

东洞庭湖地区野禽驯养繁殖基地的 禽流感病毒调查

史景红^① 高立冬^② 张 红^② 胡世雄^② 黄岳四^③ 杨 浩^②
白志永^③ 余明东^③ 李林会^④ 黄润菲^⑤ 杨 静^①
汪立杰^① 陈 涛^① 徐翠玲^① 舒跃龙^{①*}

① 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所 北京 102206; ② 湖南省疾病预防控制中心 长沙 410005;
③ 湖南省岳阳市疾病预防控制中心 岳阳 414000; ④ 湖南省岳阳市岳阳县疾病预防控制中心 岳阳 414100;
⑤ 湖南省岳阳市君山区疾病预防控制中心 岳阳 414005

摘要: 为了解东洞庭湖地区野禽驯养繁殖基地禽流感病毒感染状况, 2011年11月至2013年10月, 调查4家野禽驯养繁殖基地的养殖情况, 同时采集环境标本(包括新鲜粪便标本和水标本)。利用PCR和病毒分离方法对标本进行检测。部分标本进行了核酸检测, 禽流感病毒(AIV)阳性率为36.62%, 2012年3月份阳性率最高(47.83%)。粪便标本、水标本的AIV阳性率分别为40.45%、30.19%, 二者无统计学差异。共分离到28株AIV病毒, 亚型包括H10、H4、H5和N7、N8, 集中于11~12月的标本, 主要来源于君山区野禽驯养繁殖基地的雁类和野鸭的新鲜粪便标本。野禽驯养基地的环境标本中存在AIV病毒, 以A(H10N7)为主, 建议对其进行定期监测。

关键词: 东洞庭湖地区; 野禽驯养繁殖基地; 环境标本; 禽流感病毒

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2015)04-607-08

Investigation of Avian Influenza Viruses in Captive Wild Birds at East Dongting Lake

SHI Jing-Hong^① GAO Li-Dong^② ZHANG Hong^② HU Shi-Xiong^② HUANG Yue-Si^③
YANG Hao^③ BAI Zhi-Yong^③ YU Ming-Dong^③ LI Lin-Hui^④ HUANG Jian-Fei^⑤
YANG Jing^① WANG Li-Jie^① CHEN Tao^① XU Cui-Ling^① SHU Yue-Long^{①*}

① *National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Centre for Disease Control and Prevention, Beijing* 102206; ② *Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Changsha* 410005; ③ *Yueyang City Centre for Disease Control and Prevention, Yueyang* 414000; ④ *Yueyang County Centre for Disease Control and Prevention, Yueyang* 414000;
⑤ *Junshan District Centre for Disease Control and Prevention, Yueyang* 414005, China

基金项目 国际合作项目 (No. 5U51P000334-03);

* 通讯作者, E-mail: yshu@cnic.org.cn;

第一作者介绍 史景红, 女, 助理研究员; 研究方向: 传染病流行病学; E-mail: jinghongshi77@163.com.

收稿日期: 2014-09-03, 修回日期: 2015-03-16 DOI: 10.13859/j.cjz.201504013

Abstract: We carried out a survey to understand avian influenza virus (AIV) infection status in the captive wild birds farmed at Eastern Dongting Lake, China. We collected 1 997 environmental samples, including fresh fecal and water samples, from 4 captive wild bird farms in the Eastern Dongting Lake area from November 2011 to October 2013. Environmental samples were tested for the presence of avian influenza virus using quantitative PCR assay and virus isolation technique. The results were analyzed using SPSS and excel software. AIV prevalence of as detected in part samples was 36.62%, and it was the highest (47.83%) in March 2012 (Fig. 2). The positive rates of AIV from fecal samples and water samples were 40.45%, 30.19% (Table 1), respectively, and there was no statistical difference between the both by χ^2 test. We isolated 26 and 2 AIVs from the fecal samples and drinking water, respectively, including H10, H4, H5, and N7, N8. Most AIVs were found in November and December (Fig. 1), primarily from fecal samples of wild ducks in Junshan district (Table 2). Therefore, the AIVs were found from the environmental samples collected from captive wild bird farms, and measures monitoring AIVs in Dongting lake throughout the year should be implemented.

Key words: East Dongting Lake area; Captive wild bird farms; Environmental samples; Avian influenza virus

水禽被认为是 A 型禽流感病毒 (avian influenza virus, AIV) 的天然宿主 (Webster et al. 1992)。A 型流感病毒包括 16 种血凝素 (hemagglutinin, HA) 和 9 种神经氨酸苷酶 (neuraminidase, NA)。2012 年发现新的亚型 H17N10 (Zhu et al. 2013), 来自蝙蝠。2013 年中国首次报告 H10N8、H7N9、H5N6、H6N1 禽流感病毒感染人类, 尤其是 2013 年 2 月人感染 H7N9 禽流感疫情暴发以来, 已导致全球 550 人发病, 200 余人死亡 (国家流感中心 2015), 同时大量家禽被宰杀 (OIE 2014a)。这些都再次提醒人们, 除高致病性禽流感病毒导致人类发病和死亡外, 低致病性禽流感病毒同样对人类公共卫生健康造成威胁。

洞庭湖位于湖南省东北部, 长江中游, 是中国第二大的淡水湖泊, 分为东、南、西三个水面较大的湖泊。洞庭湖湿地是中国最大的淡水湿地, 为中国鸟类, 尤其是水禽类提供了良好的生存、越冬环境, 是中国鸟类主要的越冬栖息地之一, 也是亚洲重要的水禽栖息地, 尤其东洞庭湖是中国冬候鸟和夏候鸟迁徙的时空结合部, 是亚太迁徙线上鸟类的主要停歇地和越冬地。洞庭湖鸟类物种多达 300 种, 为发展野生动物驯养繁殖提供了得天独厚的条件。人

工驯养繁殖是保护雁类的最有效途径之一 (李世良等 1999), 而且总结出驯养野鸭、野鸡等系统方法 (张晓丹 2002, 郭秉堂 2005)。前期研究显示, 在东洞庭湖地区的家禽和野禽分离到多种亚型禽流感病毒 (Zhang et al. 2011a, b, Wang et al. 2012, Shi et al. 2014), 但野禽驯养繁殖基地的禽流感病毒感染状况尚未知。本研究选择东洞庭湖周边野禽驯养基地进行调查, 以了解其养殖野禽感染禽流感病毒情况, 为禽流感防控提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 养殖户信息收集和标本采集

现场调查时分 3~4 个调查小组, 每个小组包括 1~2 名调查质控员以及多名懂当地方言的调查员和多名采样人员。调查质控员负责填写调查登记表, 及现场调查质控。调查员负责完成每个养殖户/场调查表。采样人员负责采集环境标本。采集标本的同时完成调查登记表的填写。2011 年 11 月至 2013 年 10 月期间, 对东洞庭湖地区的 4 家野禽驯养繁殖基地 (编码分别为 WF1、WF2、WF3、WF4) 陆续进行禽流感病毒监测。2011 年 11 月 WF3 纳入本研究。2012 年 11 月 WF1、WF2 和 WF4 纳入本研究。

其中, WF1 和 WF2 属于岳阳市君山区, WF3 和 WF4 属于岳阳市岳阳县。WF3 从 2011 年 11 月至 2013 年 10 月每月采集环境标本, WF1、WF2、WF4 从 2012 年 11 月至 2013 年 10 月每月采集环境标本。环境标本包括新鲜粪便标本和水标本。采样原则为采集的标本尽量分散, 同时为避免交叉感染, 更换繁殖基地时必须更换手套。根据粪便标本形态区分野禽所属类别, 但是暂无法明确更详尽的种属名称。

采集 2 g 左右 (拇指头大小) 的新鲜粪便标本置于含有 4 ml 采样液的试管中。采样液配制参考世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 动物流感病毒诊断和监测方案 (WHO 2002), 具体为 M199 培养液中包含 0.5% BSA、10% 甘油、 2×10^6 U/L 青霉素、200 mg/L 链霉素、 2×10^6 U/L 多黏菌素 B、250 mg/L 庆大霉素、60 mg/L 盐酸左氧氟沙星、 5×10^5 U/L 制霉菌素。水标本包括禽类食用较多、较浑浊的饮用水和禽类活动较多的池塘水, 使用无菌吸管采集 4 ml 水标本置于空的无菌试管中。

1.2 核酸检测和病毒分离

所有标本均取 200 μ l 使用 QIAamp One-For-All Nucleic Acid 试剂盒 (QIAGEN, German) 通过德国 QIAGEN 公司的 BioRobot Universalsystem 仪器提取核酸, 具体操作方法按照试剂盒说明书完成, 即 200 μ l 标本加入 100 μ l 裂解液后上机, 经过柱纯化后, 加入 65 μ l AVE (试剂盒洗脱液) 洗脱待检。对提取的核酸使用 AgPath-IDTM One-step RT-PCR KIT (AB, USA) 利用针对甲型流感病毒 M 基因特异性的引物和探针 (在 <http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/CDCrealtimeRTPCRprotocol20090428.pdf?ua=1> 网站上查询获得) 在 Mx3005P QPCR 仪 (Stratagene, USA) 上进行 real time PCR 检测。核酸检测阳性 (Ct 值 ≤ 37) 的原始标本用 9~10 日龄的 SPF 鸡胚, 接种尿囊腔, 每个标本接种 2 枚鸡胚, 置 35 $^{\circ}$ C 孵育箱培养 48 h 后, 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜冷胚。

收集鸡胚尿囊液, 用 1% 火鸡红细胞悬液进行血凝实验。对于血凝阳性的标本使用 RNeasy RNA Mini 试剂盒 (Qiagen, Germany), 参照试剂盒操作手册提取核酸。对提取的核酸使用甲型流感病毒 H1~H12 和 N1~N9 特异性引物 (表 1) 进行 RT-PCR 扩增, PCR 产物在 1% 的凝胶上电泳, 以确定分离到病毒的亚型。2012 年 11 月以前的标本先采用核酸检测, 如果标本阳性再进行病毒分离。2012 年 11 月及以后的所有标本直接利用鸡胚进行病毒分离。

1.3 数据分析

使用 Excel 2007、epidata3.1 建立数据库, SPSS 17.0 软件进行统计分析, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。季节划分: 春季 3~5 月份, 夏季 6~8 月份, 秋季 9~11 月份, 冬季 12~次年 2 月份。

2 结果

2.1 野禽驯养繁殖基地信息和标本采集情况

由于研究期间所调查野禽驯养繁殖基地驯养的野禽种类和数量变化不很大, 所以只在第一次调查时收集了野禽种类和数量的信息。4 家野禽繁殖基地驯养的野禽种类不同。WF1 饲养雁鸭类 (Anatidae), 包括灰雁 (*Anser anser*)、鸿雁 (*A. cygnoides*)、斑头雁 (*A. indicus*)、斑嘴鸭 (*Anas poecilorhyncha*)、绿头鸭 (*A. platyrhynchos*)、赤麻鸭 (*Tadorna ferruginea*) 等; WF2 主要饲养野鸭, 包括斑嘴鸭、绿头鸭和野鸡 (为七珍山鸡); WF3 主要饲养雁鸭类, 包括豆雁 (*Anser fabalis*)、绿头鸭、斑嘴鸭, 有少量天鹅 (*Cygnus*)、鸳鸯 (*Aix galericulata*); WF4 主要饲养灰雁, 有少量家鹅, 且灰雁与家鹅分开饲养。4 家基地的养殖物种多由自家繁殖基地繁殖, 部分从外面引进, 大部分接种禽流感疫苗和/或鸭瘟疫苗, 都进行定期环境消毒。4 家基地均为大笼饲养, 但仅 WF3 不允许外人随便进入繁殖基地内部, 每次采集标本均由其基地的工作人员完成, 其他 3 家基地的采样工作由本项目调查人员完成。WF1 的禽类饮

表1 HA (H1 ~ H10) 和NA (N1 ~ N9) 亚型鉴定引物

Table 1 Universal primer set for identification of HA (H1 - H10) and NA (N1 - N9) subtype

血凝素 Hemagglutinin, HA		神经氨酸苷酶 Neuraminidase, NA	
引物 Primers	序列 Sequence (5' - 3')	引物 Primers	序列 Sequence (5' - 3')
H1-F	AAGAGCACACATAATGCCAT	N1-F	TTGCTTGGTCAGCAAGTGC
H1-R	CCATTRGARCACATCCAG	N1-R	CAGTCACACCATTTGGATCC
H2-F	GAGAAARTWAAGATTCTGCC	N2-F	CGCTACGGTTATGAGACTTTCAG
H2-R	CCAAACAAYCCYCTTGAYTC	N2-R	ATATTCGCCCCATCAGGCCATGAG
H3-F	CARATTGARGTGACHAATGC	N3-F	GCATWWCAAGCCCTCACT
H3-R	GGTGCATCTGAYCTCATT	N3-R	TCCCGTCMAAGCAACTG
H4-F	GCAGGGGAAACAATGCTATC	N4-F	ATGCGAACACARGAGTC
H4-R	CCWGGYTCTACAATWGTCC	N4-R	ACTGTTGAATCNTATCC
H5-F	GCCATTCCACAACATACACCC	N5-F	TGTTATTGGGTAATGAC
H5-R	CTCCCTGCTCATTGCTATG	N5-R	CTGTATCTGACCARTTCT
H6-F	AGCATGAATTTTGCCAAGAG	N6-F	CCAAATCAGAAGATAATATGC
H6-R	GGRCAATCTCCTATCCACAG	N6-R	AGAARTTGCCATGAGYTTAC
H7-F	CCCAATGTGAYCAATTCCT	N7-F	ATGYTGAARATACCTAATGC
H7-R	GCTCCATTRGTTCTGATTCC	N7-R	GTATTNGATYTGTCGCCCATC
H8-F	GTGGAAACAGAGAAACAT	N8-F	TGTGTACCAGGCAAGGTTTG
H8-R	CCATAAGAARATGATGTCT	N8-R	CACCTTGAATGCAAGTGCAT
H9-F	GAATCCAGATCTTTCCAGAC	N9-F	ATCAGAAGATTCTATGCACT
H9-R	CCATACCATGGGGCAATTAG	N9-R	TAGTTGTTTATTATTGTTTGG
H10-F	GGACAAAAYTTCCCTCAGAC		
H10-R	GRAAAGGGAGCTTTGTATTT		
H11-F	TGYTCMTTGTGCTGGRTGGAT		
H11-R	CTCTGAACCCACTGCTACAT		
H12-F	AGGGGTCACAATGGAAAAA		
H12-R	GGTGAAATCAAACATCTTCA		

水来自繁殖基地附近的自然水(运河水); WF2、WF3、WF4 的禽类饮水均为地下水。

2011 年 11 月至 2013 年 10 月, 在 4 家野禽繁殖基地共采集 1 997 份环境标本, 包括新鲜粪便标本 1 562 份, 水标本 435 份。其中, 2011 年 11 月至 2012 年 4 月, 仅采集 WF3 的环境标本。2012 年 11 月至 2013 年 10 月, 4 家均采集标本, 其中, 由于 2013 年 4 ~ 7 月 WF2 基地的野禽全部卖掉, 2013 年 7 月 WF3 基地拒绝采样, 部分月份未采集到标本(图 1)。

2.2 核酸检测结果

对 2011 年 11 月至 2012 年 4 月 WF3 采集的标本进行了核酸检测, AIV 阳性率为 36.62%, 2012 年 3 月阳性率最高(47.83%)(图 2)。粪便标本、水标本的 AIV 阳性率分别为 40.45%、30.19%, 二者无统计学差异(表 2)。

2.3 病毒分离

本项目的病毒分离率为 1.40%。WF1、WF2 共分离到 28 株 AIV 毒株, 包括 H10 亚型 17 株, 其中 NA 为 N7 的 16 株, NA 未分型的 1

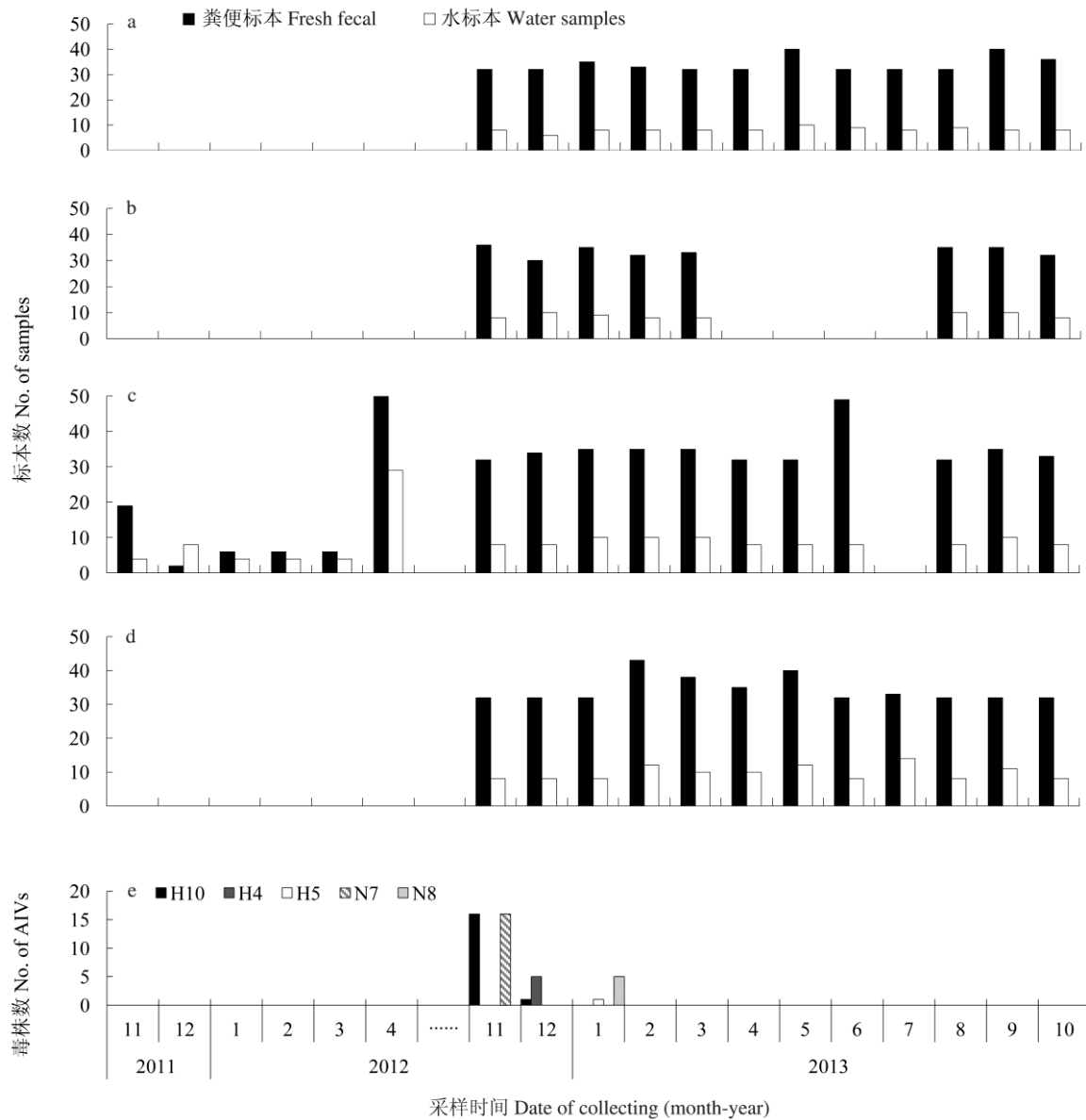


图 1 采集的环境标本和 AIV 病毒分布的情况

Fig. 1 Information of environmental samples in four captive wild bird farms and the distribution of AIVs at the different times

a、b、c、d 分别表示 WF1、WF2、WF3、WF4 不同采样时间采集标本情况。e 表示不同采样时间分离到 AIV 病毒的情况。

a, b, c, and d represented the distribution of samples at different times in WF1, WF2, WF3, and WF4. e represented the distribution of AIVs.

株，H5N8 1 株，H4（均为 NA 未分型）6 株，HA 未分型（NA 为 N8）4 株。上述毒株来源于 2012 年 11 月的 16 株，12 月 7 株，2013 年 1 月 5 株（图 1）。26 株病毒来自禽类粪便，2

株来自禽类饮水。分离到的所有粪便来源的 AIV 病毒中，96.15% 来自雁类（46.15%）和野鸭（50.00%）的粪便标本，仅 1 株来自野鸡粪便标本（表 3）。WF3、WF4 未分离到病毒。

表 2 不同标本核酸检测的禽流感病毒 (AIV) 阳性率 (%)

Table 2 AIV positive rate in different samples

标本种类 Type of samples	A 型流感病毒 Avian influenza virus A	病毒亚型 Virus subtype	
		H5 亚型 H5 subtype	H9 亚型 H9 subtype
粪便标本 Fecal samples	40.45 (36/89)	2.25 (2/89)	1.12 (1/89)
水样标本 Water samples	30.19 (16/53)	1.89 (1/53)	0.00 (0/53)
合计 Total	36.62 (52/142)	2.11 (3/142)	0.70 (1/142)

括号里的数据表示的是阳性标本数/标本总数。

The numbers in brackets showed the number of positive samples in the total.

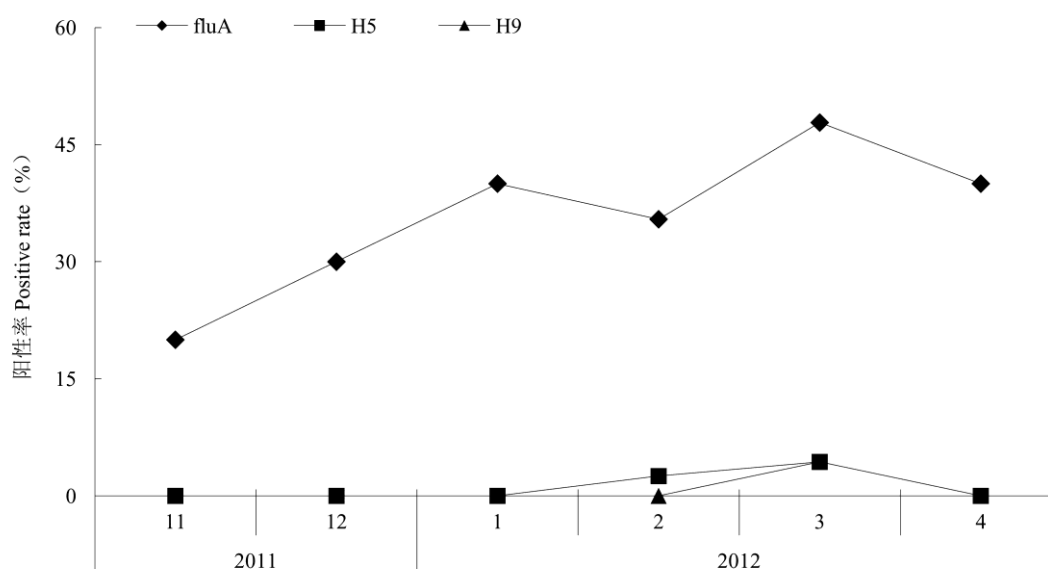


图 2 野禽驯养基地的野禽禽流感病毒 (AIV) 阳性率时间分布情况

Fig. 2 The time distribution of AIV positive samples in the captive wild bird farms

3 讨论

东洞庭湖地区是大量野禽的越冬地或停歇地, 其周边又存在一定数量的家禽, 这构成了集家禽、野禽为一体的生态环境, 为禽流感 (AIV) 的研究提供了良好的平台。但是目前绝大多数研究都集中在家禽、野禽感染禽流感状况方面, 对于野禽驯养繁殖基地感染禽流感病毒的相关研究较少。本研究借助洞庭湖地区的天然平台, 开展了野禽驯养繁殖基地感染 AIV 的调查研究。

本研究对部分标本进行核酸检测, AIV 阳性率 36.62%, 显著高于该地区既往关于家

禽、野禽的研究 (Shi et al. 2014), 但这些阳性标本中未分离到 AIV 病毒。

本研究分离到 3 种 H 亚型 (H10、H5 和 H4) 和 2 种 N 亚型 (N8 和 N7) 禽流感毒株, 包括 H10N7 亚型、H5N8 亚型、H4 亚型 (NA 为未分型)、H10 亚型 (NA 为未分型)、N8 亚型 (HA 为未分型), 说明野禽驯养繁殖基地存在多种禽流感病毒亚型, 绝大多数来自雁和野鸭, 野鸡中仅分离到 1 株 H10 亚型病毒。本研究分离到的 AIV 病毒 82.14% 集中在秋冬季交替时期的样本, 即 11 ~ 12 月, 且样本均是来自岳阳市君山区 (WF1 和 WF2)。4 家野禽驯养繁殖基地孵化或者引进雏鸟时间不一样, WF1

表 3 禽流感病毒 AIV 物种来源分布情况

Table 3 Detection of AIVs in samples collected from captive wild bird farms

标本种类 Type of samples	物种 Species	病毒亚型 Virus subtype					合计 Total
		H10N7	H10	H4	H5N8	N8	
粪便标本 Fecal	雁类 Wild goose	12 (75.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	12 (42.86)
	野鸡 Wild chicken	1 (6.25)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (3.57)
	野鸭 Wild duck	3 (18.75)	0 (0.00)	5 (83.33)	1 (100.00)	4 (100.00)	13 (46.43)
禽类饮水 Drinking water		0 (0.00)	1 (100.00)	1 (16.67)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (7.14)
总计 Total		16 (100.00)	1 (100.00)	6 (100.00)	1 (100.00)	4 (100.00)	28 (100.00)

括号外的数据表示禽流感病毒亚型毒株数, 括号内的数据表示该禽流感病毒亚型所占比例 (%), 即亚型毒株数占总毒株数的百分比。

表中毒株 H10 亚型、H4 亚型的 NA 为未分型。毒株 N8 的 HA 为未分型。

The numbers outside the brackets showed the number of the virus subtype, and the numbers in brackets showed the ratio of the virus subtype in the total. NA of H10 subtype and H4 subtype were unknown type, and HA of N8 subtype was unknown type.

繁殖雏鸟时间不确定, 有种蛋就孵化, WF2 一般每年 2 月份引进雏鸟, WF3 每年 5 ~ 6 月份孵化雏鸟, WF4 一般 9 月份引进雏鸟。同时, 4 家基地均采用大笼养殖方式, 但仅 WF3 不允许外人随便进入繁殖基地内部, 每次采集标本均由其基地的工作人员完成, 其他 3 家基地采样工作由本项目采样人员完成。分离到病毒的 2 家繁殖基地, 一家禽类饮水来源于地下水, 另一家来源于自然水。这些都暂时无法解释分离到病毒的根本原因, 还需要进一步研究分析。

2014年1月韩国家鸭养殖场(OIE 2014b)、4月日本家禽养殖场(OIE 2014c)发生A(H5N8)型禽流感疫情。初步研究结果显示, 韩国的 A(H5N8) 禽流感病毒很可能来源于 A/duck/Jiangsu/k1203/2010(H5N8) 和其他禽流感病毒的重组, 该种病毒在2009~2012年期间在中国东部流行(Lee et al. 2014)。日本发生的禽类感染A(H5N8)型禽流感病毒与韩国的 A(H5N8) 禽流感病毒类似。本研究发现的 A(H5N8) 型禽流感病毒采样时间是2013年1月, 早于韩国、日本报告的疫情, 但是其三者的关系还需要进一步研究分析。

本研究中分离到最多的病毒株是 A(H10N7) 型禽流感病毒, 连续 2 个秋冬季采样, 仅在 2012 年分离到该亚型禽流感病毒, 原因有待进一步

分析。澳大利亚、埃及、英国曾报告人感染 A(H10N7) 型禽流感(Emerging and Reemerging Infectious Diseases et al. 2004, Arzey et al. 2012), 但其感染能力有限(Beare et al. 1991)。本研究未采集对应人群的血清标本, 所以人感染 A(H10N7) 型禽流感病毒的情况不详。本研究发现野禽驯养基地的环境标本中存在 AIV 病毒, 以 A(H10N7) 禽流感病毒为主, 建议对其进行定期监测。

参 考 文 献

- Arzey G G, Kirkland P D, Arzey K E, et al. 2012. Influenza virus A(H10N7) in chickens and poultry abattoir workers, Australia. *Emerging Infectious Diseases*, 18(5): 814-816.
- Beare A S, Webster R G. 1991. Replication of avian influenza viruses in humans. *Archives of Virology*, 119(1/2): 37-42.
- Emerging and Reemerging Infectious Diseases, Region of the Americas. 2004. Avian influenza virus A(H10N7) circulating among humans in Egypt. *Emerging Infectious Diseases weekly updates*. [EB/OL]. [2004-05-07]. http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Avian_Influenza_Egypt_070503.pdf.
- Lee Y J, Kang H M, Lee E K, et al. 2014. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses, South Korea, 2014. *Emerging Infectious Diseases*, 20(6): 1087-1089.
- OIE. 2014a. Low pathogenic avian influenza (poultry), China

- (People's Rep. of). [EB/OL]. [2014-07-09]. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=15547.
- OIE. 2014b. Highly pathogenic avian influenza, Korea (Rep. of). [EB/OL] [2014-01-27]. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=14692.
- OIE. 2014c. Highly pathogenic avian influenza, Japan. [EB/OL] [2014-04-13]. http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=15109.
- Shi J H, Gao L D, Zhu Y, et al. 2014. Investigation of avian influenza infections in wild birds, poultry and humans in Eastern Dongting Lake, China. *PLoS One*, 9(4): e95685.
- Wang B, Chen Q J, Chen Z. 2012. Complete genome sequence of an H9N2 avian influenza virus isolated from Egret in Lake Dongting Wetland. *Journal of Virology*, 86(21): 11939.
- Webster R G, Bean W J, Gorman O T, et al. 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews*, 56(1): 152–179.
- WHO. 2002. WHO manual on animal influenza diagnosis and surveillance. [EB/OL]. [2012-03-20]. <http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/en/whocdscsrncs20025rev.pdf>.
- Zhang H B, Xu B, Chen Q J, et al. 2011a. Characterization of an H10N8 influenza virus isolated from Dongting lake wetland. *Virology Journal*, 8: 42.
- Zhang H B, Xu B, Chen Q J, et al. 2011b. Characterization of H9N2 influenza viruses isolated from Dongting lake wetland in 2007. *Archives of Virology*, 156(1): 95–105.
- Zhu X Y, Yu W L, McBride R, et al. 2013. Hemagglutinin homologue from H17N10 bat influenza virus exhibits divergent receptor-binding and pH-dependent fusion activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(4): 1458–146.
- 国家流感中心. 2015. 人感染 H7N9 禽流感病毒疫情. *中国流感监测周报*, (319): 12.
- 李世良, 王新强. 1999. 雁的保护与驯养. *黑龙江畜牧兽医*, (8): 32.
- 郭秉堂. 2005. 雉鸡的人工驯养. *中国家禽*, 27(7): 21–22.
- 张晓丹. 2002. 野鸭的驯养. *养禽与禽病防治*, (6): 21.