

· 实验室研究 ·

广州市 2019 年 H3N2 流感病毒分子流行特征分析

曹蓝¹ 吴迪² 陈艺韵¹ 曾庆¹ 夏丹¹ 刘艳慧² 陆剑云² 李魁彪¹ 狄飏¹ 张周斌³¹广州市疾病预防控制中心病毒免疫部 510440; ²广州市疾病预防控制中心传染病预防控制部 510440; ³广州市疾病预防控制中心 510440

通信作者: 张周斌, Email: gzcdczzb@gzcdc.org.cn

【摘要】 目的 对广州市 2019 年不同来源的 H3N2 流感病毒进行基因测序, 分析 H3N2 流感病毒的进化变异特点。**方法** 对广州市 2019 年门诊监测、暴发疫情、住院重症病例等不同标本来源的 H3N2 流感病毒进行分离并对其血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)基因进行测序, 运用 DNA Star 7.1、Mega 6.0 软件分析病毒的变异和进化特点。**结果** 2019 年广州市 H3N2 流感表现为流行期 I (2019 年 1-8 月) 和流行期 II (2019 年 11-12 月) 2 个流行高峰。男性和女性的 H3N2 流感病毒阳性率分别为 13.46% (703/5 221) 和 11.50% (510/4 435), 差异有统计学意义 ($\chi^2=8.43, P=0.00$)。10~20 岁年龄组 H3N2 流感病毒阳性率最高 (25.18%, 665/2 641), 各年龄组阳性率差异有统计学意义。测序发现, 不同标本来源的毒株高度同源, 亲缘关系相近, 属于 3C.2a.1 分支。根据流行时间和进化特点, 进一步划分为 Group 1~3 共 3 个小进化分支, Group 1 分支流行于流行期 I、Group 3 分支流行于流行期 II, Group 2 分支为 2 个流行期过度的进化分支, 流行期 II 的病毒由流行期 I 的病毒进化而来, 且不同分支存在基因重组的现象。在疫苗选择压力下, Group 1~3 分支逐渐出现 HA 抗原位点突变, 导致新的抗原漂移。HA 抗原位点变异主要发生 A 和 B 区, Group 1 分支和 Group 3 分支受体结合位点变异发生在前壁和后壁, Group 2~3 分支在 HA 抗原位点 A 区缺失 2 个糖基化位点。**结论** 2019 年广州市 H3N2 流感病毒的遗传变异包括位点突变和基因重组。在疫苗免疫压力下 H3N2 流感病毒发生快速的进化变异, 抗原位点变异逐渐累积, 进而出现新的抗原漂移。应对 H3N2 流感病毒分子流行特点进行持续监测。

【关键词】 流感病毒 H3N2 型; 抗原变异; 基因重组

基金项目: 广东省自然科学基金 (2019A1515011510); 广州市医学重点学科建设项目 (2021-2023-11); 国家科技重大专项 (2017ZX10103011-005); 广州市卫生和计划生育科技项目 (20201A011052); 广东省医学科学技术研究基金 (A2019149)

Molecular-related epidemic characteristics of influenza A (H3N2) viruses in Guangzhou, 2019Cao Lan¹, Wu Di², Chen Yiyun¹, Zeng Qing¹, Xia Dan¹, Liu Yanhui², Lu Jianyun², Li Kuibiao¹, Di Biao¹, Zhang Zhoubin³

¹Department of Virology and Immunology, Guangzhou Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, China; ²Department of Infectious Diseases Prevention and Control, Guangzhou Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, China; ³Guangzhou Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, China

Corresponding author: Zhang Zhoubin, Email: gzcdczzb@gzcdc.org.cn

【Abstract】 Objective To isolate the influenza A (H3N2) viruses from different sources in Guangzhou in 2019 and analyze these viruses' evolution and variation characteristics. **Methods**

DOI: 10.3760/cma.j.cn1112338-20200724-00983

收稿日期 2020-07-24 本文编辑 斗智

引用本文: 曹蓝, 吴迪, 陈艺韵, 等. 广州市 2019 年 H3N2 流感病毒分子流行特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(5): 891-897. DOI: 10.3760/cma.j.cn1112338-20200724-00983.



The hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) genes of H3N2 isolates from outpatient monitoring, influenza outbreaks, and inpatient severe cases in Guangzhou in 2019 were sequenced. Bioinformatics software analyzed the variations and evolution characteristics of HA and NA genes.

Results The epidemic peaks of influenza A (H3N2) viruses were made up of period I (from January to August) and period II (from November to December). The positive rate of influenza A (H3N2) in males was 13.46% (703/5 221), which was higher than that in females (11.50%, 510/4 435) ($\chi^2=8.43, P=0.00$). The group's positive rate of 10-20 years old was the highest (25.18%, 665/2 641). The isolates from different sources were highly homologous and closely related to 3C.2a.1 branches, which could be further divided into three small groups of Group 1-3. Gene recombination was observed between different branches. The mutations of HA antigen sites gradually appeared from Group 1 to Group 3, leading to new antigen drift. Variations of HA antigenic sites mainly occurred in the region of A and B. The mutations of receptor binding sites of Group 1 and Group 3 viruses occurred in the anterior and posterior walls. There were two glycosylation sites lacked on region A of HA antigen observed in the isolates of Group 2-3. **Conclusions** Genetic variations of H3N2 influenza viruses in Guangzhou included gene mutations and gene recombination. Under the pressure of the vaccine, the evolution of viruses was rapid. Therefore, the monitoring of molecular-related epidemic characteristics of the H3N2 influenza virus was necessary.

【Key words】 Influenza A (H3N2); Antigen variation; Gene recombination

Fund programs: Natural Science Foundation of Guangdong Province (2019A1515011510); Project for Key Medicine Discipline Construction of Guangzhou Municipality (2021-2023-11); National Science and Technology Major Project of China (2017ZX10103011-005); Guangzhou Health and Family Planning Science and Technology Project (20201A011052); Guangdong Medical Scientific Research Fund (A2019149)

近年来,新型 3C.2a 分支 H3N2 流感病毒突变株在全球范围出现,2015-2016 年该分支病毒在我国出现,2017 年夏季我国华南地区出现了 3C.2a.1 分支病毒,研究发现该分支病毒携带的 N121K 突变可以降低疫苗的有效性^[1]。目前 3C.2a 分支 H3N2 流感病毒已经在欧洲、亚洲、北美洲广泛流行^[2]。与 H1N1 流感病毒和 B 型流感病毒相比, H3N2 流感病毒的抗原漂移频率更快^[3],因此,对 3C.2a.1 分支 H3N2 流感病毒进行持续的分子变异监测,对及时更新疫苗组分有着重要的公共卫生意义。本研究对 2019 年广州市不同来源的 H3N2 流感病毒进行测序和分析,掌握 H3N2 流感病毒的分子流行病学特征,为流感的科学防控提供参考依据。

材料与方法

1. 标本来源:收集 2019 年 1-12 月广州市 4 家流感病原学监测哨点医院流感样病例的咽拭子标本、流感暴发疫情中的咽拭子标本以及疑似流感重症住院病例的呼吸道标本。流感样病例定义:体温 $\geq 38^\circ\text{C}$,有咳嗽或咽喉疼痛之一者。流感样病例暴发:在同一学校、同一机构内短时间出现异常增多(≥ 5 例)的具有流行病学关联的流感样病例。标

本采集后放入含 3~4 ml 采样液的采样管中,保存温度为 $2\sim 8^\circ\text{C}$,并于 2 个工作日内运送至广州市 CDC 流感监测网络实验室。

2. 病毒分离:采用荧光定量 RT-PCR 方法检测进行流感 A 型和 H3N2 亚型流感病毒核酸检测(试剂盒购自德国 QIAGEN 公司,流感 A 型和 H3N2 亚型流感病毒荧光定量检测试剂盒购自江苏硕世生物科技有限公司)。取 0.1 ml H3N2 流感病毒阳性标本接种 MDCK 细胞,置 37°C 5% CO_2 培养箱中吸附 1~2 h。吸出接种物,清洗细胞 2 遍,然后加入 5% 胎牛血清的 DMEM 病毒生长液于细胞板中,置 $33\sim 35^\circ\text{C}$ 培养箱培养。每日观察细胞病变情况,当 75%~100% 的细胞出现病变时进行收获,通过血凝实验对病毒滴度进行测定。

3. 血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)基因测序:应用 Oligo 6.0 软件设计 H3N2 流感病毒 HA、NA 基因全长扩增引物,引物由广州天一辉远生物科技有限公司合成。通过 RT-PCR 方法扩增 HA、NA 基因,将阳性鉴定产物送至广州天一辉远生物科技有限公司,通过 ABI3730 进行病毒基因一代测序。

4. 分子特征分析:应用 DNA Star 7.1 软件进行 HA、NA 基因序列拼接和同源性分析,运用 MegAlign 分析组件比较抗原位点、受体结合位点、糖基化位点、耐药位点等重要蛋白位点的变异

情况。

5. 遗传进化分析:在 GISAID 数据库中下载历年 WHO 推荐的北半球 H3N2 流感疫苗推荐株和不同进化分支代表株 HA、NA 基因作为参比序列,包括:A/Hong Kong/4801/2014、A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016、A/Switzerland/9715293/2013、A/Texas/50/2012、A/Perth/16/2009、A/Kansas/14/2017、A/Hong Kong/2671/2019、A/Hong Kong/3110/2017、A/Pennsylvania/28/2014、A/VICTORIA/506/2013、A/Samara/73/2013、A/Netherlands/525/2014、A/Ohio/02/2012、A/Stockholm/18/2011、A/Puerto Rico/36/2012、A/Madagascar/0648/2011、A/Montana/05/2011、A/Victoria/208/2009、A/Norway/1330/2010 等。使用 Mega 6.0 软件绘制 HA、NA 基因进化树,参数设置为:Neighbor-joining 法(参数设置为 1 000 replications)及 Maximum composite likelihood model 比对核苷酸序列。

6. 统计学分析:采用 SPSS 11.0 软件进行统计学分析,统计方法采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基本情况:2019 年广州市流感监测标本 5 300 份、暴发疫情标本 5 241 份、流感样重症病例标本 191 份,H3N2 流感病毒阳性率分别为 3.13% (166)、21.79% (1 142)、3.66% (7),H3N2 总阳性率为 12.25% (1 315/10 732),不同标本来源的阳性率差异有统计学意义($\chi^2=866.53, P=0.00$)。总体上,2019 年广州市 H3N2 流感表现为 2 个流行期,1-8 月为流行小高峰,11-12 月为流行大高峰,见图 1。H3N2 流感病毒阳性率的性别差异有统计学意义($\chi^2=8.43, P=0.00$),男性和女性分别为 13.46% (703/5 221) 和 11.50% (510/4 435);H3N2 流感病毒阳性率在各年龄组的差异有统计学意义($\chi^2=648.06, P=0.00$),0~、11~、 ≥ 71 岁组的 H3N2 流感病毒阳性率分别为 11.84% (452/3 818)、25.18% (665/2 641) 和 1.97% (9/457)。对 36 株 H3N2 流感病毒(流感监测毒株 20 株、暴发疫情毒株 15 株、重症病例毒株 1 株)进行测序,共获得 32 株病毒 HA、NA 基因全长序列(监测病例 16 株、暴发疫情病例 15 株、重症住院病例 1 株)。见表 1。

2. 分子变异特征:与 2020-2021 年疫苗株 A/Hong Kong/2671/2019 相比,32 株 H3N2 流感病毒

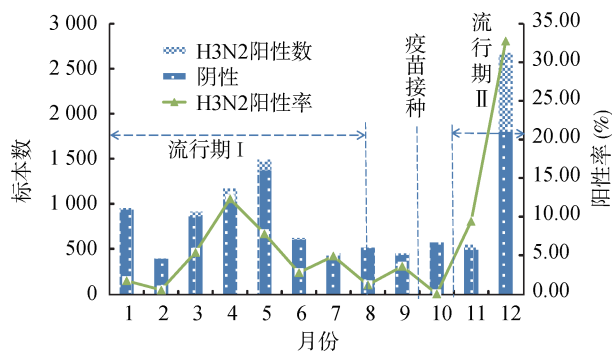


图 1 2019 年广州市 H3N2 流感病毒流行情况

表 1 2019 年广州市 H3N2 流感病毒 32 株基本信息

序号	毒株名称	进化分支	分离时段 (2019 年)	标本来源
1	2019XN00645	Group 1	1-8 月	监测病例
2	2019XN01141	Group 1	1-8 月	监测病例
3	2019XN11531	Group 1	1-8 月	监测病例
4	2019XN11581	Group 1	1-8 月	监测病例
5	2019XN11858	Group 1	1-8 月	暴发疫情
6	2019XN11860	Group 1	1-8 月	暴发疫情
7	2019XN15389	Group 1	1-8 月	监测病例
8	2019XN15394	Group 1	1-8 月	监测病例
9	2019XN19925	Group 1	1-8 月	监测病例
10	2019XN20743	Group 1	1-8 月	监测病例
11	2019XN20748	Group 1	1-8 月	监测病例
12	2019XN29295	Group 2	11-12 月	暴发疫情
13	2019XN29933	Group 2	11-12 月	暴发疫情
14	2019XN29939	Group 2	11-12 月	暴发疫情
15	2019XN31551	Group 2	11-12 月	重症病例
16	2019XN06284	Group 2	1-8 月	监测病例
17	2019XN08629	Group 2	1-8 月	暴发疫情
18	2019XN08641	Group 2	1-8 月	暴发疫情
19	2019XN11017	Group 2	1-8 月	暴发疫情
20	2019XN17057	Group 2	1-8 月	监测病例
21	2019XN28769	Group 2	11-12 月	暴发疫情
22	2019XN28771	Group 2	11-12 月	暴发疫情
23	2019XN28896	Group 2	11-12 月	监测病例
24	2019XN29262	Group 3	11-12 月	监测病例
25	2019XN29334	Group 3	11-12 月	监测病例
26	2019XN29830	Group 3	11-12 月	监测病例
27	2019XN30343	Group 3	11-12 月	暴发疫情
28	2019XN30605	Group 3	11-12 月	暴发疫情
29	2019XN30648	Group 3	11-12 月	暴发疫情
30	2019XN21777	Group 3	11-12 月	监测病例
31	2019XN28277	Group 3	11-12 月	暴发疫情
32	2019XN28282	Group 3	11-12 月	暴发疫情

HA、NA 基因核苷酸同源性分别在 98.2%~99.8% 和 93.8%~99.8% 之间,与 2019-2020 年疫苗株 A/Kansas/14/2017 相比,32 株 H3N2 流感病毒 HA、NA

基因核苷酸同源性分别在 96.3%~96.9% 和 93.3%~98.7% 之间。32 株病毒抗原变异位点主要发生在 128、138、198 位,集中位于 A 和 B 抗原决定簇区域。与 2018-2019 年疫苗 A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 相比,有 21 株病毒发生抗原漂移^[4],占 65.63%。见表 2。与 2020-2021 疫苗株相比,NA 蛋白抗原位点变异主要发生在 339~347 位。

HA 蛋白受体结合位点变异显示,20 株毒株 (68.75%) 分别发生 P227A、T131K、K135T/A、F137S、D190 N 变异,主要分布在前壁和后壁。糖基化位点分析显示,HA 蛋白主要位于 24、38、54、61、79、138、174、181、262、301 和 499 位,与 2020-

2021 疫苗株一致,但部分毒株在 142、149 和 563 位增加 3 个糖基化位点,分别占 34.00%、31.00% 和 6.25%,主要位于抗原决定簇 A 区。NA 蛋白糖基化位点主要位于 61、70、86、146、200、234、245、367 位,个别毒株在 61、245 和 367 位出现变异缺失,分别占 6.00%、6.00% 和 3.00%。NA 蛋白耐药位点主要位于 119、136、151、222、274、292、294 位。本研究 32 株病毒均未出现 NA 抑制剂耐药位点的变异。

3. 遗传进化分析:所有来源的 H3N2 毒株位于 3C.2a.1 进化分支,根据流行时间和进化分支的特点,可将 32 株病毒进一步划分为 Group 1~3 共 3 个

表 2 2019 年广州市 H3N2 流感病毒血凝素(HA)蛋白主要抗原位点变异情况(A、B、C 区)

毒株名称	Group	新的 抗原 漂移 ^a	HA 蛋白														
			A					B					C				
			138	142	144	145	150	128	159	194	198	45	48	50	278	279	312
2020-2021 疫苗株		-	S	G	S	S	R	A	Y	L	S	N	I	E	K	S	S
2019-2020 疫苗株		-	-	-	K	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-
2018-2019 疫苗株		-	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN00645	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN01141	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN11531	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN11581	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN11858	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN11860	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN15389	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN15394	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN19925	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN20743	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	M	-	-	-	-
2019XN20748	1	×	A	-	-	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN29295	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN29933	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN29939	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN31551	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN06284	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN08629	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN08641	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN11017	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN17057	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN28769	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN28771	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN28896	2	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2019XN29262	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-
2019XN29334	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-
2019XN29830	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-
2019XN30343	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-
2019XN30605	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-
2019XN30648	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-
2019XN21777	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-
2019XN28277	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-
2019XN28282	3	√	-	-	-	-	-	-	-	-	P	-	-	-	-	-	-

注:^a与 2018-2019 疫苗株相比;-未变异;×未出现新的抗原漂移;√出现新的抗原漂移;S、G、R、A、Y、L、N、I、E、K、T、P、M 字母为氨基酸缩写

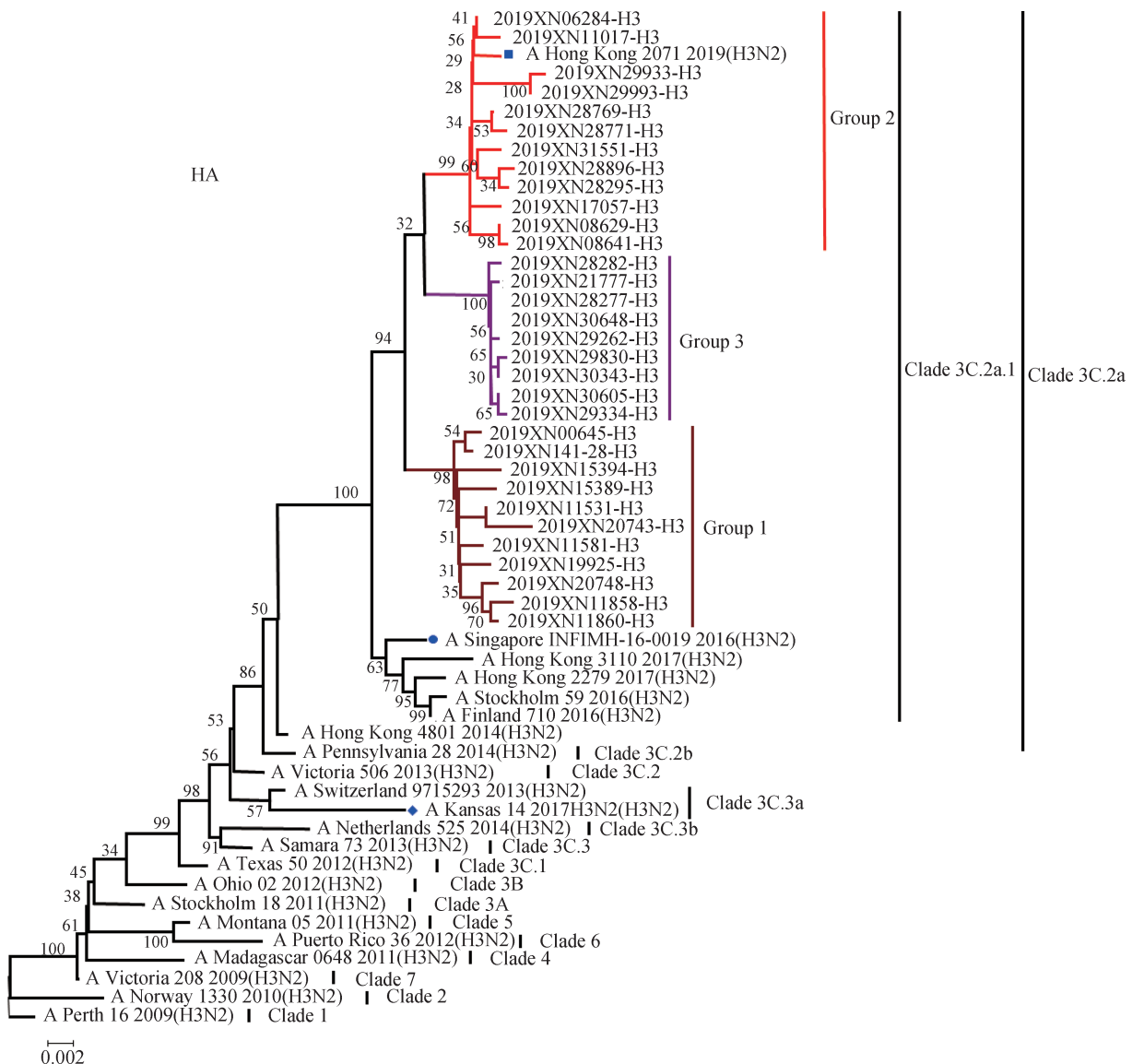
小进化分支, Group 1 分支流行于 2019 年 1–8 月, Group 3 分支流行于 2019 年 11–12 月, Group 2 分支为介于 Group 1 和 Group 3 的进化过渡分支, 其中 Group 2 分支与 2020–2021 疫苗株亲缘关系最近(图 2)。NA 进化特征与 HA 基因总体上一致, 也分为 Group 1~3 不同的小分支(图 3), 并在 Group 2 分支和 Group 3 分支之间存在 HA 和 NA 基因的重组现象。

讨 论

近年来, 广州市流感呈现双峰流行, 一般小高峰出现在 5–7 月, 大高峰出现在 11 月至次年 1 月, 表现为全年多种流感病毒型别共流行、交替出现的

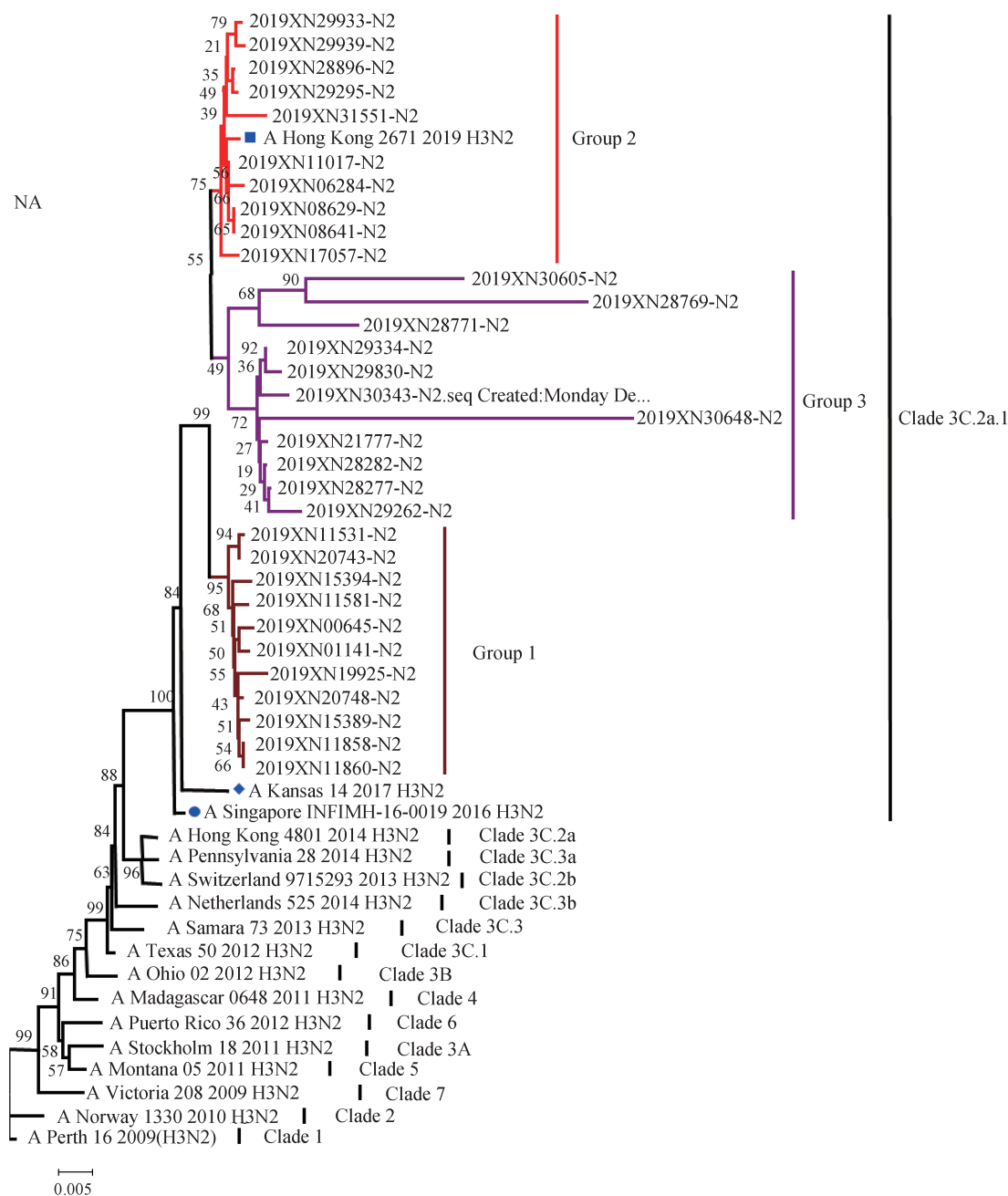
特点^[5]。2019 年广州市出现了范围较大的 H3N2 流感疫情的暴发流行, 全年总阳性率为 12.25% (1 315/10 732), 为了研究广州市 H3N2 流感流行毒株的分子流行病学特征, 为流感的科学防控提供研究数据, 本研究对 2019 年不同来源的 H3N2 流感病毒进行了测序和分析。

本研究发现, 2019 年广州市 H3N2 流感病毒 HA 抗原位点变异主要发生 A 和 B 区, 与 2017 年毒株的抗原变异位点不同^[6], NA 抗原位点主要变异区与 2017 年相同(339~347 位)^[7], 2017 与 2019 年 H3N2 流感病毒 HA 蛋白糖基化位点主要为 11 个, 2019 年毒株的受体结合位点变异发生在 HA 蛋白前壁和后壁, 而 2017 年毒株只发生在 HA 蛋白前壁^[6]。



注: “■”代表 2020–2021 疫苗株; “◆”代表 2019–2020 疫苗株; “●”代表 2018–2019 疫苗株

图 2 广州市 2019 年 H3N2 流感病毒血凝素(HA)基因遗传进化树



注：“■”代表2020–2021疫苗株；“◆”代表2019–2020疫苗株；“●”代表2018–2019疫苗株

图3 广州市2019年H3N2流感病毒神经氨酸酶(NA)基因遗传进化树

本研究分别采集门诊流感样监测病例、暴发疫情病例和流感重症住院病例的呼吸道标本进行不同标本来源的H3N2流感病毒遗传进化分析,结果显示不同标本来源的H3N2流感病毒高度同源,亲缘关系相近,来源于同一进化起源,表明门诊流感样病例病原学监测可以为本地区流感疫情暴发和临床重症病例的病原学研究提供重要的提示和参考。根据2019年广州市H3N2流感的两个流行期,H3N2流感病毒在分子进化上可以分Group 1~3不同的进化分支,各分支有着明显的时间分布特点,

提示2019年广州市H3N2流感病毒在持续进化,流行期Ⅱ的病毒由流行期Ⅰ的病毒进化而来。

通过与疫苗株抗原位点变异情况的比较,可以在病毒分子水平上间接评价疫苗的免疫效果以及推测流行株是否发生新的抗原漂移。目前2020–2021年疫苗株尚未投入使用,2019–2020年疫苗株属于3C.3a分支与我国南方地区流行株不匹配,且2018年广州市H3N2流感病毒未广泛流行,因此为研究广州市既往使用的疫苗对2019年H3N2流行株造成的免疫压力的影响,本研究将

2019 年广州市 H3N2 流行株与 2018–2019 年疫苗株 (位于 3C.2a.1 分支, 使用接种时间为 2018 年 9 月至 2019 年 5 月) 进行抗原位点的变异比较分析, 发现随着时间推移, 广州市 2019 年流行株 Group 1~3 分支的抗原位点变异逐渐增多, Group 1 抗原位点与疫苗株总体一致, Group 2 分支出现 A138S、T128A 突变, Group 3 分支同时出现 A138S、T128A、S198P 突变, Group 2~3 分支内所有毒株出现了新的抗原漂移, 提示在疫苗免疫压力下, 广州市 H3N2 病毒在持续进化, 并不断发生变异以致发生免疫逃逸。

总体上 2020–2021 疫苗株与 Group 1~3 分支毒株位于同一进化分支, 推测该疫苗在接种期间 (2020 年 9 月至 2021 年 5 月) 可对同期的 H3N2 流行株具有较好保护。但进一步分析发现, 2020–2021 疫苗株与 Group 2 分支亲缘关系最近, 而与 Group 3 分支毒株相对较远, 因此随着 2019 年 11–12 月携带有 S198P 抗原位点、F137S 和 D190N 受体结合位点突变 (相对于 2020–2021 疫苗株) 的 Group 3 流行新分支的衍生, 进一步提示在分子遗传水平上广州市 H3N2 流感病毒在持续进化。且随着流行的继续, Group 3 分支病毒是否会成为优势毒株继续流行, 并在此基础上增加新的抗原位点突变、进而出现相对于 2020–2021 疫苗株的抗原漂移, 有待于进一步密切监测。

研究证实, H5N6、H9N2、H7N9 等亚型流感病毒经常发生基因重组^[8-10]。本研究发现, 在流行期 II 分离的 2 株暴发疫情毒株的 HA 基因位于 Group 2 分支, NA 基因位于 Group 3 分支, 提示 Group 2 和 Group 3 之间存在基因重组的现象, 也表明 Group 2 和 Group 3 分支在流行期 II 共同流行, 重组时间可能发生在 2019 年 11–12 月。而 Group 2 分支部分毒株分离于流行期 I (2019 年 1–8 月), 同样提示存在 Group 2、3 毒株与 Group 1 毒株重组的风险, 因此需要警惕 H3N2 流感可能会通过基因重组的方式发生对新疫苗株的免疫逃逸。

本研究结合 H3N2 流感病毒分子进化和流行病学特点, 对广州市 H3N2 流感病毒的进化变异情况进行解析, 发现在疫苗免疫压力下 H3N2 流感病毒存在快速进化变异现象, 特别是发生了抗原位点的变异。流感病毒易于发生抗原漂移, 特别是在疫苗的选择压力下, 如何有效的对未来一段时间流感病毒的流行进行精准预测, 有待于更多研究。

综上所述, 2019 年广州市 H3N2 流感病毒的遗传变异包括位点突变和基因重组。在疫苗免疫压

力下 H3N2 流感病毒正在快速进化变异, 抗原位点变异逐渐累积, 进而出现新的抗原漂移。我国华南地区是 H3N2 流感病毒流行的重要地区^[11], 每年的流感流行高峰正处于新疫苗接种前后, 及时对 H3N2 流感病毒流行株进行变异监测, 对评估疫苗有效性、预警本地区流感流行十分必要。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Trebbien R, Fischer TK, Krause TG, et al. Changes in genetically drifted H3N2 influenza A viruses and vaccine effectiveness in adults 65 years and older during the 2016/17 season in Denmark[J]. J Clin Virol, 2017, 94: 1-7. DOI: 10.1016/j.jcv.2017.06.007.
- [2] Skowronski DM, Chambers C, Sabaiduc S, et al. Interim estimates of 2016/17 vaccine effectiveness against influenza A(H3N2), Canada, January 2017[J]. Euro Surveill, 2017, 22(6): 30460. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.6.30460.
- [3] Bedford T, Riley S, Barr IG, et al. Global circulation patterns of seasonal influenza viruses vary with antigenic drift[J]. Nature, 2015, 523(7559): 217-220. DOI: 10.1038/nature14460.
- [4] Shih ACC, Hsiao TC, Ho MS, et al. Simultaneous amino acid substitutions at antigenic sites drive influenza A hemagglutinin evolution[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(15): 6283-6288. DOI: 10.1073/pnas.0701396104.
- [5] 曹蓝, 李魁彪, 马钰, 等. 2017 年广州市流感暴发疫情病原学监测与分析[J]. 热带医学杂志, 2018, 18(12): 1619-1622. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2018.12.019.
- [6] 曹蓝, 鲁恩洁, 陈艺韵, 等. 2017–2018 年广州市 H3N2 流感病毒流行及血凝素基因分子特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(10): 899-904, 921. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2019.00.076.
- [7] 曹蓝, 鲁恩洁, 李魁彪, 等. 2017 年广州市 16 株 H3N2 流感病毒耐药基因分子特征分析[J]. 现代预防医学, 2019, 46(9): 1693-1697. DOI: CNKI:SUN:XDYF.0.2019-09-039.
- [8] Chen LJ, Lin XD, Tian JH, et al. Diversity, evolution and population dynamics of avian influenza viruses circulating in the live poultry markets in China[J]. Virology, 2017, 505: 33-41. DOI: 10.1016/j.virol.2017.02.009.
- [9] Li C, Wang SG, Bing GX, et al. Genetic evolution of influenza H9N2 viruses isolated from various hosts in China from 1994 to 2013[J]. Emerg Microbes Infect, 2017, 6(11): e106. DOI: 10.1038/emi.2017.94.
- [10] Zhang JP, Wu HJ, Zhang YS, et al. Molecular evolutionary and antigenic characteristics of newly isolated H9N2 avian influenza viruses in Guangdong province, China[J]. Arch Virol, 2019, 164(2): 607-612. DOI: 10.1007/s00705-018-4103-4.
- [11] Cheng XW, Tan Y, He ML, et al. Epidemiological dynamics and phylogeography of influenza virus in southern China[J]. J Infect Dis, 2013, 207(1): 106-114. DOI: 10.1093/infdis/jis526.