



2014/15 年新興高病原性 家禽流行性感冒H5N8病毒 及其重組變異株

劉玉彬、林育如、陳麗璇、李婉甄、李敏旭、鄭明珠 本所疫學研究組

前言

高病原性家禽流行性感冒 (highly pathogenic avian influenza; HPAI) H5N1 病毒株 (A/goose/Guangdong/1/1996, Gs/GD) 於 1996 年中國分離以來，依據血球凝集素 (hemagglutinin, HA) 基因序列親緣樹分析，在這近 20 年的時間中病毒持續演化出眾多亞群，除了對亞洲、非洲、歐洲等地區家禽產業造成莫大損失外，更於 2003 年開始跨物種造成近 700 件人類致死病例，為最重要之人畜共通傳染病之一。在 Gs/GD H5N1 病毒的抗原性轉變 (antigenic shift) 事件中，與其他禽流感病毒 6 段內部基因的重組較為平常，而神經胺酶 (neuraminidase, NA) 基因重組產生的新亞型變異株 H5Nx 卻甚少發生。直到 2008 年中國 H5N5 病毒株 (A/duck/Guangdong/wy/24/2008) 開始陸續變異產生一系列 Gs/GD lineage H5 clade 2.3.4.4 的新亞型 H5 病毒。在 2014 年，此亞群的新興 H5N6 重組病毒株在東南亞發生數起疫情，並於中國造成人類致死病例，聯合國農糧組織針對該病毒提出預警。後續韓國、中國及日本發生新型 H5N8 更引起進一步關切，於 2014 年 11 月起，此新型 H5N8 已快速蔓延至歐洲、甚至北美等數個國家，造成極嚴重之家禽產業衝擊。

世界各國之疫情概況

韓國：2014 年 1 月向 OIE 通報 Jeonbuk 省鴨場與雞場 HPAI H5N8 病例，疫區周邊同時發現有巴鴨與豆雁等野鳥的異常死亡，鄰近的 Donglim 水庫為



巴鴨南下中國、韓國及日本過冬的最主要的棲息地之一。由於家禽與野鳥所分離到的病毒在核酸序列有高度相似性，且分離地點與發生時間均有關聯性，因而認定在家禽與野鳥的 H5N8 感染為同一事件。疫情於 1 月底時迅速往北與往南擴散至許多野鳥之棲地，鄰近的六個省份也相繼通報家禽場病例，而所有發病的禽場均在野鳥棲地附近。5 月時，已有 161 座禽場與 20 隻野鳥證實感染 H5N8。後續鴨場與鵝場病例相繼在 6 月、7 月、9 月通報，疫情延續至今。

日本：2014 年 4 月通報首例雞場 H5N8 疫情後，在緊急防疫措施控制下，病毒得以迅速撲滅，未造成進一步之疫情擴散。直到 11 月在 Shimane、Chiba、Tottori 及 Kagoshima 等縣之野鳥分離到數次 H5N8 病毒後，12 月終於在 Miyazaki 縣入侵家禽場，此波疫情一共通報 16 件病例，其中 11 件為野鳥檢體，5 件來自家禽場，為控制疫情共撲殺 35 萬隻禽鳥，直到 2015 年 4 月通報終結。

中國：國際學者普遍認定 HPAI H5N8 是起源於中國 2010 年於野鳥分離到的 A/duck/Jiangsu/k1203/2010 (H5N8) 病毒。在 2014 年開始的此波國際新型 H5N8 疫情延燒事件裏，中國也分別於 5 月浙江及 9 月遼寧省通報了 H5N8 禽場病例，由於中國與韓國、日本均位處於同一野鳥遷徙路徑上，因而這些疫情的通報不會太令人訝異。

歐洲：2014 年 11 月 4 日德國通報歐洲首例 H5N8 火雞場陽性病例後，僅約一個月的時間，荷蘭、英國、義大利等國家也相繼發生數件病例於室內養殖模式 (indoor housing) 的種雞場、蛋雞場、肉雞場、火雞肥育場、鴨場及種鴨場。鴨場呈現輕微的臨床症狀及死亡，伴隨產蛋率顯著下降。在荷蘭數棟鴨場撲殺時的死亡率僅分別約 0.03、0.06、0.17、0.07 及 0.28%。

北美：2014 年 11 月底，位於加拿大 British Columbia 省的火雞場發現有異常死亡情形，禽場在 3 天內損失了 70% 在養頭數。兩天後在鄰近的肉種雞場也傳出疫情，24 小時死亡率即達一成。依據即時反轉錄聚合酶反應結果，加拿大主管機關先行通報 OIE 發生 HPAI H5 病例，在完成病毒全長核酸序列分析後，證實為歐亞株及北美株重組的新型 HPAI EA/

AM H5N2 病毒。而過往從未有歐亞株禽流感病毒跨洲際入侵北美禽場的 HPAI 病例報告，此為史上首例。病毒 8 段基因中的 polymerase basic 2 (PB2)、polymerase acidic (PA)、hemagglutinin (HA)、matrix (M) 及 nonstructural (NS) 等 5 段是來自於歐亞洲新興的 HPAI H5N8 病毒，另外 PB1、nucleoprotein (NP) 及 neuraminidase (NA) 等 3 段基因則來自於北美野鳥之禽流感病毒。繼加拿大新型 HPAI H5N2 病例通報後，美國在 12 月 6 日 Washington 州 Whatcom 郡的 gyrfalcon 猛禽異常死亡檢體中分離到與歐亞國家相同的 HPAI H5N8 病毒；兩天後在同一區域，死亡 northern pintail 野鴨檢體中再進一步發現加拿大 EA/AM H5N2 病毒。為因應此些新興病毒的入侵，美國啟動了更大規模的野鳥帶毒調查，在 12 月 29 日時，在相同的地區，發現了第二個歐亞株及北美株重組病毒 HPAI EA/AM H5N1，8 段基因中的 PB2、HA、NP 及 M 等 4 段來自於歐亞洲流行的 HPAI H5N8 病毒，另外 PB1、PA、NA 及 NS 等 4 段基因則來自於北美野鳥之禽流感病毒。H5N8 與 EA/AM H5N2 由疫情起始的野鳥案例，分別於 12 月 19 日及 2015 年 1 月 3 日時進一步傳播到後院式飼養的家禽場，而後疫情延燒至商業化的大型養禽場。直到 2015 年 6 月，北美的四條主要候鳥遷徙路徑，已有 Pacific、Central、Mississippi 等三條發現新型 HPAI 病毒的存在。1999 年美國爆發西尼羅熱疫情，花了 4 年時間由美國東岸傳播至西岸，而此波新型禽流疫情在不到半年時間就幾乎由美國西岸抵達東岸，造成美國史上最嚴峻的禽流疫情，迄今已撲殺近 5 千萬隻的禽鳥，經濟損失更預估上達 10 億美金。目前新型的 EA/AM H5N2 病毒已成為當地強勢病毒群，美國在 5 月 10 日後已無 H5N8 的新病例，近一個月內的所有病例均為 H5N2 病毒所造成。

臺灣：2015 年 1 月時臺灣南部數個縣市傳出許多水禽場有異常死亡情形，1 月 9 日各縣市防治所開始送檢疑似病例至家畜衛生試驗所進行確診，其中雲林、嘉義、屏東三個縣市鵝場、鴨場的檢體經核酸序列分析後，證實感染新型 H5N8 及 H5N2 重組病毒，病毒 HA 切割位序列 PLRERRRKR/GLF，具多個鹼性胺基酸之 HPAI 特性，1 月 12 日屏東鵝場檢測到第三種亞型的新型 HPAI H5N3 重組病毒，為全球此波 H5N8 及其變異株疫



情中唯一出現 H5N3 亞型之國家。此三種亞型新型 HPAI 病毒造成臺灣 13 個縣市的鴨場、鵝場、雞場、火雞場疫情相繼傳出，到 6 月時確診陽性場數累積近 900 場，為控制疫情共撲殺約 5 百萬隻禽鳥，其中以養鵝產業損失最為慘重，80% 的陽性病例來自鵝場。臺灣所發生的三種新型 HPAI H5 病毒，H5N3 亞型病毒在 2 月 20 日屏東雞場的最後一件病例報告後，臺灣禽場再無發現新的 H5N3 野外株；疫情持續數月之後，H5N8 亞型比例也迅速下降；新型 H5N2 病毒目前已成為臺灣禽場主要之 HPAI 病毒群。總結此波疫情發展至 104 年 5 月底，新型 HPAI H5Nx 病毒檢測陽性場由 1 月爆發時的 639 場，在撲殺清場及諸多防疫措施控制下，疫情逐漸趨緩，5 月的陽性場數已減少至 18 場（如圖 1）。

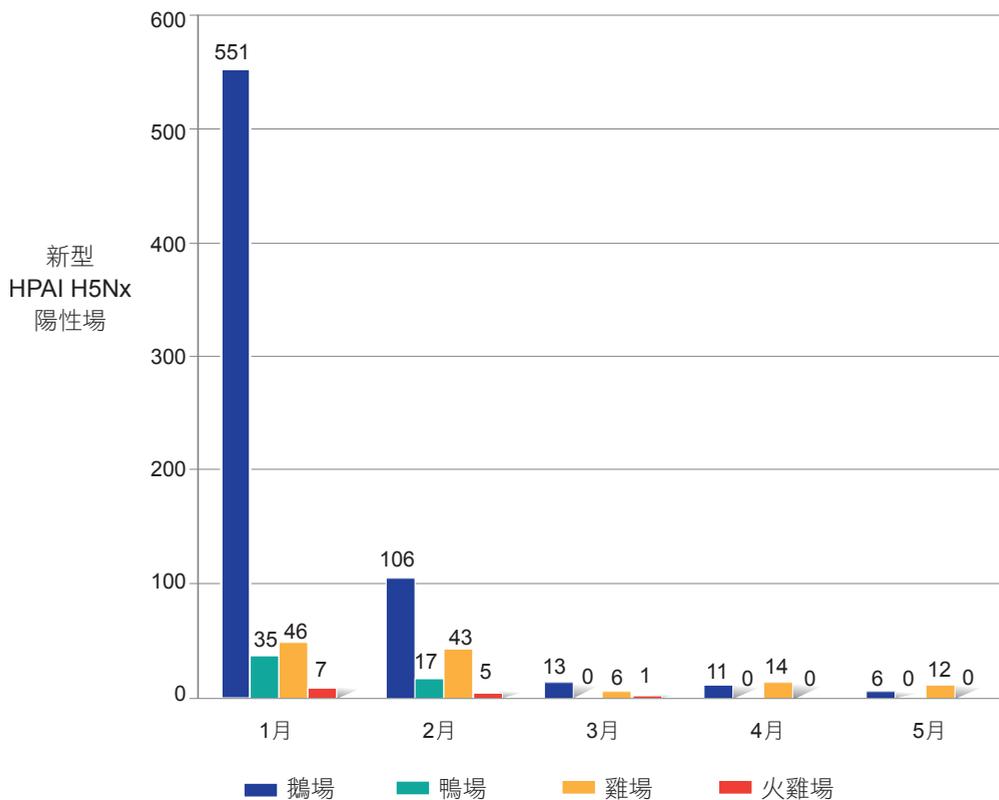


圖 1、104 年臺灣新型 HPAI H5Nx 檢測陽性場數。

病毒在禽鳥之病原性

日本國家動物衛生研究所在 H5N8 病毒 A/chicken/Kumamoto/1-7/2014 (Kum14) 的鼻腔接種試驗中，發現病毒力價 10^6 EID₅₀ 會對雞隻造成感染，致死率為 100%，全身主要臟器均有病毒分布，以肺臟與脾臟之力價最高 ($10^{4.07} \sim 10^{5.32}$ EID₅₀/ml)；而在較低的病毒力價 10^4 EID₅₀ 及 10^2 EID₅₀ 時，鼻腔接種 5 週齡及 10 週齡的雞隻感染均不成立，相較於過往之 H5 HPAIVs，Kum14 病毒株對雞隻的感染性顯著為低。而 10^6 EID₅₀、 10^4 EID₅₀ 及 10^2 EID₅₀ 三種不同力價的 Kum14 病毒對於鴨隻鼻腔接種均造成無症狀感染 (asymptomatic infection)，而鴨隻對 Kum14 病毒的高感受性伴隨低致病力，微量的抗體反應，並經由泄殖腔及喉頭持續排毒，而成為 H5N8 病毒重要的宿主及帶原者 (reservoir or carrier)，更有少數鴨隻泄殖腔的病毒力價可達 $10^{7.20}$ EID₅₀/ml，成為 H5N8 的超級傳播者 (super-spreader)。

韓國 2014 年 1 月嚴重家禽與野鳥疫情的 H5N8 病毒包含兩種亞群，韓國動植物檢疫局選取各一代表株 A/breeder ducks/Kr/Gochang1/2014 (Gochang1) 及 A/broiler duck/Kr/Buan2/2014 (Buan2) 探討其病原性。結果顯示靜脈內接種病原性指數 (IVPI) 均為最高值 3.0，表示所有的實驗雞在攻毒 24 小時內全數死亡。在同居感染實驗也與日本 Kum14 株有相同的特性，Gochang1 與 Buan2 病毒株分別只有 1/3 與 2/3 的雞被感染，表示這些 H5N8 病毒株在雞與雞的接觸感染並不是非常有效率。而鴨隻的鼻腔接種試驗中，Gochang1 與 Buan2 對感染鴨隻的致死率分別為 20% 與 0%，與 2010 年韓國分離到的 clade 2.3.2.1 亞群 H5N1 病毒致死率 50% -100% 低了許多，然而新型 H5N8 的排毒量 $10^{4.5}$ TCID₅₀/0.1 ml 卻遠高於 2010 年的 H5N1 病毒 ($10^{2.8}$ TCID₅₀/0.1 ml)。實驗結果顯示新型 H5N8 病毒可以在不引起臨床症狀及死亡的情況下，更有效率的在鴨隻呼吸道與消化道進行複製與排毒，得以持續存在鴨群，進而增加傳播到其他家禽場的風險。

而在 HPAI H5N1 與新型 H5N8 對於野鳥的病原性試驗中，韓國選取兩株 H5N1 病毒 (2006 年 clade 2.2 及 2010 年 clade 2.3.2.1)，與 H5N8 Buan2 病毒鼻腔接種至綠頭鴨，這些野鳥並無呈現顯著症狀及死亡，而喉頭及泄殖腔拭子均有病毒存在，表示綠頭鴨對於 H5N8 可能可以作為長距離的傳播媒介，就如



同 2005 年 Qinghai-like H5N1 曾發生跨亞洲、歐洲及非洲間的病毒傳播；而新型 H5N8 在綠頭鴨的排毒量及臟器分佈均高於 H5N1，且排毒持續時間更久，表示新型 H5N8 在野鳥間的水平傳播會較 H5N1 更有效率。

病毒可能的傳播途徑

此波新興 HPAI H5N8 疫情起始於 2014 年 1 月韓國，當地學者強烈懷疑病毒是來自中國，並且野鳥在病毒傳播中扮演重要角色，韓國家禽場 H5N8 疫情發生期間，許多野鳥同時也被檢出病毒陽性，特別是在 Dong-lim 水庫附近的區域。到了夏季疫情逐漸平息，H5N8 病毒隨著北返的侯鳥回到繁殖棲地西伯利亞，而這個區域匯集了 5 條野鳥 flyways，包括 East Atlantic、East Asia Australian、East Africa West Asia、Central Asia 與 Black Sea Mediterranean flyways，不同 flyways 的野鳥在夏季的數個月裏棲息於相同的繁殖地。於 2014 年 9 月俄羅斯野鳥帶毒調查中，研究人員在遠距離遷徙的鳥種中檢出 HPAI H5N8 病毒，接近冬季 11 月開始，日本、歐洲及美國西岸等地之家禽與野鳥即陸續通報 H5N8 的疫情發生，由於這些疫情起始時間及洲際間的傳播路徑與俄羅斯侯鳥的秋季遷徙行為互相吻合，且各地分離的 H5N8 病毒株在分子流行病學的親緣樹分析中，具有顯著之關聯性，跨國際性的研究團隊推測此次跨洲際的疫情蔓延是經由侯鳥遷徙而造成病毒的傳播。

病毒如何進行遠距離跨洲際傳播以及如何進入家禽飼養場應該歸屬為兩個獨立事件。在 2014/15 年許多的 HPAI H5Nx 禽流感疫情是發生在歐洲及美國高生物安全的大型商業化養禽場，室內家禽與外來野鳥直接接觸的機會微乎其微，推測這些病毒入侵禽場是經由工作人員、車輛、器具、小型動物等機械性或生物性的方式所媒介。

如同先前 HPAI H5N1 病毒由亞洲蔓延至歐洲來自複雜及交互影響的可能原因，包括家禽的生產鏈、非法走私禽鳥、野鳥與家禽間的雙向感染以及侯鳥的帶毒傳播等，有許多的推論及假說，但尚無堅定的證據指出確切的傳播途徑，許多的疑問仍須再做進一步之研究調查。

親緣樹分析

2014年1月韓國H5N8疫情為世界除中國外H5 clade 2.3.4.4病毒通報的首例，實際上在此波疫情同時分離到兩群不同的H5N8病毒，在圖2親緣樹分析中分別為A群（Buan2-like）及B群（Gochang1-like）。B群H5N8病毒於2014年1月Donglim水庫周邊的鴨場及野鳥各分離到一株之後，即銷聲匿跡，也沒有接續演化出其他分離株。A群病毒則在此波疫情顯著強勢，分離到的病毒幾乎均歸類於此群，並持續演化，再經由侯鳥遷徙路徑，對近兩年世界H5 HPAI病毒擴散造成巨大的影響。A群病毒現在的組成涵蓋中國、俄羅斯、韓國、日本、荷蘭、德國、義大利、英國、臺灣、美國及加拿大等國家之分離株。這些病毒於2014年底已演化為A1、A2、A3三個亞群，A1由俄羅斯、歐洲及部分日本分離株所組成；A2由日本分離株A/crane/Kagoshima/KU1/2014（H5N8）及臺灣H5N8、H5N2、H5N3與北美之H5N8、H5N1、H5N2等病毒所組成，也是三個亞群中唯一產生野鳥重組株的亞群；A3則由日本及2015年1月的一株韓國H5N8病毒所組成。A1群日本及歐洲的病毒是演化自同一來源，兩者有其關聯性；而A2的臺灣與美國H5Nx病毒與歐洲A1群H5N8病毒在親緣分析是獨立的，為相異病毒群入侵到不同國家的兩個新興疫情。



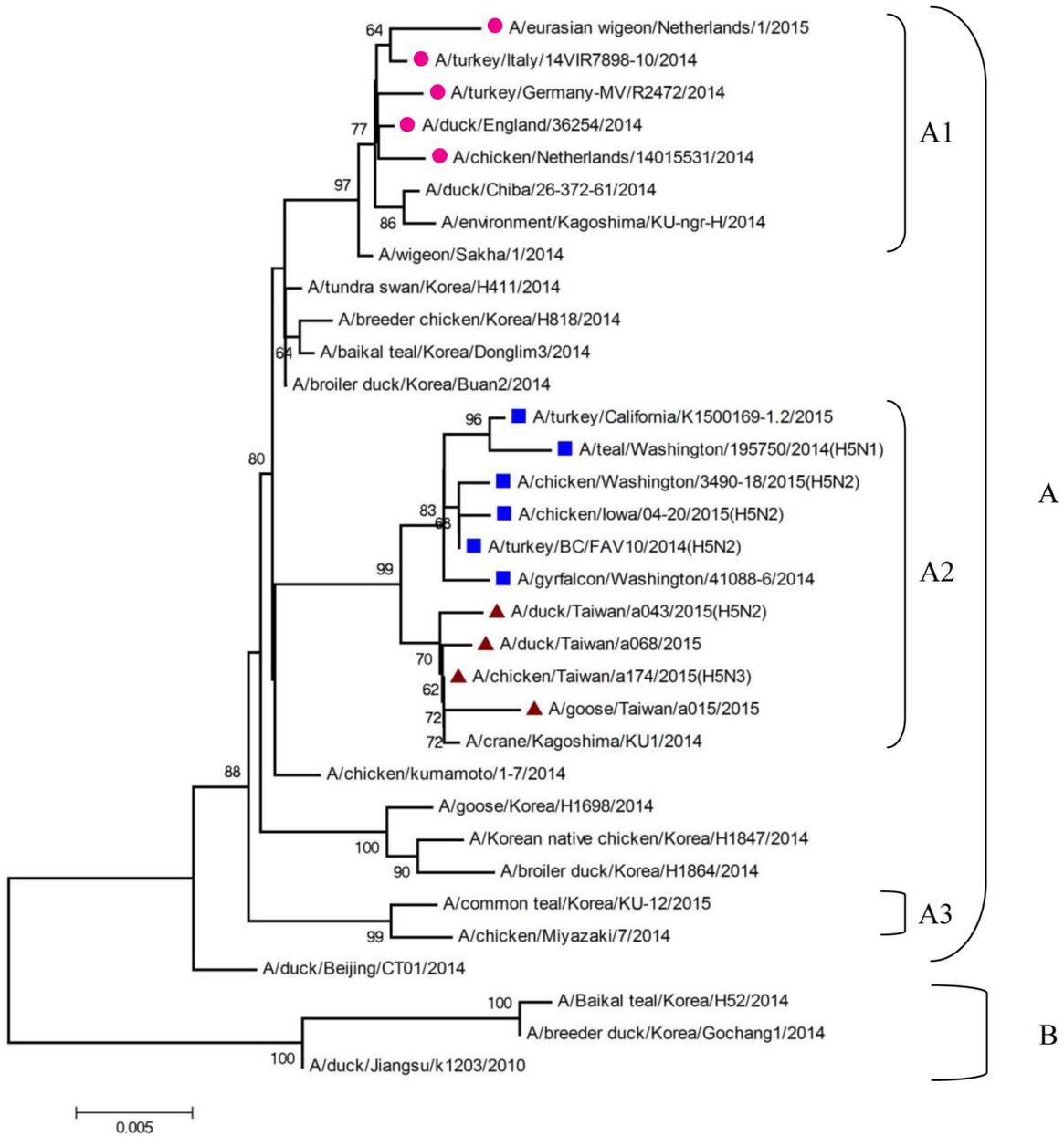


圖 2、高病原性家禽流行性感冒 Gs/GD H5N1 病毒 2.3.4.4 亞群血球凝集素基因親緣樹分析。粉紅色圓形表示歐洲 H5N8 分離株；藍色正方形表示北美 H5Nx；棕色三角形為臺灣 2015 H5Nx 分離株。

新型 H5N8 病毒跨物種傳播之風險評估

臺灣此波新型 H5N8 病毒經疾病管制署比對後指出，其基因胺基酸特殊位點與韓國、日本、美國、加拿大、德國等國之新型 H5N8 病毒一致。PB2 基因之 627 及 701 位點胺基酸未改變，表示仍屬禽源性病毒，在哺乳類細胞內複製力不佳；HA 基因與病毒進入細胞相關之主要位點 226 及 228 胺基酸均未改變；但次要位點 138 及 160 已突變，使病毒進入人類細胞之風險提高，但其作用較 226 及 228 位點為小；NA 基因位點 292 胺基酸未改變，對克流感治療仍屬有效。綜合上述，疾管署認為國內 H5N8 病毒與已證實可感染人類且致死率相當高之 H7N9 病毒相比，其風險性相對低很多，然而病毒演化快速且往往無法預測，仍需嚴密監控，以及早發現新變異病毒株的出現。

結論

自 2014 年 1 月韓國爆發 HPAI H5N8 疫情後，此系列的病毒已持續肆虐長達 1 年半的時間，病毒並沒有隨著季節的輪替而銷聲匿跡，反而在世界各地持續延燒甚至重組產生新亞型 H5Nx 變異株，而這些新型病毒不僅未失去高病原的特性，反而進一步取代原有的 H5N8 病毒成為更強勢的病毒群。且相較於過往 HPAI H5N1 病毒，2.3.4.4 亞群的 H5Nx 病毒，更適應於野鳥與家鴨等天然宿主，產生更高力價、更長期的排毒。依據上述流行病學調查及試驗結果，專家學者推論此系列病毒群將會穩定、長久的存在於北半球的水禽族群中。

野鳥在禽流感的傳播中扮演非常重要的角色，也是病毒的天然宿主，然而藉由撲殺、及其他干擾野鳥或野鳥棲地的方式對於禽流感疫情不會有任何助益，最重要的是必須加強生物安全來降低野鳥與家禽間的接觸機會，除了避免直接接觸外，更重要的是防止其他機械性、或生物性的間接傳播。

持續加強家禽及野鳥的禽流感監測有助於瞭解 HPAI H5Nx 病毒的疫情分佈及禽鳥的帶毒情形，可供決策機關作疾病風險評估及管理。



表 1、全球 HPAI H5N8 病毒及其重組變異株之疫情時間表。

年份	日期	國家	亞型	疫情狀況
2014	1/15	韓國	H5N8	韓國通報第一起 HPAI H5N8 病例，包括鴨場、雞場、鵝場及野鳥等檢體呈現病毒陽性。
2014	4/11	日本	H5N8	Kumamoto 縣禽場證實感染，撲殺了 11 萬隻禽鳥，7 月時通報 OIE 疫情結束。
2014	9/4	韓國	H5N8	7/27 後無通報案件，韓國官方宣布此波疫情結束，期間共撲殺 1400 萬隻家禽。
2014	9/12	中國	H5N8	遼寧省屠宰場的鴨隻檢體及遼河野鳥排遺中檢測到 H5N8 病毒。
2014	9/24	韓國	H5N8	前次疫情甫宣告結束後不到一個月，韓國再次爆發 H5N8 於 Jeollanam 道之肉鴨場。
2014	9/25	俄羅斯	H5N8	位於西伯利亞東北方的俄羅斯薩哈共和國在 Eurasian wigeon 分離到 H5N8 病毒，病例發生三個月後通報 OIE。
2014	11/4	德國	H5N8	歐洲首例 H5N8 發生於德國 Mecklenburg-Vorpommern 州的一座火雞肥育場，禽場所在區域於 2006 年 H5N1 跨洲際傳播事件中亦曾在野生天鵝、鵝、鴨及其他禽鳥檢測到 H5N1 病毒。
2014	11/14	荷蘭	H5N8	Utrecht 省蛋雞場疫情發生，隨後 Zuid-Holland、Overijssel 省的蛋雞場、種雞場及鴨場也相繼通報病例。
2014	11/14	英國	H5N8	Yorkshire 郡之種鴨場疫情發生。
2014	12/2	加拿大	H5N2	British Columbia 省在火雞場及雞場中檢出 H5 病毒，後來證實為北美野鳥與歐亞 H5N8 病毒重組產生之 HPAI H5N2。
2014	12/14	日本	H5N8	11 月開始在 Shimane、Chiba、Tottori 及 Kagoshima 等縣之野鳥檢體分離到數次 H5N8 病毒，於 12 月時家禽場病例發布於 Miyazaki 縣，疫情持續發生直到 2015 年 4 月宣告結束。
2014	12/15	義大利	H5N8	義大利首例 H5N8，發生於火雞場。
2014	12/19	美國	H5N8	美國首例入侵禽場的 H5N8 病毒出現於 Oregon 州的家禽混養場。
2015	1/3	美國	H5N2	美國首例入侵禽場的 HPAI EA/AM H5N2 病毒於 Washington 州的後院式禽場檢測出，疫情持續迄今，造成美國史上最嚴重的禽流感情。
2015	1/11	臺灣	H5N8	於嘉義鵝場分離到臺灣首例 HPAI H5N8，與世界各國通報之 H5N8 相異，為野鳥重組株，疫情持續迄今。
2015	1/12	臺灣	H5N2	通報臺灣首例新型 HPAI H5N2 疫情，於雲林、嘉義及屏東縣之鵝場及鴨場共 9 場陽性病例，疫情持續迄今。同日通報 OIE 包括舊型 HPAI H5N2 病毒於屏東縣之蛋雞場。
2015	1/16	臺灣	H5N3	於屏東鵝場分離到世界首例 Gs/GD H5N1 病毒群的 N3 基因重組株，2/20 屏東雞場為最後之病例報告。

參考文獻

1. 臺灣新型 H5N2、H5N8 禽流感病毒基因序列比對分析。衛生福利部疾病管制署國家流感中心。2015。網址：<http://www.cdc.gov.tw/professional/info.aspx?treeid=cf7f90dcbcd5718d&nowtreeid=f94e6af8daa9fc01&tid=FD69CB812328023D>。
2. Genetic diversity of highly pathogenic H5N8 avian influenza viruses at a single overwintering site of migratory birds in Japan, 2014/15. Ozawa M, Matsuu A, Tokorozaki K, Horie M, Masatani T, Nakagawa H, Okuya K, Kawabata T, Toda S. *Euro Surveill.* 20:21132, 2015.
3. Highly pathogenic avian influenza A subtype H5N8. European Food Safety Authority. *EFSA Journal.* 12:3941, 2014.
4. Intercontinental spread of Asian-origin H5N8 to North America through Beringia by migratory birds. Lee DH, Torchetti MK, Winker K, Ip HS, Song CS, Swayne DE. *J Virol.* 89:6521-4, 2015.
5. Novel eurasian highly pathogenic avian influenza a h5 viruses in wild birds, Washington, USA, 2014. Ip HS, Torchetti MK, Crespo R, Kohrs P, DeBruyn P, Mansfield KG, Baszler T, Badcoe L, Bodenstein B, Shearn-Bochsler V, Killian ML, Pedersen JC, Hines N, Gidlewski T, DeLiberto T, Sleeman JM. *Emerg Infect Dis.* 21:886-90, 2015.
6. Novel reassortant influenza A (H5N8) viruses among inoculated domestic and wild ducks, South Korea, 2014. Kang HM, Lee EK, Song BM, Jeong J, Choi JG, Jeong J, Moon OK, Yoon H, Cho Y, Kang YM, Lee HS, Lee YJ. *Emerg Infect Dis.* 21:298-304, 2015.
7. Rapid emergence of highly pathogenic avian influenza subtypes from a subtype H5N1 hemagglutinin variant. de Vries E, Guo H, Dai M, Rottier PJ, van Kuppeveld FJ, de Haan CA. *Emerg Infect Dis.* 21:842-6, 2015.
8. Rapidly expanding range of highly pathogenic avian influenza viruses. Hall JS, Dusek RJ, Spackman E. *Emerg Infect Dis.* 21:886-90, 2015.
9. The European and Japanese outbreaks of H5N8 derive from a single source population providing evidence for the dispersal along the long distance bird migratory flyways. Dalby AR, Iqbal M. *PeerJ.* 30:e934, 2015.
10. Wild bird surveillance around outbreaks of highly pathogenic avian influenza A (H5N8) virus in the Netherlands, 2014, within the context of global flyways. Verhagen JH, van der Jeugd HP, Nolet BA, Slaterus R, Kharitonov SP, de Vries PP, Vuong O, Majoor F, Kuiken T, Fouchier RA. *Euro Surveill.* 20:21069, 2015.