Margolis KL, Wuorenma J, Von Sternberg T. The efficacy and cost effectiveness of vaccination against influenza among elderly persons living in the community. *N Engl J Med* 1994; 331: 778-84. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8065407>
47. Orr P. An Advisory Committee Statement (ACS). National Advisory Committee on Immunization (NACI). Statement on influenza vaccination for the 2004-2005 season. *Can Commun Dis Rep* 2004; 30: 1-32. <http://amedeo.com/lit.php?id=15239483>
48. Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med* 2005; 352: 1839-42. <http://amedeo.com/lit.php?id=15872196>; for audio content: <http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/18/1839/DC1>

49. Pachucki CT, Pappas SA, Fuller GF, Krause SL, Lentino JR, Schaaff DM. Influenza A among hospital personnel and patients. Implications for recognition, prevention, and control. *Arch Intern Med* 1989; 149: 77-80. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2912418>
50. Palese P, Zavala F, Muster T, Nussenzweig RS, Garcia-Sastre A. Development of novel influenza virus vaccines and vectors. *J Infect Dis* 1997; 176: Suppl 1: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9240694>
51. Palese P (2002a), Garcia-Sastre A. New directions in vaccine research. *J Clin Invest* 2002; 109: 1517-8. <http://amedeo.com/lit.php?id=12070295>
52. Palese P (2002b), Garcia-Sastre A. Influenza vaccines: present and future. *J Clin Invest* 2002; 110: 9-13. <http://amedeo.com/lit.php?id=12093881>
53. Piedra PA, Gaglani MJ, Riggs M, et al. Live attenuated influenza vaccine, trivalent, is safe in healthy children 18 months to 4 years, 5 to 9 years, and 10 to 18 years of age in a community-based, nonrandomized, openlabel trial. *Pediatrics* 2005; 116: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16140685>
54. Pirofski LA, Casadevall A. Use of licensed vaccines for active immunization of the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 1-26. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9457426>
55. Potter CW. Influenza. In: Zuckerman AJ, Pattison JR, Banatvala JE, editors. *Principles and Practice of Clinical Virology*. 5th ed. Chichester, England: John Wiley & Sons, 2005;271-297.
56. Potter J, Stott DJ, Roberts MA, et al. Influenza vaccination of health care workers in long-term-care hospitals reduces the mortality of elderly patients. *J Infect Dis* 1997; 175: 1-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8985189>
57. Public Health Agency of Canada. Statement on influenza vaccination



- for the 2004–2005 season. *Canada Communicable Disease Report* 2004; 30: ACS-3. (Accessed on 29 November 2005 at <http://www.phac-aspc.gc.a/publicat/ccdr-rmtc/04pdf/acs-dcc-30-3.pdf>)
58. Schoub BD. Recommendations pertaining to the use of viral vaccines: influenza, 2005. *S Afr Med J* 2005; 95:104. <http://amedeo.com/lit.php?id=15751203>
  59. Steinman RM, Pope M. Exploiting dendritic cells to improve vaccine efficacy. *J Clin Invest* 2002; 109: 1519–26. <http://amedeo.com/lit.php?id=12070296>
  60. Stephenson I, Bugarini R, Nicholson KG, et al. Cross-reactivity to highly pathogenic avian influenza H5N1viruses after vaccination with nonadjuvanted and MF59-adjuvanted influenza A/Duck/Singapore/97 (H5N3) vaccine: a potential priming strategy. *J Infect Dis* 2005; 191: 1210–5. Epub 2005 Mar 14. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15776364>
  61. Stohr K. Avian influenza and pandemics—research needs and opportunities. *N Engl J Med* 2005; 352: 405–7. Epub 2005 Jan 24. <http://amedeo.com/lit.php?id=15668221>
  62. Treanor J. Weathering the influenza vaccine crisis. *N Engl J Med* 2004; 351: 2037–40. Epub 2004 Oct 18. <http://amedeo.com/lit.php?id=15492296>
  63. Voordouw AC, Sturkenboom MC, Dieleman JP, et al. Annual revaccination against influenza and mortality risk in community-dwelling elderly persons. *JAMA* 2004; 292: 2089–95. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15523069>
  64. Wadman M. Race is on for flu vaccine. *Nature* 2005; 438: 23. <http://amedeo.com/lit.php?id=16267526>
  65. Webby RJ, Webster RG. Are we ready for pandemic influenza? *Science* 2003; 302: 1519–22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14645836>
  66. Weller TH. Intradermal vaccination against influenza. *N Engl J Med*

- 2005; 352: 1044-6 <http://amedeo.com/lit.php?id=15758019>
67. WHO 2003. Influenza Fact Sheet. (Accessed on 15 December 2005 at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/index.html>)
68. WHO 2004a. Production of pilot lots of inactivated influenza vaccines from reassortants derived from avian influenza viruses - Interim biosafety risk assessment. (Accessed on 26 April 2005 at [http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_RMD\\_2003\\_5/en/index.html](http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_RMD_2003_5/en/index.html))
69. WHO 2004b. Vaccines for pandemic influenza. (Accessed on 30 November 2005 at [http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2004\\_3/en/](http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2004_3/en/))
70. WHO 2005a The World Health Organization Global Influenza Program Surveillance Network. Evolution of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1515-1521. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16318689>
71. WHO 2005b. WHO intercountry-consultation. Influenza A/H5N1 in humans in Asia. Manila, Philippines, 6-7 May 2005 (Accessed on 1 December 2005 at [http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2005\\_7\\_04.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_7_04.pdf))
72. WHO 2005c. Influenza vaccine. (Accessed on 1 December 2005 at <http://www.who.int/vaccines/en/influenza.shtml> )
73. WHO 2005d. Responding to the avian influenza pandemic threat - Recommended strategic actions. (Accessed on 30 November 2005 at [http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2005\\_8/en/index.html](http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_8/en/index.html))
74. WHO 2005e. WHO checklist for influenza pandemic preparedness planning. (Accessed on 26 April 2005 at

- [http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2005\\_4/en/](http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_4/en/))
75. WHO 2005f. Influenza vaccines. *Wkly Epidemiol Rec* 2005; 80: 279–87. <http://amedeo.com/lit.php?id=16171031>
76. WHO 2005g. H5N1 avian influenza: first steps towards development of a human vaccine. *Wkly Epidemiol Rec* 2005; 80: 277–8. <http://amedeo.com/lit.php?id=16171030>
77. WHO 2005h. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2005–2006 influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 2005; 80: 71–5. <http://amedeo.com/lit.php?id=15771207>
78. WHO 2005i. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2006 influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 2005; 80: 342–7. <http://amedeo.com/lit.php?id=16240985>
79. WHO 2005j. WHO global influenza preparedness plan. (Accessed on 26 April 2005 at [http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO\\_CDS\\_CSR\\_GIP\\_2005\\_5/en/](http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_2005_5/en/))
80. WHO 2005k. WHO Consultation on the Composition of Influenza Vaccine for the Northern Hemisphere 2006–2007. (Accessed on 15 December 2005 at [http://www.who.int/csr/disease/influenza/vaccinesnorth2006\\_7/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/influenza/vaccinesnorth2006_7/en/index.html))
81. Wilde JA, McMillan JA, Serwint J, Butta J, O’Riordan MA, Steinhoff MC. Effectiveness of influenza vaccine in health care professionals: a randomized trial. *JAMA* 1999; 281: 908–13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10078487>
82. Youngner JS, Treanor JJ, Betts RF, Whitaker–Dowling P. Effect of simultaneous administration of coldadapted and wild-type influenza A viruses on experimental wild-type influenza infection in humans. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 750–4. Abstract:

<http://amedeo.com/lit.php?id=8195389>

## 第七章 实验室诊断

Gert van zyl

### 导言

自从 1933 年流感病毒首次被鉴定以来，人们已发展了各种各样的检测方法（Webster, 1998）。这些方法可用来确证临床诊断结果。在本章中，我们将讨论一些最重要的检测方法的作用及其优点和局限性。当然，若没有恰当的、高质量的标本采集和患者资料，就算最好的检测方法也将不起作用。

### 1 流感的实验室诊断

#### 1.1 标本的采集

##### 1.1.1 呼吸道标本

因为发病初始四天内的呼吸道标本的量较多，所以适时的标本采集就显得至关重要了。一般可以采集各种各样的呼吸道标本用于检测。鼻腔冲洗液和鼻咽抽吸物比咽拭子更敏感一些。而对于插管病人，则可以采集气管抽吸物和支气管灌洗液（WHO 2005a）。洗液和抽吸物应当含有较多的呼吸道上皮细胞，以满足免疫荧光检测的需要。但是对于上皮细胞较少的标本也可用于其它的一些检测方法，如快速抗原检测、病毒分离培养和逆转录-聚合酶链反应（RT-PCR）。

拭子标本应储存在病毒标本运送液中运输以防止干变。

所有的标本均应尽快送到实验室以避免降解，否则应将标本置于病毒标本运送液中放在冰上或于 2-8℃ 的冰箱中转运。

##### 1.1.2 血液标本

收集血液（全血、血清）标本是为了检测抗体水平的变化（判断是否有针对流感病毒的抗体）。应收集相隔 14-21 天的急性期和恢复期血清样本，以判断是否有显著的（至少四倍）特异性抗体滴度的升高。

### 1.2 实验诊断在临床中的作用

### 1.2.1 病人管理

由于用昂贵的抗病毒药物在早期进行治疗是有效的，因此，快速诊断就显得非常的关键。不过这些药物只有在病情开始的48小时内应用才有效(WHO 2005a)。需要早期治疗的是那些有潜在症状并且易患严重并发症的病人(见“临床表现”一章)。临床医师对年老病人的诊断应该特别注意是否有严重的继发性细菌感染，如金黄色葡萄球菌、流感(嗜血)杆菌和肺炎链球菌的感染。

另外，流感病毒的快速检测，在控制医院感染方面可减少病人间或已感染的医务人员与高危病人之间的传播。这些方法同时可用于检测旅行者或半密闭群体，如航船上的船员，是否存在流感爆发流行(WHO 2005a)。

流感的检测对于病程短的健康年轻患者的诊断也具有实际意义。

### 1.2.2 监测

流感疫情的监测依赖于多种检测方法。但是，即使在欧洲仍然缺乏标准化的技术方法(Meerhoff 2004)。不同的检测技术有不同的优点和不足，因此应将综合的检测方法用于监测。快速直接的检测技术如逆转录-聚合酶链反应(Big1 2002)或酶免疫测定法(EIAs)不仅可迅速检测，而且还可用于甲、乙型流感的鉴别。用鸡胚或细胞分离培养病毒则是鉴别病毒亚型所必需的。血凝素和神经氨酸酶的亚型鉴定可采用血凝抑制试验和逆转录-聚合酶链反应。PCR产物的测序也可用于病毒的分子流行病学监测。上述检测结果及毒株间的血凝抑制效价将有助于世界卫生组织推荐合适的、最能针对当前流行毒株的疫苗设计与开发。由于流感的流行可能造成巨大的经济损失和人员伤亡，从而使政府更加重视流感的预防，因此，疫情的监测也就显得非常重要。

## 2. 实验室检测方法

在决定采用何种检测方法时，应考虑多方面的因素，包括：敏感性、特异性、花费时间、可重复性、操作容易程度和花费。总的来说，逆转录-聚合酶链反应比血清学方法和病毒分离培养法更敏感，而逆转录-聚合酶链反应与血清学方法的组合则比任何其他两种实验方法的组合更加敏感(Zambon 2001)。分离培养法

的敏感性主要取决于不同的实验室操作。血清学方法比逆转录-聚合酶链反应更经济，但是由于前者需要急性期和恢复期双份血清，所以只是回顾性的。传统的病毒分离培养很费时，但是通过培养技术的改进可以在 48-72 小时内出结果。

## 2.1 直接法

流感病毒的直接检测可采用不同的方法。有些方法如酶免疫测定法适用于床旁检测，直接免疫荧光法则可将已在诊所制备好的玻片送到中心实验室检测 (Allwinn 2002)。逆转录-聚合酶链反应仅可由受过训练的工作人员在有良好实验设施的实验室中进行。这些方法可检测甲、乙型流感或区别流感的型别 (甲、乙型)。唯一可鉴定流感亚型 (即在血凝素和神经氨酸酶的基础上) 的直接法是逆转录-聚合酶链反应。

### 2.1.1 免疫荧光法

直接免疫荧光法是直接将疑似感染的上皮细胞固定在玻片上，然后用标记荧光的特异抗体检测病毒抗原。若是用标记荧光的二抗来检测一抗则是间接免疫荧光法。以上的反应可在荧光显微镜下通过荧光的强度和形态辨别阳性细胞。直接免疫荧光法比间接法更快得出结果，但通常敏感性较差。间接法同时还有一个优点就是可利用一单独标记有荧光染料的二抗 (通常用标记有异硫氰胺荧光素的抗小鼠抗体; Stevens 1969)。只有采集的呼吸道标本中有足够的上皮细胞，免疫荧光法才可能很快得出结果。但是，由于结果的判读存在主观性，并且结果的准确度依赖于操作者的能力和经验，因而导致了免疫荧光法检测结果间的差异。

### 2.1.2 酶免疫测定法或免疫色谱法

酶免疫测定法使用针对病毒抗原的并标记酶的抗体，然后与一发色的底物一起孵育，若有颜色变化则表明有病毒抗原存在。酶免疫测定法及其派生的方法均利用了免疫色谱的原理，从而可用于床旁检测 (Allwinn 2002)，仅需 10-30 分钟。这些快速检测方法的费用通常比直接免疫荧光法和病毒分离培养更昂贵。酶免疫测定法的敏感性通常在 64%~78%之间 (Allwinn 2002)。有的快速法可以检测甲型或乙型流感病毒而不能区别它们，有的则只能检测甲型流感，有的则可同

时检测两种型别并辨别它们。但是,目前尚没有一种快速方法可用于感染人(H1N1 and H3N2)或禽的流感病毒亚型的鉴定(FDA 2005)。有关一些快速有效的检测方法可在网站<http://www.cdc.gov/flu/professionals/labdiagnosis.com>中查找。

### 2.1.3 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)

逆转录-聚合酶链反应的过程是:先将RNA反转录成互补DNA(cDNA),然后通过设计的引物特异地结合到目的区域,在热稳定DNA聚合酶作用下,将一段基因组进行扩增,这样可使少量的核酸得到指数级的扩增。

逆转录-聚合酶链反应不仅有很高的敏感性(Steininger 2002),而且还可用于亚型的鉴定及系统进化分析(Allwinn 2002)。但是样本中RNA的降解可降低RT-PCR的敏感性(Frisbie 2004),因此对收集的样本应尽快进行逆转录-聚合酶链反应操作。

## 2.2 病毒的分离

病毒分离培养技术是先将样本接种到活的培养系统,然后观察是否有病毒感染。因为培养的同时使病毒大量的增殖,因此它的敏感性仅次于逆转录-聚合酶链反应(病毒核酸的扩增),而比其它直接检测法更敏感。只有当活培养系统或细胞对要分离的病毒敏感时,进行病毒分离才有效。

由于标本送检延迟会使病毒灭活,因此进行病毒分离时应将标本尽快送至实验室(Allwinn 2002)。

### 2.2.1 鸡胚培养

将标本接种10-12日龄鸡胚的羊膜腔三天后,即可收获大量的病毒(WHO 2005d)。

由于这种方法需要受精的鸡蛋和特殊的孵卵器,因此不再用于常规流感病毒感染的检测。但是,鸡胚法可以培养获得大量的病毒,并且是一种很敏感的培养系统。因此,参考实验室均利用该培养系统以确保检测的高敏感性和有效的流行病学监测。



### 2.2.2 细胞培养

常规培养：许多细胞系可用于病毒培养，最常用的是原代猴肾细胞和马-达二氏犬肾细胞(MDCK)。一些作者推荐使用胰蛋白酶以帮助病毒侵入细胞系中(WHO 2005d)。常规细胞培养需时两周，有非常高的敏感性。可以观察到诸如合胞体或细胞浆内嗜碱性包涵体之类的细胞病变。若产生细胞病变，可进一步用豚鼠红细胞进行血细胞吸附试验(Weinberg 2005)或直接在培养细胞上进行免疫荧光检测来确认是否有流感病毒感染，后者还可用于分离病毒的分类。检测阳性培养物，免疫荧光法比细胞吸附试验有更高的敏感性。

贝壳管型瓶分离培养：可在 48 小时内得出诊断结论(Allwinn 2002)。操作方法是先将接种物离心到细胞培养层的上面，在可观察到细胞病变之前进行免疫荧光检测。但是，其敏感性比常规培养要低一些(Weinberg 2005)。

### 2.2.3 实验动物

在实验研究中，雪貂常被用作人感染流感的动物模型，但它在常规的诊断中不起作用。

## 2.3 血清学方法

血清学方法指的是在血清(或其它体液)中检测针对流感病毒的特异抗体。

血清学方法可检测总的抗体水平，也可分别检测各类抗体(IgG、IgA 或 IgM)。

有多种血清学方法可用于检测流感，如血凝抑制试验(HI)、补体结合试验(CF)、酶免疫测定法(EIA)和间接免疫荧光法。

血清学方法对于急性期的流感诊断没有太大的价值。为了诊断急性感染，需要对急性期和恢复期的双份血清进行检测，血清滴度至少要有四倍的升高才为阳性。因此，它可用于检测近期感染过流感的患者。

血清学方法也可用于对流感疫苗的免疫应答情况的检测(Prince 2003)。

由于最初接触流感病毒时可以产生异源抗体，因而血清学方法在没有接触过流感病毒的小儿患者中有更大的应用价值(Steininger 2002)。

### 2.3.1 血凝抑制试验 (HI)

血凝抑制试验是一种比较费时、费力，并且需要进行标准化控制的方法。但是，该实验试剂较便宜且应用范围广。许多种红细胞可用于血凝抑制试验，如：豚鼠、鸡和人的 O 型血。通常使用的红细胞稀释度为 0.4-0.5%。血清需要进行预处理以清除非特异的凝集素和阻断剂。将能产生可见的血细胞凝集现象（通常为 4 个血凝单位）的病毒血凝素标本预先培养在两倍稀释的血清标本中，HI 效价为能够抑制血球凝集的最低血清稀释度。血凝抑制试验比补体结合试验更敏感（Julkunen 1985, Prince 2003），并且它的另一优点就是能够更特异地对血凝素的亚型进行鉴别（Julkunen 1985）。

### 2.3.2 补体结合实验 (CF)

补体结合试验是建立在抗原-抗体复合物可消耗补体的基础上的，这就使得无过量的补体可以溶解致敏的绵羊红细胞。该方法较费力，并且每个步骤都要进行严格控制，其优点是试剂便宜且能广泛应用。但是，在用于急性感染和接种疫苗后免疫性的检测方面，这种方法的敏感性不及血凝抑制试验（Prince 2003）。

### 2.3.3 酶免疫测定法 (EIA)

酶免疫测定法均比血凝抑制试验和补体结合试验更敏感（Bishai 1978, Julkunen 1985）。现在可使用多种商品化的酶免疫测定试剂盒。测定 IgG 和 IgA 的方法比测定 IgM 的更敏感些（Julkunen 1985），但其缺点是不能鉴别是否为急性感染。

### 2.4.4 间接免疫荧光法

间接免疫荧光法通常不用于流感病毒抗体的检测。

## 2.4 快速检测法

流感检测方法的临床价值很大程度上取决于方法的快速性。早期用于流感检测的方法是病毒分离培养和血清学检测。问题是这些方法往往需要两周以上的时间才能排除流感病毒感染的可能。虽然贝壳管型瓶法缩短了分离培养的时间，但

它仍不是一种快速检测方法。

随着直接检测法如免疫荧光法的发展，使得检测可在几个小时内（1到2个孵化和洗涤步骤）完成。但是，免疫荧光法需要熟练的实验人员和荧光显微镜。

抗原快速检测法（其原理为酶免疫测定或免疫色谱法）的发展导致流感病毒快速检测方法的大变革。这些新方法使得流感检测只需10-30分钟。而且有的方法很简单，甚至没经过实验室培训的人都可以操作（指床旁检测）。

最初的逆转录-聚合酶链反应法由于需要电泳的步骤，所以比较费时，但是最近发展起来的实时逆转录-聚合酶链反应法完成检测只需2个小时左右。虽然抗原检测法简便易于操作，但是它的敏感性不如直接免疫荧光法、分离培养或逆转录-聚合酶链反应法。

表 7-1: 流感病毒检测方法的特点比较

检测方法	敏感性	需时	操作容易度	成本
<b>直接检测法</b>				
速测法（EIA/色谱法）	-2	+2	+2	0
免疫荧光法	0	+1	+1	+1
凝胶电泳	+2	0	-1	-2
RT-PCR 法				
实时 RT-PCR 法	+2	+1	-1	-2
<b>病毒分离培养</b>				
常规病毒培养	+2	-2	-1	+2
贝壳管型瓶培养	+1	0	-1	+1
<b>血清学方法</b>				
血凝抑制试验	+1	-2	-1	+2
补体结合试验	0	-2	-2	+2

注：各检测方法的相对有利性（度量范围为 5）

-2: 非常不利的特征

- 1: 不利的特征
- 0: 平均特性水平
- +1: 有利的特征
- +2: 非常有利的特征

### 3 流感样疾病的鉴别诊断

“流感样”症状包括：发热、咳嗽、鼻充血、头痛、不适和肌痛。但在“流感样”的限定上还没有统一的标准。

在某一疾病流行期间，若有发热、咳嗽、严重的鼻症状或食欲不振等症状，则提示很可能是流感病毒感染（Zambon 2001）。但是，许多其它疾病也可表现出流感样的症状，这包括病毒、细菌、支原体、衣原体、霉菌感染和寄生虫侵袭，如出血热病毒感染可危及年轻人或健康人生命，军团菌感染一般只危及老年人这样的高危人群的生命。因此，鉴别诊断就显得至关重要。鉴别诊断通常应该在病史如旅行史、职业性暴露、是否接触动物或病人、症状史、当地流行病情况的指导下进行。

### 4 疑似禽流感病人的诊断

#### 4.1 引言

对于早期和持续性的对症治疗和疾病控制来说，对疑似 H5N1 病例进行实验室的准确、快速鉴别诊断有着非常重要的意义。对可疑禽流感病例标本的病毒分离应由专门的参考实验室在 BSL-3 级实验室进行。

#### 4.2 标本采集

用于病毒检测或分离培养的标本应在症状开始三天内采集，并迅速送至专门实验室。鼻咽抽吸物、鼻拭子、鼻洗液、鼻咽拭子或咽喉拭子都适用于诊断。但是，鼻咽抽吸物对插管的病人则应改用经气管抽吸物或支气管肺泡灌洗液。

与此同时，应当收集急性期和恢复期双份血清用于血清学检测（WHO 2005b）。

#### 4.3 诊断方法

对诸如甲型流感病毒等病原体的快速鉴别诊断可用常规的流感病毒分型方法。但是商品化的快速色谱诊断法的敏感性仅为病毒分离培养的 70% (Yuen 2005)。间接免疫荧光法可应用于直接诊断 H5N1 流感, 其原理为: 将呼吸道细胞分别与甲型 H5 亚型特异性单克隆抗体库、甲型特异性单抗、乙型特异性单抗, 以及甲型 H1 和 H3 亚型的单抗 (WHO 有供应) 混合固定在玻片上, 然后用异硫氰酸荧光素标记的鼠二抗进行检测。该方法可快速将 H5 亚型的感染与其它型或亚型的感染加以区分, 但由于其敏感性较低, 并不能完全排除 H5N1 感染的可能。因此, 可采用更敏感的分离培养法和逆转录-聚合酶链反应法进行鉴定。

病毒分离培养可采用鸡胚、马-达二氏犬肾细胞 (MDCK) 或恒河猴肾细胞 (LLC-MK2) (de Jong 2005, Yuen 2005), 其它常用的细胞系如 Hep-2 或 RD 细胞也可用于禽流感 H5 亚型的分离。但是, 致细胞病变效应并不具有特异性, 甲/H5 亚型流感病毒感染的细胞首先用针对病毒核蛋白 (N) 的免疫荧光法检测。病毒亚型的鉴别可通过对感染的细胞培养液进行血凝抑制试验、H5 特异性免疫荧光 (用针对 H5 的单克隆抗体) 或逆转录-聚合酶链反应法。通过逆转录-聚合酶链反应法检测禽流感 H5 和 N1 基因的引物设计已经成熟 (WHO 2005c), 也有针对 H9 的引物 (WHO 2005c)。

针对甲型流感病毒 H5 亚型的实时逆转录-聚合酶链反应是检测 H5N1 感染的快速、高敏感的方法 (Ng 2005)。

血清学方面, 急性期和恢复期双份血清标本的抗体滴度若有四倍的升高, 则提示有病毒感染的感染 (Yuen 2005)。

#### 4.4 其它实验室诊断

通常还有一些临床症状, 包括白细胞减少症、淋巴细胞减少症 (在泰国被视为疾病先兆)、血小板减少症和缓慢升高的转氨酶水平 (Beigel 2005)。

### 5 流感检测的新进展和发展趋势

目前已经可以观察到一些发展趋势。由于在疾病发生早期服用抗流感药物才有效, 这就表明快速诊断的重要性, 因而推动了诸如酶免疫测定或免疫色谱等快速检测方法的发展, 特别是进一步降低其操作的复杂性以便于床旁检测。但由于

这些方法的敏感性相对较低，尤其是检测禽流感时，使其临床价值有限。

实时 RT-PCR 是一高度敏感、特异的方法。随着科技的发展，仪器的小型化及高效率越来越便于操作，从而使得这种方法的应用更广泛。由于实时 RT-PCR 法可对人是否感染禽流感进行迅速、准确的诊断，因此，在预防流感大爆发中发挥了重大作用。但是，它的一个缺点就是费用昂贵，不过通过市场的激烈竞争终将为大家所接受。

## 6 结论

在流感的实验室诊断中，分子鉴别诊断技术已发挥了越来越重要的作用。快速检测法和直接检测法也已成为诊断“流感样”疾病的一个重要工具。

但是，尤其对于参考实验室来说，病毒分离培养仍然是至关重要的，因为它经济、敏感，并可用于鉴定，可检测到新出现的毒株，它不像分子诊断技术那样有局限性。

血清学方法有利于每年的流感流行病学调查、禽和人的流感感染和疫苗药效评估，但对临床诊断价值不大。

因此，我们可以得出结论：流感的诊断有利于患者治疗、流行病学调查和控制感染。选择何种合适的方法取决于诊断方法的特点和公共卫生的需要。

阳性诊断结果，可对“流感样”疾病和流感、疑似人流感病例和确证病例进行区分。

(罗渊 译)

## 7 关于流感检测的英特网资源

<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5408a1.htm>

<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/tips/rapidflu.html>

[http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza\\_web.pdf](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza_web.pdf)

[http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/humanspecimens/en/print.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/humanspecimens/en/print.html)

[http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/avian\\_1abtests2.pdf](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/avian_1abtests2.pdf)

<http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/whocdscsrncs20025rev.pdf>

## 参考文献

1. Allwinn R, Preiser W, Rabenau H, Buxbaum S, Sturmer M, Doerr HW. Laboratory diagnosis of influenza--virology or serology? *Med Microbiol Immunol (Berl)* 2002; 191: 157-60. Epub 2002 Aug 30. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12458351>
2. Beigel JH, Farrar J, Han AM, et al. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* 2005; 353: 1374-85. <http://amedeo.com/lit.php?id=16192482>
3. Bigl S, Briem I, Drechsler R, Kluge D, Muller L, Nowotnik G. Acute respiratory diseases/influenza sentinel 2000/2001. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 2002; 191: 151-6. Epub 2002 Sep 14. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12458350>
4. Bishai FR, Galli R. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to influenza A and B and parainfluenza type 1 in sera of patients. *J Clin Microbiol* 1978; 8: 648-56. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=217892>
5. de Jong MD, Hien TT. Avian influenza A (H5N1). *J Clin Virol* 2006; 35: 2-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16213784>
6. FDA: Cautions in Using Rapid Tests for Detecting Influenza A Viruses. US Food and Drug Administration: Office of In Vitro Diagnostic Device Evaluation and Safety, 2005. (Accessed December 15 2005 at <http://www.fda.gov/cdrh/oivd/tips/rapidflu.html>)
7. Frisbie B, Tang YW, Griffin M, et al. Surveillance of childhood influenza virus infection: what is the best diagnostic method to use for archival

- samples? J Clin Microbiol 2004; 42: 1181-4. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15004072>
8. Julkunen I, Pyhala R, Hovi T. Enzyme immunoassay, complement fixation and hemagglutination inhibition tests in the diagnosis of influenza A and B virus infections. Purified hemagglutinin in subtype-specific diagnosis. J Virol Methods 1985; 10: 75-84. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=3882733>
  9. Meerhoff TJ, Paget WJ, Aguilera JF, van der Velden J. Harmonising the virological surveillance of influenza in Europe: results of an 18-country survey. Virus Res 2004; 103: 31-3. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15163485>
  10. Ng EK, Cheng PK, Ng AY, Hoang TL, Lim WW. Influenza A H5N1 detection. Emerg Infect Dis 2005; 11: 1303-5. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=16102326>
  11. Prince HE, Leber AL. Comparison of complement fixation and hemagglutination inhibition assays for detecting antibody responses following influenza virus vaccination. Clin Diagn Lab Immunol 2003; 10: 481-2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12738654>
  12. Steininger C, Kundi M, Aberle SW, Aberle JH, Popow-Kraupp T. Effectiveness of reverse transcription-PCR, virus isolation, and enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of influenza A virus infection in different age groups. J Clin Microbiol 2002; 40: 2051-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12037063>
  13. Stevens TD, Watkins HM. Rapid identification of viruses by indirect immunofluorescence: standardization and use of antiserum pool to nine respiratory viruses. Appl Microbiol 1969; 17: 384-93.  
<http://amedeo.com/lit.php?id=4305395>
  14. Webster RG. Influenza: an emerging disease. Emerg Infect Dis 1998; 4: 436-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9716966>



15. Weinberg A, Mettenbrink CJ, Ye D, Yang CF. Sensitivity of diagnostic tests for influenza varies with the circulating strains. *J Clin Virol* 2005; 33: 172-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15911434>
16. WHO recommendations on the use of rapid testing for influenza diagnosis. Geneva: World Health Organisation, 2005. (Accessed November 25, 2005, at [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza\\_web.pdf](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza_web.pdf))
17. WHO guidelines for the collection of human specimens for laboratory diagnosis of avian influenza infection. Geneva: World Health Organisation, 2005. (Accessed November 26, 2005 at [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/humanspecimens/en/print.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/humanspecimens/en/print.html))
18. Recommended laboratory tests to identify avian influenza A virus in specimens from humans. Geneva: World Health Organisation, 2005 (Accessed November 26, 2005 at [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/avian\\_labtests2.pdf](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/avian_labtests2.pdf))
19. WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. Geneva: World Health Organisation, 2005 (Accessed November 28, 2005 at <http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/whocdscsrncs20025rev.pdf>)
20. Yuen KY, Wong SS. Human infection by avian influenza A H5N1. *Hong Kong Med J* 2005; 11: 189-99. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15951584>
21. Zambon M, Hays J, Webster A, Newman R, Keene O. Diagnosis of influenza in the community: relationship of clinical diagnosis to confirmed virological, serologic, or molecular detection of influenza. *Arch Intern Med* 2001; 161: 2116-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11570941>

## 第八章 临床表现

Christian Hoffmann & Bernd Sebastian Kamps

### 1 人类流感的症状

经过 1-2 (-4) 天的短暂潜伏期，疾病开始具有突发的典型症状：高热与寒战，严重不适，极端疲劳虚弱，头疼，肌肉痛，呼吸道症状包括无痰性干咳、咽炎、鼻炎（CDC 2005）（表8-1和8-2）。儿童还可有中耳炎、恶心和呕吐（Peltola 2003）。少数病例的首发症状不典型（热性癫痫发作，Ryan-Poirier 1995；细菌性脓毒症，Dagan 1984）。

**表8-1 流感的典型症状**

---

系统表现：发热，头疼，肌肉痛（四肢和背部肌肉、眼部肌肉，儿童：腓肠肌群），疲劳及全身不适。

呼吸系统：干咳，鼻涕——老年人可能表现为疲乏和思维混乱

若系统症状较少时，通常表现声音嘶哑、咽痛、干燥

哮鸣（仅见于儿童）

---

临床表现的程度可以从呼吸系统不发热的感冒样表现到无呼吸系统症状的全身衰竭，尤其是老年患者。症状的严重程度与发热程度相关。

发热和系统表现一般持续3天，有时4—8天，然后逐渐好转。不过，咳嗽和全身不适可以持续2周。再次发热罕见。体征见表8-3。恢复期约1—2周，老年患者可能更长。

表8-2 基本症状出现的频率 \*

症状	(%)
体温 $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$	68
发烧 * *	90
咳嗽	93
鼻塞	91
疲乏	94
食欲不振	92
咽喉痛	84
头疼	91
肌肉痛	94

\* 实验室确诊的2470例病人      \* \* 以患者主观感受到发热或寒战为主

表8-3 流感的一般体征

发热：很快达到峰值 $38-40^{\circ}\text{C}$ （儿童可能超过 $41^{\circ}\text{C}$ ），持续3天后（有些4-8天）逐渐下降，再次发热罕见。

颜面：潮红

皮肤：温暖、潮热

眼睛：潮湿、发红

鼻：流涕

耳：中耳炎

粘膜：充血

颈部淋巴结：可触及（尤其儿童）

---

成人从症状开始前24小时到此后7天具有传染性。儿童传染期更长：幼儿发病前数天可排出病毒（Frank 1981），传染期超过10天（Frank 1981）。严重免疫抑制的病人排出病毒需长达几周或数月（Klimov 1995, Boivin 2002）。

在非流行期，由流感引起的呼吸道症状很难与别的呼吸道病原体引起的症状区分（见实验室检查）。但是，起病急、发烧、疲劳和全身不适与一般感冒不同（表8-4）。

---

**表8-4 流感与普通感冒**

---

症状	流感	普通感冒
发热	通常体温较高，持续3—4天	少见
头疼	有	少见
疲劳或虚弱	可持续2—3周	轻
疼痛	常常较严重	轻微
衰竭	较早出现，有时很重	没有
鼻塞	有时	常见
咽痛	有时	常见
咳嗽	有	少见
胸部不适	常见，有时很重	轻到中度
并发症	支气管炎，肺炎；有时可致命	鼻窦充血

---

## 2 流感并发症

最严重最频发的流感并发症是肺炎，常见形式是继发细菌性肺炎。另外，流行期也常见病毒与细菌混合性肺炎。

流感可以恶化心肺疾病或别的慢性病。流感也可引起脑炎 (McCullers 1999, Morishima 2002)、横贯性脊髓炎、肌炎、心肌炎、心包炎和Reye's综合征。

### 2.1 继发细菌性肺炎

继发细菌性肺炎常由肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌和流感(嗜血)杆菌引起。典型表现是患者在急性流感恢复的2-3天出现体温再次升高。临床症状与典型细菌性肺炎一样：咳嗽、浓痰、肺实变体征与X线表现。革兰氏染色和痰培养可以确定病原菌。慢性心肺疾病和老年患者可继发细菌性肺炎。适当的使用抗生素可起较好的治疗效果。

### 2.2 原发病毒性肺炎

临床上，急性流感引起的原发病毒性肺炎不会自然消退。症状随着持续发热、呼吸困难和发绀的发生逐渐恶化。早期体征不明显，严重病例可有弥漫性罗音。这一阶段的X线表现弥漫性间质渗出和伴有显著缺氧的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。肺组织或分泌物的标本培养病毒滴度高。

1918型流感原发病毒性肺炎的显著特征是肺部出血。此外，1957型流感还发现孕妇、心脏病(二尖瓣狭窄)和慢性肺病患者死亡率较高。

### 2.3 病毒和细菌混合性肺炎

混合感染的流感肺炎具有原发性和继发性肺炎的临床特征。常见于有潜在心肺系统疾病的患者。病情加剧前，有些呈慢性进行性过程，有些可暂时好转。治疗目标应消灭相关的细菌性病原体。

### 2.4 慢性肺病的加剧

在慢性呼吸道发病机制中已认识到传染性病原菌起重要作用 (Monto 1978)。慢性支气管炎患者合并流感感染可导致肺功能永久性丧失。在儿童中,发病前两天流感导致的哮喘不断加重,恢复期一般延长(至少 7 天) (Kondo 1991)。成人哮喘的发作也与流感病毒致病机理相关 (Techtahl 1997)。

## 2.5 哮喘

哮喘是儿童流感的典型并发症。流感病毒引起的哮喘临床表现比副流感病毒引起的更严重 (Peltola 2002)。

## 2.6 不良转归

在流感暴发期,有严重免疫低下的老年患者较危险。成年健康人与慢性病患者的肺炎和流感致死率是每 10 万之几到 600。有研究表明最高死亡率 (870/10 万人) 发生于心肺疾病患者 (Barker 1982)。而且,流感并发症发生的前几周死亡风险会增加。有些患者的流感并发症很难恢复,最终死于心肺肾功能衰竭 (Saah 1986)。

## 2.7 肌炎

肌炎在 B 型流感较 A 型流感更为少见。主要见于儿童,男孩更多一些。流感与急性良性儿童肌炎平均间隔 3 天 (Agyeman 2004)。69% 发生于腓肠肌群,31% 合并其它肌群。血清肌酸磷酸酶普遍升高 (Hu 2004)。症状 3 天内消退,很少持续几周。老年患者发生肌炎时,要注意流感肌炎与其它原因的肌病相鉴别 (Oba 2003)。

## 2.8 心脏并发症

流感很少并发心肌炎。在一组随机的血清学确诊的急性流感患者中 (n=152), 肌酸激酶升高者占 12%。值得注意的是所有患者心肌肌钙蛋白 I 和 T 均未上升。作者认为急性流感患者中心肌炎的发生率实际上比以前想象的要低,而骨骼肌的损伤更常见 (Greaves 2003)。

对既往健康的年轻患者测定心脏机能障碍发生的频率、强度和持续时间的研究发现，在发病的1，4，11和28天异常心电图的发生率分别是53%，33%，27%和23%，但没有临床意义。其射血分数或室壁运动没有明显改变。CK-MB指数和肌钙蛋白 I也没有升高。

## 2.9 中毒性休克综合征

流感可以并发中毒性休克综合征（TSS）（CDC 1986, MacDonald 1987, Tolan 1993）。其特征性表现之一是迅速发展的严重的难治性低血压（Chesney 1981）。临床表现和痰培养有产毒性金黄色葡萄球菌则可明确诊断。流感患者临床突发休克的诊断包括心肌炎和感染性休克。鉴别这些疾病较困难，需要监测血液动力学、血清学试验和临床标本的培养（CDC 1986）。

## 2.10 Reye's综合征

Reye's综合征的特征是肝病合并非炎症性脑病。其发病不是由特异的病原菌引起，也没有专业术语描述其复杂的机能障碍。通常继发于先前的病毒感染，包括流感、感冒和水痘。鉴别诊断包括脑炎、脑脊膜炎、糖尿病、药物过量和精神病。

流感，尤其B型流感，并发Reye's综合征较严重，多见于儿童。使用阿司匹林很可能引起Reye's综合征（Starko 1980, Walman 1982, Halpin 1983）。鉴于此，儿童和青少年均已不再使用水杨酸盐，此后，Reye's综合征发生率明显下降（Barrett 1986）。

1997年暴发于香港的人禽流感开始时，就有一名儿童因流感性肺炎、急性呼吸窘迫综合征、Reye's综合征、多器官衰竭及弥漫性血管内凝血（DIC）而死亡（Class 1998）。

## 2.11 HIV感染者的并发症

HIV阳性者流感的临床表现与普通流感病人一样（Skiest 2001）。异常临床表现很少，并发肺炎的几率相似于HIV阴性病人。但是，有报道认为住院率高于HIV

阴性者 (Skiest 2001, Fine 2001)。只有HAART可以降低流感的住院率 (Zeuzil 2003)。

发生于AIDS患者的流感较为严重,尤其是晚期的免疫抑制阶段。美国一些这类病例的死亡率大大高于一般人群,达到65岁以上正常人群死亡率 (Lin 2001)。

### 3 人类感染禽流感

最近才确定禽流感病毒株可以引起人类感染,多数临床表现较轻。1996年自一名患有结膜炎的妇女体内分离出H7型禽流感病毒 (Kurtz 1996)。1999年,自香港两名有轻度流感症状的儿童体内分离出H9N2病毒株 (Peiris 1999, Horimoto 2001)。4年后,在荷兰由高致病性H7N7亚型病毒株引起的89名患者感染中,结膜炎是最突出的特征,仅7名流感样症状的病人表现轻微。但是,其中一名57岁的兽医由于去过感染禽流感的家禽饲养场后两天,而出现全身不适、头疼和发热。8天后发展为肺炎,病情恶化,4天后死于急性肺炎 (Fouchier 2004)。

1997年在香港首次确诊的可引起人类反复感染的禽流感亚型只有H5N1亚型 (CDC 1997, Yuen 1998)。所幸的是人类发病例数很少,到2006年1月23日为152例,但病死率高 (83/152) (WHO 2005)。由于目前住院病例少,很难确定人类H5N1感染的临床表现,其病情范围从无症状感染 (Katz 1999, Buxton Bridges 2000, Thorson 2006) 到严重肺炎和多器官衰竭不等。

#### 3.1 临床表现

H5N1流感始发症状包括发热 (典型的 $>38^{\circ}\text{C}$ ), 头疼, 全身不适, 肌痛, 咽痛, 咳嗽和鼻炎 (有时上呼吸道症状可缺如), 胃肠道症状和结膜炎 (Yuen 1998, Chan 2002)。这些症状不特异, 相似于目前流行的人类流感亚型H1N1和H3N2的表现。有两个报道认为腹泻是伴随呼吸急促的一个明显特征 (Hien 2004, Chotpitayasunondh 2005)。水样泻可出现于肺炎之前 (Apisarnthanarak 2004)。另一患严重腹泻的4岁男孩, 伴随癫痫发作、昏迷, 最后死于脑炎。在该患者的脑脊液、粪便、咽和血清中均检查到H5N1禽流感病毒 (de Jong 2005)。



严重H5N1禽流感患者通常白细胞和淋巴细胞减少、肝酶升高、凝血时间延长和肾损害。淋巴细胞计数是疾病进展中确诊的重要参数（Chan 2002）。

### 3.2 临床过程

截止到2005年11月，临床诊断为H5N1型流感的患者有一半已死亡。许多病情严重者正住院治疗。一些病人平均5天（范围1—16天）后出现呼吸衰竭、呼吸困难等严重后果（Chotpitayasunondh 2005）。异常的胸片包括肺间质的浸润，多种形式肺叶浸润（单叶、多叶、单侧或双侧分布）。最后，胸片进展为双侧弥散性毛玻璃样表现，临床症状与ARDS相似（Chot pitayasunondh 2005）。越南的一份报告认为，主要的X光片异常包括广泛的双侧浸润，肺叶塌陷，局部实变及支气管气像。所有住院病人均有胸片进行性恶化表现。这些病人从发热开始到ARDS平均6天（一般4—13天）（Chotpitayasunondh 2005）。机械性通气时可发生气胸（Hien），但胸腔积液不常见。

有关与严重疾病和致命后果的风险因素还存在争议。1997年香港暴发的流感，与严重后果相关的因素包括年老、延迟住院、下呼吸道受累和入院时外周白细胞总数低或淋巴细胞减少（Yuen 1998）。这篇报道中小于6岁的患者通常所患急性呼吸道疾病为自限性，表现发热、流涕和咽痛。但最近的H5N1禽流感可致婴幼儿很高的死亡率（Chotpitayasunondh 2005）。由于报道的病例数太少，因此很难确定是局部因素——即，自症状开始到住院治疗的时间——或病毒致病因子造成这些不同。过去的10年，H5N1不断进化（Webster 2006），人类禽流感临床特征有可能随时间的推移而不同。

严重H5N1型流感的进展与早期流行的流感所观察到的严重疾病不同。香港（Yuen 1998）和越南（Hien 2004）报道的严重病例均无继发细菌性肺炎的迹象，提示致命后果是由最初的病毒引起的严重肺炎所致。1918型流感也显示这一特征，但其致病机理可能归咎于“细胞因子风暴”（Barry 2004）。

（尉雁 译）

## 参考文献

1. Agyeman P, Duppenhaler A, Heininger U, Aebi C. Influenza-associated myositis in children. *Infection* 2004;32: 199-203.
2. Apisarnthanarak A, Kitphati R, Thongphubeth K, et al. Atypical avian influenza (H5N1). *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 1321-4.
3. Barker WH, Mullooly JP. Pneumonia and influenza deaths during epidemics: implications for prevention. *Intern Med* 1982; 142: 85-9.
4. Barrett MJ, Hurwitz ES, Schonberger LB, Rogers MF. Changing epidemiology of Reye syndrome in the United States. *Pediatrics* 1986; 77: 598-602.
5. Barry JM. 1918 Revisited: Lessons and suggestions for further inquiry. In: *The threat of pandemic influenza: are we ready?* The National Academies Press, Washington, D.C., 2005.
6. Boivin G, Goyette N, Bernatchez H. Prolonged excretion of amantadine-resistant influenza A virus quasi species after cessation of antiviral therapy in an immunocompromised patient. *Clin Infect Dis* 2002; 34(5):E23-5:
7. Buxton Bridges C, Katz JM, Seto WH, et al. Risk of influenza A (H5N1) infection among health care workers exposed to patients with influenza A (H5N1), Hong Kong. *J Infect Dis* 2000; 181: 344-8.
8. CDC 1986- Centers for Disease Control 1986. Toxic shock syndrome associated with influenza - Minnesota. *MMWR* 1986;35:143-4.
9. CDC 1997 - Centers for Disease Control. Isolation of avian influenza A (H5N1) viruses from humans—Hong Kong, May-December 1997.

MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1997; 46: 1204-7.

10. CDC 2005- Centers for Disease Control. Prevention and Control of Influenza Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) . MMWR 2005; 54 (RR08) : 1-40.

11. Chan PK. Outbreak of avian influenza A (H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. Clin Infect Dis 2002; 34: Suppl 2:S58-64

12. Chesney PJ, Davis JP, Purdy WK, Wand PJ, Chesney RW. Clinical manifestations of toxic shock syndrome. JAMA 1981; 246: 741-8.

13. Cheung CY, Poon LL, Lau AS, et al. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? Lancet 2002; 360:1831-7.

14. Chotpitayasunondh T, Ungchusak K, Hanshaoworakul W, et al. Human disease from influenza A (H5N1) , Thailand, 2004. Emerg Infect Dis 2005; 11: 201-9.

15. Claas EC, Osterhaus AD, van Beek R, et al. Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. Lancet 1998; 351: 472-7.

16. Dagan R, Hall CB. Influenza A virus infection imitating bacterial sepsis in early infancy. Pediatr Infect Dis 1984; 3: 218-21.

17. de Jong MD, Bach VC, Phan TQ, et al. Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting with diarrhea followed by coma. N Engl J Med 2005; 352: 686-91.

18. Fine AD, Bridges CB, De Guzman AM, et al. Influenza A among patients with human immunodeficiency virus: an outbreak of infection at

a residential facility in New York City. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1784–91.

19. Fouchier RA, Schneeberger PM, Rozendaal FW, et al. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:1356–61.

20. Frank AL, Taber LH, Wells CR, Wells JM, Glezen WP, Paredes A. Patterns of shedding of myxoviruses and paramyxoviruses in children. *J Infect Dis* 1981; 144: 433–41.

21. Greaves K, Oxford JS, Price CP, Clarke GH, Crake T. The prevalence of myocarditis and skeletal muscle injury during acute viral infection in adults: measurement of cardiac troponins I and T in 152 patients with acute influenza infection. *Arch Intern Med* 2003; 163: 165–8.

22. Halpin TJ, Holtzhauer FJ, Campbell RJ, et al. Aspirin and Reye's syndrome. *JAMA* 1983; 249: 3177.

23. Hien TT, Liem NT, Dung NT, et al. Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N Engl J Med* 2004;350: 1179–88.

24. Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:129–49.

25. Hu JJ, Kao CL, Lee PI, et al. Clinical features of influenza A and B in children and association with myositis. *J Microbiol Immunol Infect* 2004; 37: 95–8.

26. Ison MG, Campbell V, Rembold C, Dent J, Hayden FG. Cardiac findings during uncomplicated acute influenza in ambulatory adults. *Clin Infect Dis* 2005; 40(3): 415–22.

27. Katz JM, Lim W, Bridges CB, et al. Antibody response in individuals infected with avian influenza A (H5N1) viruses and detection of anti-H5 antibody among household and social contacts. *J Infect Dis* 1999; 180:1763-70.

28. Klimov AI, Rocha E, Hayden FG, Shult PA, Roumillat LF, Cox NJ. Prolonged shedding of amantadine-resistant influenzae A viruses by immunodeficient patients: detection by polymerase chain reaction-restriction analysis. *J Infect Dis* 1995; 172: 1352-5.

29. Kondo S, Abe K. The effects of influenza virus infection on FEV1 in asthmatic children. The time-course study. *Chest* 1991; 100: 1235-8.

30. Kurtz J, Manvell RJ, Banks J. Avian influenza virus isolated from a woman with conjunctivitis. *Lancet* 1996;348: 901-2.

31. Lin JC, Nichol KL. Excess mortality due to pneumonia or influenza during influenza seasons among persons with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med* 2001; 161: 441-6.

32. MacDonald KL, Osterholm MT, Hedberg CW, et al. Toxic shock syndrome. A newly recognized complication of influenza and influenzalike illness. *JAMA* 1987; 257: 1053-8.

33. McCullers JA, Facchini S, Chesney PJ, Webster RG. Influenza B virus encephalitis. *Clin Infect Dis* 1999; 28:898-900.

34. Monto AS, Ross HW. The Tecumseh study of respiratory illness. X. Relation of acute infections to smoking, lung function and chronic symptoms. *Am J Epidemiol* 1978; 107: 57-64.

35. Monto AS, Gravenstein S, Elliott M, Colopy M, Schweinle J. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern*

Med 2000; 160: 3243-7.

36. Morishima T, Togashi T, Yokota S, et al. Encephalitis and encephalopathy associated with an influenza epidemic in Japan. Clin Infect Dis 2002; 35: 512-7.

37. Neuzil KM, Coffey CS, Mitchel EF Jr, Griffin MR. Cardiopulmonary hospitalizations during influenza season in adults and adolescents with advanced HIV infection. J Acquir Immune Defic Syndr 2003; 34: 304-7.

38. Oba K, Nishihara A, Okamura K, et al. Two cases of acute myositis associated with influenza A virus infection in the elderly. J Nippon Med Sch 2000; 67: 126-9.

39. Peiris M, Yuen KY, Leung CW, Chan KH, Ip PL, Lai RW, et al. Human infection with influenza H9N2. Lancet.1999;354:916-7.

40. Peltola V, Heikkinen T, Ruuskanen O. Clinical courses of croup caused by influenza and parainfluenza viruses. Pediatr Infect Dis J 2002; 21: 76-8.

41. Reingold AL, Hargrett NT, Shands KN, et al. Toxic shock syndrome surveillance in the United States, 1980 to 1981. Ann Intern Med 1982; 96: 875-80.

42. Ryan-Poirier K. Influenza virus infection in children. Adv Pediatr Infect Dis 1995; 10: 125-56.

43. Saah AJ, Neufeld R, Rodstein M, et al. Influenza vaccine and pneumonia mortality in a nursing home population. Arch Intern Med 1986; 146: 2353-7.

44. Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. Lethal H5N1 influenza viruses

escape host anti-viral cytokine responses. *Nat Med* 2002; 8: 950-4.

45. Skiest DJ, Kaplan P, Machala T, Boney L, Luby J. Clinical manifestations of influenza in HIV-infected individuals. *Int J STD AIDS* 2001; 12: 646-50.

46. Skiest DJ, Machala T. Comparison of the effects of acute influenza infection and Influenza vaccination on HIV viral load and CD4 cell counts. *J Clin Virol* 2003; 26: 307-15.

47. Starko KM, et al. Reye's syndrome and salicylate use. *Pediatrics*, 1980;66:859-864.

48. Teichtahl H, Buckmaster N, Pertnikovs E. The incidence of respiratory tract infection in adults requiring hospitalization for asthma. *Chest* 1997; 112: 591-6.

49. Tolan RW Jr. Toxic shock syndrome complicating influenza A in a child: case report and review. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 43-5.

50. Waldman RJ, Hall WN, McGee H, Van Amburg G. Aspirin as a risk factor in Reye 's syndrome. *JAMA* 1982;247: 3089-94.

51. Webster RG, Peiris M, Chen H, Guan Y. H5N1 Outbreaks and Enzootic Influenza. *Emerg Infect Dis* 2006; 12:3-8.

52. WHO 20051223. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/ (H5N1) Reported to WHO. 23 December 2005.

53. Yuen KY, Chan PK, Peiris M, et al. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet* 1998; 351: 467-71.

## 第九章 治疗和预防

C. Hoffmann, S. Korsman & B.S. Kamps

### 导言

对很多症状较轻的流感病人，尤其是青少年，并不需要特殊治疗。然而，对于年纪较大的病人，最好选择使用抗病毒药物。这些药物还可以考虑用于高危人群的预防。神经氨酸酶抑制剂对所有人类流感病毒有效，包括 1918 年流行的流感病毒株 (Tumpey 2005)。对于 H5N1 亚型流感病毒感染，用神经氨酸酶抑制剂奥塞米韦进行治疗，对部分病例有较好的疗效，但对另外一些病例，却无明显效果。有报道已发现了一些耐药病毒株 (de Jong 2005)。在严重感染的病人中，抗病毒药物治疗的剂量和服药时间会有很大不同。一旦将来流感爆发，如果疫苗针对新的流行株不起作用或疫苗供不应求，抗病毒药物在感染早期阶段将会发挥重要作用。

### 1 抗病毒药物

在目前可用的四种抗流感病毒药物中（两种是神经氨酸酶抑制剂，另两种为 M2 离子通道抑制剂），仅神经氨酸酶抑制剂奥塞米韦和扎那米韦对乙型流感病毒有效。这几种药物在流感症状出现的几个小时内服用，都有明显效果，因此于症状出现后 48 小时内，可用于治疗。他们可以改变疾病的严重程度，缓解症状，可减少 1-3 天的疾病持续时间。但是，抗病毒治疗对于缓解症状和降低住院率方面作用到底有多大仍然值得探讨。疗效的好坏在某种程度上依赖于症状出现后开始治疗的时间，治疗得越早，疗效越好。神经氨酸酶抑制剂奥塞米韦和扎那米韦比 M2 离子通道抑制剂金刚乙胺和金刚烷胺的副作用小，临床出现抗药性的几率也小。这些药物的临床药理学、副作用和抗药性的相关资料在药物章节中有详细讨论。

神经氨酸酶抑制剂奥塞米韦，是目前首选的抗 H5N1 亚型禽流感病毒的药物。



## 1.1 神经氨酸酶抑制剂

这些药物在1999-2000年投入临床使用，它们是根据模拟神经氨酸酶的天然底物唾液酸的结构而设计的，通过干扰流感病毒神经氨酸酶的生物活性而发挥作用(Varghese 1992, Varghese 1995)。神经氨酸酶可裂解新组装的病毒表面的唾液酸，对病毒释放及通过呼吸道传播发挥重要作用。在神经氨酸酶抑制剂作用下，流感病毒只能聚集在宿主细胞表面，抑制了粘膜分泌物中病毒的传播范围 (McNicholl 2001)，从而减弱了病毒的感染力 (参见 <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/13/1363/F1>)。研究表明，神经氨酸酶在病毒侵入人呼吸道上皮组织的早期阶段发挥重要作用 (Matrosovich 2004)。神经氨酸酶抑制剂是根据通过分析神经氨酸酶的三维结构，确定其催化位点的位置和结构的基础上而设计的 (Colman 1983)。对大量健康成年人进行的临床观察结果表明，在症状出现的36-48小时内服用神经氨酸酶抑制剂，可缩短病程1~2天 (Hayden 1997, Monto 1999, Treanor 2000, Nicholson 2000, Hedrick 2000, Cooper 2003, Whitley 2001, Aoki 2003)，早期治疗对治疗效果具有决定性的作用 (Aoki 2003, Kawai 2005)。若在发病后的第12小时服用神经氨酸酶抑制剂，治疗结果与发病后48小时开始用药相比，可缩短病程3天。发热持续的时间，症状的严重程度，恢复到机体正常状态的时间均与抗病毒治疗的起始时间相关。加拿大的一个长期医护小组的研究表明，老年医护疗养所的居民若在症状出现的48小时内给予奥塞米韦进行治疗，则后期需要抗生素治疗量、住院率或死亡率就低 (Bowles 2002)。奥塞米韦的副作用也非常小 (4.1%)，最常见的是腹泻 (1.6%)，咳嗽 (0.7%)，头晕 (0.5%) 和恶心 (0.5%)。另一项研究表明，利用奥塞米韦进行治疗，在健康人群和高危人群中均可降低下呼吸道感染并发症的发病率，减少抗生素应用及住院率 (Kaiser 2003)。

### 1.1.1 预防

流感爆发初期，用神经氨酸酶抑制剂作为预防药物，可降低流感发生率60%-90% (Monto 1999b, Cooper 2003)，给接触过流感病人的家庭进行预防，保护效率高于80% (Hayden 2000, Kaiser 2000, Welliver 2001, Monto 2002)。神经氨酸酶抑制剂的副作用通常是可以忍受的，短暂的胃肠道不适 (恶心、呕吐)

是奥塞米韦主要的副作用，奥塞米韦和扎那米韦与M2 抑制剂金刚乙胺和金刚烷胺相比，要安全的多(Freund 1999, Doucette 2001)。

奥塞米韦治疗偶尔会出现皮肤病/超敏反应等副作用，一旦出现，应当停止服用，若出现皮疹或过敏反应应与医生联系(FDA 2005)。某些有哮喘、慢性肺阻塞性肺病的病人服用扎那米韦后还会出现支气管痉挛和肺功能衰竭。因此，对于有呼吸道疾病的病人，并不提倡用扎那米韦进行治疗。对于已发展成支气管痉挛或肺功能减弱的病人也应该间断用药(Releza 2003)。奥塞米韦和扎那米韦与其他药物发生相互作用的可能性非常低，奥塞米韦可能会竞争性抑制肾小管上皮细胞阴离子转运通道参与的排泄功能。目前认为甲型流感病毒通过自然变异而产生对神经氨酸酶抑制剂抗药性的情况是不存在的 (McKimm-Breschkin 2003)。在体外，NA 突变体 E119V， R292K， H274Y 和 R152K 与奥塞米韦抗药性相关 (McKimm-Breschkin 2003)；一些突变体，如 R292K 和 H274Y 突变体可导致神经氨酸酶功能缺失，研究表明这些突变体病毒不会对人体产生很强的致病性 (Tai 1998, Carr 2002, Ives 2002, Herlocher 2004)。但是，最近报道了具有 H274Y 突变的 H5N1 突变病毒株在两个病人体内产生了病毒血症，随后病人死亡 (de Jong 2005)。体外研究表明，针对一些奥塞米韦耐药的病毒株，扎那米韦仍有抗病毒活性 (McKimm-Breschkin 2003, Mishin 2005)。临床应用后，成年人和 13 岁以上青少年体内出现抗药株的比例低于儿童。一项研究表明，在服用奥塞米韦的 50 个儿童病例中有 9 个产生了神经氨酸酶突变病毒株 (18%) (Kiso 2004)。这些发现很值得注意，因为在社区中儿童是流感病毒重要的传染源。对于爆发流感时，用奥塞米韦进行治疗的 H5N1 儿科病人出现耐药性的频率还不确切，但推测并不低于目前的流感病毒流行株 (Hayden 2005)。

### 1.1.2 神经氨酸酶抑制剂的应用说明

奥塞米韦和扎那米韦已被批准用于治疗甲型和乙型流感。这些药物应在症状出现的 48 小时内服用，而在 12 小时用药效果最为理想。并且，奥塞米韦（并非扎那米韦）还被批准用于流感病毒流行时的紧急预防，以及某些特殊情况下的预防（如疫苗对流行的病毒株无抵抗作用）。奥塞米韦和扎那米韦似乎作用相同，但在用药方式和耐受性方面有所不同，扎那米韦通过吸入方式服药，耐受性非常

好。然而，儿童（尤其是8岁以下的）经常不能按要求服药，老人也常出现困难（Diggory 2001）。奥塞米韦是片剂，某些病人会出现恶心呕吐的症状。

## 1.2 M2 离子通道抑制剂

金刚烷胺和金刚乙胺是三轮列对称结构的金刚胺药物。60年代发现这两种药物可以抑制流感病毒的活性（Stephenson 2001），但仅对甲型流感病毒有效，（乙型流感病毒没有M2 蛋白）。与神经氨酸酶抑制剂相比，它们的副作用更大，可用于传染性强的耐药病毒株。M2 抑制剂可阻断M2蛋白所形成的离子通道（Hay 1985, Sugrue 1991），M2蛋白横跨在病毒胞膜上，与病毒脱壳过程相关（详见药物一章）。在症状出现的24小时内用药，两种药物均有效，可减轻发热等症状，缩短病程1-2天（Wingfield 1969, Smorodintsev 1970, van Voris 1981）。在流感多发季节，每日服药预防可降低感染率50-90%（Dawkins 1968, Dolin 1982, Clover 1986）。与病人接触后进行家庭预防，可能产生很多问题。在一项研究中，金刚乙胺对保护家庭成员感染不起作用（Hayden 1989）。出现胃肠道不适的症状是金刚乙胺和金刚烷胺的主要副作用。金刚烷胺具有较广的毒性，与副交感神经病症相关，并且经过5天的治疗，在1/3病人中可出现轻微的中枢神经系统病症（van Voris 1981），与经过4周治疗的年轻志愿者中出现副作用的几率相同。其中44个志愿者对头晕、神经过敏、失眠等副作用可以忍受，但有6名志愿者由于对副作用无法忍受而停止用药。而一半以上的志愿者未出现副作用。另外，16名志愿者由于关注其他事情而副作用减轻。在甲型流感病毒爆发过程中，选择了450名志愿者以比较金刚乙胺和金刚烷胺的预防效果，在用金刚乙胺进行预防的人群中，出现流感症状的有14%，而在金刚烷胺预防的人群中疾病发生率为9%（Dolin 1982）。研究发现，金刚烷胺引起中枢神经系统病症副作用的比例为13%，明显高于金刚乙胺的发生率（6%）。金刚烷胺可能还与其它药物产生相互作用，尤其是与中枢神经系统的兴奋药，例如与抗胆碱能药物相互作用，可激发金刚烷胺的抗胆碱能的副作用。详见药物一章。

M基因的点突变可引起M2 蛋白跨膜区的氨基酸改变，导致高水平的金刚烷胺耐药性。耐药性的遗传基础是M2离子通道跨膜区的26, 27, 30, 31 或 34位的氨基酸发生了突变（Hay 1985）。突变体的毒力和传染性与野生型病毒株相同。在禽

类模型中，这些病毒遗传上都是稳定的，在鸟体内20天，经过六次传代并没有回复突变为野生型 (Bean 1989)。经金刚烷胺或金刚乙胺治疗的病人中，1/3可产生这样的病毒株。在免疫耐受病人的体内这个比例更高 (Englund 1998)。甲型流感病毒H3N2耐药株可从金刚乙胺治疗两天后的病人体内分离到 (Hayden 1991)。东南亚所流行的H5N1禽流感病毒对金刚乙胺和金刚烷胺耐药 (Peiris 2004, Le 2005)。但是，近来从印尼、中国、蒙古、俄国、土耳其和罗马尼亚所分离的病毒株对金刚烷胺敏感 (Hayden 2005)。最近发现，在美国流感流行季节自病人中分离的H3N2流感病毒株91%对金刚烷胺耐药，由于M2蛋白31位氨基酸位点突变，而导致了病毒对金刚乙胺和金刚烷胺的耐药。基于以上研究结果，美国疾病控制中心建议这两种药物不能作为美国2005-2006流感流行季节的甲型流感病毒的预防用药 (CDC 2006)，也有人建议这两种药物不能被广泛用于流感的预防 (Jefferson 2006)。

## 1. 2. 1M2 抑制剂的说明

比较研究表明，在相同的使用剂量下金刚乙胺比金刚烷胺副作用更小 (Stephenson 2001)。金刚烷胺的优点是比较便宜，在一些欧洲国家 0.5 欧元/天，而金刚乙胺 5 欧元/天，奥塞米韦 7 欧元/天。

## 2. “经典”人流感的治疗

对于轻微症状的病例，未成年人和年轻人的最好选择是卧床休息，补充充足的水分。如果需要，可考虑服用阿斯匹林（每3-4小时服用0.6-0.9克），这样头痛、发烧、肌痛等症状可在数小时内缓解。但是，由于水杨酸类药物与Reye's 并发症相关，18岁以下的年轻人要避免服用。这些患者通常可选择扑热息痛或布洛芬。鼻塞可用喷雾剂治疗，咳嗽可用水蒸气。仅少数病人需要使用咳嗽抑制剂。退烧后，要逐渐恢复正常活动，对于病情严重的病人这一点尤其重要。对于继发细菌性肺炎，应当慎用抗生素治疗。最好每天将呼吸道样品进行革兰氏细菌染色和培养以指导用药。但是，病因通常难以确定，所以临床治疗要靠医生的经验。通常主要由肺炎球菌、金黄色葡萄球菌以及人流感菌等引起的感染，抗生素基本上都有效。对于严重的病人，可采用支持疗法包括液体和电解质控制，补充氧

气，插管及辅助通气。关于流感病毒治疗的更多细节下面将详细论述。

## 2.1 抗病毒治疗

对于一岁以上的急性期病人，病程 2 天以内的，可用奥塞米韦进行治疗，建议治疗期一般为 5 天（但严重的 H5N1 感染，治疗期可延长）。奥塞米韦还可作为一岁以上人群的预防流感用药，服药期为 7 天。对于 7 岁以上的急性期病人，病程 2 天以内的，可用扎那米韦进行治疗，治疗期通常是 5 天，但扎那米韦未被批准作为预防用药。金刚乙胺和金刚烷胺对乙型流感病毒引起的病症无效，因此，只能用于甲型流感病毒引起的感染。为减少病毒耐药株的出现，一旦感染得到控制，就应停止金刚乙胺和金刚烷胺的服用，通常在治疗 3~5 天或症状消失后的 24~48 小时内 (CDC 2005)。但是，美国疾病控制中心建议，金刚乙胺和金刚烷胺均不能作为美国 2005-2006 流感流行季节的甲型流感病毒的预防用药 (CDC 2006)。

## 2.2 抗病毒预防

一些研究表明，神经氨酸酶抑制剂可预防与流感病人密切接触者的感染 (Hayden 2000, Welliver 2001, Hayden 2004)，这类药物已被批准用于季节性预防 (Monto 1999, Hayden 1999)。研究表明，神经氨酸酶抑制剂可抑制 70-90% 的甲型和乙型流感病毒感染。除了两个国家，奥塞米韦是仅有的一个批准用于流感预防的神经氨酸酶抑制剂药物。若病毒流行株为甲型流感病毒，金刚烷胺也可考虑作为预防用药。能否作为流感病毒感染预防药物，它的使用周期和药效持续时间、价格、适应性及潜在的副作用是必须要考虑的因素。作为有效的季节性预防药物，应当在流感流行的整个过程中服用，一般服药 6 周以上。这种预防方法与传统的一年一次疫苗接种相比，成本太高 (Patriarca 1989)。在大规模流行的情况下，如果下一个流行病毒株对 M2 抑制剂耐药，而神经氨酸酶抑制剂供应不足，将没有机会进行预防（例如 2004-2005 东南亚流行的 H5N1 亚型病毒株），可用的药物只能用于治疗和对高危人群的预防。对季节性流感，以下情况可考虑进行预防 (CDC 2005)：

- 1、 流感病毒流行后接种疫苗的高危人群，可考虑服用药物预防 2 周。9 岁以下

的儿童，第一次接种流感疫苗，需要 6 周的预防（例如，初次免疫后药物预防 4 周，第二次加强免疫后预防 2 周）。

2、 护理高危人群的人员，一旦感染流感，可造成疾病的迅速传播。在流感活动的高峰期，抗病毒药物可用于下列人群密切接触的未免疫人员的预防：与医院雇工、临床医生、慢性疾病的护理人员及志愿者频繁接触的人。如果流感由病毒突变株引起，接种疫苗不起作用，可考虑对以上人群进行化学药物预防，不管他们是否曾接种过流感疫苗。

3、 对有免疫缺陷的人员，接种疫苗不能有效地激发抗体反应，可考虑用化学药物进行预防。包括 HIV 感染者，尤其是晚期 HIV 患者。

4、 不能接种疫苗的高危人群，可在流感流行季节或流感高峰期用化学药物进行预防。

5、 公共机构的人员。

有证据表明，一旦有流感病人出现，应立即对公共机构的私立医院进行药物预防是一个控制流感在公众中爆发的良好策略 (Peters 2001, Bowles 2002, Monto 2004)。当怀疑或已确定有流感爆发时，所有住院医师都应化学药物预防，越早越好，不管他们在上一个流行季节是否曾经接种过疫苗，至少服药两周。如果调查表明新病例仍然不断出现，药物预防应继续服用一周，每个住院医师的用药剂量应视个体情况而定。药物也可用于未接种疫苗的医护人员。如果病毒株是突变株，接种的疫苗已不起作用，那么应对医院的所有医护人员进行药物预防，不管他们是否曾接种过疫苗。

## 2.3 特殊情况

### 2.3.1 儿童

奥塞米韦：1 到 12 岁的儿童体内清除奥塞米韦的代谢能力比 12 岁以上儿童或成年人高，使药物在体内持续的时间减少。将服药剂量提高至 2 mg/kg，每日两次，体内的药物浓度可达到成年人服药剂量 1 mg/kg，每日两次的浓度 (Oo 2001)。1 岁的婴儿可有效地代谢并排泄奥塞米韦 (Oo 2003)，但年龄更小的婴儿，禁忌服用 (FDA 2005)。

扎那米韦：在欧洲扎那米韦被批准用于 12 岁以上的儿童。（美国：七岁）。

金刚乙胺和金刚烷胺：考虑到这两种药物相对较低的药效和较高的胃肠道反应及中枢神经系统的副作用，故不提倡这两种药物用于儿童。

### 2.3.2 肾功能损伤：

奥塞米韦：在建康人体内半衰期为1.8 h，在肾功能损害的病人中肌酸酐的清除率直线下降，口服用药后23 h机体平均肌酸酐清除率小于30ml/min (Doucette 2001)；肌酸酐清除率小于30ml/min(1.8 l/h)的病人推荐的服用剂量是75mg, 每日一次(He 1999)。若用于预防，推荐剂量为每隔一日服用75mg。对于需要肾透析治疗的病人，不推荐使用这种药物进行预防或治疗。

扎那米韦：厂家声明，对于轻度至中度甚至是重度的肾功能损害病人，不需要对5天的药物治疗疗程的剂量进行调整(Relenza)。

金刚乙胺：肾功能不全可导致血浆中金刚乙胺的浓度升高，血液透析也不能清除金刚乙胺。肌酸酐清除率小于10ml/min的病人，推荐药物服用剂量可减少至每日100mg。透析时并不需要补充服药剂量(Capparelli 1988)。对于不太严重的肾功能损伤病人，以及年老病人，由于金刚乙胺可引起较大副作用，服药后需要密切监视。

金刚烷胺：建议60岁以上的病人和肌酸酐清除率小于40ml/min的病人减少服药剂量，根据肌酸酐清除率来指导服药剂量的指导方针在包装说明书上。需要密切注视病人可能产生的副反应。金刚烷胺不能通过血液透析清除。

### 2.3.3 肝功能损伤

奥塞米韦：肝功能损害对奥塞米韦的代谢没有明显影响，因此这些病人服用并不需要进行剂量调整(Snell 2005)。

扎那米韦：未对肝功能损害的病人进行研究。

金刚乙胺：对于有严重肝功能损害的病人，推荐减少服药剂量。

金刚烷胺：在肝病患者中仅个别病人观察到此药的副作用。

### 2.3.2 癫痫病：

有癫痫病史者服用金刚乙胺或金刚烷胺，未见有癫痫发作的报道。

### 2.3.5 妊娠:

只有在确认了以上所提到的药物对胎儿生长无害时,才能在孕期使用。

## 3. 人 H5N1 流感的治疗

有关人类H5N1流感的治疗经验仅限于2006年8月前参考使用。世界卫生组织已报道175个确诊病人( WHO 2006), 公开的临床报道也仅有少数病例(Yuen 1998, Chan 2002, Hien 2004, Chotpitayasunondh 2005, WHO 2005, de Jong 2005)。从以上报道可以看出,对目前流行的H5N1病毒株所引起的流感,比传统的流感治疗要困难很多。但是,应该注意,随着病例的增多,目前推荐的治疗方案也需进一步完善:

- 1、对于疑似H5N1感染的病人在实验室检测确定期间,应迅速给予神经氨酸酶抑制剂治疗(WHO 2005);
- 2、奥塞米韦(Tamiflu®)是目前首选的治疗药物;
- 3、对于重症成年病人,奥塞米韦的服药剂量可升高至150mg,每日两次。
- 4、对于重症病人,不管是用于治疗(服药期7到10天或更长)还是预防,奥塞米韦的服药期可延长(de Jong 2005)
- 5、临床症状恶化之前,有可能出现耐药性;
- 6、只要病毒仍在复制,症状出现8天后服用药物仍然有效(WHO 2005, de Jong 2005)。

临床上经常使用皮质激素,但疗效却不相同。用皮质激素治疗的7个病人中有6个死亡(Hien 2004)。利巴韦林、 $\alpha$ 干扰素、以及其他的一些免疫调节药物也有使用,但无确切疗效。对重症病人,在住院期间可能需要进行辅助呼吸及重症监护。(Hien2004, Chotpitayasunondh 2005)。

### 3.1 预防传播

一旦怀疑人感染H5N1流感病毒,就要采取措施使病毒的传播在医院内降至最低。如果确诊,就要查找与病人的所有接触者,进行抗病毒治疗,以期减少发病率和死亡率,限制疾病的进一步传播(WHO 2004)。



### 3.2 普遍感染控制措施

感染控制措施包括对所有住院治疗的病人进行标准预防 (Garner 1996)。如果根据临床特征怀疑 H5N1 感染，需要进行预防，直到感染排除。

### 3.3 特殊感染控制措施

流感病毒通过液滴或带菌的飞沫传播。并且，直接或间接接触也有可能传播。尽管目前没有证据表明 H5N1 流感病毒可在人群中传播，世界卫生组织建议实行以下预防措施 (WHO 2004)：

- 1、戴防护面具以预防飞沫传播及接触传播；
- 2、病人应当被安置在负压的房间内；
- 3、病人应当被隔离在单独的房间，如果没有条件，应把病人分批安置在有多多个床位的病房内；
- 4、病床应当间距一米以上，最好有屏障隔开（如帘子，隔板等）。

为了保护健康护理工 (HCW) 及医院的工作人员，应采取以下措施 (WHO 2004)：

- 1、HCW 及医院的工作人员应使用高效的防护面具、口罩、长大衣、防护镜和手套以免病毒感染。戴防护面具在抗感染中的作用已得到确证 (WHO 2005b)，使用手术口罩，也能降低感染率，但并不显著 (Loeb 2004)；
- 2、限制直接与病人接触的 HCW 的数量，这些 HCW 不应再照看其他病人；
- 3、限制进入流感病人活动范围的人员和医院的其他员工的数量（包括清洁工，实验室人员）；
- 4、指定的护理人员应受过传染病感染控制的专业训练。限制探望人员的数量，并提供合适的防护装置并指导使用；
- 5、与病人直接接触的护理人员，应每日量体温两次，一有发热症状，立即向医院权威部门报告。体温超过 38 度的护理人员，并且与病人密切接触的，应立即接受治疗；
- 6、对与病人密切接触并且防护装备不完全的医护人员，应提供接触后预防（例如，服用奥塞米韦，每日一次，每次 75mg，连续 7 日）；
- 7、身体不太健康，不应该进行 H5N1 流感病人护理的医护人员，由于本

人强烈要求而担任了护理任务，一旦 H5N1 感染，极易发展成严重的疾病；

- 8、应把病人的废弃物密封在无渗透性的袋子里，并标明“生物公害”字样，焚烧处理。病人接触过的麻布以及一些可重复使用的材料应当与其他废物分开，并消毒处理。

### 3.4 接触追踪：

确定与感染源接触过的人群，接触者是指与怀疑或已确诊 H5N1 流感的病人在感染期（症状出现前1~7天）接触，或共用一些公共设施的人（房子，家庭成员、医院、兵营及娱乐场所等）(WHO 2004)。

这些人员应当在与病人接触后连续监测7天，每日量体温2次，一旦出现发热（超过38度）、咳嗽或呼吸急促，应当立即接受治疗(WHO 2004)。

### 3.5 解除隔离的原则：

世界卫生组织建议对成年人感染的控制应在发热减退后继续隔离七天。对以前的人类流感研究表明，12岁以下的儿童，发病后可传播病毒21天，因此对儿童感染的控制也应隔离21天(WHO 2004)。如果无法实行（由于当地没有条件），家庭应当进行卫生知识和感染控制措施的教育（如洗手，咳嗽的儿童应当戴口罩），在此期间，儿童不应该去学校上课(WHO 2004)。

### 3.6 全球传染病预防

有证据表明在流感暴发地采用抗病毒药物预防和社会隔离措施相结合的方法对有效的控制和消除突然出现的流感是可能的(Ferguson 2005)。作者以在东南亚传播的流感作为模型来评价用抗病毒药物对目标人群进行预防的效果，并预测消除流感流行需要3百万人份的药品储备。世界卫生组织近来已开始创办抗病毒药物储备库，用于派发给流感流行区(WHO 20000824)。如果流感传播不能够在流感发源地控制，那么快速预防至少能够推迟世界流行，为疾病控制争取宝贵时间。为了使此方案有效发挥作用，必须制定一系列的准则 (Ferguson 2005)：

- 1、快速确定感染人群：

- 2、对目标人群进行快速、敏感的检测和治疗，最好在病例出现的 48 小时以内；
- 3、使尽可能多的目标人群能够得到治疗，最好超过 90%；
- 4、充分的药品储存，最好 3 百万人份以上的奥塞米韦（WHO 正筹备的药品量）；
- 5、人群相互协作；
- 6、在政策制定、传染病监视及完善控制措施方面国际间相互合作。

应注意，尽管把传染病控制在暴发地或推迟其在全球范围内的流行是比较理想的，但这仅是一个设想，目前还没有得到实践验证。向大规模人群分发药物的合理性是值得考虑的，因为，首次出现的病毒流行不可能导致大规模传播，一般局限在很小的地理范围内。如果有太多的假设，那么其后果很难推断。考虑到流感传播可能产生的灾难性后果，世界卫生组织的药物存储方案用于快速早期控制是全球传染病预警方案之一。

#### 4. 总结

应用神经氨酸酶抑制剂是一个重要的有效控制人流感传播的方法。目前，这种抑制剂是唯一能对抗人高致病性禽流感病毒的药物。但是，有关 H5N1 耐药株的报道强调了我们在其它病毒治疗中所遇到的问题，如 HIV：我们从来没有可用于治疗病人的足够的药物，我们将一直需要更新更好的药物。我们需要努力研发更多的药物，甚至包括所有禽流感病毒亚型抗原的超级疫苗（supervaccines），这样每年不需要更新，即可用于全人类的免疫 (Osterholm 2005)。这些工作将耗资巨大，而且还不仅仅指金钱：没有什么比流感大流行将丧失人类生命更宝贵的了。

（康晓平 译）

#### 参考文献：

1. Air GM, Laver WG. The neuraminidase of influenza virus. *Proteins* 1989; 6: 341-56. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2482974>

2. Aoki FY, Macleod MD, Paggiaro P, et al. Early administration of oral oseltamivir increases the benefits of influenza treatment. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 123-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12493796> - Full text at <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/full/51/1/123>
3. Bean WJ, Threlkeld SC, Webster RG. Biologic potential of amantadine-resistant influenza A virus in an avian model. *J Infect Dis* 1989; 159: 1050-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2723453>
4. Bowles SK, Lee W, Simor AE, et al. Use of oseltamivir during influenza outbreaks in Ontario nursing homes, 1999-2000. *J Am Geriatr Soc* 2002; 50: 608-16. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11982659>
5. Bryson YJ, Monahan C, Pollack M, Shields WD. A prospective double-blind study of side effects associated with the administration of amantadine for influenza A virus prophylaxis. *J Infect Dis* 1980; 141: 543-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7373087>
6. Butler D. Wartime tactic doubles power of scarce bird-flu drug. *Nature* 2005; 438: 6. <http://amedeo.com/lit.php?id=16267514>
7. Capparelli EV, Stevens RC, Chow MS, Izard M, Wills RJ. Rimantadine pharmacokinetics in healthy subjects and patients with end-stage renal failure. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 43: 536-41. <http://amedeo.com/lit.php?id=3365917>
8. Carr J, Ives J, Kelly L, et al. Influenza virus carrying neuraminidase with reduced sensitivity to oseltamivir carboxylate has altered properties in vitro and is compromised for infectivity and replicative ability in vivo. *Antiviral Res* 2002; 54: 79-88. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12062393>
9. CDC 1999 - Centers for Disease Control. Neuraminidase inhibitors for treatment of influenza A and B infections. *MMWR Recomm Rep* 1999; 48:

- 1-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10632443> - Full text at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr4814a1.htm>
10. CDC 2005 - Centers for Disease Control. Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Recomm Rep 2005; 54: 1-40. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=16086456> - Full text at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5408a1.htm>
11. CDC 2006. CDC Recommends against the Use of Amantadine and Rimantadine for the Treatment or Prophylaxis of Influenza in the United States during the 2005-06 Influenza Season. Available from <http://www.cdc.gov/flu/han011406.htm> - Accessed 13 February 2006.
12. Chan PK. Outbreak of avian influenza A(H5N1) virus infection in Hong Kong in 1997. Clin Infect Dis 2002;
- 34: Suppl 2: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11938498> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/CID/journal/issues/v34nS2/010992/010992.html>
13. Chotpitayasunondh T, Ungchusak K, Hanshaoworakul W, et al. Human disease from influenza A (H5N1), Thailand, 2004. Emerg Infect Dis 2005; 11: 201-9. Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol11no02/04-1061.htm>
14. Clover RD, Crawford SA, Abell TD, Ramsey CN Jr, Glezen WP, Couch RB. Effectiveness of rimantadine families. Am J Dis Child 1986; 140: 706-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3521258>
15. Colman PM, Varghese JN, Laver WG. Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase. Nature 1983; 303: 41-4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=6188957>
16. Cooper NJ, Sutton AJ, Abrams KR, Wailoo A, Turner D, Nicholson KG. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in treatment and prevention

- of influenza A and B: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ* 2003; 326: 1235. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12791735> - Full text at <http://bmj.bmjournals.com/cgi/content/full/326/7401/1235>
17. Dawkins AT Jr, Gallagher LR, Togo Y, Hornick RB, Harris BA. Studies on induced influenza in man. II. Doubleblind study designed to assess the prophylactic efficacy of an analogue of amantadine hydrochloride. *JAMA* 1968; 203: 1095-9. <http://amedeo.com/lit.php?id=4870515>
  18. de Jong MD, Tran TT, Truong HK, et al. Oseltamivir resistance during treatment of influenza A (H5N1) infection. *N Engl J Med* 2005; 353: 2667-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16371632> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/25/2667>
  19. Demicheli V, Jefferson T, Rivetti D, Deeks J. Prevention and early treatment of influenza in healthy adults. *Vaccine* 2000; 18: 957-1030. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10590322>
  20. Diggory P, Fernandez C, Humphrey A, Jones V, Murphy M. Comparison of elderly people's technique in using two dry powder inhalers to deliver zanamivir: randomised controlled trial. *BMJ* 2001; 322: 577-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11238150> - Full text at <http://bmj.bmjournals.com/cgi/content/full/322/7286/577>
  21. Dolin R, Reichman RC, Madore HP, Maynard R, Linton PN, Webber-Jones J. A controlled trial of amantadine and rimantadine in the prophylaxis of influenza A infection. *N Engl J Med* 1982; 307: 580-4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7050702>
  22. Doucette KE, Aoki FY. Oseltamivir: a clinical and pharmacological perspective. *Expert Opin Pharmacother* 2001; 2: 1671-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11825310>
  23. Englund JA, Champlin RE, Wyde PR, et al. Common emergence of amantadine- and rimantadine-resistant influenza A viruses in

- symptomatic immunocompromised adults. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1418-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9636873> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/cgi-bin/resolve?CIDv26p1418PDF>
24. FDA - Food & Drug Administration. FDA Approves Tamiflu for Prevention of Influenza in Children Under Age 12. Accessed on 8 January 2006 from <http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2005/NEW01285.html>
  25. Ferguson NM, Cummings DA, Cauchemez S, et al. Strategies for containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia. *Nature* 2005; 437: 209-14. Epub 2005 Aug 3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16079797>
  26. Freund B, Gravenstein S, Elliott M, Miller I. Zanamivir: a review of clinical safety. *Drug Saf* 1999; 21: 267-81. <http://amedeo.com/lit.php?id=10514019>
  27. Garner JS, and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for isolation precautions in hospitals. Part II. Recommendations for isolation precautions in hospitals. *Am J Infect Control* 1996; 24: 32-52. Full text at [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/gl\\_isolation\\_ptII.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/gl_isolation_ptII.html)
  28. Hay AJ, Wolstenholme AJ, Skehel JJ, Smith MH. The molecular basis of the specific anti-influenza action of amantadine. *EMBO J* 1985; 4: 3021-4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=4065098> - Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=4065098>
  29. Hayden FG, Belshe RB, Clover RD, Hay AJ, Oakes MG, Soo W. Emergence and apparent transmission of rimantadine-resistant influenza A virus in families. *N Engl J Med* 1989; 321: 1696-702. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2687687>
  30. Hayden FG, Sperber SJ, Belshe RB, Clover RD, Hay AJ, Pyke S. Recovery of drug-resistant influenza A virus during therapeutic use of

- rimantadine. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1741-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1952841> - Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=1952841>
31. Hayden FG, Osterhaus AD, Treanor JJ, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza virus infections. *N Engl J Med* 1997; 337: 874-80. <http://amedeo.com/lit.php?id=9302301> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/337/13/874>
32. Hayden FG, Atmar RL, Schilling M, et al. Use of the selective oral neuraminidase inhibitor oseltamivir to prevent influenza. *N Engl J Med* 1999; 341: 1336-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10536125> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/341/18/1336>
33. Hayden FG, Gubareva LV, Monto AS, et al. Inhaled zanamivir for the prevention of influenza in families. Zanamivir Family Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1282-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11058672> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/343/18/1282>
34. Hayden FG. Perspectives on antiviral use during pandemic influenza. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356: 1877-84. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11779387> - Full text at <http://www.influenzareport.com/link.php?id=11>
35. Hayden FG, Belshe R, Villanueva C, et al. Management of influenza in households: a prospective, randomized comparison of oseltamivir treatment with or without postexposure prophylaxis. *J Infect Dis* 2004; 189: 440-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14745701> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v189n3/31422/31422.html>



36. Hayden F, Klimov A, Tashiro M, et al. Neuraminidase inhibitor susceptibility network position statement: antiviral resistance in influenza A/H5N1 viruses. *Antivir Ther* 2005; 10: 873-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16430192>
37. Hedrick JA, Barzilai A, Behre U, et al. Zanamivir for treatment of symptomatic influenza A and B infection in children five to twelve years of age: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 410-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10819336>
38. Herlocher ML, Truscon R, Elias S, et al. Influenza viruses resistant to the antiviral drug oseltamivir: transmission studies in ferrets. *J Infect Dis* 2004; 190: 1627-30. Epub 2004 Sep 28. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15478068> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/abstract/45/4/1216>
39. Holsinger LJ, Nichani D, Pinto LH, Lamb RA. Influenza A virus M2 ion channel protein: a structure-function analysis. *J Virol* 1994; 68: 1551-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7508997> - Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=7508997>
40. Ives JA, Carr JA, Mendel DB, et al. The H274Y mutation in the influenza A/H1N1 neuraminidase active site following oseltamivir phosphate treatment leave virus severely compromised both in vitro and in vivo. *Antiviral Res* 2002; 55: 307-17. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12103431>
41. Jefferson T, Demicheli V, Rivetti D, Jones M, Di Pietrantonj C, Rivetti A. Antivirals for influenza in healthy adults: systematic review. *Lancet* 2006; 367: 303-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16443037>
42. Kaiser L, Wat C, Mills T, Mahoney P, Ward P, Hayden F. Impact of oseltamivir treatment on influenza-related lower respiratory tract

- complications and hospitalizations. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1667-72. Abstract:<http://amedeo.com/lit.php?id=12885681> - Full text at <http://archinte.ama-assn.org/cgi/content/abstract/163/14/1667>
43. Kawai N, Ikematsu H, Iwaki N, et al. Factors influencing the effectiveness of oseltamivir and amantadine for the treatment of influenza: a multicenter study from Japan of the 2002-2003 influenza season. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1309-16. Epub 2005 Mar 16. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15825034>
44. Kiso M, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *Lancet* 2004; 364: 759-65. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15337401>
45. Leneva IA, Goloubeva O, Fenton RJ, Tisdale M, Webster RG. Efficacy of zanamivir against avian influenza A viruses that possess genes encoding H5N1 internal proteins and are pathogenic in mammals. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1216-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11257037> - Full text at
46. Li KS, Guan Y, Wang J, et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 2004; 430: 209-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15241415>
47. Le QM, Kiso M, Someya K, et al. Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature* 2005; 437: 1108. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16228009>
48. Loeb M, McGeer A, Henry B, et al. SARS among critical care nurses, Toronto. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:251-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15030692> - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no2/03-0838.htm>
49. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD. Neuraminidase is important for the initiation of influenza virus

- infection in human airway epithelium. *J Virol* 2004; 78: 12665-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15507653> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/22/12665>
50. McKimm-Breschkin J, Trivedi T, Hampson A, et al. Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to zanamivir and oseltamivir. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2264-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12821478> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/abstract/47/7/2264>
51. McNicholl IR, McNicholl JJ. Neuraminidase inhibitors: zanamivir and oseltamivir. *Ann Pharmacother* 2001; 35:57-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11197587>
52. Mishin VP, Hayden FG, Gubareva LV. Susceptibilities of antiviral-resistant influenza viruses to novel neuraminidase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4515-20. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16251290> - Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=16251290>
53. Moscona A. Oseltamivir resistance - disabling our influenza defenses. *N Engl J Med* 2005; 353: 2633-6. <http://amedeo.com/lit.php?id=16371626> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/25/2633> - Audio at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/25/2633/DC1>
54. Monto AS, Fleming DM, Henry D, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenza A and B virus infections. *J Infect Dis* 1999; 180: 254-61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10395837> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v180n2/990003/990003.html>
55. Monto AS, Gravenstein S, Elliott M, Colopy M, Schweinle J. Clinical signs and symptoms predicting influenza infection. *Arch Intern Med*

- 2000; 160: 3243-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11088084>  
- Full text at <http://archinte.ama-assn.org/cgi/reprint/160/21/3243>
56. Monto AS, Robinson DP, Herlocher ML, Hinson JM Jr, Elliott MJ, Crisp A. Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults: a randomized controlled trial. JAMA 1999; 282: 31-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10404908> - Full text at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/abstract/282/1/31>
57. Monto AS, Rotthoff J, Teich E, et al. Detection and control of influenza outbreaks in well-vaccinated nursing home populations. Clin Infect Dis 2004; 39: 459-64. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15356805> -Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/CID/journal/issues/v39n4/33140/33140.html>
58. Moscona A. Neuraminidase inhibitors for influenza. N Engl J Med 2005; 353: 1363-73. <http://amedeo.com/lit.php?id=16192481> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/13/1363>
59. Nicholson KG, Aoki FY, Osterhaus AD, et al. Efficacy and safety of oseltamivir in treatment of acute influenza:a randomised controlled trial. Neuraminidase Inhibitor Flu Treatment Investigator Group. Lancet 2000; 355:1845-50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10866439>
60. Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. N Engl J Med 2005; 352: 1839-42. Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/18/1839>
61. Peiris JS, Yu WC, Leung CW, et al. Re-emergence of fatal human influenza A subtype H5N1 disease. Lancet2004; 363: 617-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14987888>
62. Peters PH Jr, Gravenstein S, Norwood P, et al. Long-term use of oseltamivir for the prophylaxis of influenza in a vaccinated frail

- older population. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49: 1025-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11555062>
63. Relenza (zanamivir for inhalation). Research Triangle Park, NC: GlaxoSmithKline, 2003 (package insert). Accessed from <http://www.InfluenzaReport.com/link.php?id=5>
64. Smorodintsev AA, Zlydnikov DM, Kiseleva AM, Romanov JA, Kazantsev AP, Rumovsky VI. Evaluation of amantadine in artificially induced A2 and B influenza. *JAMA* 1970; 213: 1448-54. <http://amedeo.com/lit.php?id=4915518>
65. Snell P, Dave N, Wilson K, et al. Lack of effect of moderate hepatic impairment on the pharmacokinetics of oral oseltamivir and its metabolite oseltamivir carboxylate. *Br J Clin Pharmacol* 2005; 59: 598-601. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15842560>
66. Stephenson I, Nicholson KG. Influenza: vaccination and treatment. *Eur Respir J* 2001; 17: 1282-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11491177> - Full text at <http://erj.ersjournals.com/cgi/content/full/17/6/1282>
67. Sugrue RJ, Hay AJ. Structural characteristics of the M2 protein of influenza A viruses: evidence that it forms a tetrameric channel. *Virology* 1991; 180: 617-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1989386>
68. Symmetrel (package insert). Endo Pharmaceuticals Inc., Chadds Ford, 2003. <http://influenzareport.com/link.php?id=6>
69. Tai CY, Escarpe PA, Sidwell RW, et al. Characterization of human influenza virus variants selected in vitro in the presence of the neuraminidase inhibitor GS 4071. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 3234-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9835519> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/full/42/12/3234?pmid=9835519>

70. Tamiflu (package insert). Gilead Sciences, Foster City, 2005. Accessed on 8 January 2005 from <http://www.rocheusa.com/products/tamiflu/pi.pdf>
71. Treanor JJ, Hayden FG, Vrooman PS, et al. Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza: a randomized controlled trial. US Oral Neuraminidase Study Group. JAMA 2000;283: 1016-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10697061> - Full text at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/full/283/8/1016>
72. Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, et al. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. Science 2005; 310: 77-80. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16210530>
73. Tumpey TM, Garcia-Sastre A, Mikulasova A, et al. Existing antivirals are effective against influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 13849-54. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12368467> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/99/21/13849>
74. Van Borm S, Thomas I, Hanquet G, et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus in smuggled Thai eagles, Belgium. Emerg Infect Dis 2005; 11: 702-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15890123> - Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no05/05-0211.htm>
75. Van Voris LP, Betts RF, Hayden FG, Christmas WA, Douglas RG Jr. Successful treatment of naturally occurring influenza A/USSR/77 H1N1. JAMA 1981; 245: 1128-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7007668>
76. Varghese JN, Epa VC, Colman PM. Three-dimensional structure of the complex of 4-guanidino-Neu5Ac2en and influenza virus neuraminidase. Protein Sci 1995; 4: 1081-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7549872> - Full text at <http://www.proteinscience.org/cgi/content/abstract/4/6/1081>

77. Varghese JN, McKimm-Breschkin JL, Caldwell JB, Kortt AA, Colman PM. The structure of the complex between influenza virus neuraminidase and sialic acid, the viral receptor. *Proteins* 1992; 14: 327-32. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1438172>
78. Welliver R, Monto AS, Carewicz O, et al. Effectiveness of oseltamivir in preventing influenza in household contacts: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 285: 748-54. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11176912> - Full text at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/abstract/285/6/748>
79. Whitley RJ, Hayden FG, Reisinger KS, et al. Oral oseltamivir treatment of influenza in children. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 127-33. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11224828>
80. WHO 20000824. Donation of three million treatments of oseltamivir to WHO will help early response to an emerging influenza pandemic. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2005/pr36/en/index.html> -Access 14 January 2006.
81. WHO 2004. WHO interim guidelines on clinical management of humans infected by influenza A (H5N1). Available from [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/clinicalmanage/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/clinicalmanage/en/index.html) -accessed on 14 January 2006.
82. WHO 2005. The Writing Committee of the World Health Organization. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N Engl J Med* 2005; 353: 1374-85. - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/extract/353/13/1374>
83. WHO 2005b. Use of masks by health-care workers in pandemic settings. Available from [http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/Mask%20Clarification10\\_11.pdf](http://www.who.int/entity/csr/resources/publications/influenza/Mask%20Clarification10_11.pdf) - Accessed on 14 January 2006.
84. WHO 2006. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian

Influenza A/(H5N1) Reported to WHO. Accessed on 10 March 2006 from [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/cases\\_table\\_2006\\_03\\_08/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2006_03_08/en/index.html)

85. Wingfield WL, Pollack D, Grunert RR. Therapeutic efficacy of amantadine HCl and rimantadine HCl in naturally occurring influenza A2 respiratory illness in man. *N Engl J Med* 1969; 281: 579-84. <http://amedeo.com/lit.php?id=4897137>
86. Yen HL, Monto AS, Webster RG, Govorkova EA. Virulence may determine the necessary duration and dosage of oseltamivir treatment for highly pathogenic A/Vietnam/1203/04 influenza virus in mice. *J Infect Dis* 2005;192: 665-72. Epub 2005 Jul 15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16028136>
87. Yuen KY, Chan PK, Peiris M, et al. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet* 1998; 351: 467-71. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9482437> -Full text at <http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140673698011829/fulltext>



## 第十章 药物

B. S. Kamps & C. Hoffmann

### 1 奥塞米韦 (Oseltamivir, 商品名: 达菲<sup>®</sup>, Tamiflu<sup>®</sup>)

#### 1.1 引言

奥塞米韦是甲、乙型流感病毒神经氨酸酶的强效选择性抑制剂。神经氨酸酶的作用是裂解新生病毒颗粒上的唾液酸残基,在子代病毒的释放、传播中有着必不可少的作用。当暴露于奥塞米韦时,流感病毒颗粒在宿主细胞表面聚集,从而使感染范围仅限于粘膜分泌物 (McNicholl 2001),感染性降低。

奥塞米韦适用于流感的预防,1岁和1岁以上(出现症状未超过两天)患者因流感引发的单纯急性病的治疗。甲型流感病毒 H5N1 株一般对奥塞米韦敏感,但尚无临床疗效的相关数据。

临床研究已表明,如果在发病 48 小时内开始服药,神经氨酸酶抑制剂可能减短流感相关症状的持续时间。在 48 小时内开始治疗的临床疗效约为 60-70%,肌痛、发热、头痛等症状持续时间可缩短约 0.7-1.5 天 (McNicholl 2001)。如果在发烧患者出现症状的 30 小时之内开始治疗,疗效更为明显。奥塞米韦治疗对体内应答流感病毒感染的主要细胞免疫功能似无不良影响 (Burger 2000)。

除了可能导致轻度胃肠道不适,这一在临床上较为重要的副作用,总体而言,奥塞米韦的耐受性较好 (Doucette 2001)。最近,有人认为几个心理紊乱的病例和日本的两青少年(十几岁)自杀事件与服用该药有关。但目前还没有证据表明服用奥塞米韦是自杀的起因。

#### 1.2 结构

奥塞米韦是一个乙酯类前药,其酯键水解后才能转化为活性形式—奥塞米韦羧酸乙酯, [3R, 4R, 5S]-4-乙酰胺基-5-氨基-3-(1-乙基丙氧基)-1-环己烯-1-羧酸乙酯磷酸盐。奥塞米韦可能是利用唾液酸类似物与流感病毒神经氨酸酶活性位点相结合的结晶 X 衍射结构,进行合理化药物设计而发现的 (Lew 2000)。奥塞米

韦是通过对唾液酸类似物骨架进行修饰（包括加了亲脂侧链）发展而来的，这种修饰主要是为了使药物可用于口服（Kim 1998）。其结构式如下：

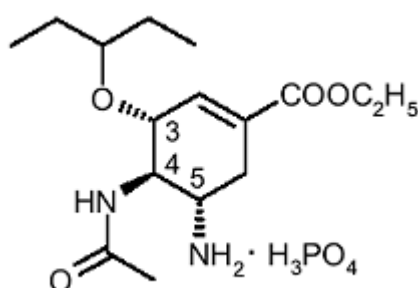


图 10-1 奥塞米韦

在研发前期，奥塞米韦及其活性代谢物的代号分别是 GS4101、Ro 64-076 和 GS4071、Ro 64-0802。

### 1.3 药代动力学

口服之后，奥塞米韦很容易从胃肠道吸收，然后在肝脏转化为其活性代谢物奥塞米韦羧酸酯。后者分布于全身，包括上、下呼吸道（Doucette 2001）。活性代谢物的绝对生物利用度为 80%。30 分钟之内就可在血浆中检测到活性代谢物，并在 3 至 4 小时达到最大浓度。一旦达到血药浓度峰值，活性代谢物的浓度即以 6 到 10 小时的表现半衰期下降（He 1999）。

健康成人血浆清除的终末半衰期为 1.8 小时。肾损伤个体代谢物的清除速率下降，并与肌酐的清除速率呈线性相关。肌酐清除速率小于 30 ml/min 的患者口服奥塞米韦的平均清除时间为 23 小时（Doucette 2001）。对于肌酐清除率小于 30 ml/min (1.81/h) 的患者，推荐降低剂量为 75 mg 每天一次（He 1999）。

奥塞米韦的血清蛋白结合率为 3%。药物和活性代谢物通过肾小球滤过排出，且活性肾小管分泌物无进一步的代谢（Hill 2001）。药物与细胞色素 P450 混合功能氧化酶或葡醛酸基转移酶均无相互作用（He 1999）。因此，发生药物相互作用的可能性较低，奥塞米韦的药物相互作用似乎仅在在有竞争性抑制肾小管上皮细胞阴离子转运子分泌功能的情况下发生。丙磺舒可阻断奥塞米韦的肾分泌，使奥塞米韦羧酸酯的全身暴露量升高达两倍多（Hill 2002）。这种竞争性阻断未必是临床相关性的，但已经有人考虑利用丙磺舒来“扩展”药物普遍短缺时奥塞米

韦的储备(Butler 2005)。

肝损伤患者不存在奥塞米韦代谢缺陷，因此不需调整剂量(Snell 2005)。

与年轻个体相比，中老年个体活性代谢物稳态暴露量要高约 25%；但无需调整剂量(He 1999)。

1 到 12 岁的儿童清除活性代谢物奥塞米韦羧酸的速率比年长儿童和成人快，因此暴露量更低。需提高剂量至 2 mg/kg 每天两次以达到成人标准剂量，1 mg/kg 每天两次，所能达到的暴露量(Oo 2001)。1 岁婴儿能有效代谢、排出奥塞米韦(Oo, 2003)，一岁以下幼儿禁用奥塞米韦(见毒性部分)。

#### 1.4 毒性

最常见的副作用是反胃和呕吐，通常为轻到中度，一般出现于治疗的前两天。

奥塞米韦上市使用后，已发现有如下不良反应。多数情况下，还难以可靠评估这些反应出现的频率，或确定其与奥塞米韦暴露的因果关系：

皮疹，脸或舌部肿胀，中毒性表皮坏死溶解

肝炎，异常的肝功指标

心率不齐

抽搐，意识不清

糖尿病恶化

服用奥塞米韦似乎与皮肤反应的风险升高并无关系(Nordstrom 2004)；然而，有轶事式报道(anecdotal reports)描述了几例孤立的皮肤反应，如：两例肝硬化的肝癌患者在用了奥塞米韦和扎那米韦预防后出现了不显著的皮疹(Kaji 2005)。在全面复审了现有数据之后，FDA 最近已要求将“严重的皮肤或超敏性反应”加注到奥塞米韦的产品标签上。若患者出现严重的皮疹或过敏症状，建议停止服用奥塞米韦并联系相关医疗保健服务部门就诊(FDA 2005)。

不推荐 1 岁以下的婴儿使用奥塞米韦，因幼龄大鼠的研究发现奥塞米韦对该年龄组有潜在毒性。而且，服用 1000 mg/kg 单剂奥塞米韦磷酸盐(约为儿童推荐剂量的 250 倍)的 7 日龄大鼠，脑内药物水平较高，进一步研究表明约为成年大鼠的 1500 倍。对婴儿而言，这些临床前数据的临床意义还不确定。然而，考虑到不能确切预测血脑屏障发育不全婴儿的药物暴露水平，不推荐 1 岁以下婴儿

使用奥塞米韦，因为一般认为人的血脑屏障发育完全需到 1 岁以后 (Dear Doctor-Letter, <http://InfluenzaReport.com/link.php?id=2>)。

奥塞米韦是妊娠分类 C 药物，因为还没有足够人相关的数据能用来评估奥塞米韦对孕妇或发育中胎儿的危险性。

哺乳期大鼠可通过乳汁分泌奥塞米韦，但还没有哺乳母亲相关的研究，尚不知奥塞米韦是否可通过人乳分泌。

在有关奥塞米韦治疗患者出现心理紊乱的报道之后，日本当局已修正了患者信息，将精神作用，如妄想症列入了副作用栏。

## 1.5 疗效

### 1.5.1 治疗

健康成人患发热性流感后，在出现症状的 36 小时内开始服用奥塞米韦 75 mg 每天两次，治疗 5 天，病程可减短 1.5 天，病情严重程度可减轻 38% (Treanor 2000)。越早开始治疗，病情消退得越快：发热后头 12 小时内开始治疗可减短的总病程中位数比 48 小时内开始治疗的多 3 天。另外，及早服用服用奥塞米韦可降低发热的持续时间，症状的严重程度和恢复基线活性所需的时间 (Aoki 2003)。

体温超过 39° C 是发热持续较长时间的标志 (Kawai 2005)。奥塞米韦的疗效可能在开始治疗 24 小时内比较明显 (Nichson 2000)。10 个安慰剂对照双盲试验的 Meta 分析 (meta-analysis) 提示奥塞米韦治疗流感可减少下呼吸道的并发症，抗生素的使用，健康和“有风险”成人的住院治疗 (Kaiser 2003)。

奥塞米韦对慢性呼吸道疾病 (慢性支气管炎，梗阻性肺气肿，支气管哮喘或支气管扩张) 或慢性心脏病患者的疗效和安全性尚未得到很好的阐明。在一较小的随机试验中，对比治疗组与对照组流感及其并发症治疗的成本，发现奥塞米韦显著减少了治疗组并发症的发生 (11% vs. 45%) 和抗生素的使用 (37 % vs. 69 %) (Lin 2006)。

奥塞米韦治疗对乙型流感的疗效可能比甲型流感低 (对 H5N1 株有效，见下文)。

从一个包括流行病学数据和抗病毒药物临床试验数据的成本-效率决策模型得出的结论是：对于未接种疫苗或高风险的已接种疫苗患者，在流感流行季节凭

经验用奥塞米韦治疗似乎是比较划算的,而其他患者应在快速诊断测试出结果之后进行治疗 (Rothberg 2003)。

### 1.5.2 预防

在实验性感染个体的研究中,奥塞米韦预防可减少感染(安慰剂组为 8/21,奥塞米韦组为 8/12)和感染相关呼吸道疾病(4/12 vs. 0/21;  $p=0.16$ ; 有效率为 61%)的发生(Hayden 1999a)。在 1559 例 18~65 岁未免疫健康成年人在地方性流感流行高峰期口服奥塞米韦(75 mg或 150 mg每天)或安慰剂预防六周的临床试验也证实了这一发现(Hayden 1999b)。奥塞米韦受试者患流感的风险(1.2%)比安慰剂受试者(4.8%)低,奥塞米韦的保护效率为 74% (Hayden 1999a)。对 7 个预防试验的meta分析表明,奥塞米韦预防可减少 70~90%患流感的风险(Cooper 2003)。

流感指示病例家庭接触者,在指示病例发病的 48 小时内开始采用奥塞米韦预防,每天一次,连续 7 天,对临床流感有 89%的预防疗效(Welliver 2001)。在随机试验中,安慰剂组出现经实验室确证的临床流感病例为 12.6% (26/206),而奥塞米韦组为 1.4%(3/209)。另一随机试验确定了奥塞米韦对暴露后预防(post-exposure prophylaxis, PEP)及患病指示病例治疗的效果:有流感样病症(体温  $37.8^{\circ}\text{C}$ ,伴有咳嗽和(或)鼻炎)的指示病例家庭接触者随机接受奥塞米韦 PEP 10 天或在暴露后发病时治疗。所有指示病例接受奥塞米韦治疗 5 天(Hayden 2004)。发现与仅对指示病例进行治疗相比,PEP 对流感有 68%的预防疗效:安慰剂组出现流感病症的为 13% (33/258),而奥塞米韦组为 4% (10/244) ( $p=0.0017$ )。

据一个基于决策分析模型的成本-效益分析的推测,奥塞米韦用于暴露后预防比用金刚烷胺预防或不预防更为划算(Risebrough 2005)。但是,最近的一个meta分析发现奥塞米韦预防的效益相对较低(Jefferson 2006),作者因此得出结论:奥塞米韦预防不应用于季节性的流感控制,而只能在严重流行和全国性流行时结合其它公共卫生措施采用。

### 1.5.3 特定的患者群体

一项安慰剂对照双盲研究调查了 548 名居家的**体弱老人**(平均年龄为 81 岁, 80%以上接受过疫苗接种), 每天一次, 口服奥塞米韦六周, 预防实验室确证的临床流感的效果(Peters 2001)。结果表明, 与安慰剂相比, 奥塞米韦可降低 92% 的实验室确证临床流感的发病率 ( $1/276 = 0.4\%$  对比  $12/272 = 4.4\%$ ), 并能显著减少二次并发症的发生 (Peters 2001)。

**儿童: 儿科患者**口服奥塞米韦治疗可缩短病程中位数达 36 小时, 降低咳嗽, 鼻炎和发烧持续的时间。此外, 可减少 44% 的新增中耳炎, 医生的抗生素处方率也更低(Whitley 2001)。最近一项研究发现, 奥塞米韦在哮喘儿童的耐受性也较好, 可能有助于缩短症状持续的时间和提高肺功能; 治疗患者出现哮喘加重的情况也大为减少(51% 对比 68%) (Johnston 2005)。

有关奥塞米韦对患**慢性心脏病和(或)呼吸道疾病**患者的疗效, 目前仍不确定。尚无任何有关这类患者病情十分严重或不稳定, 急需住院时流感治疗的信息。对**骨髓移植**患者而言, 奥塞米韦可能是移植手术后头 6 个月预防流感的一个选择。此时, 保护性疫苗接种策略因疫苗的低免疫原性而被排除。(Machado 2004)

### 1.5.4 抗 H5N1 禽流感病毒的疗效

体外研究已证实, 奥塞米韦对所有甲型和乙型流感, 包括与香港人类禽流感病例有关的 H5N1 和 H9N2 株, 都有强抗病毒活性(Leneva 2000)。由 WHO 领导的一个 H5N1 流感病例的复查表明, 指示病例的病毒散布和传染性可被降低(Writing Committee of the WHO 2005)。但是奥塞米韦对人类禽流感感染的临床有效性仍然不很明确。最近的观察提示某些 H5N1 病毒感染者, 用推荐剂量的奥塞米韦治疗不能完全抑制病毒的复制, 这为病毒产生抗药性提供了机会 (de Jong 2005)。为此, 是否需要用高于目前推荐剂量的奥塞米韦, 或延长疗程, 仍需商榷。另一可供讨论的问题是, 是否在病程后期, 已有证据表明病毒处于复制时, 才开始治疗。一些非常有限的证据表明, 即使在后期开始治疗也能降低病毒载量至到不可测的水平, 并可能有助于某些病人的生存 (de Jong 2005)。这与小鼠接种 H5N1 的研究基本一致。10 mg/kg/天 的 5 天疗法可保护 50% 的小鼠, 8 天疗法证实有 80% 的存活率(Yen 2005b)。另一研究表明, 奥塞米韦治疗将小鼠

的存活率从 0%提高到 75%，甚至是在治疗延迟到感染流感病毒后 5 天的情况下 (McCullers 2004)。

高剂量的奥塞米韦对人体应该是安全的。剂量范围研究的数据表明，150 mg 每天两次 5 天的疗程和 75 mg 每天两次 6 周的预防疗程与批准的剂量疗法一样有很好的耐受性 (Ward 2005)。

#### 1.5.5 抗 1918 年流感病毒株的效果

在组织培养和小鼠模型中，奥塞米韦均能有效地抑制带有 1918 NA 或 1918 HA 和 1918 NA 的重组病毒，提示该药应对再发的 1918 或 1918 类似病毒有效 (Tumpey 2002)。

#### 1.6 抗药性

体外研究表明，NA E119V, R292K, H274Y 和 R152K 的突变与奥塞米韦抗性有关 (McKimm-Breschkin 2003)。含 R292K 突变的病毒株在组织培养中的复制能力不及野生型病毒，且对小鼠模型的感染性比野生型病毒低 10000 倍 (Tai 1998)。同样，H274Y 突变株在细胞培养模型中的复制能力降低 3 个对数级 (Ives 2002)，而感染雪貂则需高于野生型 100 倍的剂量，并且传播速度也远低于野生型病毒 (Herlocher 2004)。

这暗示如果突变损及了病毒的适应性，那么这些病毒可能也没什么临床意义。最近报道的奥塞米韦高抗性 H5N1 株病例对这一假说提出疑义 (Le 2005, de Jong 2005)。该病例虽在病发后一天就开始用推荐剂量的奥塞米韦治疗，但并不能有效抑制病毒复制，并最终导致药物抗性株的形成。其原因究竟是病毒不可遏制的复制还是个别患者药代动力学的改变，还不清楚。

尽管季节性 H1N1 和 H3N2 流感抗性株的发生率在成年人和青少年患者中较低 (0.3%)，但儿科的研究已证实其发生率更高。有研究发现 50 例病患中的 9 例 (0.3%) 携带神经氨酸酶突变的病毒，其中 6 例的突变位于 292，2 例突变位于 119 (Kiso 2004)。因为即使是在用奥塞米韦治疗 5 天后，儿童仍可能是病毒的传播源，所以该发现的意义需更深入的研究。

体外研究已发现了奥塞米韦抗性和扎那米韦抗性流感突变株之间的交叉抗性。临床分离到的奥塞米韦诱导神经氨酸酶突变 (E119V, H274Y and R292K), 三个中有两个与扎那米韦抗性病毒的突变 (E119G/A/D, R152K and R292K) 位于相同氨基酸残基 (Tamiflu 2005)。

## 1.7 药物相互作用

药理学和药代动力学研究的数据表明, 奥塞米韦不太可能出现有临床意义的药物相互作用 (Tamiflu 2005)。不论是奥塞米韦还是奥塞米韦羧酸酯都不是细胞色素 P450 同工酶的底物或抑制剂。

## 1.8 推荐用法

### 欧盟

奥塞米韦(达菲®) 已在欧盟获得批准。治疗的适应症和剂量与美国的市场授权一致。

### 美国

在美国, 奥塞米韦适用于 1 岁和 1 岁以上 (出现症状未超过两天) 患者因流感引起的单纯急性病。此外, 奥塞米韦也适用于 1 岁及以上患者的流感预防。

13 岁及以上患者治疗的标准剂量是 75 mg 每天两次, 服用 5 天。儿科患者或无法吞咽胶囊的成年患者, 可口服奥塞米韦 30、45 和 60 mg 悬液, 每天两次。  
推荐剂量:

表 10-1 奥塞米韦治疗推荐剂量

体重 (kg)	五天的推荐剂量
≤ 15	30 mg 每天两次
>15-23	45 mg 每天两次
> 23 - 40	60 mg 每天两次



---

> 40	75 mg 每天两次
------	------------

---

对能够吞咽固体剂型的少年患者（如 8 岁以上），75 mg 的胶囊或许是个可行的剂型。

用于预防的推荐剂量为 75 mg 每天一次，至少服用 7 天。1 岁及以上的儿科患者在接触感染个体口服奥塞米韦悬液的推荐剂量：

表 10-2 奥塞米韦预防推荐剂量

---

体重 (kg)	七天的推荐剂量
≤ 15	30 mg 每天一次
>15-23	45 mg 每天一次
> 23 - 40	60 mg 每天一次
> 40	75 mg 每天一次

---

## 1.9 总结

奥塞米韦是选择性的神经氨酸酶抑制剂，必须在出现症状后的 48 小时内开始治疗，此外，尽快开始治疗（24 小时之内）可以获得最佳效果。总体而言，该药耐受性较好。

奥塞米韦不能替代政府机构所推荐的年度早期疫苗接种。

关于 H5N1 感染治疗的疗效，最优剂量和疗程还需进一步的确定。

**商品名：**达菲（Tamiflu™）

75 mg 胶囊（10 粒泡罩包装）。

口服悬液用散剂，需用水配制（12 mg/ml；也有每瓶 25 ml 悬液的玻璃瓶包装）。

**药物分类：**神经氨酸酶抑制剂。

**生产商：**豪夫迈·罗氏。

**适应症：**1岁和1岁以上（出现症状未超过2天）患者因流感引起的单纯急性病。

1岁以上患者的流感预防。

**治疗用标准剂量：**75 mg 每天两次，5天。

儿科或无法吞咽的成年患者，使用口服悬液。推荐剂量如上。

**预防用标准剂量：**75 mg 每天一次，在接触感染个体后，至少使用7天。

儿科或无法吞咽的成年患者，使用口服悬液。推荐剂量如上。

**特殊剂量：**血清肌酐清除率在10和30 ml/min之间的患者用75 mg 每天一次治疗五天；预防用药剂量为75 mg 隔天一次或30 mg 口服悬液每天。对于正进行常规血液透析和持续性腹膜透析的晚期肾病患者尚无推荐的剂量处方。

**药代动力学：**口服奥塞米韦容易通过胃肠道吸收，并大量转化为奥塞米韦羧酸酯，后者以6~10小时的半衰期从尿中排除。

**禁忌：**1岁以下的儿科患者禁用。

只有证实了对胎儿的潜在益处大于潜在危害时，才能在妊娠期使用奥塞米韦（妊娠分类C）。

**相互作用：**发生药物相互作用的可能性较低。

**副作用：**最常见的副作用是反胃和呕吐，通常出现于治疗的头两天，一般为轻到中度。

**说明或警告：**应建议患者在首次出现流感症状后尽快用奥塞米韦治疗。同样，预防也应在无防护暴露后尽快用药。

少量进食后服用奥塞米韦可减少瞬时胃肠道紊乱的反应。

老年患者无须调整剂量。

进食时服药对峰值血药浓度和 AUC 无显著影响。

胶囊需 25° C (77° F) 保存；允许温度范围为 15° 到 30° C (59° 到 86° F)。

建议口服悬液应先由药剂师配制后再配发给患者（见国际互联网上的产品信息）。

已配制的悬液应保存于 2° 到 8° C (36° 到 46° F) 冰箱。不能冻结。

奥塞米韦不能替代流感疫苗接种。患者应据政府有相关免疫指南继续接受年度的流感疫苗接种。

#### 国际互联网资源：

欧盟：<http://influenzareport.com/link.php?id=14>

美国：<http://influenzareport.com/link.php?id=1>

（贝祝春 译）

#### 参考文献

1. Aoki FY, Macleod MD, Paggiaro P, et al. Early administration of oral oseltamivir increases the benefits of influenza treatment. J Antimicrob Chemother 2003; 51: 123-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12493796> - Full text at <http://jac.oxfordjournals.org/cgi/content/full/51/1/123>
2. Burger RA, Billingsley JL, Huffman JH, Bailey KW, Kim CU, Sidwell RW. Immunological effects of the orally administered neuraminidase

- inhibitor oseltamivir in influenza virus-infected and uninfected mice. *Immunopharmacology* 2000; 47: 45-52. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10708809>
3. Butler D. Wartime tactic doubles power of scarce bird-flu drug. *Nature* 2005; 438: 6.
  4. Calfee DP, Hayden FG. New approaches to influenza chemotherapy. Neuraminidase inhibitors. *Drugs* 1998; 56: 537-53. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9806102>
  5. Carr J, Ives J, Kelly L, et al. Influenza virus carrying neuraminidase with reduced sensitivity to oseltamivir carboxylate has altered properties in vitro and is compromised for infectivity and replicative ability in vivo. *Antiviral Res* 2002; 54: 79-88. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12062393>
  6. Centers for Disease Control. Neuraminidase inhibitors for treatment of influenza A and B infections. *MMWR Recomm Rep* 1999; 48: 1-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10632443> - Full text at <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr4814a1.htm>
  7. Chokephaibulkit K, Uprasertkul M, Puthavathana P, et al. A child with avian influenza A (H5N1) infection. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 162-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15702046>
  8. Cooper NJ, Sutton AJ, Abrams KR, Wailoo A, Turner D, Nicholson KG. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in treatment and prevention of influenza A and B: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. *BMJ* 2003; 326: 1235. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12791735> - Full text at <http://bmj.bmjournals.com/cgi/content/full/326/7401/1235>
  9. de Jong MD, Tran TT, Truong HK, et al. Oseltamivir resistance during treatment of influenza A (H5N1) infection. *N Engl J Med* 2005; 353:

- 2667-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16371632> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/353/25/2667>
10. Doucette KE, Aoki FY. Oseltamivir: a clinical and pharmacological perspective. *Expert Opin Pharmacother* 2001; 2: 1671-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11825310>
11. Dreitlein WB, Maratos J, Brocavich J. Zanamivir and oseltamivir: two new options for the treatment and prevention of influenza. *Clin Ther* 2001; 23: 327-55. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11318072>
12. Dutkowski R, Thakrar B, Froehlich E, Suter P, Oo C, Ward P. Safety and pharmacology of oseltamivir in clinical use. *Drug Saf* 2003; 26: 787-801. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12908848>
13. FDA - Food & Drug Administration. FDA Approves Tamiflu for Prevention of Influenza in Children Under Age 12. Accessed on 8 January 2006 from <http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2005/NEW01285.html>
14. Gubareva LV, Kaiser L, Hayden FG. Influenza virus neuraminidase inhibitors. *Lancet* 2000; 355: 827-35. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10711940>
15. Gubareva LV, Kaiser L, Matrosovich MN, Soo-Hoo Y, Hayden FG. Selection of influenza virus mutants in experimentally infected volunteers treated with oseltamivir. *J Infect Dis* 2001; 183: 523-31. Epub 2001 Jan 11. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11170976> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v183n4/000943/000943.html>
16. Hayden FG, Treanor JJ, Fritz RS, et al. Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza: randomized controlled trials for prevention and treatment. *JAMA* 1999a; 282:

- 1240-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10517426> - Full text at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/full/282/13/1240>
17. Hayden FG, Atmar RL, Schilling M, et al. Use of the selective oral neuraminidase inhibitor oseltamivir to prevent influenza. *N Engl J Med* 1999b; 341: 1336-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10536125> - <http://content.nejm.org/cgi/content/full/341/18/1336>
18. Hayden FG, Jennings L, Robson R, et al. Oral oseltamivir in human experimental influenza B infection. *Antivir Ther* 2000; 5: 205-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11075941>
19. Hayden FG, Belshe R, Villanueva C, et al. Management of influenza in households: a prospective, randomized comparison of oseltamivir treatment with or without postexposure prophylaxis. *J Infect Dis* 2004; 189: 440-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14745701> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v189n3/31422/31422.html>
20. He G, Massarella J, Ward P. Clinical pharmacokinetics of the prodrug oseltamivir and its active metabolite Ro 64-0802. *Clin Pharmacokinet* 1999; 37: 471-84. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10628898>
21. Herlocher ML, Truscon R, Elias S, et al. Influenza viruses resistant to the antiviral drug oseltamivir: transmission studies in ferrets. *J Infect Dis* 2004; 190: 1627-30. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15478068>
22. Hill G, Cihlar T, Oo C, et al. The anti-influenza drug oseltamivir exhibits low potential to induce pharmacokinetic drug interactions via renal secretion-correlation of in vivo and in vitro studies. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 13-9. Abstract:

- <http://amedeo.com/lit.php?id=11744606> - Full text at  
<http://dmd.aspetjournals.org/cgi/content/full/30/1/13>
23. Hurt AC, Barr IG, Durrant CJ, Shaw RP, Sjogren HM, Hampson AW. Surveillance for neuraminidase inhibitor resistance in human influenza viruses from Australia. *Commun Dis Intell* 2003; 27: 542-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15508516>
24. Hurt AC, Barr IG, Hartel G, Hampson AW. Susceptibility of human influenza viruses from Australasia and South East Asia to the neuraminidase inhibitors zanamivir and oseltamivir. *Antiviral Res* 2004; 62: 37-45. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15026200>
25. Ives JA, Carr JA, Mendel DB, et al. The H274Y mutation in the influenza A/H1N1 neuraminidase active site following oseltamivir phosphate treatment leave virus severely compromised both in vitro and in vivo. *Antiviral Res* 2002; 55: 307-17. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12103431>
26. Johnston SL, Ferrero F, Garcia ML, Dutkowski R. Oral oseltamivir improves pulmonary function and reduces exacerbation frequency for influenza-infected children with asthma. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 225-32. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15750458>
27. Kaiser L, Wat C, Mills T, Mahoney P, Ward P, Hayden F. Impact of oseltamivir treatment on influenza-related lower respiratory tract complications and hospitalizations. *Arch Intern Med* 2003; 163: 1667-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12885681> - Full text at  
<http://archinte.ama-assn.org/cgi/content/full/163/14/1667>
28. Kaji M, Fukuda T, Tanaka M, Aizawa H. A side effect of neuraminidase inhibitor in a patient with liver cirrhosis. *J Infect Chemother* 2005; 11: 41-3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15729487>

29. Kawai N, Ikematsu H, Iwaki N, et al. Factors influencing the effectiveness of oseltamivir and amantadine for the treatment of influenza: a multicenter study from Japan of the 2002–2003 influenza season. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 1309–16. Epub 2005 Mar 16. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15825034>
30. Kemink SA, Fouchier RA, Rozendaal FW, et al. A fatal infection due to avian influenza-A (H7N7) virus and adjustment of the preventive measures. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148: 2190–4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15559415>
31. Kim CU, Lew W, Williams MA, et al. Structure–activity relationship studies of novel carbocyclic influenza neuraminidase inhibitors. *J Med Chem* 1998; 41: 2451–60. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9651151>
32. Kim CU, Chen X, Mendel DB. Neuraminidase inhibitors as anti-influenza virus agents. *Antivir Chem Chemother* 1999; 10: 141–54. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10480735>
33. Kirkbride HA, Watson J. Review of the use of neuraminidase inhibitors for prophylaxis of influenza. *Commun Dis Public Health* 2003; 6: 123–7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12889291>
34. Kiso M, Mitamura K, Sakai-Tagawa Y, et al. Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *Lancet* 2004; 364: 759–65. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15337401>
35. Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, et al. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. *Lancet* 2004; 363: 587–93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14987882>



36. Le QM, Kiso M, Someya K, et al. Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature* 2005; 437: 1108. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16228009>
37. Leneva IA, Roberts N, Govorkova EA, Goloubeva OG, Webster RG. The neuraminidase inhibitor GS4104 (oseltamivir phosphate) is efficacious against A/Hong Kong/156/97 (H5N1) and A/Hong Kong/1074/99 (H9N2) influenza viruses. *Antiviral Res* 2000; 48: 101-15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11114412>
38. Lew W, Chen X, Kim CU. Discovery and development of GS 4104 (oseltamivir): an orally active influenza neuraminidase inhibitor. *Curr Med Chem* 2000; 7: 663-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10702632>
39. Lin JT, Yu XZ, Cui DJ, et al. A multicentre, randomized, controlled trial of oseltamivir in the treatment of influenza in a high-risk Chinese population. *Curr Med Res Opin* 2006; 22: 75-82. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16393433>
40. Machado CM, Boas LS, Mendes AV, et al. Use of Oseltamivir to control influenza complications after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004; 34: 111-4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15094755>
41. Massarella JW, He GZ, Dorr A, Nieforth K, Ward P, Brown A. The pharmacokinetics and tolerability of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir (Ro 64-0796/GS4104) in healthy adult and elderly volunteers. *J Clin Pharmacol* 2000; 40: 836-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10934667>
42. McClellan K, Perry CM. Oseltamivir: a review of its use in influenza. *Drugs* 2001; 61: 263-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11270942>

43. McCullers JA. Effect of antiviral treatment on the outcome of secondary bacterial pneumonia after influenza. *J Infect Dis* 2004; 190: 519–26. Epub 2004 Jun 30. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15243927> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v190n3/32166/32166.html>
44. McGeer AJ, Lee W, Loeb M, et al. Adverse effects of amantadine and oseltamivir used during respiratory outbreaks in a center for developmentally disabled adults. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004; 25: 955–61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15566030>
45. McKimm-Breschkin J, Trivedi T, Hampson A, et al. Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to zanamivir and oseltamivir. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2264–72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12821478> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/full/47/7/2264?pmid=12821478>
46. McNicholl IR, McNicholl JJ. Neuraminidase inhibitors: zanamivir and oseltamivir. *Ann Pharmacother* 2001; 35: 57–70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11197587>
47. Nicholson KG, Aoki FY, Osterhaus AD, et al. Efficacy and safety of oseltamivir in treatment of acute influenza: a randomised controlled trial. Neuraminidase Inhibitor Flu Treatment Investigator Group. *Lancet* 2000; 355: 1845–50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10866439>
48. Nordstrom BL, Oh K, Sacks ST, L'Italien GJ. Skin reactions in patients with influenza treated with oseltamivir: a retrospective cohort study. *Antivir Ther* 2004; 9: 187–95. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15134180>

49. Oo C, Barrett J, Hill G, et al. Pharmacokinetics and dosage recommendations for an oseltamivir oral suspension for the treatment of influenza in children. *Paediatr Drugs* 2001; 3: 229-36. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11310719>
50. Oo C, Barrett J, Dorr A, Liu B, Ward P. Lack of pharmacokinetic interaction between the oral anti-influenza prodrug oseltamivir and aspirin. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1993-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12019123> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/full/46/6/1993?pmid=12019123>
51. Oo C, Hill G, Dorr A, Liu B, Boellner S, Ward P. Pharmacokinetics of anti-influenza prodrug oseltamivir in children aged 1-5 years. *Eur J Clin Pharmacol* 2003; 59: 411-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12910331>
52. Peters PH Jr, Gravenstein S, Norwood P, et al. Long-term use of oseltamivir for the prophylaxis of influenza in a vaccinated frail older population. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49: 1025-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11555062>
53. Risebrough NA, Bowles SK, Simor AE, McGeer A, Oh PI. Economic evaluation of oseltamivir phosphate for postexposure prophylaxis of influenza in long-term care facilities. *J Am Geriatr Soc* 2005; 53: 444-51. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15743287>
54. Rothberg MB, Bellantonio S, Rose DN. Management of influenza in adults older than 65 years of age: cost-effectiveness of rapid testing and antiviral therapy. *Ann Intern Med* 2003; 139: 321-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12965940> - Full text at [http://www.annals.org/cgi/reprint/139/5\\_Part\\_1/321.pdf](http://www.annals.org/cgi/reprint/139/5_Part_1/321.pdf)
55. Sander B, Gyldmark M, Hayden FG, Morris J, Mueller E, Bergemann R. Influenza treatment with neuraminidase inhibitors. Cost-effectiveness and cost-utility in healthy adults in the United

- Kingdom. Eur J Health Econ 2005; 6: 244-52. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15875227>
56. Sato M, Hosoya M, Kato K, Suzuki H. Viral shedding in children with influenza virus infections treated with neuraminidase inhibitors. Pediatr Infect Dis J 2005; 24: 931-2. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=16220098>
57. Schmidt AC. Antiviral therapy for influenza : a clinical and economic comparative review. Drugs 2004; 64: 2031-46. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=15341496>
58. Shijubo N, Yamada G, Takahashi M, Tokunoh T, Suzuki T, Abe S. Experience with oseltamivir in the control of nursing home influenza A outbreak. Intern Med 2002; 41: 366-70. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=12058885>
59. Snell P, Dave N, Wilson K, et al. Lack of effect of moderate hepatic impairment on the pharmacokinetics of oral oseltamivir and its metabolite oseltamivir carboxylate. Br J Clin Pharmacol 2005; 59: 598-601. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15842560>
60. Stiver G. The treatment of influenza with antiviral drugs. CMAJ 2003; 168: 49-56. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12515786> - Full text at <http://www.cmaj.ca/cgi/content/full/168/1/49>
61. Tai CY, Escarpe PA, Sidwell RW, et al. Characterization of human influenza virus variants selected in vitro in the presence of the neuraminidase inhibitor GS 4071. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 3234-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9835519> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/full/42/12/3234?pmid=9835519>
62. Takahashi K, Furuta Y, Fukuda Y, et al. In vitro and in vivo activities of T-705 and oseltamivir against influenza virus.

- Antivir Chem Chemother 2003; 14: 235-41. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=14694986>
63. Tamiflu (package insert). Gilead Sciences, Foster City, 2005.  
Accessed on 8 January 2005 from  
<http://www.rocheusa.com/products/tamiflu/pi.pdf>
64. Treanor JJ, Hayden FG, Vrooman PS, et al. Efficacy and safety of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in treating acute influenza: a randomized controlled trial. JAMA 2000; 283: 1016-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10697061> - Full text at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/full/283/8/1016>
65. Tumpey TM, Garcia-Sastre A, Mikulasova A, et al. Existing antivirals are effective against influenza viruses with genes from the 1918 pandemic virus. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 13849-54. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12368467> - Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/99/21/13849>
66. Ward P, Small I, Smith J, Suter P, Dutkowski R. Oseltamivir (Tamiflu) and its potential for use in the event of an influenza pandemic. J Antimicrob Chemother 2005; 55: Suppl 1: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15709056>
67. Welliver R, Monto AS, Carewicz O, et al. Effectiveness of oseltamivir in preventing influenza in household contacts: a randomized controlled trial. JAMA 2001; 285: 748-54. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11176912> - Full text at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/full/285/6/748>
68. Whitley RJ, Hayden FG, Reisinger KS, et al. Oral oseltamivir treatment of influenza in children. Pediatr Infect Dis J 2001; 20: 127-33. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11224828>
69. Writing Committee of the World Health Organization (WHO) Consultation on Human Influenza A/H5. Avian influenza A (H5N1)

- infection in humans. *N Engl J Med* 2005; 353: 1374-85.  
<http://amedeo.com/lit.php?id=16192482> - Full text at  
<http://content.nejm.org/cgi/content/extract/353/13/1374>
70. Woodhead M, Lavanchy D, Johnston S, Colman P, Fleming D. Neuraminidase inhibitors: progress in the management of influenza. *Int J Clin Pract* 2000; 54: 604-10. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11220989>
71. Yen HL, Herlocher LM, Hoffmann E, et al. Neuraminidase inhibitor-resistant influenza viruses may differ substantially in fitness and transmissibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4075-84. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16189083>
72. Yen HL, Monto AS, Webster RG, Govorkova EA. Virulence may determine the necessary duration and dosage of oseltamivir treatment for highly pathogenic A/Vietnam/1203/04 influenza virus in mice. *J Infect Dis* 2005; 192: 665-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16028136>

## 2. 扎那米韦

### 2.1 引言

扎那米韦为口腔吸入粉剂，最近在 19 个国家获准用于治疗、预防甲型和乙型流感。扎那米韦是神经氨酸酶糖蛋白的竞争性抑制剂，后者是流感病毒感染周期所必需的。扎那米韦是神经氨酸酶天然底物唾液酸的近似模拟物 (Varghese 1992, Varghese 1995)。

扎那米韦通过吸入给药的，这使得药物能被直接输送到呼吸道。在呼吸道，推测其浓度可高达神经氨酸酶 IC<sub>50</sub> 的 1000 多倍，并在 10 秒之内即可发挥抑制作用。

当疑有流感全身性感染是，就如最近某些人类感染禽流感 H5H1 株的报告所暗示的(de Jong 2005)，扎那米韦或许并非合适的药物。

过去几年，有数个事件导致了扎那米韦处方说明书的改变，现在的处方说明书中已包含了支气管痉挛、呼吸困难、皮疹、荨麻疹和过敏性反应（包括面部和口咽部水肿）的警告。但除这些罕见的反应外，若较早开始治疗，扎那米韦的安全性还是不错的 (Hayden 1997)。

口腔吸入扎那米韦与灭活的三价流感疫苗联用似乎不影响抗血凝素抗体的产生(Webster 1999)；后者为感染 12 天内出现的保护性抗体反应(Cox 2001)。

### 2.2 结构

扎那米韦的化学名为 5-乙酰氨基-4- [(氨基亚氨基甲基)-氨基] -2, 6-氢-3, 4, 5-三去氧-D-丙三醇基-D-半乳糖-2-烯醇酸。其结构式如下：

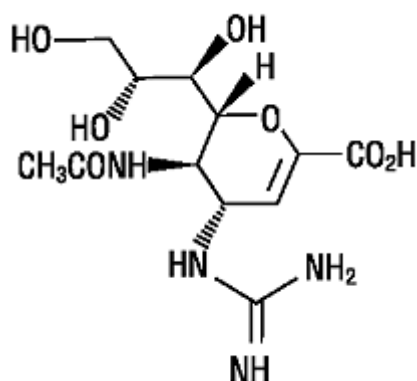


图 10-2 扎那米韦

### 2.3 药代动力学

口腔吸入扎那米韦相关的数据显示 10~20%的活性化合物到了肺部，余下部分积留于口咽部，吸入剂量的 4~17%被全身吸收。给予 10 mg 剂量后 1~2 小时血药浓度达到峰值。血清蛋白结合率低(< 10%)。扎那米韦以原形在尿中排出，单剂服药在 24 小时内完全排出(Cass 1999b)。口腔吸入扎那米韦的血浆半衰期为 2.5~5.1 小时。

已证实，静脉注射扎那米韦分布于呼吸道粘膜，并能保护性对抗实验性人甲型流感病毒接种后的感染和发病(Calfee 1999)。

### 2.4 毒性

扎那米韦有较好的安全性，出现任何呼吸障碍的综合风险较低(Loughlin 2002)。体外和动物体内研究的结果表明，在高于临床使用预计血浆暴露量的 100 多倍时，扎那米韦急性毒性低，无显著的全身毒性或呼吸道刺激(Freund 1999)。

通常，推荐剂量的扎那米韦对呼吸障碍患者的肺功能没有负面影响。但是，已有报道某些患者使用扎那米韦后出现支气管痉挛和肺功能衰退(FEV1 或呼吸峰值)。多数情况下，这些患者存在哮喘或慢性阻塞性肺病之类的肺部疾患。由于有严重的副作用，一般不推荐扎那米韦用于有呼吸道疾病的患者。出现支气管



痉挛或呼吸功能衰退的患者也应停止使用扎那米韦，若症状严重，应立即处理并住院。

过敏反应，包括口咽部浮肿和严重的皮疹在扎那米韦治疗中很少发生。一旦出现，应立即停药并采取恰当的处理。

已报道治疗组与安慰剂组出现其它副作用的概率基本一致。出现腹泻、恶心、眩晕、头痛、偶感不适、腹痛和荨麻疹的概率相同，并可能与吸入剂的乳糖辅料有关。3 期治疗研究最常见的实验室指标异常有肝脏酶和CPK上升，淋巴细胞和嗜中性白细胞减少。也有报道表明，急性流感样症状的受试者接受扎那米韦和乳糖辅料安慰剂出现上述副作用的比例相近 (Relenza 2003)。

但有报道称，对于 5~12 岁儿童，扎那米韦组的鼻部病征和症状（扎那米韦 20%，安慰剂 9%），咳嗽（扎那米韦 16%，安慰剂 8%），咽喉或扁桃体不适和疼痛（扎那米韦 11%，安慰剂 6%）比安慰剂组更为常见。其中慢性呼吸道疾病患者，报道有下呼吸道不良反应（描述为哮喘，咳嗽，或能引起流感样症状的病毒性呼吸道感染）的，扎那米韦组为 100%（7/7），安慰剂组为 42%（5/12）。

扎那米韦上市使用后，已确定有如下不良反应，但目前还难以可靠评估这些反应出现的频率，或确定其与扎那米韦暴露的因果关系 (Relenza 2003)：

- 过敏或过敏样反应，包括口咽部浮肿。
- 心率不齐，晕厥。
- 抽搐。
- 支气管痉挛，呼吸障碍。

扎那米韦尚未做过妊娠用药的研究。在动物研究中，扎那米韦未表现出可引起生育缺陷或其它问题。

扎那米韦在大鼠体内可通过乳汁排出，但尚无哺乳母亲相关的研究，还不知扎那米韦是否可通过人乳分泌

## 2.5 疗效

若在出现症状的 48 小时内吸入扎那米韦，可缩短流感主要症状缓解的中位数时间为 2.5 天。这在重症患者和 $\geq 50$  岁的已患病或高风险个体似乎特别明显。对较低体温或较轻症状的患者，扎那米韦治疗的疗效略差些。

当与安慰剂相比，扎那米韦用于预防，可明显减少流感新发病例的家庭数，并预防长期医疗保健机构的流感新发病例。

### 2.5.1 治疗

1994-1995 年北美 38 个中心和欧洲 32 个中心，对扎那米韦进行了首次独立的随机双盲临床试验研究。这些研究证实扎那米韦治疗患者的症状缓解时间缩短约一天（症状缓解时间 4 天对 5 天）(Hayden 1997)，且对症状严重的患者疗效更大(缓解时间缩短 3 天) (Monto 1999)；50 岁以上患者的症状缓解时间缩短了 3 天，而 50 岁以下的患者仅缩短了 1 天；“高风险”患者缓解时间缩短为 2.5 天 (Monto 1999)。此外，扎那米韦对有出现流感相关并发症风险的患者，如 65 岁及以上的患者和存在哮喘，慢性阻塞性肺部疾病，心血管病，糖尿病和免疫缺陷等慢性病的患者，也有疗效(Lalezari 2001)。

流感病毒感染可能引起呼吸道并发症，需抗生素治疗。对 7 个临床试验的 meta 分析表明 17% 的安慰剂受试者出现呼吸障碍，主要是急性支气管炎和急性鼻炎，需使用抗生素治疗；而扎那米韦治疗患者发生呼吸障碍需用抗生素的发生率为 11% (Kaiser 2000b)。但这一发现并不是不容置疑的。在一较大管理式医疗计划 (>2300 个患者的治疗) 的实施中，发现扎那米韦治疗患者和未治疗患者流感并发症的模式相似 (Cole 2002)。

### 2.5.2 预防

一系列随机试验已证实了扎那米韦对流感的预防效果。在一以健康成年人作为对象的研究中，受试者于流感爆发时口腔吸入扎那米韦 10 mg 每天一次或安慰剂，持续预防 4 周。结果，扎那米韦对临床流感的预防效果为 67% (临床流感发病率，

安慰剂组为 6%[35/554]，扎那米韦组为 2%[11/553])，对发烧的预防效果为 84%(Monto 1999b)。

另一临床试验以有 2~5 名成员并至少有 1 名五岁或以上儿童的家庭为研究对象。在有一个家庭成员出现流感样症状时，其他成员立即服用扎那米韦（口腔吸入扎那米韦 10 mg 每天一次，持续 10 天）或安慰剂。扎那米韦组出现至少一例新发流感病例的家庭为 4%，而安慰剂组为 19%。扎那米韦组的症状持续中位数时间比安慰剂组短 2.5 天（5.0 比 7.5 天）(Hayden 2000)。在一密切接触流感样症状指示病例后给予扎那米韦的研究中，也得到了类似的结果 (Kaiser 2000)。

在一吸入扎那米韦预防家庭流感的研究中，扎那米韦组，家庭成员有过至少一次接触后出现症状并经实验室确定为流感的比例为 4%，而安慰剂组为 19%(81% 的预防效果)。扎那米韦对个体同样有较高的预防效果(82 %)，并且对甲乙型流感的预防效果都比较高（对家庭成员的预防效果分别为 78 % 和 85 %）(Monto 2002)。

### 2.5.3 儿童

在 5~12 岁儿童的试验中，与安慰剂相比，扎那米韦使症状缓解中位数时间缩短了 1.25 天。扎那米韦治疗患者显著地比安慰剂治疗患者更快恢复正常，也明显地更少使用缓解症状药物 (Hedrick 2000)。

扎那米韦对于儿童是安全的，如果儿童能正确使用它的话。儿童，尤其是那些 8 岁以下的，通常不能用给药系统正确地吸入扎那米韦（不能用碟式干粉吸入器产生适当的吸气流量或不能在装置最优的 60 l/min 流速下产生峰值吸气流量）。因为缺少适当的流速会导致血药浓度不足或完全不可测，处方者开扎那米韦处方时，应仔细考虑幼童使用给药系统的能力。当给儿童扎那米韦处方时，应仅在成年人监督下使用并注意给药系统的正确使用 (Relenza 2003)。

#### 2.5.4 特殊情况

特殊情况下的扎那米韦应用，目前已有急性成淋巴白血病 (Maeda 2002) 和异体干细胞移植 (Johny 2002) 患者的报道。后一报道发现扎那米韦无毒性且能快速消退流感症状。这些患者中没有因流感而死亡的。

#### 2.5.5 禽流感病毒株

2000 年，一项在小鼠中进行的研究表明扎那米韦对禽流感病毒 H9N2、H6N1 和能传染哺乳动物的 H5N1 株均有治疗效果 (Leneva 2001)。

#### 2.6 抗药性

抗药性鲜有发生，至今还未从经治疗的免疫活性个体分离到扎那米韦抗性病毒株。此外，目前所有体外选择的扎那米韦抗性株都是降低活力的。已知的抗性突变均为流感病毒亚型和药物特异性的 (McKimm-Breschkin 2003)。

有证据表明神经氨酸酶抑制剂的敏感性模式各不相同，且存在交叉抗性 (Mishin 2005, Yen 2005)，但迄今还没有研究评价过临床应用中出现交叉抗性的风险。

#### 2.7 药物相互作用

扎那米韦通过吸入给药，药物吸收的低水平导致了吸入后的低血药浓度和中等的扎那米韦系统暴露量。扎那米韦不被代谢，出现临床相关药物-药物相互作用的可能性很低 (Cass 1999b)。扎那米韦不是人肝脏微粒体中细胞色素 P450 (CYP) 同工酶 (CYP1A1/2, 2A6, 2C9, 2C18, 2D6, 2E1 和 3A4) 的底物，也不影响 CYP (Relenza 2003)。有关扎那米韦与其它合用化合物间存在代谢相互作用的推测缺乏理论基础 (Daniel 1999)。

## 2.8 推荐用法

- 扎那米韦适用于治疗甲型和乙型流感病毒引起的单纯急性病，适用人群为成年人和出现症状不超过 2 天的儿科患者（欧盟：12 岁以上；美国：7 岁以上）。
- 有呼吸道疾病（如哮喘或慢性阻塞性肺病）的患者不推荐用扎那米韦治疗。

扎那米韦（乐感清<sup>®</sup>）因其低口服生物利用度而采用吸入给药。每个乐感清<sup>®</sup> 旋达碟（碟式干粉吸入器）含 4 个双层铝箔泡罩，每个含 5 mg 扎那米韦（附 20 mg 含乳蛋白的乳糖）。每个泡罩的内容物用称作“碟式干粉吸入器”的塑料装置吸入。使用时，患者通过滤嘴吸气，刺穿一个泡罩，扎那米韦就散布于气流中。到达呼吸道的药物量取决于患者因素，如吸气流量。

这种给药系统在日常的医疗操作中可能是比较困难，因此应指导患者使用给药系统，并做示范。给儿童处方时，应仅在成年人的监督指导下使用。

老年人使用扎那米韦吸入装置的能力，现在也受到了关注。一项对 73 名患者（71 到 99 岁，均来自于一般大医院有紧急老年护理的病房）的研究发现多数老年人不会使用吸入装置，因此扎那米韦治疗对老年流感患者未必有效(Diggory 2001)。

## 2.9 剂量

扎那米韦治疗成年人和 7 岁以上儿科患者的推荐剂量是 10 mg 每天两次（= 每天两次，每次连续吸入 2 个 5 mg 的泡罩），连续用药 5 天。

治疗的第一天，两次服药至少应间隔 2 小时。随后几天，应间隔 12 小时用药。

对肾损伤患者无需调整剂量（Cass 1999a）。

对肺功能失调患者应随时备有速效支气管扩张药物，若出现呼吸困难应停用扎那米韦。

## 2.10 总结

**商品名：**乐感清<sup>®</sup>

**药物分类：**神经氨酸酶抑制剂。

**生产商：**葛兰素史克。

**适应症：**扎那米韦主治成年人和出现症状不超过 2 天的儿童（欧盟：12 岁以上；美国：7 岁以上）由甲、乙型流感病毒引起的单纯急性病。

**治疗标准剂量：**10 mg 每天两次（= 每天两次，每次连续吸入 2 个 5 mg 的泡罩），5 天。

**预防标准剂量：**在多数国家，扎那米韦还未被批准用于预防。

**药代动力学：**10~20%的活性化合物到肺部，余下部分积留于口咽部，吸入剂量的 4~17%被全身吸收。1~2 小时后血药浓度达峰值，。血清蛋白结合率低（< 10 %）。扎那米韦以原形在尿中排出。血浆半衰期为 2.5~5.1 小时。

**警告：**不推荐扎那米韦用于呼吸道疾病患者（如哮喘或慢性阻塞性肺病）。

**相互作用：**据体外研究的数据推测，没有临床显著的药代动力学药物相互作用。

**副作用：**扎那米韦具有良好的安全特性，发生任何呼吸障碍的综合风险较低。

**患者信息：**用扎那米韦治疗流感并不能降低流感传染他人的风险。

扎那米韦有支气管痉挛的风险，尤其是在患有呼吸道疾病时。若患者发现治疗过程中呼吸症状增多，如喘息，呼吸短促或其它支气管痉挛的病征或症状，应停用扎那米韦并与他们的医生联系。哮喘或慢性阻塞性肺病患者必须注意这一点，并应备有速效支气管扩张药物。

要同时吸服扎那米韦和支气管扩张药物的患者，建议在服用扎那米韦前使用支气管扩张剂。

扎那米韦应在 25° C (77° F) 保藏；允许波动范围：15° ~ 30° C (59° ~ 86° F)。

#### 国际互联网资源：

美国：<http://influenzareport.com/link.php?id=5>

(贝祝春 译)

#### 参考文献

1. Calfee DP, Peng AW, Cass LM, Lobo M, Hayden FG. Safety and efficacy of intravenous zanamivir in preventing experimental human influenza A virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1616-20. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10390212> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/full/43/7/1616>
2. Cass LM, Efthymiopoulos C, Marsh J, Bye A. Effect of renal impairment on the pharmacokinetics of intravenous zanamivir. *Clin Pharmacokinet* 1999a; 36: Suppl 1:13-9 Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10429836>
3. Cass LM, Efthymiopoulos C, Bye A. Pharmacokinetics of zanamivir after intravenous, oral, inhaled or intranasal administration to healthy volunteers. *Clin Pharmacokinet* 1999b; 36: Suppl 1:1-11 Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10429835>
4. Cole JA, Loughlin JE, Ajene AN, Rosenberg DM, Cook SE, Walker AM. The effect of zanamivir treatment on influenza complications: a retrospective cohort study. *Clin Ther* 2002; 24: 1824-39. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12501877>

5. Cox RJ, Mykkeltvedt E, Sjursen H, Haaheim LR. The effect of zanamivir treatment on the early immune response to influenza vaccination. *Vaccine* 2001; 19: 4743-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11535325>
6. Daniel MJ, Barnett JM, Pearson BA. The low potential for drug interactions with zanamivir. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36: Suppl 1:41-50 Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10429839>
7. de Jong MD, Bach VC, Phan TQ, et al. Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting with diarrhea followed by coma. *N Engl J Med* 2005; 352: 686-91. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15716562> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/352/7/686>
8. Diggory P, Fernandez C, Humphrey A, Jones V, Murphy M. Comparison of elderly people's technique in using two dry powder inhalers to deliver zanamivir: randomised controlled trial. *BMJ* 2001; 322: 577-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11238150> - Full text at <http://bmj.bmjournals.com/cgi/content/full/322/7286/577>
9. Freund B, Gravenstein S, Elliott M, Miller I. Zanamivir: a review of clinical safety. *Drug Saf* 1999; 21: 267-81. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10514019>
10. Hayden FG, Atmar RL, Schilling M, et al. Use of the selective oral neuraminidase inhibitor oseltamivir to prevent influenza. *N Engl J Med* 1999; 341: 1336-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10536125> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/abstract/341/18/1336>
11. Hayden FG, Gubareva LV, Monto AS, et al. Inhaled zanamivir for the prevention of influenza in families. Zanamivir Family Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1282-9. Abstract:



- <http://amedeo.com/lit.php?id=11058672> - Full text at  
<http://content.nejm.org/cgi/content/abstract/343/18/1282>
12. Hayden FG, Gubareva LV, Monto AS, et al. Inhaled zanamivir for the prevention of influenza in families. Zanamivir Family Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1282-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11058672> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/343/18/1282>
13. Hayden FG, Osterhaus AD, Treanor JJ, et al. Efficacy and safety of the neuraminidase inhibitor zanamivir in the treatment of influenzavirus infections. GG167 Influenza Study Group. *N Engl J Med* 1997; 337: 874-80. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9302301> - Full text at <http://content.nejm.org/cgi/content/full/337/13/874>
14. Hedrick JA, Barzilai A, Behre U, et al. Zanamivir for treatment of symptomatic influenza A and B infection in children five to twelve years of age: a randomized controlled trial. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19: 410-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10819336>
15. Johny AA, Clark A, Price N, Carrington D, Oakhill A, Marks DI. The use of zanamivir to treat influenza A and B infection after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29: 113-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11850704>
16. Kaiser L, Henry D, Flack NP, Keene O, Hayden FG. Short-term treatment with zanamivir to prevent influenza: results of a placebo-controlled study. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 587-9. <http://amedeo.com/lit.php?id=10722450> - Full t. at <http://www.journals.uchicago.edu/CID/journal/issues/v30n3/990655/990655.html>
17. Kaiser L, Keene ON, Hammond JM, Elliott M, Hayden FG. Impact of zanamivir on antibiotic use for respiratory events following acute

- influenza in adolescents and adults. Arch Intern Med 2000b; 160: 3234-40. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11088083> - Full text at <http://archinte.ama-assn.org/cgi/content/full/160/21/3234>
18. Lalezari J, Campion K, Keene O, Silagy C. Zanamivir for the treatment of influenza A and B infection in high-risk patients: a pooled analysis of randomized controlled trials. Arch Intern Med 2001; 161: 212-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11176734> - Full text at <http://archinte.ama-assn.org/cgi/content/full/161/2/212>
19. Leneva IA, Goloubeva O, Fenton RJ, Tisdale M, Webster RG. Efficacy of zanamivir against avian influenza A viruses that possess genes encoding H5N1 internal proteins and are pathogenic in mammals. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 1216-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11257037> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/full/45/4/1216>
20. Loughlin JE, Alfredson TD, Ajene AN, et al. Risk for respiratory events in a cohort of patients receiving inhaled zanamivir: a retrospective study. Clin Ther 2002; 24: 1786-99. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12501874>
21. Macdonald L. New influenza drugs zanamivir (Relenza) and oseltamivir (Tamiflu): unexpected serious reactions. CMAJ 2000; 163: 879-81, 883-5. <http://InfluenzaReport.com/link.php?id=3>
22. Maeda M, Fukunaga Y, Asano T, Migita M, Ueda T, Hayakawa J. Zanamivir is an effective treatment for influenza in children undergoing therapy for acute lymphoblastic leukemia. Scand J Infect Dis 2002; 34: 632-3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12238587>
23. McKimm-Breschkin J, Trivedi T, Hampson A, et al. Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical

- isolates to zanamivir and oseltamivir. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2264-72. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12821478> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/content/full/47/7/2264>
24. Mishin VP, Hayden FG, Gubareva LV. Susceptibilities of antiviral-resistant influenza viruses to novel neuraminidase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4515-20. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16251290>
25. Monto AS, Pichichero ME, Blanckenberg SJ, et al. Zanamivir prophylaxis: an effective strategy for the prevention of influenza types A and B within households. *J Infect Dis* 2002; 186: 1582-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12447733> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v186n11/020679/020679.html>
26. Monto AS, Robinson DP, Herlocher ML, Hinson JM Jr, Elliott MJ, Crisp A. Zanamivir in the prevention of influenza among healthy adults: a randomized controlled trial. *JAMA* 1999b; 282: 31-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10404908> - Full text at <http://jama.ama-assn.org/cgi/content/full/282/1/31>
27. Monto AS, Webster A, Keene O. Randomized, placebo-controlled studies of inhaled zanamivir in the treatment of influenza A and B: pooled efficacy analysis. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: Suppl : 23-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10877459> - Full text at [http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/44/suppl\\_2/23](http://jac.oxfordjournals.org/cgi/reprint/44/suppl_2/23)
28. Relenza (zanamivir for inhalation). Research Triangle Park, NC: GlaxoSmithKline, 2003 (package insert). Accessed from <http://www.InfluenzaReport.com/link.php?id=5>
29. Varghese JN, McKimm-Breschkin JL, Caldwell JB, Kortt AA, Colman PM. The structure of the complex between influenza virus neuraminidase

- and sialic acid, the viral receptor. *Proteins* 1992; 14: 327-32.  
Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1438172>
30. Varghese JN, Epa VC, Colman PM. Three-dimensional structure of the complex of 4-guanidino-Neu5Ac2en and influenza virus neuraminidase. *Protein Sci* 1995; 4: 1081-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7549872> - Full text at <http://www.proteinscience.org/cgi/content/abstract/4/6/1081>
31. Webster A, Boyce M, Edmundson S, Miller I. Coadministration of orally inhaled zanamivir with inactivated trivalent influenza vaccine does not adversely affect the production of antihaemagglutinin antibodies in the serum of healthy volunteers. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36: Suppl 1:51-8 Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10429840>
32. Yen HL, Herlocher LM, Hoffmann E, et al. Neuraminidase inhibitor-resistant influenza viruses may differ substantially in fitness and transmissibility. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 4075-84. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16189083>

### 3. 金刚乙胺

#### 3.1 引言

金刚乙胺为 M2 离子通道抑制剂，通过干扰病毒的脱壳过程，特异性地抑制甲型流感病毒复制。M2 抑制剂阻碍横跨病毒膜的 M2 蛋白形成离子通道 (Hay 1985, Sugrue 1991)。流感病毒通过受体介导的胞吞作用进入其宿主细胞。其后，胞吞囊泡的酸化作用将 M1 蛋白从核蛋白复合体上解离。只有此时核蛋白颗粒才能通过核孔进入细胞核。酸化所需的氢离子通过 M2 通道进入。金刚烷胺的作用就是封闭此通道 (Bui 1996)。

金刚乙胺对已引起过人类疾病的甲型流感病毒各亚型均有效 (H1N1, H2N2 和 H3N2)，但对乙型流感病毒无效，因为 M2 蛋白是甲型流感病毒特有的。对最近引起人类疾病的禽流感 H5N1 亚型株，金刚乙胺没有活性 (Li 2004)。

金刚乙胺对甲型流感的治疗和预防效果均与金刚烷胺相当，但引起不良反应的可能性更低 (Stephenson 2001, Jefferson 2004)。

流感病毒株中和抗体的形成似乎不受金刚乙胺的影响。但在某项研究中，鼻分泌液中的 IgA 显著减少 (Clover 1991)。

最近发表的研究显示，金刚烷胺抗性和金刚乙胺抗性 H3N2 株流感病毒的发生率在过去十年增长惊人。对 1994~2005 年间 7000 多份甲型流感病毒样本的评估研究表明，病毒对金刚烷胺和金刚乙胺的抗性已从 0.4% 上升到 12.3% (Bright 2005)。2004 年采自韩国、中国台湾和香港及中国大陆的病毒样本抗药性发生率分别为 15%，23%，70% 和 74%。有些作者已提议应倡议停止金刚烷胺和金刚乙胺的使用 (Jefferson 2006)。最近，从美国患者分离的 120 份甲型流感 H3N2 型病毒样本中，有 109 份含 M2 蛋白 31 位氨基酸的突变，这一突变使病毒对金刚烷胺和金刚乙胺产生了抗性。基于这些结果，疾病控制中心建议，在 2005-06 年流感季节余下的日子，不要用金刚烷胺或金刚乙胺治疗或预防美国的甲型流感 (CDC 2006)。

目前，在多数国家尚未储备金刚乙胺。

### 3.2 结构

盐酸金刚乙胺的化学名为  $\alpha$ -甲基三环辛烷-[3.3.1.1<sup>1</sup>/3.7]癸烷-1-六亚甲基四胺盐酸盐，分子量为 215.77，其结构式如下：

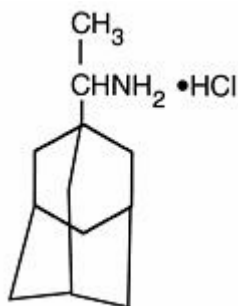


图 10-3 盐酸金刚乙胺

### 3.3 药代动力学

健康成人口服 6 小时后血药浓度达峰值。成人 (Hayden 1985) 和儿童 (Anderson 1987) 口服单剂金刚乙胺的清除半衰期均约为 30 小时。口服之后，金刚乙胺在肝脏大量代谢，口服剂量 25% 以下的药物以原型在尿中排出。老年人的清除时间更长，平均 AUC 值和峰值血药浓度比健康成人高 20~30%。

金刚乙胺在慢性肝病患者的药代动力学没有明显变化 (Willis 1987)；但严重肝功能不全患者的 AUC 和清除半衰期升高。

肾功能不全导致金刚乙胺代谢物的血浆浓度升高，且血液透析不能清除金刚乙胺。因此，晚期肾病患者可能需要降低金刚乙胺的使用剂量，并且透析当天无需补充剂量 (Capparelli 1988)。

### 3.4 毒性

胃肠道症状是金刚乙胺最常见的不良反应。临床试验发现的其它副作用（总发生率 < 3%）有恶心，呕吐，厌食和口干，以及中枢神经系统（CNS）症状（包括失眠，眩晕，神经质）。但一项对疗养院长期用金刚乙胺预防的安全性和有效性

的研究中，未发现治疗组和安慰剂组的胃肠道或中枢神经系统症状发生率有显著的统计学差异(Monto 1995)。

发生率更低(0.3-1%)的不良反应有腹泻，消化不良，注意力障碍，运动失调，嗜睡，焦虑，抑郁，皮疹，耳鸣和呼吸困难等。

少数情况下，有癫痫病史者，若未接受抗惊厥药物治疗，可能会出现癫痫发作。这种情况下，应停用金刚乙胺。

一般，停止用药后，上述症状可快速消退。

在肾、肝功能不全患者，仅对服用单一剂量金刚乙胺后的安全性和药代动力学进行过评价。鉴于金刚乙胺及其代谢物有在血清蓄积的可能，治疗肾或肝功能不全患者时应谨慎用药。

鉴于目前尚无对照良好的研究评价过金刚乙胺对孕妇的安全性，我们建议孕妇禁用金刚乙胺。同样，由于发现哺乳期大鼠服用金刚乙胺对后代的不良反应，该药不能用于哺乳期妇女。

比较性研究的结果显示金刚乙胺的耐受性比等效剂量的金刚烷胺好(Jefferson 2004)。在金刚烷胺和金刚乙胺用于预防的直接对比研究中，金刚烷胺组(13%)因中枢神经系统副作用退出研究的患者比金刚乙胺组(6%)多(Dolin 1982)。

### 3.5 疗效

对最近引起人患病的禽流感亚型H5N1株，金刚乙胺没有活性(Li 2004)。金刚乙胺对甲型流感“传统”人病毒株(H1N1, H2N2 和H3N2)感染的预防和治疗或许都有效，其效果与金刚烷胺相当。但是，在对3个安慰剂对照的金刚乙胺预防疗效试验的Cochrane回顾中，金刚乙胺对流感病例和流感样疾病仅有中等预防疗效(Jefferson 2006)。用于治疗，金刚乙胺可显著缩短发热持续时间，但对甲型流感病毒的鼻释放没有或至多只有中等效果。鉴于金刚乙胺的低效和相对较高的不良反应发生率，作者认为两个M2离子通道阻断药物，金刚乙胺和金刚烷

胺都不应在季节性和全国性流感中使用(Jefferson 2006) (同见引言中CDC的建议)。

### 3.5.1 治疗

在甲型流感H3N2 亚型病毒感染患者的早期试验中,与安慰剂相比,金刚乙胺治疗(200 mg每天,5天)可显著降低鼻腔分泌物的病毒滴度,最高体温,退热时间(平均降低37小时)和全身症状(Hayden 1986)。甚至对疗养院已接种疫苗的老年人,金刚乙胺看来也是相对安全的(Monto 1995)。对这一人群,建议降低剂量至100 mg每天。金刚乙胺对改善实验性感染成人的鼻通畅性,粘液纤毛清除系统,鼻病征或耳科并发症症状和病征没有效果(Doyle 1998)。

### 3.5.2 预防

预防试验报道的有效率出入较大。一项对临床试验的回顾性研究发现金刚乙胺有64%的预防疗效,并能显著缩短发热持续时间1.27天(Demicheli 2000)。金刚乙胺对儿童的预防可能也有效(Clover 1986, Crawford 1988)。

## 3.6 抗药性

引起M2蛋白氨基酸改变的M基因点突变可导致高水平的金刚乙胺抗性。突变株与野生型病毒一样有毒力,且已证实可传染并引起典型的流感病症。三分之一的治疗患者可能产生这种突变株,在免疫缺陷患者中,这一比例甚至更高(Englund 1998)。儿童和成年患者开始金刚乙胺治疗后2天,就可从体内分离到抗药性甲型流感病毒(H3N2)(Hayden 1991)。

使用金刚乙胺时,抗药病毒株的可传播性是个重要的问题。早期的一项研究证实了因抗药性病毒株的传播而引起的流感感染预防无效。该研究推断金刚乙胺对预防家庭成员的甲型流感感染是无效的。(Hayden 1989)。

已知与2003年末~2004年初东亚地区人患病有关的禽流感病毒H5N1亚型对金刚乙胺有抗性(M2蛋白的31位为天冬酰胺残基)(Li 2004)。



在过去十年，金刚烷胺和金刚乙胺的药物抗性已从 0.4%上升到了 12.3% (Bright 2005)。

### 3.7 药物相互作用

还没有发现金刚乙胺与其他药物有具有临床意义的药物相互作用。西咪替丁 (Cimetidine) 似乎可使金刚乙胺的清除率降低18% (Holazo 1989)。对乙酰氨基酚 (Acetaminophen) 使金刚乙胺的峰值血浆浓度和AUC值降低11%。阿司匹林使金刚乙胺的峰值血浆浓度和AUC值降低约10%。

### 3.8 推荐用法

在欧盟，含金刚乙胺的药品已获得了各国的批准(更多信息，请看处方说明书)。

在美国，金刚乙胺获准用于成人和儿童的预防，但治疗只获准用于成人。金刚乙胺(Flumadine<sup>®</sup>)现有 100 mg 的薄膜衣片和口服糖浆两种规格。

#### 3.8.1 成人

在美国，**预防**和**治疗**的推荐剂量均为 100 mg 每天两次。

对以下患者，推荐降低剂量为 100 mg 每天一次。

- 严重肝功能障碍
- 肾衰 ( $\text{CrCl} \leq 10 \text{ ml/min}$ )
- 老年疗养院患者(Patriarca 1984, Monto 1995).

任何程度的肾功能不全患者需密切监测，需要时应调整剂量。

用于治疗，应在发生甲型流感感染病征和症状的 48 小时内开始服用金刚乙胺。从症状发作开始，持续治疗 7 天。

### 3.8.2 儿童

在美国，金刚乙胺仅获准用于预防。10岁以下儿童使用剂量为5 mg 每公斤体重，但不能超过150 mg。10岁及以上儿童按成人剂量。

### 3.8.3 警告

癫痫患者慎用。

## 3.9 总结

**商品名：**Flumadine®

**药物分类：**M2 抑制剂

**适应症：**预防（成人和儿童）和治疗（仅成人）甲型流感感染。必须在症状发作后的48小时内开始治疗。

**治疗标准剂量：**100 mg 每天两次。

严重肝功能障碍，肾衰（ $\text{CrCl} \leq 10 \text{ ml/min}$ ）和老年疗养院患者推荐降低剂量为100 mg 每天一次。

**预防标准剂量：**100 mg 每天两次。

严重肝功能障碍，肾衰（ $\text{CrCl} \leq 10 \text{ ml/min}$ ）和老年疗养院患者推荐降低剂量至100 mg 每天一次。10岁以下儿童使用剂量为5 mg 每公斤体重，但不能超过150 mg。10岁及以上儿童按成人剂量。

**药代动力学：**口服后6小时达峰值血药浓度。清除半衰期为30小时。老年患者清除时间延长。药物主要在肝脏代谢，口服剂量25%以下的药物以原型在尿中排出。严重肝和肾功能不全患者的血药浓度升高。

**相互作用：**无明显的药物相互作用。

**副作用：**胃肠道症状。

(贝祝春 译)

### 参考文献

1. Anderson EL, Van Voris LP, Bartram J, Hoffman HE, Belshe RB. Pharmacokinetics of a single dose of rimantadine in young adults and children. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31: 1140-2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3662473> - Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=3662473>
2. Belshe RB, Smith MH, Hall CB, Betts R, Hay AJ. Genetic basis of resistance to rimantadine emerging during treatment of influenza virus infection. *J Virol* 1988; 62: 1508-12. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3282079>
3. Belshe RB, Burk B, Newman F, Cerruti RL, Sim IS. Resistance of influenza A virus to amantadine and rimantadine: results of one decade of surveillance. *J Infect Dis* 1989; 159: 430-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2915166>
4. Brady MT, Sears SD, Pacini DL, et al. Safety and prophylactic efficacy of low-dose rimantadine in adults during an influenza A epidemic. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1633-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2285274>
5. Bright RA, Medina MJ, Xu X, et al. Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005: a cause for concern. *Lancet* 2005; 366: 1175-81. Epub 2005 Sep 22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16198766>

6. Bui M, Whittaker G, Helenius A. Effect of M1 protein and low pH on nuclear transport of influenza virus ribonucleoproteins. *J Virol* 1996; 70: 8391-401. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8970960> - Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/reprint/70/12/8391?pmid=8970960>
7. Capparelli EV, Stevens RC, Chow MS, Izard M, Wills RJ. Rimantadine pharmacokinetics in healthy subjects and patients with end-stage renal failure. *Clin Pharmacol Ther* 1988; 43: 536-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3365917>
8. CDC 2006. CDC Recommends against the Use of Amantadine and Rimantadine for the Treatment or Prophylaxis of Influenza in the United States during the 2005-06 Influenza Season. Available from <http://www.cdc.gov/flu/han011406.htm> - Accessed 13 February 2006.
9. Clover RD, Crawford SA, Abell TD, Ramsey CN Jr, Glezen WP, Couch RB. Effectiveness of rimantadine prophylaxis of children within families. *Am J Dis Child* 1986; 140: 706-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3521258>
10. Clover RD, Waner JL, Becker L, Davis A. Effect of rimantadine on the immune response to influenza A infections. *J Med Virol* 1991; 34: 68-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1885945>
11. Crawford SA, Clover RD, Abell TD, Ramsey CN Jr, Glezen P, Couch RB. Rimantadine prophylaxis in children: a follow-up study. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7: 379-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3292997>
12. Demicheli V, Jefferson T, Rivetti D, Deeks J. Prevention and early treatment of influenza in healthy adults. *Vaccine* 2000; 18: 957-1030. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10590322>
13. Dolin R, Reichman RC, Madore HP, Maynard R, Linton PN, Webber-Jones J. A controlled trial of amantadine and rimantadine in the

- prophylaxis of influenza A infection. *N Engl J Med* 1982; 307: 580-4.  
Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7050702>
14. Doyle WJ, Skoner DP, Alper CM, et al. Effect of rimantadine treatment on clinical manifestations and otologic complications in adults experimentally infected with influenza A (H1N1) virus. *J Infect Dis* 1998; 177: 1260-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9593010> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/cgi-bin/resolve?JIDv177p1260PDF>
15. Englund JA, Champlin RE, Wyde PR, et al. Common emergence of amantadine- and rimantadine-resistant influenza A viruses in symptomatic immunocompromised adults. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1418-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9636873> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/cgi-bin/resolve?CIDv26p1418PDF>
16. Hall CB, Dolin R, Gala CL, et al. Children with influenza A infection: treatment with rimantadine. *Pediatrics* 1987; 80: 275-82. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3302925>
17. Hayden FG, Minocha A, Spyker DA, Hoffman HE. Comparative single-dose pharmacokinetics of amantadine hydrochloride and rimantadine hydrochloride in young and elderly adults. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28: 216-21. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3834831> - Fulltext at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=3834831>
18. Hayden FG, Monto AS. Oral rimantadine hydrochloride therapy of influenza A virus H3N2 subtype infection in adults. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 29: 339-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3521480>

19. Hayden FG, Belshe RB, Clover RD, Hay AJ, Oakes MG, Soo W. Emergence and apparent transmission of rimantadine-resistant influenza A virus in families. *N Engl J Med* 1989; 321: 1696-702. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2687687>
20. Hayden FG, Sperber SJ, Belshe RB, Clover RD, Hay AJ, Pyke S. Recovery of drug-resistant influenza A virus during therapeutic use of rimantadine. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1741-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1952841>
21. Holazo AA, Choma N, Brown SY, Lee LF, Wills RJ. Effect of cimetidine on the disposition of rimantadine in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 820-3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2764530> - Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=2764530>
22. Jefferson T, Deeks JJ, Demicheli V, Rivetti D, Rudin M. Amantadine and rimantadine for preventing and treating influenza A in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; CD001169. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15266442>
23. Jefferson T, Demicheli V, Rivetti D, Jones M, Di Pietrantonj C, Rivetti A. Antivirals for influenza in healthy adults: systematic review. *Lancet* 2006; 367: 303-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16443037>
24. Li KS, Guan Y, Wang J, et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 2004; 430: 209-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15241415>
25. Monto AS, Ohmit SE, Hornbuckle K, Pearce CL. Safety and efficacy of long-term use of rimantadine for prophylaxis of type A influenza in nursing homes. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 2224-8.

- Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8619572> - Full text at <http://aac.asm.org/cgi/reprint/39/10/2224>
26. Patriarca PA, Kater NA, Kendal AP, Bregman DJ, Smith JD, Sikes RK. Safety of prolonged administration of rimantadine hydrochloride in the prophylaxis of influenza A virus infections in nursing homes. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26: 101-3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=6476812>
27. Stephenson I, Nicholson KG. Influenza: vaccination and treatment. *Eur Respir J* 2001; 17: 1282-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11491177> - Full text at <http://erj.ersjournals.com/cgi/content/full/17/6/1282>
28. Sugrue RJ, Hay AJ. Structural characteristics of the M2 protein of influenza A viruses: evidence that it forms a tetrameric channel. *Virology* 1991; 180: 617-24. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1989386>
29. Wills RJ, Belshe R, Tomlinsin D, et al. Pharmacokinetics of rimantadine hydrochloride in patients with chronic liver disease. *Clin Pharmacol Ther* 1987; 42: 449-54. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3665342>
30. Wintermeyer SM, Nahata MC. Rimantadine: a clinical perspective. *Ann Pharmacother* 1995; 29: 299-310. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7606077>

#### 4. 金刚烷胺

金刚烷胺通过干扰细胞内病毒脱壳抑制甲型流感病毒的复制。与金刚乙胺一样,它是 M2 抑制剂,阻碍横跨病毒膜的 M2 蛋白形成离子通道 (Hay 1985, Sugrue 1991)。流感病毒通过受体介导的胞吞作用进入宿主细胞。其后,胞吞囊泡的酸化作用将 M1 蛋白从核蛋白复合体上解离。只有此时核蛋白颗粒才能通过核孔进入细胞核。酸化所需的氢离子通过 M2 通道进入用。金刚烷胺的作用就是封闭此通道 (Bui 1996)。

金刚烷胺对已引起过人类疾病的甲型流感病毒所有亚型都有效 (H1N1, H2N2 和 H3N2),但对乙型流感病毒无效,因为 M2 蛋白是甲型流感病毒特有的。金刚烷胺对甲型流感的治疗和预防效果均与金刚乙胺相当 (Stephenson 2001, Jefferson 2004)。比较性研究表明,金刚烷胺的不良反应用比金刚乙胺更为普遍 (Jefferson 2004)。对最近引起人类疾病的禽流感 H5N1 亚型株,金刚烷胺没有活性 (Li 2004)。除了流感,金刚烷胺可能也适用于帕金森症和药物引起的锥体外反应。此外,它可能是慢性丙肝患者丙肝治疗失败后干扰素复方疗法的有效辅助药物 (Lim 2005)。

在某些欧洲国家,相比于金刚乙胺 5 欧元和奥塞米韦 7 欧元的日花费,日花费 0.5 欧元的金刚烷胺是甲型流感最便宜的治疗药物。

金刚烷胺的使用与抗药性变种病毒快速出现有着密切关系。甲型流感病毒抗性分离株在遗传上是稳定的,并且是完全可传染的,其致病性与野生型病毒分离株相当。在免疫缺陷患者中,抗药性病毒可长期传播 (Boivin 2002)。据对 1994 到 2005 年间 7000 多份甲型流感病毒样本的评估研究,病毒对金刚烷胺和金刚乙胺的抗性在全球范围已从 0.4%上升到了 12.3% (Bright 2005)。2004 年采自韩国、中国台湾和香港以及中国大陆的病毒样本抗药性发生率分别为 15%, 23%, 70% 和 74%。有些作者已提议应倡议停止金刚烷胺和金刚乙胺的使用 (Jefferson 2006)。最近,从美国患者分离的 120 份甲型流感 H3N2 型病毒样本中,有 109 份含 M2 蛋白 31 位氨基酸的突变,这一突变使病毒对金刚烷胺和金刚乙胺产生了抗



性。基于这些结果，疾病控制中心建议，在 2005-06 流感季节余下的日子，不要用金刚烷胺或金刚乙胺治疗或预防美国的甲型流感 (CDC 2006)。

#### 4.1 药代动力学

金刚烷胺口服吸收良好，剂量在 200 mg 每天以下时，最大药物浓度 (C<sub>max</sub>) 与剂量直接相关。剂量为 200 mg 每天以上时，可引起 C<sub>max</sub> 不成比例上升。健康志愿者口服金刚烷胺，3 小时后达峰值血药浓度，半衰期为 17 小时 (范围：10 到 25 小时)。金刚烷胺主要通过肾小球滤过和肾小管分泌的方式以原型在尿中排出。

60 岁以上的个体，金刚烷胺的血浆清除率下降，血浆半衰期和血药浓度升高。肾功能不全患者的清除率也降低：肌酐清除率低于 40 ml/min 和慢性血液透析患者的清除半衰期升高 2 到 3 倍，或更高。血液透析不能清除金刚烷胺。

因尿液酸化时金刚烷胺分泌的迅速上升，给予尿液酸化药物可能提高药物的清除。

#### 4.2 毒性

胃肠道症状是主要的副作用，主要表现为恶心，但也有呕吐，腹泻，便秘和食欲减退。另外，金刚烷胺有大范围的毒性，这在某种程度上，可能是因为药物的抗胆碱能作用。相当数目的患者在 5 天治疗过程可能出现某些可逆的 CNS 副作用 (van Voris 1981)。由于不良反应的出现是剂量相关的，不良反应症状在老年和肾功能损伤的患者尤为普遍。副作用在开始用药的两天内开始出现，停止治疗后通常可迅速消退。

CNS 毒性可能表现为眩晕，神经质和失眠。在一项为期四周预防试验中，这些症状在年轻个体中的出现率达 33% (Bryson 1980)。还发现有的受试者保持持续性注意力的能力降低。其它 CNS 不良反应包括焦虑，注意力难以集中，失眠和惊厥阈值降低。在金刚烷胺和金刚乙胺用于预防的直接比较研究中，金刚烷胺组因 CNS 副作用退出研究的患者更多 (13% vs 金刚乙胺组的 6%) (Dolin 1982)。

报道较少（1~5%）的不良反应还有：抑郁，不安和易怒，幻觉，意识错乱，食欲减退，口干，便秘，运动失调，网状青斑，外周浮肿，体位性低血压，头痛，嗜睡，多梦，焦虑，鼻腔干燥，腹泻和疲劳(Symmetrel 2003)。

已有服用过量金刚烷胺导致死亡报道。报道的最低急性致死剂量为 1 克。过去，有某些患者尝试服用过量金刚烷胺自杀。因此，推荐开最小量药物的处方(Symmetrel 2003)。

急性毒性可能是因为金刚烷胺的抗胆碱能作用。因此，服药过量导致心脏，呼吸系统，肾脏和中枢神经系统的毒性。没有特异的解毒剂。要了解更多信息，请查看处方说明书(Symmetrel 2003)。

#### 4.3 疗效

在一项对 15 个安慰剂对照的金刚烷胺预防试验的 Cochrane 回顾中，金刚烷胺可预防 61% 的流感病例和 25% 的流感样症状病例，但对无症状病例无效(Jefferson 2006)。用于治疗，金刚烷胺可显著缩短发热持续时间（0.99 天）但对甲型流感病毒的鼻释放无效。鉴于金刚烷胺的低效和相对较高的不良反应发生率，作者认为金刚烷胺不应在季节性和全国性流感中使用(Jefferson 2006)（同见引言中 CDC 的建议）。

#### 4.4 抗药性

M 基因的点突变引起 M2 蛋白跨膜域氨基酸改变，并且可使病毒产生高水平的金刚烷胺抗性。已知相关的氨基酸位点为 26, 27, 30, 31 和 34 (Holsinger 1994)。用金刚烷胺治疗与可传染抗性病毒的快速出现是密切相关的，这降低了它用于预防的潜力和治疗的效果(Fleming 2003)。突变株如野生型病毒一样有毒力并能传染。在禽模型中，突变株在遗传上也是稳定的，在鸟体内传几代后不会恢复为野生型(Beane 1989)。这提示，抗性突变可能会威胁到金刚烷胺在流行性流感控制中的有效使用。

## 4.5 药物相互作用

金刚烷胺可增强酒精和其它镇静药物的镇静作用，如苯二氮类药物，三环类抗抑郁药，双环胺（dicyclomine），特定的抗组胺剂，阿片拮抗剂和特定的抗高血压药物。与这类组合可能引起眩晕，意识错乱，轻度头痛，或昏厥。

已证明奎宁或奎尼丁与金刚烷胺联用可降低金刚烷胺的肾清除率约30%(Gaudry 1993)。

与硫醚嗪联用会恶化帕金森症老年患者的震颤。

## 4.6 推荐用法

金刚烷胺不会完全阻止宿主对甲型流感感染的免疫应答(Sears 1987) - 服药者仍能对自然患病或疫苗接种形成免疫应答，并能在之后暴露于免疫原性相关病毒时形成保护。

### 欧盟

在欧盟，金刚烷胺治疗甲型流感的适应症在不同成员国略有不同（如：用于成年人的流感治疗和（或）预防；或成年人和儿童；或仅成人和青少年）。请核对处方说明书。

### 美国

在美国，金刚烷胺适用于**治疗**甲型流感病毒感染引起的单纯呼吸道疾病。应尽可能快的开始治疗，最好在症状发作的24至48小时之内，并需在临床病征消失后继续治疗24至48小时。

金刚烷胺也适用于早期疫苗接种不可行、疫苗禁用或不可得时甲型流感病毒感染病征和症状的**预防**。预防给药应开始于预报甲型流感爆发时和接触甲型流感病毒呼吸道疾病患者前后。

在已知暴露后，应连续使用金刚烷胺至少 10 天。当与甲型流感灭活疫苗一起用于预防时，应在接种疫苗后给药 2~4 周（例如：直至形成保护性抗体反应）。当甲型流感灭活疫苗不可得或禁用时，应在已知社区有甲型流感感染期间服用金刚烷胺，因为这期间可能发生反复的、未知的暴露。

金刚烷胺的成人日剂量为 200 mg；每天一次服用 2 片 100 mg 的药片（或 4 茶匙糖浆）。日剂量也可分为每次 1 片 100 mg 的药片，每天两次。如果每天一次剂量出现中枢神经系统反应，分开给药可降低这种反应。65 岁及以上患者的日剂量为 100 mg。低剂量的金刚烷胺（100 mg 每天）能降低毒性并能维持等同 200 mg 每天剂量的预防效果（Sears 1987）。在一项 78 名受试者的实验性感染研究中，使用每天 50 mg，100 mg 或 200 mg 剂量的流感发病或病毒散播无显著差别（Reuman 1989）。

对于老年住院患者，据患者的肌酐清除率采用个体化的金刚烷胺剂量似乎能有效的减少不良反应（Kolbe 2003）。

**儿科患者**应根据 4.4 到 8.8 mg 每公斤体重每天（2~4 mg/lb/day）计算更低的日总剂量。但是鉴于金刚烷胺较低的疗效和发生胃肠道及 CNS 不良反应的高风险，作者不推荐金刚烷胺用于儿童。

#### 4.7 警告

严重肾损伤和癫痫患者禁用金刚烷胺。另外，老年患者应慎用（肾功能受损？）。

金刚烷胺可能引起瞳孔散大，因此不能用于未接受治疗的闭角型青光眼患者。

金刚烷胺对孕妇的安全性尚不确定。

充血性心衰、外周水肿和体位性低血压患者使用金刚烷胺需注意调节剂量。有继发性湿疹样皮疹病史患者，或神经病和未接受化疗药物控制的严重神经官能症患者使用金刚烷胺应采取相应的护理措施（Symmetrel 2003）。

## 4.8 总结

金刚烷胺现有 100 mg 的片剂或胶囊，以及 50 mg/5ml 装的糖浆。

**药物分类：**M2-抑制剂。

**适应症：**甲型流感的治疗和预防。

**剂量：**治疗和预防的剂量都为 100 mg 每天一次。用于预防时，应在暴露后尽快服用，持续服用至少 10 天。

**特殊剂量：**肾功能低下者和老年人可能需降低剂量（或减少服药频次）。

**药代动力学：**吸收良好，3 小时后达到峰浓度，半衰期为 17 小时。通过肾小球滤过和肾小管分泌以原形在尿中排出。60 岁以上和肾功能不全者的血浆清除率下降：当肌酐清除率低于 40 ml/min 时，其半衰期延长。血液透析不能清除金刚烷胺。

**禁忌症：**精神病。未接受充分治疗的癫痫患者。

**相互作用：**中枢神经系统兴奋剂；奎宁和奎尼丁；硫醚嗪。

**副作用：**胃肠道和中枢神经系统症状。

**说明或告诫：**

尚无对照良好的研究评价过金刚乙烷对孕妇的安全性，孕妇禁用。

金刚烷胺以低浓度在乳汁排出。虽无关于对婴儿的影响的信息，生产商建议哺乳母亲应慎用金刚烷胺。

患者服用金刚烷胺若发现有中枢神经系统反应或视觉模糊的，应被告诫不能驾驶或在要求警觉性和动作协调的场合工作。

在 15~30° C (59~86° F) 保存金刚烷胺。

#### 国际互联网资源:

美国:<http://influenzareport.com/link.php?id=6>

(贝祝春 译)

#### 参考文献

1. Bean WJ, Threlkeld SC, Webster RG. Biologic potential of amantadine-resistant influenza A virus in an avian model. *J Infect Dis* 1989; 159: 1050-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2723453>
2. Boivin G, Goyette N, Bernatchez H. Prolonged excretion of amantadine-resistant influenza a virus quasi species after cessation of antiviral therapy in an immunocompromised patient. *Clin Infect Dis* 2002; 34: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11807683> - Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/CID/journal/issues/v34n5/010857/010857.html>
3. Bright RA, Medina MJ, Xu X, et al. Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005: a cause for concern. *Lancet* 2005; 366: 1175-81. Epub 2005 Sep 22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16198766>
4. Bryson YJ, Monahan C, Pollack M, Shields WD. A prospective double-blind study of side effects associated with the administration of amantadine for influenza A virus prophylaxis. *J Infect Dis* 1980; 141: 543-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7373087>
5. CDC 2006. CDC Recommends against the Use of Amantadine and Rimantadine for the Treatment or Prophylaxis of Influenza in the

- United States during the 2005–06 Influenza Season. Available from <http://www.cdc.gov/flu/han011406.htm> – Accessed 13 February 2006.
6. Demicheli V, Jefferson T, Rivetti D, Deeks J. Prevention and early treatment of influenza in healthy adults. *Vaccine* 2000; 18: 957–1030. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10590322>
  7. Dolin R, Reichman RC, Madore HP, Maynard R, Linton PN, Webber–Jones J. A controlled trial of amantadine and rimantadine in the prophylaxis of influenza A infection. *N Engl J Med* 1982; 307: 580–4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7050702>
  8. Fleming DM. Zanamivir in the treatment of influenza. *Expert Opin Pharmacother* 2003; 4: 799–805. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12740002>
  9. Gaudry SE, Sitar DS, Smyth DD, McKenzie JK, Aoki FY. Gender and age as factors in the inhibition of renal clearance of amantadine by quinine and quinidine. *Clin Pharmacol Ther* 1993; 54: 23–7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8330461>
  10. Hay AJ, Wolstenholme AJ, Skehel JJ, Smith MH. The molecular basis of the specific anti–influenza action of amantadine. *EMBO J* 1985; 4: 3021–4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=4065098> – Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=4065098>
  11. Holsinger LJ, Nichani D, Pinto LH, Lamb RA. Influenza A virus M2 ion channel protein: a structure–function analysis. *J Virol* 1994; 68: 1551–63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7508997> – Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=7508997>

12. Jefferson T, Deeks JJ, Demicheli V, Rivetti D, Rudin M. Amantadine and rimantadine for preventing and treating influenza A in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; 0: Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15266442>
13. Jefferson T, Demicheli V, Rivetti D, Jones M, Di Pietrantonj C, Rivetti A. Antivirals for influenza in healthy adults: systematic review. *Lancet* 2006; 367: 303-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16443037>
14. Kolbe F, Sitar DS, Papaioannou A, Campbell G. An amantadine hydrochloride dosing program adjusted for renal function during an influenza outbreak in elderly institutionalized patients. *Can J Clin Pharmacol* 2003; 10: 119-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14506511>
15. Li KS, Guan Y, Wang J, et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 2004; 430: 209-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15241415>
16. Lim JK, Wooten D, Siegel R, Cheung RC. Amantadine in treatment of chronic hepatitis C virus infection? *J Viral Hepat* 2005; 12: 445-55. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16108758>
17. Monto AS, Gunn RA, Bandyk MG, King CL. Prevention of Russian influenza by amantadine. *JAMA* 1979; 241: 1003-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=368354>
18. Reuman PD, Bernstein DI, Keefer MC, Young EC, Sherwood JR, Schiff GM. Efficacy and safety of low dosage amantadine hydrochloride as prophylaxis for influenza A. *Antiviral Res* 1989; 11: 27-40. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2712549>
19. Sears SD, Clements ML. Protective efficacy of low-dose amantadine in adults challenged with wild-type influenza A virus. *Antimicrob*



- Agents Chemother 1987; 31: 1470-3. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=3435099>
20. Stephenson I, Nicholson KG. Influenza: vaccination and treatment.  
Eur Respir J 2001; 17: 1282-93. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=11491177> - Full text at  
<http://erj.ersjournals.com/cgi/content/full/17/6/1282>
21. Sugrue RJ, Hay AJ. Structural characteristics of the M2 protein of  
influenza A viruses: evidence that it forms a tetrameric channel.  
Virology 1991; 180: 617-24. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=1989386>
22. Symmetrel (package insert). Endo Pharmaceuticals Inc., Chadds Ford,  
2003. <http://influenzareport.com/link.php?id=6>
23. Van Voris LP, Betts RF, Hayden FG, Christmas WA, Douglas RG Jr.  
Successful treatment of naturally occurring influenza A/USSR/77  
H1N1. JAMA 1981; 245: 1128-31. Abstract:  
<http://amedeo.com/lit.php?id=7007668>