

# H7N9 禽流感病毒与其他流感病毒 对雪貂致病性与传播力的比较

邓巍, 许黎黎, 鲍琳琳, 朱华, 陈霆, 吕琦, 李枫棣, 袁静, 向志光,  
高凯, 徐艳峰, 黄澜, 李彦红, 姚艳丰, 于品, 雍伟东, 张连峰, 秦川

(中国医学科学院, 北京协和医学院, 医学实验动物研究所,  
卫生部人类疾病比较医学重点实验室, 国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室, 北京 100021)

**【摘要】** 目的 针对2013年3月中国爆发的人感染H7N9禽流感病毒,在雪貂体内进行致病性及传播力的研究,并与甲型H1N1流感病毒、H5N1禽流感病毒进行比较。方法 对新发H7N9毒株、甲型H1N1流感病毒、H5N1禽流感病毒感染雪貂后的临床症状、体征、呼吸道排毒情况、组织病理学变化等进行评价和比较,并对H7N9毒株在雪貂群体中的传播力进行研究。结果 雪貂模型的临床症状、死亡率、病毒传播以及组织病理学分析显示:H7N9病毒的致病性低于H5N1,与2009年起源于北美的甲型H1N1流感病毒相当。新发H7N9禽流感病毒可以在雪貂的呼吸道、心脏、肝脏以及嗅球进行复制。值得注意的是H7N9禽流感可以通过飞沫在雪貂间进行低水平的传播,并且在传播过程中,病毒基因组内有多位点的氨基酸发生了替换。结论 H7N9禽流感病毒对雪貂的致病性较H5N1禽流感病毒低,与甲型H1N1流感病毒对雪貂的致病性相当,H7N9禽流感病毒可在雪貂间进行传播。

**【关键词】** H7N9 禽流感病毒; 致病性; 传播力; 动物模型; 雪貂

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 01-0032-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.01.007

## Comparison of pathogenicity and transmissibility of the novel avian-origin human A (H7N9) influenza virus and other strains in ferrets

DENG Wei, XU Li-li, BAO Lin-lin, ZHU Hua, CHEN Ting, LV Qi, LI Feng-di, YUAN Jing, XIANG Zhi-guang,  
GAO Kai, XU Yan-feng, HUANG Lan, LI Yan-hong, YAO Yan-feng, YU Pin, YONG Wei-dong,  
ZHANG Lian-feng, QIN Chuan

(Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine, Ministry of Health, Institute of Medical Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences; Key Laboratory of Human Diseases Animal Models, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Peking Union Medicine College, Beijing 100021, China)

**【Abstract】 Objective** the novel avian-origin H7N9 subtype influenza virus caused outbreak of human infections in China since March 2013. The aim of this study was to better understand the pathogenicity and transmissibility of the H7N9 influenza virus in ferrets to verify whether this new emerging infectious H7N9 virus can infect humans, and to compare the transmission ability of this virus with that of other influenza virus subtypes in ferrets. **Methods** A/Anhui/1/2013 (H7N9) virus was administered by intranasal instillation to groups of ferrets. Clinical signs, virus shedding from respiratory tract and pathological changes were recorded. Meanwhile, the replication ability, virulence and pathogenicity were investigated in ferret models and compared with those of 2009 pandemic H1N1 and H5N1 influenza viruses. **Results** In the ferret models, based on the clinical signs, mortality, virus dissemination, and pathological analysis, the H7N9 influenza virus was found to be less pathogenic than the H5N1 virus but was comparable with the 2009 pandemic H1N1 virus. The H7N9

[基金项目] 科技部应急专项(项目号 KJYJ-2013-01-04)及国家科技重大专项(项目号 2012ZX10004-404, 2012ZX10004-501)。

[作者简介] 邓巍(1975-),男,助理研究员,研究方向:感染性疾病病理研究。

[通讯作者] 秦川,女,研究员,博士生导师。Email: qinchuan@pumc.edu.cn

virus could replicate in the upper and lower respiratory tract, heart, liver, and olfactory bulb. It is worth noting that the H7N9 virus exhibited low level of transmission between ferrets via respiratory droplets. There were four mutations in the virus isolated from the contact ferrets. **Conclusions** These data indicate that H7N9 subtype influenza virus is transmissible among ferrets, and the pathogenicity of avian-origin H7N9 subtype influenza virus is lower than that of H5N1 subtype influenza virus between ferrets, and is comparable to that of H1N1 influenza virus.

**【Key words】** H7N9 influenza virus; pathogenicity; transmissibility; animal models; Ferret

H7N9 禽流感是一种新型禽流感病毒,2013 年 3 月底在上海和安徽两地率先发现<sup>[1]</sup>。患者一般表现为流感样症状,如发热、咳嗽、少痰,可伴有头痛、肌肉酸痛和全身不适。重症患者病情发展迅速,表现为重症肺炎,体温大多持续在 39℃ 以上,并伴有呼吸困难<sup>[1]</sup>。大多患者有活禽接触史,并且该病毒可以跨越物种由家禽传给人<sup>[2]</sup>。值得注意的是,一旦该病毒通过进化具备了在人与人之间传播的可能性,必将引起流感大流行的爆发。2003 年荷兰爆发 H7N7 流感,出现了有限的人际间传播报道<sup>[3]</sup>。备受关注的是,这次流感的流行出现了三宗家庭聚集型病例<sup>[4]</sup>,这表明 H7N9 病毒具有有限的人际间传播的可能性。

序列分析发现,所有的 H7N9 禽流感病例(第一个实验室确诊的患者除外)的 HA(H3 编码)基因在 226 位出现了 Q 到 L 的替换<sup>[1,2]</sup>。这一位点氨基酸的替换可以改变病毒与人类受体结合的嗜性并增加病毒通过空气传播的可能性<sup>[5,6]</sup>。分离的四株 H7N9 病毒均具有 PB2-627K 或者 701N,这些位点是禽流感病毒 H5N1 和 H7N7 在哺乳动物间进行有效复制的关键位点<sup>[7]</sup>。这些特征表明 H7N9 病毒具有人流感病毒的一些特性<sup>[8]</sup>。因此,加强对新发 H7N9 病毒的致病性及传播力的研究,对于防范可能发生的禽流感疫情具有非常重要的现实意义。

本研究评价了 H7N9 流感病毒对雪貂的致病性(包括临床症状、排毒情况、病毒组织分布、病理学变化),并与高致病性禽流感 H5N1 以及 2009 年起源于北美的甲型 H1N1 流感病毒进行比较。同时,我们还对该病毒的传播力进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 病毒

流感病毒 A/Anhui/1/2013 (H7N9) 来自于第 3 例确诊的 H7N9 患者,发病后 14 d 死亡<sup>[1]</sup>。收集患者咽拭子,接种 9~11 d SPF 鸡胚,然后在 MDCK 细胞上传代一次。发现 HA 基因 226 位的氨基酸由 Q 突变为 L。这一位点的改变已经被证实可以增加

禽源病毒与人源受体结合的嗜性,进而增加通过空气传播的可能性。高致病性禽流感病毒 A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) 和甲型 H1N1 流感病毒 A/California/07/2009 (H1N1) 分离自患者,分别用鸡胚和 MDCK 扩毒。

### 1.2 细胞

MDCK 细胞购自 ATCC,无支原体污染,细胞用 MEM 培养基培养 (MEM, Invitrogen),培养基内加入 10% 的胎牛血清、100 IU/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素,培养条件为 37℃,5% CO<sub>2</sub>。

### 1.3 动物感染及标本采集

#### 1.3.1 致病性研究

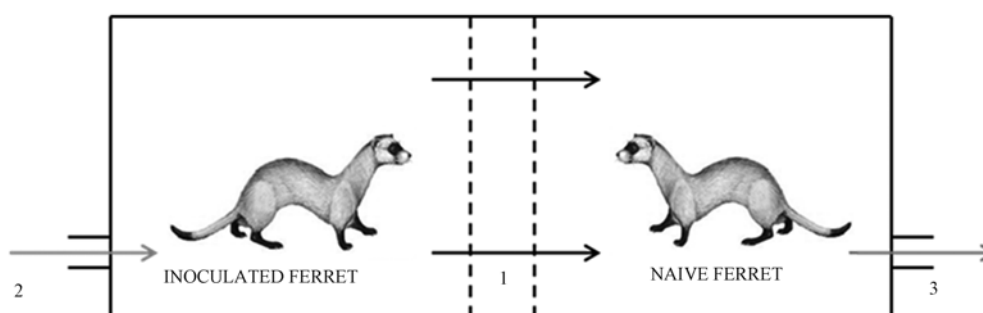
6~12 月龄,血清检测均为阴性的 SPF 级雪貂 (*Mustela putorius furo*) 9 只,由中国医学科学院医学实验动物研究所提供。动物分为 3 组,每组 3 只。分别滴鼻感染 500 μL 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub> 的 A/Anhui/1/2013 (H7N9) 病毒,10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub> 的 A/California/07/2009 (H1N1) 病毒,10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub> A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) 病毒。每天记录雪貂的临床症状及体重。感染后第 1、3、5、7、9 天采集感染雪貂的鼻拭子和咽拭子,置于 1 mL PBS 中,接种 MDCK 细胞,测定病毒滴度。攻毒后第 5 或第 7 天,将所有感染甲型 H1N1 病毒(5 d)、H5N1 病毒(5 d)及 H7N9 禽流感病毒(7 d)的雪貂全部安乐死,取其气管、肺、脑、心脏、肝脏、脾、肾、胃、十二指肠以及嗅球,进行病理学及病毒学检测。

#### 1.3.2 传播性研究

12 只雪貂平均分为两组,每组随机选取 3 只分别感染 500 μL 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub> A/Anhui/1/2013 (H7N9) 病毒和 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub> A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) 病毒。传播实验在特定的传播装置中进行,装置可以使气流由感染组流向被传播组,同时又可避免雪貂直接接触(图 1)。感染后 24 h,对应每只感染的雪貂在被传播笼内放入一只未感染的雪貂。为了避免操作者操作过程中人为的污染,取样时感染组雪貂与被传播组雪貂分别由两组实验人员按照先传播组后感染组的顺序进行操作。感染后第 1、3、5、7、

9、11、13 天采集感染组和被传播组雪貂的鼻拭子和咽拭子,接种 MDCK 细胞,测定病毒滴度。感染后

第 14 天收集感染组和被传播组雪貂的血清,HI 实验测定血清转化情况。



注:传播笼经过特定的设计使传播实验在负压隔离笼(0.8 m×0.8 m×0.8 m)内顺利进行,每个传播笼体系内放入一只感染雪貂和一只未感染雪貂。每个雪貂笼为 40 cm×40 cm×45 cm(W×H×L),两个雪貂笼之间用不锈钢网隔开(1),网的大小为 0.5 cm<sup>2</sup>,两网相距 8 cm。隔离笼内的负压使高效过滤的空气(2)由感染组流向被传播组。出口气流(3)经过高效过滤,避免感染甲型流感病毒粒子的空气连续循环,同时也可避免交叉污染。箭头指示的方向为气流流向。

图 1 成对传播笼原理图

Note: The transmission cage was specifically designed to allow transmission experiments to be conducted in negatively pressurized isolator cages (0.8 m×0.8 m×0.8 m) in the ABSL-3 facility. Three ferrets were inoculated with 106 TCID<sub>50</sub> of A/Anhui/1/2013 (H7N9) virus or 104 TCID<sub>50</sub> of A/Vietnam/1203/2004 (H5N1) virus, respectively. The ferrets were housed in cages, in which each inoculated animal was housed individually next to a naïve ferret. Each ferret cage was 40 cm×40 cm×45 cm (W×H×L) and the two cages were separated by two stainless steel grids (1), with a grid size of 0.5 cm<sup>2</sup> and 8 cm apart. Negative pressure within the isolator cage is used to direct a modest (<0.1 m/sec) flow of HEPA-filtered air [11] from the inoculated to the naïve ferret. The outlet airflow (3) is HEPA filtered to prevent continuous circulation of infectious influenza A virus particles and to prevent cross-contamination. Arrows indicate airflow.

Fig. 1 Schematic presentation of paired transmission cages

本实验由北京协和医学院实验动物研究所动物使用和伦理委员会批准(ILAS-PC-2013-007)。所有的雪貂被随机分组,所有的实验都按照 WHO 指导原则在 ABSL-3 实验室中进行[卫 ABSL3-021]。

#### 1.4 病毒滴度

用 MDCK 细胞测定病毒的滴度。10 倍系列稀释的组织匀浆、鼻拭子以及咽拭子接种于单层 MDCK 细胞中,37℃ 孵育 1 h 后,用 PBS 洗一次,加入 200 μL 病毒培养基(MEM 培养基中加入 100 U/mL 青霉素,100 μg/mL 链霉素和 1 μg/mL 胰蛋白酶),接种后第 3 天,收集被感染细胞上清,用火鸡血测定凝血活性,以此判定细胞是否被感染。利用 Reed-Muench 计算组织细胞半数感染量(TCID<sub>50</sub>)<sup>[9]</sup>。

#### 1.5 组织病理和免疫组化

根据实验方案进行动物解剖,组织置于 4% 甲醛中固定,石蜡包埋后,进行 4 μm 厚的连续切片,苏木精-伊红(H&E)染色,光学显微镜进行检查。免疫组化使用抗甲型流感病毒核蛋白的单克隆抗体(1:200 稀释,IRR 有限公司,货号:FR-51),

4℃ 过夜,PBS 洗涤三次,加入 HRP 标记的羊抗鼠二抗(1:5000 稀释,Sigma 公司,货号:PV-9002),加入 3-3-二氨基联苯胺(DAB),光学显微镜观察。

#### 1.6 血凝抑制试验(HI)

使用 0.5% 的火鸡血进行雪貂血清的血凝抑制实验。采集雪貂外周血,分离血清,按照 WHO 颁布的标准 HI 测定方法测定收集的的血清对 H7N9 病毒的血凝抑制效价。

#### 1.7 基因组测序

使用 Qiagen 公司的 RT-PCR 试剂盒进行反转录,然后设计引物扩增全基因组序列。使用 Qiagen 公司的胶回收试剂盒纯化 PCR 产物。我们使用 ABI3730XL DNA 自动分析仪(Life Technologies 公司)和 ABI 公司的 BigDye 终止子 v3.1 循环测序试剂盒(Life Technologies 公司)进行测序。

#### 1.8 统计分析

在不同组之间存在的差异进行 ANOVA 单因素方差分析和 Bonferroni 校正分析。两组之间的差异运用 SPSS 11.5 软件包中的 t-检验进行分析。P < 0.05 时,认为两者之间存在显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 症状和体征

将 H7N9 病毒、H1N1 病毒及 H5N1 病毒分别滴鼻感染雪貂。雪貂的体重变化用与初始体重的百分比表示。结果显示,三株病毒均能引起打喷嚏、竖毛、活动减少以及食欲下降。H5N1 组的雪

貂于感染后第 4 天死亡一只,H7N9 和 H1N1 组的雪貂均未死亡。体重下降最为明显的是 H5N1 组,在感染后第 5 天平均体重下降了 13.0%,H1N1 组平均下降 8.2%,H7N9 组平均下降 9.2% (表 1 和图 2)。H1N1 组的雪貂于攻毒后第 4 天临床症状开始改善,H7N9 和 H5N1 组雪貂从第 5 天开始改善。

表 1 H7N9 病毒、甲型 H1N1 病毒、H5N1 病毒在雪貂体内的复制情况

Tab. 1 Replication of H7N9 virus, 2009 pandemic A (H1N1) virus, and H5N1 influenza virus in ferrets

病毒 Virus	临床表现 Clinical signs			处死时间 Times of euthanasia
	体重下降 Weight Loss (%) <sup>a</sup>	打喷嚏 <sup>b</sup> Sneezing	致死 Lethality	
H7N9	3/3 (9.2)	3/3	0/3	7 d. p. i.
2009 pdm A(H1N1)	3/3 (8.2)	2/3	0/3	5 d. p. i.
H5N1	3/3 (13.0)	3/3	1/3	5 d. p. i.

病毒 Virus	病毒滴度 Virus titer (Log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /克组织)									
	气管 Trachea	肺 Lung	脑 Brain	心 Heart	肝 Liver	脾 Spleen	肾 kidney	肠 Intestine	嗅球 Olfactory bulb	
H7N9	3.92	3.16	Neg	Neg	2.65	Neg	Neg	Neg	Neg	
2009 pdm A(H1N1)	Neg	1.91	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	1.87	ND <sup>c</sup>	
H5N1	5.17	3.93	4.92	1.80	Neg	Neg	1.82	3.31	ND	

注:<sup>a</sup>攻毒后体重下降的百分数;<sup>b</sup>攻毒后打喷嚏的动物数;<sup>c</sup>ND:未进行实验。

<sup>a</sup>The percentage mean maximum weight loss after inoculation; <sup>b</sup>Number of animals in which sneezing was observed after inoculation; <sup>c</sup>ND: not done.

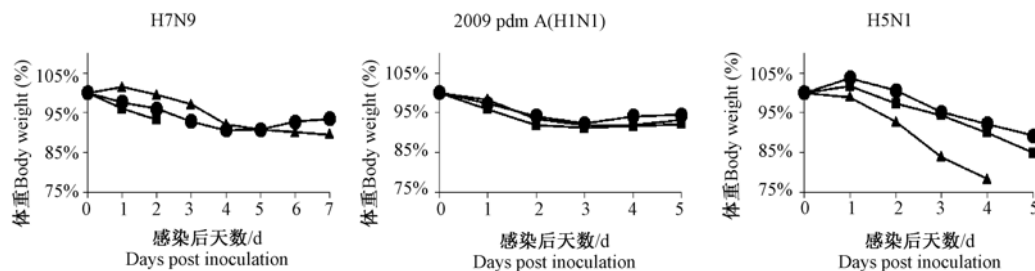


图 2 感染 H7N9 病毒、甲型 H1N1 病毒及 H5N1 病毒后雪貂的体重变化情况

Fig. 2 Changes of body weight of the ferrets intranasally challenged with H7N9 virus, 2009 pandemic A (H1N1) virus or H5N1 influenza virus

### 2.2 动物排毒情况

感染后第 1、3、5、7、9 天采集感染雪貂的鼻拭子和咽拭子,接种 MDCK 细胞进行病毒滴度的测定。感染后第 1 天所有感染雪貂开始排毒,H7N9 组的雪貂排毒一直持续到感染后第 7 天。除感染后第 5 天三株病毒排毒情况相当外( $P > 0.05$ ,  $t$ -检验),感染甲型 H1N1 病毒的雪貂比感染 H7N9 或 H5N1 病毒的雪貂上呼吸道鼻拭子的排毒量略高( $P < 0.05$ ,  $t$ -检验)。咽拭子的情况类似,感染甲型 H1N1 病毒的雪貂排毒量也高于 H7N9 或 H5N1 病毒组的雪貂 ( $P < 0.05$ ,  $t$ -检验) (图 3)。

### 2.3 解剖及病理学变化

攻毒后第 5~7 天,将感染甲型 H1N1 病毒(第 5

天)、H5N1 病毒(第 5 天)及 H7N9 禽流感病毒(第 7 天)的存活雪貂全部安乐死,取其气管、肺、脑、心脏、肝脏、脾、肾、胃、十二指肠以及嗅球,进行病理及病毒学检测。组织病理学分析显示,感染 H7N9 病毒的雪貂肺组织于感染后第 7 天肺组织可见局灶性间质性肺炎及肺泡炎样改变,并出现病灶融合的现象(图 4E),感染甲型 H1N1 病毒的雪貂与感染 H7N9 病毒的雪貂呈现类似的间质性肺炎(图 4C),感染 H5N1 病毒的雪貂肺组织表现出严重的坏死性肺炎,在肺组织中可见明显的炎症性充血、出血、水肿和坏死的病变(图 4D)。另外,免疫组化方法显示感染 H7N9 禽流感病毒雪貂的支气管和肺泡上皮细胞内均含有病毒抗原成分(图 4F-4H)(图 4 见彩插 10)。

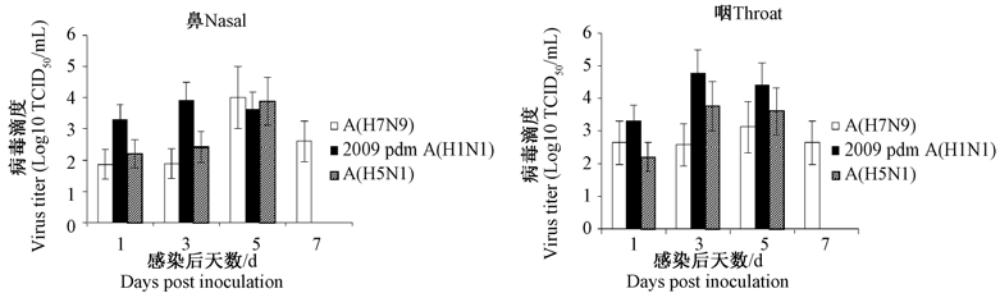


图 3 H7N9 病毒、甲型 H1N1 病毒、H5N1 病毒感染雪貂后鼻拭子和咽拭子的病毒滴度

Fig. 3 Nasal and throat swab virus titers of ferrets challenged with H7N9 virus, 2009 pandemic A (H1N1) virus or H5N1 influenza virus

2.4 传播能力研究

H7N9 和 H5N1 病毒感染雪貂 24 h 后,对应每只感染的雪貂在被传播笼内放入一只未攻毒雪貂。每天观察雪貂的病症,感染后第 0、1、2、3、5、7、9、11、13 天采集感染组和被传播组雪貂的鼻拭子和咽拭子,检测雪貂的排毒情况。根据感染组和被传播组雪貂的血清转化来判定雪貂是否被感染。结果显示,感染 H7N9 病毒的雪貂于感染后第 1 天开始排毒,鼻拭子和咽拭子均可分离到病毒,感染后第 5 天病毒滴度高

达  $10^{3.94}$  TCID<sub>50</sub>/mL,而感染后第 9 天起不再排毒。值得注意的是,被传播组有一只雪貂被感染 H7N9 病毒,并在合笼后的第 7~11 天内检测到病毒,排毒峰值高达  $10^{4.01}$  TCID<sub>50</sub>/mL (9 d. p. i.) (图 5)。同时,血凝抑制试验显示被感染 H7N9 病毒的这只雪貂抗体滴度高达 640。相比之下,感染 H5N1 病毒的雪貂,尽管感染后第 1 天即开始排毒,病毒滴度高达  $10^{3.88}$  TCID<sub>50</sub>/mL (5 d. p. i.),但被传播组的雪貂鼻拭子和咽拭子检测结果均为阴性。

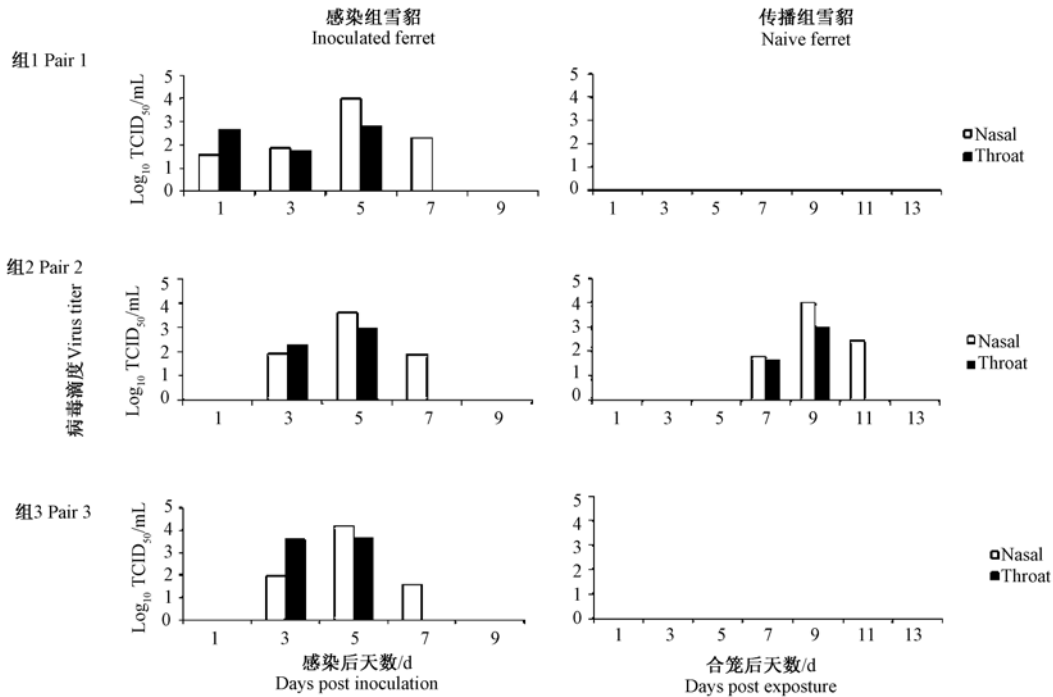


图 5 H7N9 病毒在雪貂之间的传播

Fig. 5 Transmission of H7N9 influenza virus between ferrets

3 讨论

甲型 H1N1 流感病毒已被证实可以在雪貂及人群内有效传播,有研究证实 H7N9 病毒可以跨越物

种由禽传给人<sup>[2]</sup>,这一点类似于 H5N1 禽流感病毒。我们以前的研究显示 H5N1 禽流感病毒对雪貂的致病性较强,故本研究动物感染的病毒滴度 H5N1 病毒较其他两种病毒低<sup>[11]</sup>。值得注意的是,只有一部

分患者有过活禽接触史。而且,这次流行出现了三宗家庭聚集型病例<sup>[4]</sup>,这表明 H7N9 病毒已经具有人传人的可能性。本研究通过雪貂模型分析比较 H7N9 及 H5N1 禽流感病毒在哺乳动物间的传播情况,结果显示,新发禽源 H7N9 病毒可以在雪貂的上呼吸道和下呼吸道进行有效的复制,并且可以在雪貂之间通过飞沫进行有效传播。

应该指出的是这只被感染的雪貂是所有被传播组雪貂中体重最轻的,这可能暗示病弱者更易感染 H7N9 病毒。这一结果与临床观察结果相吻合,多数患者年龄较大,平均为 63 岁,并且大多数患者体质较弱,伴有高血压、慢性支气管炎、慢性风湿性心脏病<sup>[4]</sup>。同时,被感染的这只雪貂在合笼后第 7 天开始排毒,这一结果也与临床观察结果相似:初始感染到症状发作一般超过 6 d<sup>[1, 2]</sup>。Zhu 等<sup>[10]</sup>研究结果也证实,三分之一的被传播组雪貂可以通过空气传播感染上 H7N9 病毒,但被传播上病毒的雪貂的排毒期为合笼后的 3~8 d。这种差异可能与实验中使用不同的毒株以及雪貂差异有关。

本研究结果显示,H7N9 病毒与甲型 H1N1 病毒对雪貂的致病性相当但与致死性禽流感 H5N1 相比,其致病性稍弱,H7N9 禽流感病毒可在雪貂间进行传播。本文为研究 H7N9 病毒对哺乳动物的致病性及传播力提供了重要数据。

(本文图 4 见彩插 10)。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] Gao R, Cao B, Hu Y, et al. Human Infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus [J]. N Engl J Med. 2013, 368(20):1888-1897.
- [ 2 ] Chen Y, Liang W, Yang S, et al. Human infections with the emerging avian influenza A H7N9 virus from wet market poultry: clinical analysis and characterisation of viral genome [J]. Lancet. 2013, 381(9881):1916-1925.
- [ 3 ] Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, et al. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands [J]. Lancet. 2004, 363(9409):587-593.
- [ 4 ] Li Q, Zhou L, Zhou M, et al. Preliminary report: epidemiology of the avian influenza A (H7N9) outbreak in China [J]. N Engl J Med. 2013. [Epub ahead of print].
- [ 5 ] Herfst S, Schrauwen EJ, Linster M, et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets [J]. Science. 2012, 336(6088):1534-1541.
- [ 6 ] Imai M, Watanabe T, Hatta M, et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets [J]. Nature. 2012, 486(7403):420-428.
- [ 7 ] Hatta M, Gao P, Halfmann P, et al. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses [J]. Science. 2001, 293(5536):1840-1842.
- [ 8 ] Kageyama T, Fujisaki S, Takashita E, et al. Genetic analysis of novel avian A (H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013 [J]. Eurosurveillance, 2013, 18(15):pii=20453.
- [ 9 ] Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints [J]. Am J Hygiene. 1938, 27:493-497.
- [ 10 ] Zhu H, Wang D, Kelvin DJ, et al. Infectivity, transmission, and pathology of human H7N9 influenza in ferrets and pigs [J]. Science. 2013, 341(6142):183-186.
- [ 11 ] 鲍琳琳, 占玲俊, 邓巍, 等. 建立 H5N1 流感病毒感染雪貂动物模型 [J]. 中国比较医学杂志. 2011, 21(9):40-44.

[收稿日期] 2013-10-15