



长臂猿感染 H9N2 亚型 禽流感病毒病例报告

冯华娟¹, 吴俊仪¹, 曹佳媛¹, 尤宗耀^{1*}, 杨露¹, 阙腾程^{2,3,4},
黄宁¹, 廖小英⁵, 农汝¹, 黄泽琳¹, 陆兵兵¹, 李宁莉¹, 莫亚生⁶

- (1. 南宁市动物园, 南宁, 530003;
2. 澳门城市大学数据科学学院, 澳门, 999078;
3. 右江民族医学院, 百色, 533000;
4. 广西壮族自治区陆生野生动物救护研究与疫源疫病监测中心, 南宁, 530009;
5. 柳州市动物园管理处, 柳州, 545005;
6. 梧州市动物园, 梧州, 543002)

稿件运行过程

收稿日期: 2024-02-28
修回日期: 2024-03-28



关键词: 长臂猿;
H9N2;
禽流感病毒;
高通量测序;
qPCR

Keywords: Gibbon (*Nomascus* spp.);
H9N2;
Avian influenza virus;
High-throughput sequencing;
qPCR

中图分类号: S858.9

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-04-0873-08

DOI: 10.12375/ysdwx.20240420

摘要

2022年1月,某动物园同一馆舍内饲养的6只长臂猿(*Nomascus* spp.)先后出现流鼻涕、咳嗽的症状。采集患病长臂猿鼻拭子共6份,利用高通量测序法对样本进行病原筛查,结果显示:2份样本呈AIV阳性,序列组装结果与H9N2亚型禽流感病毒的相似性最高;采用qPCR法对2份阳性样本进行H1~H16基因和N1~N9基因检测验证,发现5号样本H9 C₁值为31.35、N2 C₁值为36.16,6号样本H9 C₁值为27.46、N2 C₁值为29.57,均为阳性。给予患病长臂猿化痰止咳、消炎和控制继发感染等综合治疗,同时加强饲养环境消毒,患病长臂猿很快康复。

A Case Report of Gibbon Infection with H9N2 Avian Influenza Virus

FENG Huajuan¹, WU Junyi¹, CAO Jiayuan¹, YOU Zongyao^{1*},
YANG Lu¹, QUE Tengcheng^{2,3,4}, HUANG Ning¹, LIAO Xiaoying⁵,
NONG Ru¹, HUANG Zelin¹, LU Bingbing¹, LI Ningli¹, MO Yasheng⁶

基金项目: 广西野生动物救护与疫源疫病监测专题研究项目(GXZTYJXM202101)

第一作者简介: 冯华娟(1980—),女,兽医师;主要从事野生动物疾病诊治及防控工作。E-mail:82473527@qq.com

*通信作者: 尤宗耀, E-mail:66188438@qq.com

- (1. Nanning Zoo, Nanning, 530003, China;
2. Faculty of Data Science City University of Macau, Macau, 999078, China;
3. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, 533000, China;
4. Guangxi Zhuang Autonomous Terrestrial Wildlife Rescue Research and Epidemic Diseases Monitoring Center, Nanning, 530009, China;
5. Liuzhou Zoo, Liuzhou, 545005, China;
6. Wuzhou Zoo, Wuzhou, 543002, China)

Abstract: In January 2022, six gibbons (*Nomascus* spp.) in the same enclosure of a zoo successively showed symptoms of runny nose and cough. We separately collected six nasal swabs from the six gibbons, detected the pathogens in the samples by high-throughput sequencing technology. The results showed that two samples were positive for AIV. The sequence assembly was similar to H9N2 avian influenza virus. The two positive samples were tested by qPCR for *H1 - H16* genes and *N1 - N9* genes and the results showed that C_i values of *H9* and *N2* in sample 5 were 31.35 and 36.16 respectively, C_i values of *H9* and *N2* in sample 6 were 27.46 and 29.57. The gibbons were given comprehensive treatment, such as expectoration and cough relief, anti-inflammatory and secondary infection control, and disinfection of the feeding environment was strengthened. The sick gibbons recovered quickly.

禽流感是由A型流感病毒(Avian influenza virus, AIV)引起的一类禽类疾病,也可感染人类和其他哺乳动物。高致病性禽流感病毒(High pathogenic avian influenza virus, HPAIV)能造成禽类的高致病率和高死亡率,人类偶有感染,但一旦感染病死率较高,严重危害禽类和人类的生命健康^[1-2]。低致病性禽流感病毒(Low pathogenic avian influenza virus, LPAIV)流行隐匿,可降低家禽产蛋能力、体质量和免疫力,且存在向HPAIV变异的风险,从而带来疫病传播扩大的风险^[3-4]。H9N2亚型禽流感病毒属于LPAIV,常引起鸟和猪等动物发病,近年来也有感染人的报道^[4]。长臂猿属于灵长目(Primates)长臂猿科(Hylobatidae),与人亲缘关系非常接近,主要分布在东南亚,在我国主要分布在云南和广西,海南也有分布。长臂猿科所有物种均被列为国家一级重点保护野生动物^[5],是珍稀的野生动物资源。非人灵长类动物自然感染禽流感病毒的病例报告极少。本案例描述了长臂猿自然感染H9N2亚型LPAIV后的临床症状以及实验室检查、诊断和治疗过程,以期为灵长类动物流感病毒感染的诊疗提供临床参考。

1 发病情况

2021年12月29日,长臂猿群进行了一次物理保定宿舍搬迁,当时气温变化较大,夜间气温为5~11℃,日间气温为15~19℃。2022年1月3日,2只长臂猿出现打喷嚏、流清鼻涕和发抖的症状,精神尚可,挑食,排泄正常。1月4日和5日,新增4只长臂猿出现同样症状,先发病的长臂猿开始咳嗽,鼻涕变为灰白色。截至5日,共有6只长臂猿发病,分别是1只南方白颊长臂猿(*Nomascus siki*)、2只红颊长臂猿(*N. gabriellae*)和3只黄白颊混血长臂猿。

2 实验室检查结果

2.1 血液检查

出现早期症状时,采集其中1只长臂猿的静脉血送广西壮族自治区民族医院作血常规检测,结果显示白细胞总数为 $7.18 \times 10^9/L$,淋巴细胞百分比为34.8%,中性粒细胞百分比为55.4%,单核细胞百分比为9.2%;采集后期出现咳嗽症状的1只长臂猿静脉血作血液常规检查,结果显示白细胞总数为 $16.54 \times 10^9/L$,淋巴细胞百分比为22.3%,中性粒细胞百分比为67.3%,单核细胞百分比为10.2%(表1)。

表1 长臂猿感染H9N2亚型早期及后期血常规检查结果

Tab. 1 Blood routine test results of gibbon infected with H9N2 subtype in early and post stage

检测项目 Test item	结果 Result		参考值 ^[6] Reference value
	感染早期 Early-infection	感染后期 Post-infection	
白细胞计数/($10^9 \cdot L^{-1}$) WBC	7.18	16.54	10.41 ± 3.36
淋巴细胞百分比/% LY	34.8	22.3	42.93 ± 13.20
单核细胞百分比/% MONO	9.2	10.2	6.17 ± 0.81
嗜酸细胞百分比/% EOS	0	0	5.90 ± 3.35
嗜碱细胞百分比/% BASO	0.6	0.2	1.10 ± 0.40
中性粒细胞百分比/% NEUT	55.4	67.3	43.90 ± 13.49
红细胞计数/($10^{12} \cdot L^{-1}$) RBC	6.5	7.63	6.77 ± 0.43
血红蛋白/($g \cdot L^{-1}$) HGB	139	149	153.33 ± 4.48
红细胞压积/% HCT	41.20	45.10	47.67 ± 0.39
血小板计数/($10^9 \cdot L^{-1}$) PLT	436	389	453.67 ± 143.52

2.2 病原检测

对有临床症状的长臂猿采用压缩笼物理保定,对鼻孔周边消毒,使用灭菌棉拭子贴鼻孔壁旋转3周,获取拭子样本,置于灭菌的PBS保存液中,置低温冰箱中保存待检。共采集患病长臂猿鼻拭子样本6份,送广西翰佰尔生物科技有限公司,利用高通量测序结合实时荧光PCR进行流感病毒检测验证。

2.2.1 高通量测序

使用病原核酸提取试剂盒(广州美基生物科技有限公司,中国),根据说明书的操作步骤提取病原总核酸。采用1%琼脂糖凝胶电泳检测病原总核酸完整性,使用NanoDrop分光光度计检测核酸纯度,并用Qubit 2.0 Fluorometer(Thermo Fisher Scientific, USA)与ssDNA Quantitation Assay Kit试剂盒(Q10212, Thermo Fisher Scientific, USA)对核酸浓度进行精确定量。样本检测合格后,每个样本取用2 μ g核酸,使用建库试剂盒NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit for Illumina(New England Biolabs, USA),根据TruSeq DNA Sample Preparation Guide(Illumina, 15026486 Rev. C)方法与流程进行文库制备,制库流程:使用Covaris超声波破碎仪将DNA片段随机打碎为约350 bp的片段,然后进行DNA片段筛选、末端修复、修复末端加入碱基A、加测序接头引物、文库纯化和PCR扩增富集。文库构建完成后,使用Qubit 2.0 Fluorometer(Thermo Fisher Scientific, USA)与ssDNA Quantitation Assay Kit试剂盒(Q10212, Thermo Fisher

Scientific, USA)初步定量。将文库稀释至1 ng/ μ L,随后使用Agilent 2100 Bioanalyzer(Agilent Technologies, USA)检测文库的insert size。当文库insert size符合预期后,使用Bio-Rad KIT iQ SYBR GRN试剂盒(iQ SYBR Green Supermix, BIO-RAD, USA)在Bio-Rad CFX 96 荧光定量PCR仪器(Bio-Rad CFX-96, BIO-RAD, USA)上进行qPCR,对文库的有效浓度进行准确定量,要求文库有效浓度大于3 nmol/L,以保证文库质量。文库质量检测合格后,根据测序所需数据量汇集文库,将文库加入Illumina NovaSeq 6000测序平台测序,测序策略为双端150 bp,测序数据量为每个样本20 G。数据下机后进行数据质控、组装、基因预测及丰度分析和物种注释及功能数据库注释等宏病毒组分析。

测序结果5号样本和6号样本呈AIV阳性,5号样本AIV覆盖度为17%,6号样本AIV覆盖度为100%。序列组装结果显示,5号样本得到核输出蛋白/非结构蛋白(nuclear export protein/nonstructural protein1, NEP/NS1)表达基因的不完整序列;6号样本得到碱性聚合酶1/碱性聚合酶2-F2(polymerase basic 1/polymerase basic 2-F2, *PBI/**PB2-F2*)、碱性聚合酶2(polymerase basic 2, *PB2*)、酸性聚合酶(polymerase acid, *PA*)、血凝素(hemagglutinin, *HA*)、核蛋白(nuclear protein, *NP*)、神经氨酸酶(neuraminidase, *NA*)、基质蛋白1/基质蛋白2(matrix protein 1/matrix protein 2, *MI/**M2*)和*NEP/NS1*八个表达基因片段的

不完整序列,命名HA基因序列为NC_004908.1,NA基因序列为NC_004909.1。

2.2.2 qPCR 验证

根据高通量测序的分析结果选取流感病毒阳性样本,利用High Pure Viral RNA Kit试剂盒(No. 118286 65001, Roche, 瑞士)提取RNA病毒,然后通过Prime-Script II 1st Strand cDNA Synthesis Kit with gDNA Eraser 试剂盒(RR047A, TaKaRa, 日本)反转录生成cDNA,利用甲流分型检测试剂盒H1~H16和N1~N9(硕世生物,中国江苏)进行qPCR检测。结果显

示,5号样本H9 C_i值为31.35,N2 C_i值为36.16;6号样本H9 C_i值为27.46,N2 C_i值为29.57。判为5号和6号样本为H9N2阳性,其他分型结果均为阴性。

2.2.3 基因序列分析

使用NCBI的BLAST工具分析基因相似性,将6号样本各基因片段序列分别在NCBI上用BLAST工具比对序列相似性,与各基因片段序列相似性最高的毒株信息见表2;将5号样本NEP/NSI基因片段序列在NCBI上用BLAST进行序列相似性比对,与该基因片段序列相似性最高的毒株信息见表3。

表2 与6号样本8个基因片段相似性最高的毒株信息

Tab. 2 The information of the strains with the highest similarity to the eight gene fragments in sample No.6

基因 Gene	相似性最高毒株 The most similar strain	相似性 /% Similarity	登录号 Entry number
PB1/PB1-F2	A/chicken/China/KM204/2022(H9N2)	99.83	PP091280.1
PB2	A/chicken/China/FY110/2022(H9N2)	93.51	PP091191.1
PA	A/chicken/Shandong/303/2021(H9N2)	97.96	OM055793.1
HA	A/chicken/China/FY110/2022(H9N2)	99.70	PP090903.1
NP	A/chicken/Shandong/6F/2019(H9N2)	98.53	MN759636.1
NA	A/chicken/China/KM216/2022(H9N2)	98.39	PP090936.1
M1/M2	A/chicken/China/KM213/2022(H9N2)	99.48	PP090919.1
NEP/NSI	A/chicken/China/KM216/2022(H9N2)	99.35	PP090986.1

表3 与5号样本NEP/NSI基因片段相似的毒株信息

Tab. 3 The information of the strains similar to the NEP/NSI gene fragment in sample No. 5

基因 Gene	相似毒株 The similar strain	相似性 /% Similarity	登录号 Entry number
NEP/NSI	A/chicken/Wenzhou/YJYF24/2015 (H7N9)	98.89	KU143464.1
	A/chicken/Wenzhou/YHQL04/2014 (H9N2)	98.61	KU143453.1

在NCBI核酸基因数据库中选取参考毒株的基因序列,使用MEGA6.0,采用最大相似法,设置Bootstrap replications值为1000,构建HA基因和NA基因系统进化树。结果显示,NC_004908.1与A/chicken/China/FY110/2022(H9N2)株和A/chicken/China/JN35/2021(H9N2)株的HA基因遗传距离最近,与A/turkey/Wisconsin/1/1966(H9N2)株的遗传距离最远(图1);NC_004909.1与A/chicken/China/KM216/2022(H9N2)株和A/chicken/China/KM212/2022(H9N2)株

的NA基因遗传距离最近,与A/turkey/Wisconsin/1/1966(H9N2)株的遗传距离最远(图2)。

3 诊断、治疗和防控

3.1 诊断

与王晓佳等^[6]对长臂猿血液的常规检测结果相比,在本案例早期发病长臂猿的血液中单核细胞百分比略微升高,白细胞总数、中性粒细胞百分比和淋巴细胞百分比均在正常范围内;而在疾病后期出现

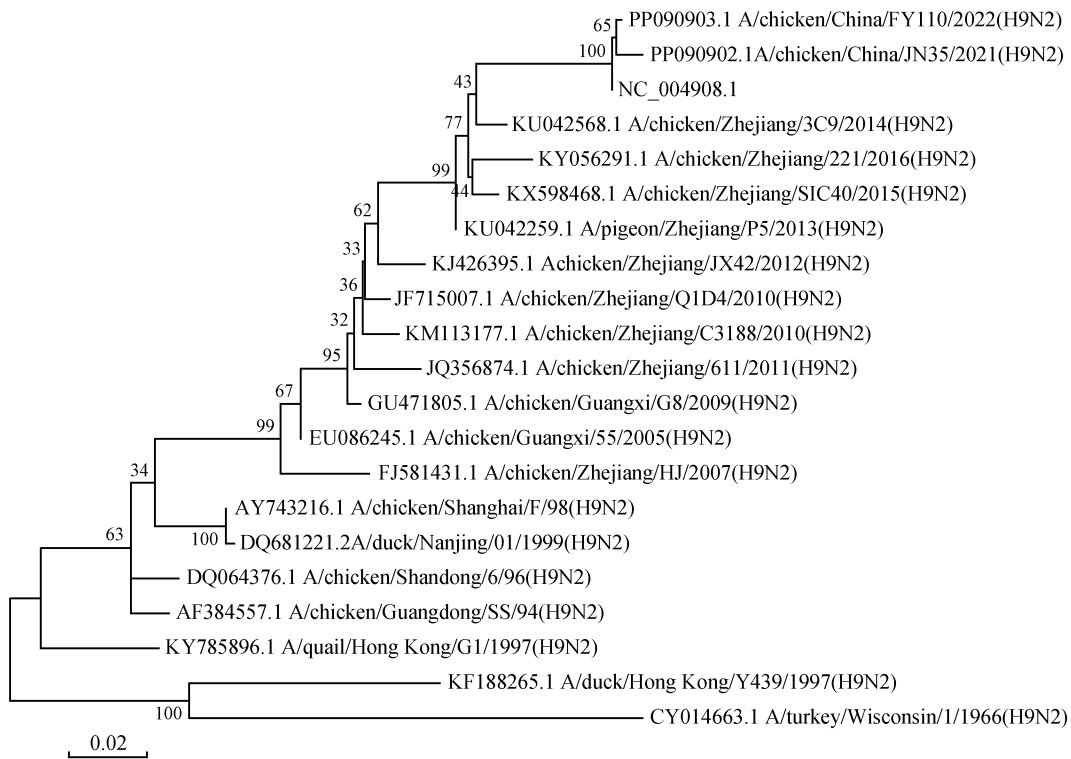


图 1 长臂猿 H9N2 亚型 AIV 病毒 HA 基因系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of HA gene in H9N2 AIV virus from the gibbon

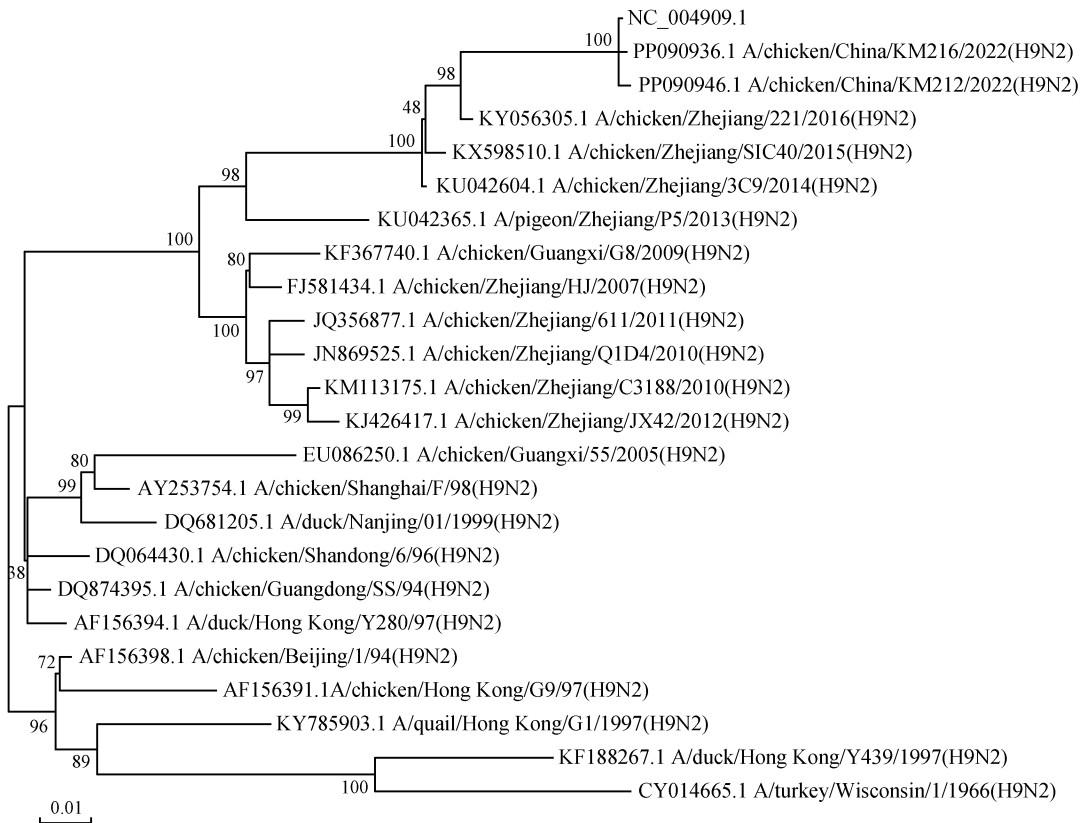


图 2 长臂猿 H9N2 亚型 AIV 病毒 NA 基因系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of NA gene in H9N2 AIV virus from the gibbon

咳嗽症状长臂猿的血液中白细胞总数和中性粒细胞百分比均略微升高。高通量测序法和实时荧光定量PCR法检测病原的结果提示患病长臂猿鼻咽处有H9N2亚型禽流感病毒定植,诊断本群长臂猿为H9N2亚型禽流感病毒引起的流感。

3.2 治疗措施

以抗炎、化痰止咳和防止继发感染为治疗原则对症治疗。在治疗上,给予小儿氨酚磺那敏颗粒1包/只(1包小儿氨酚磺那敏颗粒含对乙酰氨基酚125.0 mg,马来酸氯苯那敏0.5 mg,人工牛黄5.0 mg),盐酸氨溴索片60 mg/只,小儿麻甘颗粒2.5 g/只,头孢克肟颗粒50 mg/只,连喂7 d;咳嗽严重的长臂猿加服利肺片2片/次,2次/d,连喂10 d。

3.3 防控

对该群长臂猿原地隔离,饲养间出入口设置消毒垫,每4 h更换1次消毒液。对患病长臂猿专人专养,饲养人员做好个人防护,作业时戴好帽子、口罩和手套,穿戴工作服和靴子。同栋宿舍其他饲养间相对隔离,其他作业人员不得进入患病长臂猿饲养间,做好个人防护。宿舍出入口设置消毒垫,每4 h更换1次消毒液,将扫把、刷子、垃圾铲、料盆和水盆等生产用具严格分开。在治疗期间,该栋宿舍所有饲养员不得进入其他宿舍,防止病毒扩散,饲养宿舍地面、饲养笼用84消毒液按1:100喷洒消毒,饲养间内室空间每天用白醋按7 mL/m³的浓度进行空气熏蒸消毒,连续消毒1周。加强饲养管理,宿舍配置多个小太阳取暖器提升空间温度,白天适时通风换气,供给丰富多样的水果,增加鹌鹑蛋等蛋白质食物的供给频次,提高患病长臂猿营养摄入和机体免疫力。经过10 d的治疗和防控,群体内未再出现新病例,发病的6只长臂猿全部康复。

4 讨论

从临床症状和实验室检查结果可知,本案例是一起由H9N2亚型禽流感病毒引起的流感。Paungpin *et al.*^[7]对自由放养的672只食蟹猴(*Macaca fascicularis*)进行AIV监测,发现自由放养的食蟹猴存在AIV自然感染;Zhang *et al.*^[8]建立H9N2亚型禽流感病毒感染猕猴(*M. mulatta*)的动物模型表明,H9N2可以引起非人灵长类动物与人类流感相似的症状,可以引起包括肺炎在内的呼吸系统疾病,非人灵长类感染H9N2亚型禽流感病毒后的病症比季节性流

感病毒严重,但比感染HPAIV的症状轻。本案例的长臂猿自然感染H9N2亚型禽流感病毒后症状较轻,主要是流涕和咳嗽,未引起明显的发热和严重的肺炎,也未引起大范围的感染、传播以及猿—人传播,符合低致病性禽流感的特征。

与一般的低致病性禽流感相似,长臂猿感染H9N2亚型禽流感病毒后一般7~10 d临床症状会消失。研究人员对本案例患病长臂猿进行常规对症治疗和预防继发感染的同时,做好了环境消毒和增强营养供给,保证水合状态,以提高机体免疫力,最终10 d后全部康复。在治疗过程中,使用头孢克肟颗粒能够有效控制流感过程继发的细菌感染;使用小儿氨酚磺那敏能有效减少流感早期引起的流涕、咽喉肿痛和头痛发热等症状;使用盐酸氨溴索能促进痰液的稀释和排出;使用小儿麻甘颗粒能平喘止咳,利咽祛痰。利肺片主要成分是百部、百合、五味子、枇杷叶、白及、牡蛎、甘草、冬虫夏草和蛤蚧,对顽固性肺炎有驱癆补肺,镇咳化痰的作用,对久咳难愈的病例有较明显的治疗作用。

HA蛋白是AIV表面重要的糖蛋白,其功能结构域的改变会导致AIV的致病力和宿主特异性的改变。AIV致病性和毒力强弱的关键因素是其HA蛋白裂解位点的氨基酸序列,AIV的宿主特异性与HA蛋白受体结合位点的氨酸残基有着密切的关系;NA蛋白是AIV另一种重要糖蛋白,在病毒复制与病毒从细胞逸出中具有重要功能,与病毒毒力和跨物种传播的能力相关,在同一宿主身上同时感染多种亚型AIV容易发生流感病毒基因的重组^[9-13]。本案例采用高通量测序对样本进行病原检测AIV呈阳性,采用qPCR进行病原验证,证实这是一起由H9N2亚型低致病性禽流感病毒引起的感染。由于实验条件限制,未能开展病毒培养及更深一步的研究,该毒株的致病力是否发生改变,以及其是否具备跨物种传播的能力尚不明确。H9N2亚型禽流感病毒属于低致病性禽流感病毒,感染鸟类的报道较多,1998年以来陆续有H9N2亚型禽流感病毒感染人的报道,说明H9N2对人类健康的威胁不可忽视^[3,10-11]。本案例首次发现H9N2亚型禽流感病毒也可自然感染长臂猿,说明H9N2亚型禽流感病毒宿主范围仍具有很大的不确定性,其跨物种传播的能力值得继续关注和研究。

本案例长臂猿能自然感染H9N2亚型禽流感病

毒,与饲养管理比较粗放和针对该亚型流感病毒的免疫措施缺失有关。同栋饲养物种较多,有猴科(Cercopithecidae)、灵猫科(Viverridae)等多种动物;外运动场临时放养孔雀(*Pavo spp.*),有多种候鸟到运动场觅食;馆舍临近开放性水禽饲养湖,每年都有多种候鸟在湖中小岛停留,部分成为留鸟。这种粗放型饲养模式大大增加了长臂猿与病原体接触的机会。该动物园每年春秋两季均对饲养的鸟禽进行H5亚型和H7亚型高致病性禽流感疫苗的接种免疫,但园内所有物种均未接种低致病性禽流感疫苗。有研究表明,季节性流感疫苗接种对H9N2的交叉保护较低^[14],H5亚型和H7亚型高致病性禽流感疫苗对H9N2的交叉保护作用较低^[15],使得低致病性禽流感病毒感染园内动物的可能性大大提高。越来越多的研究表明,H9N2亚型禽流感病毒HA基因第226位氨基酸突变为亮氨酸时更易于与哺乳动物的唾液酸SAa2-6Gal结合,PA-356R、PBI-K557E和PB2-E627K等突变可增强病毒对哺乳动物的适应性^[10,16]。因此,笔者推测该群长臂猿感染的H9N2亚型禽流感病毒可能来源于园内候鸟。据张官婷等^[16]统计,人感染H9N2流感病毒的疫情多发生在冬春季节,每年10月至次年3月报道的病例最多,H9N2禽流感病毒感染人后症状轻,易自愈,往往被人们忽略。在平时饲养作业和对外展出过程中,长臂猿有与人类直接或间接接触的机会。本群长臂猿感染H9N2亚型禽流感病毒的时间为1月,不排除同期H9N2在人间隐性感染的可能,该群长臂猿感染H9N2亚型禽流感病毒也有可能来源于人。该群长臂猿感染H9N2亚型禽流感病毒发生在搬迁之后,搬迁应激、新环境应激和温差变化大等都是感染发病的主要诱因。

为防止该群长臂猿再次感染禽流感病毒,应将其与其他物种分开饲养,远离候鸟集中地,减少接触禽流感病毒的机会。对园内饲养的禽鸟接种H9N2亚型禽流感疫苗,尝试开展长臂猿科接种H9N2亚型禽流感疫苗效果研究,提高园内禽类和长臂猿对H9N2亚型禽流感病毒的抵抗力。近年来,一些新发或再发人兽共患病在世界范围内广泛流行,野生动物在人兽共患病的发生和传播过程中发挥了重要作用^[17],开展H9N2亚型禽流感病毒本底调查,摸清园内物种携带和感染情况,对全园的禽流感防控具有重要意义,对社会具有重要的公共卫生意义。

参考文献:

- [1] ALEXANDER D J. A review of avian influenza in different bird species[J]. *Veterinary Microbiology*, 2000, 74(1/2): 3-13.
- [2] 顾宏伟, 祁贤, 陈磊, 等. 人感染高致病性H5N6禽流感病毒表面糖蛋白分子进化特征[J]. *中华疾病控制杂志*, 2020, 24(4): 456-461.
GU H W, QI X, CHEN L Y, *et al.* Molecular characteristic of the two surface glycoproteins of highly pathogenic avian influenza A H5N6 viruses from human, 2014-2018, China[J]. *Chinese Journal of Disease Control & Prevention*, 2020, 24(4): 456-461.
- [3] LEE D H, CRIADO M F, SWAYNE D E. Pathobiological origins and evolutionary history of highly pathogenic avian influenza viruses[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2021, 11(2): a038679.
- [4] 赵善露, 黄超洋, 刘子言, 等. 2013—2022年湖南省人感染H9N2禽流感病例及外环境H9亚型禽流感病毒监测分析[J]. *疾病监测*, 2024, 39(7): 836-840.
ZHAO S L, HUANG C Y, LIU Z Y, *et al.* Surveillance for human H9N2 avian influenza cases and H9 subtype avian influenza virus in the external environment in Hunan, 2013-2022[J]. *Disease Surveillance*, 2024, 39(7): 836-840.
- [5] 国家林业和草原局, 农业农村部. 国家重点保护野生动物名录(2021年2月1日修订)[J]. *野生动物学报*, 2021, 42(2): 605-640.
National Forestry and Grassland Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. List of national key protected wild animals (revised on February 1, 2021)[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2021, 42(2): 605-640.
- [6] 王晓佳, 袁梨, 喻元, 等. 长臂猿血常规和血液生化指标的测定[J]. *中国兽医杂志*, 2023, 59(11): 128-131.
WANG X J, YUAN L, YU Y, *et al.* Determination of blood routine and blood biochemical indexes in Hylobatidae[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2023, 59(11): 128-131.
- [7] PAUNGPIN W, THONGDEE M, KETCHIM N, *et al.* Evidence of influenza A virus infection in cynomolgus macaques, Thailand[J]. *Veterinary Sciences*, 2022, 9(3): 132.
- [8] ZHANG K, XU W W, ZHANG Z W, *et al.* Experimental infection of non-human primates with avian influenza virus (H9N2)[J]. *Archives of Virology*, 2013, 158(10): 2127-2134.
- [9] 冯肖肖, 赵灵燕, 刘霞, 等. 14株H9N2亚型禽流感病毒分离株的HA和NA基因序列分析[J]. *中国兽医杂志*, 2023, 59(3): 1-11.
FENG X X, ZHAO L Y, LIU X, *et al.* HA and NA gene sequences analysis of fourteen H9N2 subtype avian influenza virus isolates[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2023, 59(3): 1-11.
- [10] 邓斐, 祁贤, 余慧燕, 等. 江苏省首例人感染H9N2禽流感病毒分子溯源研究[J]. *医学研究生学报*, 2021, 34(10): 1057-1061.

- DENG F, QI X, YU H Y, *et al.* Genetic origin of human infection with avian influenza A H9N2 virus in Jiangsu Province[J]. *Journal of Medical Postgraduates*, 2021, 34(10): 1057-1061.
- [11] 陈瑶瑶, 杨映芳, 孙艳红, 等. 云南省2019年人感染H9N2禽流感病毒血凝素和神经氨酸酶基因序列分析[J]. *中国热带医学*, 2023, 23(7): 692-696; 714.
- CHEN Y Y, YANG Y F, SUN Y H, *et al.* Sequence analysis of HA and NA genes of human infected H9N2 avian influenza virus in Yunnan Province, 2019[J]. *China Tropical Medicine*, 2023, 23(7): 692-696; 714.
- [12] 刘彦云, 刘春国, 王寿山, 等. 10株H9N2亚型禽流感病毒血凝素基因的序列分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2013, 40(8): 13-19.
- LIU Y Y, LIU C G, WANG S S, *et al.* Sequence analysis of the haemagglutinin genes of ten H9N2 subtype avian influenza viruses [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2013, 40(8): 13-19.
- [13] 陈闻天, 黄鹤, 于汉杰, 等. 甲型流感病毒基因组的进化与变异[J]. *中国病毒病杂志*, 2018, 8(5): 411-420.
- CHEN W T, HUANG H, YU H J, *et al.* Evolution and variation in the genome of influenza A virus[J]. *Chinese Journal of Viral Diseases*, 2018, 8(5): 411-420.
- [14] 甘芳容. H9N2禽流感病毒的灭活条件评估及季节性流感疫苗接种对H9N2的交叉保护性研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所, 2020.
- GAN F R. Studies on viral inactivation and cross-protection seasonal influenza vaccination against H9N2 avian influenza virus [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention of Viral Diseases, 2020.
- [15] 刘平平. 禽流感灭活油乳剂疫苗的交叉保护作用[J]. *山东畜牧兽医*, 2015, 36(1): 26-27.
- LIU P P. Cross-protection of inactivated oil emulsion vaccine against avian influenza[J]. *Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2015, 36(1): 26-27.
- [16] 张官婷, 梁丹, 李安安, 等. 人感染H9N2禽流感相关研究进展[J]. *中国公共卫生*, 2022, 38(10): 1359-1363.
- ZHANG G T, LIANG D, LI A A, *et al.* Human infection of H9N2 avian influenza viruses: progress in epidemiological research [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2022, 38(10): 1359-1363.
- [17] 秦思源, 孙贺廷, 耿海东, 等. 野生动物与外来人兽共患病[J]. *野生动物学报*, 2019, 40(1): 204-208.
- QIN S Y, SUN H T, GENG H D, *et al.* Wildlife and exotic zoonoses[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2019, 40(1): 204-208.