

从野鸭中分离到两种血凝素抗原 新类型的甲型流感病毒

郭元吉¹⁾ 高淑琴¹⁾ 王永新¹⁾ 张志强¹⁾
孟凡义¹⁾ 王敏¹⁾ 刘丽力¹⁾ 朱既明¹⁾

(中国医学科学院病毒学研究所, 北京)

本文报道了从17种不同品种野鸟的207分标本中,血凝阳性的27份中24份为甲型流感病毒,1份为副流感1型病毒,2份为NDV。而在24份甲型流感病毒中,有2份其血凝素是新类型的,暂将它们命名为:甲/京科/150/78(Havx Nav₈)和甲/京科/62/78(Havy Nav₈)。证实了在我国野鸟中流感病毒的分布是极复杂的,在同一时间,地点和同一群野鸭中可分离到各种不同类型的甲型流感病毒,说明在自然条件下流感病毒双重感染和重组的可能。同时证实了宣传能大大提高阳性的分离率,有利于克服标本的污染问题。此外并对本文结果与人类甲型流感病毒新亚型起源之间可能关系进行了讨论。

至今所有的甲型流感病毒各种不同表面抗原,基本上都能在鸟类的流感病毒中找到,同时一些工作者报道了^[1-3],鸟类流感病毒可能在甲型流感病毒新亚型起源中起到了重要的作用。为此,世界上许多工作者对鸟类流感病毒开展了大量工作并从禽类中分离到许多流感病毒^[4-7]。但早期的工作多集中于家禽方面,而近来多数工作已转移到野禽方面来。这是由于不少人认为,人甲型流感病毒新亚型可能是从野鸟来的,即由野鸟而感染家禽、家畜,再通过家禽、家畜传给人或与人的流感病毒产生重组,而形成新亚型并引起大流行。

在我国是否存在有利于流感病毒保存并与人有密切关系的动物?甲型流感病毒在我国动物中分布有何特点?它与人类甲型流感病毒新亚型出现有何内在联系?为了弄清这些问题,我们决定对流感病毒在我国动物中的分布及与人流感病毒之间关系进行调查研究。现将在野鸟方面的调

研工作报告如下:

材料与/方法

(一) 标本采集及运输

用猎枪射中后的候鸟,立即用棉花拭子涂抹泄殖腔和咽喉部或取一小段气管和直肠,而后将采集的标本放入装有5毫升用0.1M pH7.2的PBS配成的50%甘油保存液中,每毫升含有2,000单位青霉素,2.5毫克链霉素,6微克庆大霉素和100单位卡那霉素。每只野鸟泄殖腔和咽喉部的标本放在同一管中或一小段气管和直肠放同一管中,而后将标本管放入冰壶,尽快送实验室进行病毒分离或在-20℃—-30℃条件下暂时保存。

采样日期为1978年9—10月,地点为辽宁省丹东市孤山镇,该地为我国候鸟迁移必经之路之一。

(二) 病毒分离及抗原制备

标本进行分离时,在无菌条件下,将拭子反复

本文于1979年12月4日收到。

1) 中国医学科学院病毒学研究所; 2) 辽宁省卫生防疫站; 3) 辽宁省丹东市卫生防疫站。

表 1 标准鉴定血清

国 外 引 进		国 内 制 备	
A-RNP			
A/PR/8/34	H ₀	A/PR/8/34	H ₀
A/FM/1/47	H ₁	A/津防/78/77	H ₁
A/Singapore/57	H ₂	A/张防/4/57	H ₂
A/Hong Kong/1/68	H ₃	A/粤防/38/77	H ₃
A/Swine/Iowa/15/30	Hsw ₁	A/Swine/Iowa/15/30	Hsw ₁
A/Eq/Prague/1/56	Heq ₁	A/Eq/Prague/1/56	Heq ₁
A/Eq/Miami/1/63	Heq ₂	A/Eq/Miami/1/63	Heq ₂
A/FPV/Dutch/27	Hav ₁	A/FPV/Dutch/27	Hav ₁
A/Chick/Germ/N/49	Hav ₂	A/Chick/Germ/N/49	Hav ₂
A/Duck/Eng/56	Hav ₃	A/Duck/Eng/56	Hav ₃
A/Duck/Czech/56	Hav ₄	A/Duck/Czech/56	Hav ₄
A/Tern/S. Africa/61	Hav ₅	A/Tern/S. Africa/61	Hav ₅
A/Turkey/Mass/65	Hav ₆	A/Shearwater/Aust/1/73	Hav ₆
A/Duck/UKT/1/63	Hav ₇	A/鸭/京科/11778	Hav ₇
A/Turkey/Ont/6118/68	Hav ₈	A/Turkey/Ont/6118/68	Hav ₈
A/Turkey/Wisconsin/66	Hav ₉	A/Turkey/Wisconsin/66	Hav ₉
		A/鸭/苍防/1/78	Hav _x
		NDV	
A/Eq/Prague/1/56(Heq ₁)-NJ/76 (N ₁)	N ₁	A/津防/78/77	N ₁
A/Singapore/1/57	N ₂	A/粤防/38/77	N ₂
A/Eq/Prague/1/56	Neq ₁	A/Eq/Prague/1/56	Neq ₁
A/Eq/Miami/1/63	Neq ₂	A/Eq/Miami/1/63	Neq ₂
A/Duck/Eng/56	Nav ₁	A/Duck/Eng/56	Nav ₁
A/Tern/S. Africa/61	Nav ₂	A/Tern/S. Africa/61	Nav ₂
A/Turkey/Eng/63	Nav ₃	A/Turkey/Eng/63	Nav ₃
A/Turkey/Ont/6118/68	Nav ₄	A/沪防/132/76	Nav ₄
A/Shearwater/Aust/72	Nav ₅	A/鸭/京科/152/78	Nav ₅
A/Duck/Memphis/546/74	Nav ₆	A/鸭/苍防/1/78	Nav ₆

在管壁挤压数次后取出,有气管和直肠的标本用力振荡但不取出,低速离心沉淀,将上清接种 10—11 天胚龄的鸡胚,接种部位为羊膜腔和尿囊腔各 0.2 毫升,每份标本接种四个鸡胚,然后置 35℃ 培育 72 小时,用常规方法以 1% 鸡红血球检查羊水和尿液的血凝活性。如血凝阳性就可初步认为是阳性的标本;如阴性就将其羊水和尿液合并盲传一代,如仍为阴性就可认为是阴性的标本。所有血凝阳性的标本均经尿囊腔传 1—2 代,收其尿液,一部份置 -30℃ 保存,另一部份加入 0.02% 叠氮钠置 4℃ 保存待用,或于排除新城鸡瘟病毒 (NDV) 后,马上进行血凝抑制或神经氨酸酶抑制试验以鉴定表面抗原。

(三) 标准参照血清

两套标准参照血清:一套是国外引进的单价山羊免疫血清;另一套是自己制备的全病毒免疫的鸡血清(见表 1)。此外,所用副流感 I 型(HA₂和仙台)和 III 型的豚鼠免疫血清,是本所毒种组提供的。

(四) 血清学测定方法

型特异补体结合试验的抗原制备及操作按常规方法^[1]。血凝及血凝抑制测定采用常规的微量或大量法^[8],但血凝抑制测定时,病毒与抗体在室温结合 2 小时后,才加入 1% 鸡红血球。神经氨酸酶抑制测定是根据世界卫生组织公布的方法^[9]。溶血活性是根据 Yamane 等人所报道的方法^[10]。副流感鉴定,完全同参考文献[8]。

(五) 鉴定结果判断

表 2 病毒分离及鉴定结果

野鸟品种	采集份数	血凝阳性份数	正粘病毒数	副粘病毒数*	正粘病毒表面抗原特性**
小 鸕 鹚	2	1	1	0	1-Hav, Neq ₂
红 脚 鹚	3	0	0	0	
黄嘴白露	2	0	0	0	
苇 鹚	1	0	0	0	
白 眉 鸭	1	0	0	0	
罗 纹 鸭	1	0	0	0	
黑脸琵鹭	1	0	0	0	
麻 脸 鸭	1	0	0	0	
扁 嘴 鸭	2	0	0	0	
红 头 鸭	2	0	0	0	
江 白 鸭	1	0	0	0	
海 鸥	1	0	0	0	
油 鸭	2	0	0	0	
黄 毛 鸭	1	0	0	0	
斑 嘴 鸭	83	11	9	2	35,47-Hav, Neq ₂ , 62-Hav ₂ Nav, 120,130,138,139-Hav ₄ Nav, 150-Hav ₂ Nav ₆ , 161-Hav ₂ Nav ₆
秋 沙 鸭	73	7	6	1	11,12-Hav, Neq ₂ , 142-Hav ₄ Nav, 152-Hav ₆ Nav ₁ , 176-Hav ₂ Nav ₆ , 187-Hav ₆ Nav ₂
绿 头 鸭	30	8	8	0	57, 159-Hav, Nav ₆ , 131-Hav ₄ Nav, 148, 160-Hav ₄ Neq ₂ , 157-Hav, Neq ₂ , 163,174-Hav ₂ Nav ₆
合 计	207	27	24	3	9 种不同形式

* 其中两株为 NDV, 另一株为副流感 I 型
** 第一个数字为标本号, x、y 表示新的。

血凝阳性的标本, 凡是用甲型流感病毒可溶性抗原进行型特异补结为阳性或能被标准参照血清所抑制的均认为是正粘病毒; 凡是能被 NDV 标准免疫血清明显抑制的就是 NDV; 如不被 NDV 免疫血清所抑制, 但甲型流感病毒型特异补结为阴性而溶血活性为阳性时均认为是副粘病毒。经初步鉴定为甲型流感的毒株再用标准参照血清鉴定其血凝素和神经氨酸酶抗原类型。

结 果

(一) 血凝阳性标本的鉴定

从17种不同品种的野鸟(主要为野鸭)中共采集了 207 份标本, 分离到血凝阳性的标本 27 份, 其中两份明显地被 NDV 免疫血清所抑制, 故可认为是 NDV。其余的不被 NDV 免疫血清所抑制(其抑制效价均 <10)的 25 份, 用国际标准的参照血清

进行血抑鉴定,发现其中有3份不被所有已知的标准血清所抑制。这3份用甲型流感病毒型特异的补体结合试验鉴定结果,有2份为甲型流感病毒,1份不是甲型流感病毒。后者有明显的溶血能力,几乎测不出神经氨酸酶的活性,能被副流感I型免疫血清所抑制(HA_2 效价为1:120,仙台效价为1:70),故可认为是副流感I型病毒。最后我们将24份初步认为是甲型流感病毒的标本进行了表面抗原(血凝素和神经氨酸酶)的详细鉴定。27份血凝阳性的标本鉴定结果见表2。从表2可看出,在我国野鸟中流感病毒的带毒率是很高的,207份标本中就分离到24份(占11.6%)。同时所带病毒品种复杂,24株病毒中按其表面抗原(血凝素和神经氨酸酶)的组成就有9种: Havx Nav₆, Havy Nav₆, Hav₇ Ncq₂, Hav₄ Nav₆, Hav₂ Nav₆, Hav₆ Nav₅, Hav₆ N₂, Hav₇ Nav₆, Hav₆ Ncq₂₆。而9种中 Hav₇ Ncq₂, Hav₄ Nav₆ 和 Hav₂ Nav₆ 占多数,同时神经氨酸酶为 av₆ 的占绝大多数。有意义的是,从表2还可看出有两株病毒其血凝素不被国际的所有血凝素抗血清所抑制。这两株均从斑嘴鸭中分离到,其标本号分别为150和62。我们暂以 Havx 与 Havy 来表示(因我们进一步鉴定时这两株的血凝素相互间也不相同,见表3)。此外,还从秋沙鸭的187号标本中分离到一株其神经氨酸酶与人甲型流感病毒有密切关系的 N₂ 毒株。

是否不同品种野鸟中流感病毒带毒率存在着差别?因多数野鸟的标本太少,无法进行较精确的比较。从三种标本较多的野鸭中来看,绿头鸭流感病毒阳性分离率最高为26.7%;其次斑嘴鸭10.8%和秋沙鸭8.2%。

(二) 两株血凝素特殊毒株的进一步鉴定

不被国际标准参照血凝素抗血清所抑制的两株病毒(Havx Nav₆ 和 Havy Nav₆)除再用国际标准血清重复测定外,同时还用自己制备的标准参照的鸡免疫血清,用大量的血抑法进行重复测定,同样证实了这两株病毒的血凝素不被任何标准血清所抑制。如用 A/鸭/苍防/1/78 鸡免疫血清进行鉴定时,从单向抑制情况来看, Havx Nav₆ 与 A/鸭/苍防/1/78 是相似的毒株,但 Havy Nav₆ 仍然不一样。A/鸭/苍防/1/78 这个毒株,我们过去曾多次反复鉴定证实其血凝素是新类型的,并将它暂命名为: A/鸭/苍防/1/78 (Havx Nav₆)。接着我们就将 Havy Nav₆ 这个毒株制备了鸡免疫血清,同时制备了具有代表性的所有毒株的血凝素抗原,用大量法进行交叉抑制测定,结果见表3。表3结果同样证明了, Havx Nav₆ 和 Havy Nav₆ 这两个毒株不被任何测定血清所抑制, Havy Nav₆ 的免疫血清也不抑制任何标准毒株,而 A/鸭/苍防/1/78 (Havx Nav₆) 的免疫血清对 Hav₂ 和 Hav₃ 毒株有1:5的抑制,我们认为这是由于空间干扰所造成。因测定的 Hav₂ 毒株为 A/Chick/Germ/N/49 (Hav₂ Nav₁), Hav₃ 的毒株为 A/Duck/Eng/56 (Hav₃ Nav₁)。在我们工作中发现了 Nav₆ 与 Nav₁ 之间有明显的抗原性交叉。同时 Havx Nav₆ 和 Havy Nav₆ 之间也不存在有任何交叉反应。所以我们将这两个毒株暂命名为: A/鸭/京科/150/78 (Havx Nav₆) 和 A/鸭/京科/62/78 (Havy Nav₆)。

(三) 不同时间采集的样本中流感病毒的分布

Webster 等人曾口头上谈到了,在同一时间、地点和同一群野鸭中可分离到各种不同表面抗原的甲型流感病毒。在我国是否也存在这种情况,我们也进行了研究,其结果列于表4。表4结果清楚地表明

表 3 甲/鸭/京科/62/78 及甲/鸭/京科/150/78 毒株血凝素鉴定

病 毒	血 清													
	H ₀	H ₁	H ₂	H ₃	HSW ₁	Hcq ₁	Hcq ₂	Hav ₁	Hav ₂	Hav ₃	Hav ₄	Hav ₅	Hav ₆	Hav ₇
H ₀	>1280	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H ₁	—	>1280	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H ₂	—	—	>1280	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H ₃	—	—	—	>1280	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
HSW ₁	—	—	—	—	1280	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hcq ₁	—	—	—	—	—	>1280	—	—	—	—	—	—	—	—
Hcq ₂	—	—	—	—	—	—	1280	—	—	—	—	—	—	—
Hav ₁	—	—	—	—	—	—	—	640	—	—	—	—	—	—
Hav ₂	—	—	—	—	—	—	—	—	>2560	—	—	—	—	—
Hav ₃	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—	—
Hav ₄	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	320	—	—	—
Hav ₅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	640	—	—
Hav ₆	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	>2560	—
Hav ₇	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	320
Hav ₈	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	>2560	—
Hav ₉	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	>2560	—
A/鸭/苍防/1/78	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
A/鸭/京科/150/78	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
A/鸭/京科/62/78	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5

* —表示没做;所有的血清为鸡免疫血清。

表 4 不同日期从不同品种野鸟采集的标本中甲型流感病毒的分布

采样日期	野鸟品种	流感病毒 阳性份数	表 面 抗 原 类 型	主要类型
1978 年 9 月	小 嘴 鸕	1	Hav ₇ Neq ₂	
	斑 嘴 鸭	3	2 株 Hav ₇ Neq ₂ , Hav ₇ , Nav ₆	
	秋 沙 鸭	2	均为 Hav ₇ Neq ₂	Hav ₇ Neq ₂
	绿 头 鸭	1	Hav ₇ Nav ₆	
1978 年 10 月	斑 嘴 鸭	6	4 株 Hav ₄ Nav ₆ , Hav _x Nav ₆ , Hav ₂ Nav ₆	
	秋 沙 鸭	4	Hav ₄ Nav ₆ , Hav ₆ Nav ₆ , Hav ₂ Nav ₆ , Hav ₆ N ₂	Hav ₄ Nav ₆
	绿 头 鸭	7	2 株 Hav ₂ Nav ₆ , 2 株 Hav ₆ Neq ₂ , Hav ₇ Neq ₂ , Hav ₇ Nav ₆ , Hav ₄ Nav ₆	Hav ₂ Nav ₆

了,在相近的时间里,同一地点、同一野鸭群中甚至同品种野鸭中可分离到各种不同表面抗原的毒株,从 10 月份采集的标本中看得更加清楚。同时表明了,虽然可同时存在各种各样的毒株,但其中有主要的毒株: 9 月份采集的标本中主要毒株为 Hav₇ Neq₂, 在 7 份阳性标本中 Hav₇ Neq₂ 占了 5 份; 而 10 月采集的标本中 Hav₄ Nav₆ 与 Hav₂ Nav₆ 为主要毒株,在 17 株阳性标本中它们分别占了 6 株和 4 株,同时在三种不同野鸭中都分离到它们。

为证实上述情况不是实验室污染所造成,我们曾将 101—207 号标本,采样完后每份又分为两份,一分在辽宁省卫生防疫站进行病毒分离,另一分在病毒所进行,其结果: 病毒所从 107 份标本中分离到甲型流感病毒 13 份(占 12.1%),而辽宁省站分离到 12 份(占 11.2%),其中 8 份为两地同时分离到,并证实毒株表面抗原也是相同的,这就证实了不同表面抗原的存在不是实验室污染所造成,而是自然界存在的。

(四) 盲传对阳性分离率的影响

在病毒分离过程中较详细地比较了盲传与不盲传对鸟类流感病毒分离的影响。从 207 份标本中第一代就分离到流感病毒

的仅 4 份,占 1.9%,将阴性标本盲传一代后又获得了 17 份阳性标本,总共可获得 21 份,占 10.1%。盲传与不盲传之间存在着明显的差别($p < 0.01$),为提高阳性分离率盲传是非常必要的。

(五) 不同取样方法对阳性分离率的影响

在 10 月份采集的 125 份标本中,随机取 45 份有气管和直肠的标本,80 份用棉拭子取泄殖腔及咽喉的标本进行比较。结果在 45 份有器官组织的标本中分离到流感病毒的有 5 份占 11.1%,而棉拭子的 80 份标本中,8 份分离到流感病毒,占 10%,两者无明显差别($p > 0.05$)。

讨 论

本文是我国首次报道在野鸟中流感病毒初步调查的结果,着重报道在野鸟中分离到两株表面血凝素抗原是新类型的甲型流感病毒,而近年来国外已很少分离到新的表面抗原的毒株。这似乎表明世界不同地区野鸭中的抗原类型不尽相同,有必要在未调查过的地区进行更广泛的病毒分离鉴定工作,以明确究竟自然界存在多少种血凝素和神经氨酸酶,这对于阐明将来人

类流感病毒新亚型的起源是十分必要的。

我们的调查结果表明了,在我国野鸟中尤其野鸭中流感病毒的带毒率高,病毒品种复杂。在相近时间、地点和同一群野鸭中可同时分离到各种不同表面抗原的流感病毒。此外,由于野鸭等在水上群体生活,可通过水引起相互感染^[13],所以,流感病毒在野鸭中引起双重感染并产生重组的可能性是存在的。同时发现 A/鸭/乌克兰/1/65 (Hav₇ Neq₁) 这类毒株较大量地存在于我国野鸟中,24 份阳性标本中它占 6 份,而且还有两株为 Hav₇ Nav₆ (见表 3),这是否确实表明像 Webster 和 Laver 等人^[11,14,15]所推测的那样,甲₃型是由人的甲₁ (H₂N₂) 病毒与乌克兰一类病毒杂交而来?此外,我们从秋沙鸭中分离到一株神经氨酸酶为 N₂ 的毒株,同时在家鸭中同样发现了带有 N₂ 的毒株并分离到一株含有 H₂ 的毒株 (待发表)。最近 Shortridge 报道了,在香港地区从家鸭中分离到甲₁型 (H₂N₂) 毒株^[16],这是否与甲₁型 (H₂N₂) 首先发现于我国有关? Scholtissek 等人^[17]推测:由于病毒间重组或基因重分配而改变了宿主范围,旧亚型毒株就可以在动物中保存了下来,待在一定条件下,又产生第二次重组,旧亚型毒株又重新出现,再次在人群中引起流行。甲₁型于 1968 年在人群中绝迹后,其表面抗原确实在禽类中存在,将来是否通过重组重新出现并引起流行,是值得重视的。

从两个实验室分离情况来看,从 101—207 号标本两地共分离到 17 株病毒,而其中仅有 8 株是两地共同分离到的,有 4 株

辽宁分离到而病毒所未分离到,有 5 株病毒所分离到而辽宁未分离到。这种差别表明即使采取了盲传的方法,还有部分标本由于所含病毒量少或其它原因,在一次分离试验中可能漏检。

近来国外从禽类中分离流感病毒时,同时还分离到副粘病毒^[12]。我们也分离到一株副流感 I 型病毒。

参 考 文 献

- [1] Laver, W. G.: et al.: *Virology*, 48: 445, 1972.
- [2] Laver, W. G. et al.: *Virology*, 81: 482, 1977.
- [3] Webster, R. G. et al.: *Virology*, 67: 534, 1975.
- [4] Alexander, D. J. et al.: *J. Hyg. Camb.*, 79: 234, 1977.
- [5] Downin, I. C. et al.: *Virology*, 51: 15, 1977.
- [6] Shortridge, K. F. et al.: *Bull. WHO.*, 55: 15, 1977.
- [7] Webster, R. G. et al.: *L. Gen. Virol.*, 32: 217, 1976.
- [8] 全国流行性感冒中心研究室编: 流行性感冒手册, 人民卫生出版社, 北京, 1957.
- [9] Henry, M. A. et al.: *Bull. WHO.*, 48(2): 199, 1973.
- [10] Yamane, N. et al.: *Japan J. Med. Sci. Biol.*, 31: 407, 1978.
- [11] Webster, R. G. et al.: *J. Gen. Virol.*, 32: 217, 1976.
- [12] Alexander, D. J. et al.: *Archives of Virology*, 60: 105, 1979.
- [13] Hinshaw, V. S. et al.: *Intervirology*, 11: 66, 1978.
- [14] Webster, R. G. et al.: *Virology*, 48: 433, 1972.
- [15] Webster, R. G. et al.: *Progr. Med. Virol.*, 13: 271, 1971.
- [16] Shortridge, K. F.: *Lancet*, No. 8118, 1: 439, 1979.
- [17] Scholtissek, C. et al.: *Virology*, 91: 79, 1978.

ISOLATION FROM WILD DUCKS INFLUENZA GROUP OF VIRUSES: TWO TYPE A VIRUSES WITH NEW HEMAGGLUTININ

Guo Yuanji¹⁾ Gao Shuqin²⁾ Wang Yongxin³⁾ Zhang Zhiqiang³⁾

Meng Fanyi²⁾ Wang Min¹⁾ Liu Lili²⁾ Zhu Jiming¹⁾

(*Institute of Virology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing*)

In the present paper, isolation of 27 influenza group of viruses among 207 sample from 17 different species of wild birds. Among these, 24 were influenza virus type A, one, Parainfluenza Virus type 1, and 2, New Castle Disease Viruses. It is specially to be noted that 2 of the Influenza type A strains contained new hemagglutinin antigens. These have designated as A/Duck/Peking/150/78 (Havx Nav₆) and A/Duck/Peking/62/78 (Havy Nav₆) respectively.

In this paper, it was also pointed out that the distribution of influenza virus is varied in different wild birds in this country and that the diversity of Influenza A virus subtypes isolated even from a

single group of wild ducks at the same time and from the same place. This suggests the possibility of double infection in the same bird and recombination in the wild ducks under natural conditions. Besides, our results further showed that blind passages are always necessary for isolating of influenza group of viruses from wild ducks and to eliminate the contaminating bacteria. Finally, the possible bearing of the results obtained to the origin of new subtypes of human influenza virus is discussed.

1) Institute of Virology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing

2) Sanitary and Anti-epidemic Station of Liaoning Province

3) Sanitary and Anti-epidemic Station of Dandong, Liaoning