家畜衛試所研報 No.51：53~68 (2017)

# 2015 年臺灣家禽流行性感冒病毒 H5Nx 各亞型分子流行病學分析

陳麗璇*、劉玉彬、林育如、李敏旭、李婉甄、陳燕萍、鄭明珠

行政院農業委員會家衛生試驗所

**摘要** 2015 年初臺灣爆發新型 H5Nx 高病原性家禽流行性感冒 (禽流感)疫情，造成家禽產業重大損失；因此選擇不同亞型及部份代表株進行病毒分子流行病學分析。在 2015 年完成 H5N2、H5N3 與 H5N8 三種亞型包含從鵝、鴨、雞與野鳥等不同來源共 27 株新型高病原性病毒，血球凝集素及基質蛋白基因均與 2014 年韓國鴨 H5N8 禽流感病毒相近，依 H5 基因序列分析結果則同樣歸類於中國大陸自 1997 年爆發人類感染 H5N1 病毒所演化之 2.3.4.4 分群，而神經胺酸酶基因 N8 亞型之病毒仍相似於韓國 H5N8 病毒，N2 與 N3 亞型則與循環在候鳥的流感病毒相似。整體來說，目前完成定序的 27 株病毒株中，除其中一群 H5N8 亞型病毒的八段基因均與 2014 年韓國爆發 H5N8 病毒群相似之外，另計有四群與其他流感病毒有基因再交換的情況。為降低家禽流行性感冒病毒持續基因再交換與變異的發生率，臺灣家禽場應積極進行病毒清除才是上策。

*關鍵詞：家禽流行性感冒、分子流行病學*

## 緒言

家禽流行性感冒(禽流感)病毒屬A型流行性感冒病毒，目前在禽類可檢出的表面血球凝集素抗原(Hemagglutinin, HA)有16種，普遍存在於野生水禽，穩定演化且不具病原性，但在傳播至家禽或哺乳動物身上後便會快速演化[20]。H5及H7亞型禽流感病毒在陸禽中，常演化出高致病性的禽流感病毒，自從中國大陸1997年爆發人類感染禽類的H5N1後(GS/GD H5N1)，更是成為關注的焦點。在2010年之後演化出2.3.4分群，陸續於中國大陸的家禽或野生水禽檢出H5N2, H5N5, H5N6及H5N8等不同神經胺酸酶(NA)亞型之高病原性H5病毒[3, 19]，顯示該病毒基因再交換愈加頻繁。

臺灣自民國1998年起，建立野鳥濕地排遺之禽流感監測系統，期以該系統能在鄰近臺灣周圍均有GS/GD H5N1禽流感病毒感染國家的威脅之下，提供預警的功能。而長期監測之結果已分離及收集400多株各種亞型之禽流感病毒，多數病毒之基因均屬於歐亞基因群，但卻不曾於野鳥濕地排遺監測系統檢出高病原性之H5或H7病毒[5]。

臺灣另於2003年底遭受北美洲之墨西哥H5N2低病原性禽流感病毒入侵，並與臺灣存在已久之H6N1禽流感病毒基因再交換獲取內部6段基因[6,12]。其後長期存在於臺灣家禽場的情形之下，HA基因已演化出兩群[10]，其病毒演化亦趨向高病原性[6]，並以實驗證實該美洲H5禽流感病毒株以胚胎蛋或雞隻進行連續繼代之後，均會轉為高病原性禽流感[4,17]。而2015年初臺灣家禽場更爆發了中國大陸GS/GD H5N1禽流感病毒所演化之2.3.4.4分群之高病原性H5禽流感病毒[14]。

臺灣於2015年爆發之2.3.4.4分群高病原性H5病毒卻早於2014年冬天已入侵美國、加拿大、日本、韓國、德國、英國及俄國等歐洲多國[16]，為了解各新入侵病毒的特性，本計畫針對2015年臺灣爆發之H5Nx病毒株進行病毒分子流行病學分析，以解析這些病毒之基因組態。

*抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

家畜衛試所研報 No.51：53~68 (2017)

# 材料與方法

## 病毒株來源

由各地方動物防疫機關後送家畜衛生試驗所之家禽飼養場病性鑑定檢體，經至少2代9-11日齡之雞胚胎蛋之盲目繼代進行病毒分離後，若胚胎蛋之尿囊液呈現血球凝集特性，則進一步檢驗區別禽流感及新城病病毒，若為禽流感病毒陽性，則再選擇代表性之病毒株進行全基因之定序。

## 病毒RNA之萃取

具血球凝集特性之尿囊液取200 μL，利用MagNA Pure Compact (Roche)之全自動核酸萃取機及MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation kit萃取病毒之RNA核酸，最後之萃取體積為100 μL，並置於-20℃待用。

## 反轉錄聚合酶鏈反應 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)與禽流感病毒全基因定序

家禽流行性感冒及新城病病毒之鑑定：待測核酸取2 μL加入含5 μL之10X緩衝液、0.5 μL 25 mM dNTP、2 μL 10 mM正向及反向引子、0.6 μL DNA聚合酶、0.2 μL鳥類骨髓母細胞症病毒反轉錄酶(AMV)及核醣核酸酶抑制劑之總量50 μL反應液。待測核酸需分別使用禽流感及新城病病毒特異性引子進行檢測[2, 13]，以不同反應管進行RT-PCR。配製完成之反應管置於熱循環反應器中，以下列條件進行核酸增幅：42℃ 40分鐘及95℃ 2分鐘後，再進行35次循環的95℃ 30秒、55℃ 40秒和72℃ 40秒；最後72℃ 7分鐘後再降至25℃結束反應。增幅後產物及核酸標幟物放入含溴化乙錠之2%瓊脂凝膠中，在盛滿0.5% TAE緩衝溶液之水平式電泳槽內，以100伏特電壓進行電泳。電泳結束後，電泳膠片置於紫外燈箱上觀察，禽流感或新城病陽性則會分別出現330 bp及221 bp大小之產物。

禽流感全基因定序則是依Hoffmann所描述 [7]，分別增幅八段全長基因之方式進行RT-PCR，所得之產物以TOPO TA cloning套組選殖後送交生物科技公司 (Mission Biotech)進行定序，所得定序結果以DNASTAR軟體進行編輯與組合。

## 基因序列比對及親緣性分析

定序所得之序列訊號檔案，以DNASTAR軟體中的SeqMan程式進行組合，組合出禽流感之完整八段基因後，再與GenBank上其他禽流感病毒之各段序列以Megalign程式中Clustal W方式進行各病毒之間的序列排列比對，進而計算彼此之間的差異，並繪製親緣分析樹。最後以MEGA 6軟體計算親緣分析樹上各節點之bootstrap數值。

# 結果

選擇2015年爆發新型H5禽流感病毒進行全基因定序，包含H5N2、H5N3及H5N8不同亞型感染鴨、雞、鵝與野鳥不同動物共計27株新型禽流感病毒(表1)，其中H5N2亞型計有13株，H5N3亞型計有5株，而H5N8亞型則有9株。所有27株病毒H5及基質蛋白(M)基因彼此之間，有相當高的相似度 (分別為98.9~100%及99.4~100%)，且H5及M基因均與2014年日韓爆發H5N8禽流感病毒之H5及M基因相近 (圖1及圖2)，分別為98.6~99.4%及99.4~99.9%。

針對NA基因比對 (圖3)，N2基因相近於2011年吉林省向海野鳥H5N2禽流感病毒株(97.1~97.7%)，本研究13株新型H5N2病毒彼此之間則有99%以上的相似度，而與臺灣以往隸屬北美分群H5N2禽流感病毒之N2基因則有82.6~84.5%的相似度；N3基因則與2013年中國江西鴨H10N3禽流感病毒之N3基因相近 (99.1~99.2%)，本研究5株新型H5N3病毒彼此之間有99.7%以上的相似度；N8基因則與2014年韓國鴨H5N8禽流感病毒之N8基因相近(98.4~98.7%)，9株H5N8新型病毒彼此之間則有99.6%以上的相似度。

臺灣所分離到之新型H5Nx亞型病毒，相似於2014年韓國爆發H5N8禽流感病毒或與歐亞野鳥病毒株基因再交換的病毒，依照其親緣分析樹及內在基因之組成可分為下列5群 (圖1-8及表2)：(a) H5N8 type 0 (H5N8-0)：均與2014年韓國H5N8病毒相似基因；(b) H5N8 type I (H5N8-I)：兩段相似於源

自野鳥禽流感病毒基因(PB1, NP)；(c) H5N8 type II (H5N8-II)：四段相似於源自野鳥禽流感病毒基因(PB2, PB1, NP, NS)；(d) H5N2：六段相似於源自野鳥禽流感病毒基因(PB2, PB1, PA, NP, NA, NS)；(e) H5N3：四段相似於源自野鳥禽流感病毒基因(PB2, PB1, NP, NA)；此結果亦與Huang等的結果一致 [8]。

另外，為追蹤了解新型家禽流行性感冒爆發後病毒之變異與演化，將2015年1月與8月送檢之病例所分離之H5N2及H5N8病毒進行序列比較分析，1月份與8月份相同亞型病毒彼此8個基因片段之相似度仍大於99.2%以上，以HA基因來看仍屬於2.3.4.4分群的新型H5高病原性家禽流行性感冒病毒。8月分離之鴨H5N8禽流感病毒株(H23)與1月分離之鵝H5N8禽流感病毒株(a15)，8段基因核酸序列相似度仍大於99.7%以上。8月分離之雞H5N2禽流感病毒株(H24)與1月分離之雞H5N2禽流感病毒株(a288)，8段基因核酸序列相似度仍大於99.2%以上(表3)。

## 討論

臺灣所分離到之新型H5Nx亞型禽流感病毒均為2014年韓國H5N8禽流感病毒株或與源自歐亞野鳥禽流感病毒株交換0~6段基因之重組組合，顯示臺灣所分離到2.3.4.4分群之H5Nx亞型禽流感病毒基因組成較複雜於歐洲及北美洲等地所發生之2.3.4.4分群H5N8禽流感病毒(表2)。臺灣與美加H5Nx禽流感病毒株均建構於2.3.4.4分群H5N8禽流感病毒之HA與M基因主幹上，依據H5親緣樹分析，四群發生基因再交換的2.3.4.4分群H5Nx亞型禽流感病毒可能源自極相似的病毒株且於極接近之時間與不同病毒產生基因再交換。其中H5N8-II與H5N3群病毒株因分享相同來源之PB2、PB1及NP之基因（圖6-8），可能為鄰近時間與地點發生之基因再交換事件。

未來禽流感病毒在基因再交換與突變上的風險仍然是有的，原因在於家禽流行性感冒病毒本身具高變異性及基因再交換的特性，而2015年臺灣家禽場爆發新型禽流感高病原性病毒時有混合亞型感染的情況，不僅有新型H5N2與H5N8禽流感病毒混合感染、新型H5N2與H5N3禽流感病毒混合感染，甚至有新型H5N2禽流感病毒與臺灣已往隸屬北美分群H5N2禽流感病毒混合感染，恐為病毒基因再交換的溫床[1]。

禽流感病毒持續存在於家禽場，就有持續演化的機會，對家禽的病原性增加[4, 6, 17]，基因再交換的機率亦大增，尤其該病毒基因再交換情形頻繁[3, 18, 19]，即使是2.3.4.4分群H5N8禽流感病毒於2010年首次在江西檢出 [21]，但於2014年韓國鴨群爆發之際，已又造成PB2及NS基因再交換或PB1、PA及NS基因再交換後之H5N8禽流感病毒[15]。另計算韓國爆發之2.3.4.4分群H5N8禽流感病毒演化速率也比以往GS/GD H5N1禽流感病毒快2倍[9]。因此2.3.4.4分群H5禽流感病毒不僅可基因再交換不同NA亞型，也可重組內部六段基因，持續傳播感染亦使得演化速率加快，增添2.3.4.4分群病毒鑑定的困難度。

另外，進行初期與近期同亞型病毒之基因比較，同亞型病毒之間各段基因仍有99.2%以上之相似度，並維持各自病毒群之基因組成，但對於降低病毒基因再交換、演化與變異的發生率，仍惟有積極清除家禽流行性感冒病毒才是不二法門。

家畜衛試所研報 No.51：53~68 (2017)

表1、2015年臺灣爆發新型H5Nx禽流感病毒定序暨親緣演化分析病毒株之背景資料。

| Isolation | Subtype | Host | Month | Location |
|---|---|---|---|---|
| A/goose/Taiwan/a41/2015 | H5N8 | goose | 1 | Taoyuan |
| A/duck/Taiwan/a277/2015 | H5N8 | duck | 1 | Yunlin |
| A/goose/Taiwan/a3/2015 | H5N8 | goose | 1 | Chiayi |
| A/goose/Taiwan/a15/2015 | H5N8 | goose | 1 | Chiayi |
| A/chicken/Taiwan/f29/2015 | H5N8 | chicken | 6 | Changhua |
| A/duck/Taiwan/h23/2015 | H5N8 | duck | 8 | Chiayi |
| A/duck/Taiwan/a68/2015 | H5N8 | duck | 1 | Tainan |
| A/chicken/Taiwan/b214/2015 | H5N8 | chicken | 2 | Tainan |
| A/goose/Taiwan/e14/2015 | H5N8 | goose | 5 | Pingtung |
| A/goose/Taiwan/a4/2015 | H5N2 | goose | 1 | Yunlin |
| A/goose/Taiwan/a5/2015 | H5N2 | goose | 1 | Yunlin |
| A/goose/Taiwan/a40/2015 | H5N2 | goose | 1 | Taoyuan |
| A/duck/Taiwan/a43/2015 | H5N2 | duck | 1 | Changhua |
| A/quail/Taiwan/a234/2015 | H5N2 | quail | 1 | Pingtung |
| A/heron/Taiwan/a289/2015 | H5N2 | heron | 1 | Taitung |
| A/chicken/Taiwan/a288/2015 | H5N2 | chicken | 1 | Changhua |
| A/chicken/Taiwan/a399/2015 | H5N2 | chicken | 1 | Taichung |
| A/duck/Taiwan/A3437/2015 | H5N2 | duck | 2 | Nantou |
| A/goose/Taiwan/d8/2015 | H5N2 | goose | 4 | Changhua |
| A/chicken/Taiwan/d27/2015 | H5N2 | chicken | 4 | Yunlin |
| A/chicken/Taiwan/h24/2015 | H5N2 | chicken | 8 | Yunlin |
| A/duck/Taiwan/A5019/2015 | H5N2 | duck | 10 | Yunlin |
| A/goose/Taiwan/a38/2015 | H5N3 | goose | 1 | Pingtung |
| A/goose/Taiwan/a42/2015 | H5N3 | goose | 1 | Kaohsiung |
| A/duck/Taiwan/a180/2015 | H5N3 | duck | 1 | Pingtung |
| A/bulbul/Taiwan/a156/2015 | H5N3 | bulbul | 1 | Miaoli |
| A/chicken/ Taiwan/a174/2015 | H5N3 | chicken | 1 | Pingtung |

表2、臺灣與北美2.3.4.4分群H5禽流感病毒重組模式整理。

| Area | Subtype | Gene | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | PB2 | PB1 | PA | HA | NP | NA | M | NS |
| Taiwan | H5N8 -O | EA H5N8* | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 |
| | H5N8 –I | EA H5N8 | WB/like# | EA H5N8 | EA H5N8 | WB/like WB/like | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 |
| | H5N8 –II | WB/like | WB/like | EA H5N8 | EA H5N8 | WB | EA H5N8 | EA H5N8 | WB/like |
| | H5N2 | WB/like | WB/like | WB/like | EA H5N8 | WB/like | WB/like | EA H5N8 | WB/like |
| | H5N3 | WB/like | WB/like | EA H5N8 | EA H5N8 | WB/like | WB/like | EA H5N8 | EA H5N8 |
| North America [11] | H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 |
| | H5N8 | EA H5N8 | NA LPAI& | NA LPAI | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 | EA H5N8 |
| | H5N1 | EA H5N8 | NA LPAI | NA LPAI | EA H5N8 | EA H5N8 | NA LPAI | EA H5N8 | NA LPAI |
| | H5N2 | EA H5N8 | NA LPAI | EA H5N8 | EA H5N8 | NA LPAI | NA LPAI | EA H5N8 | EA H5N8 |

*EA H5N8：2014至2015流行於歐亞之H5N8禽流感病毒。
#WB/like：指該基因相似於野鳥禽流感之基因，又依野鳥基因彼此之差異，而標示不同底色。
&NA LPAI：存在於北美洲之低病原性家禽流行性感冒病毒。

表3、2015年臺灣新型H5Nx禽流感病毒爆發前期與後期病毒序列之差異性（%）。

| | PB2 | PB1 | PA | HA | NP | NA | M | NS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **H5N8 GS/a15 (Jan) v.s. DK/h23 (Aug)** | 99.7 | 99.7 | 99.8 | 99.7 | 99.9 | 99.7 | 99.8 | 99.8 |
| **H5N2 CK/a288 (Jan) v.s. CK/h24(Aug)** | 99.5 | 99.6 | 99.6 | 99.6 | 99.7 | 99.2 | 99.6 | 99.2 |

家畜衛試所研報 No.51：53~68 (2017)

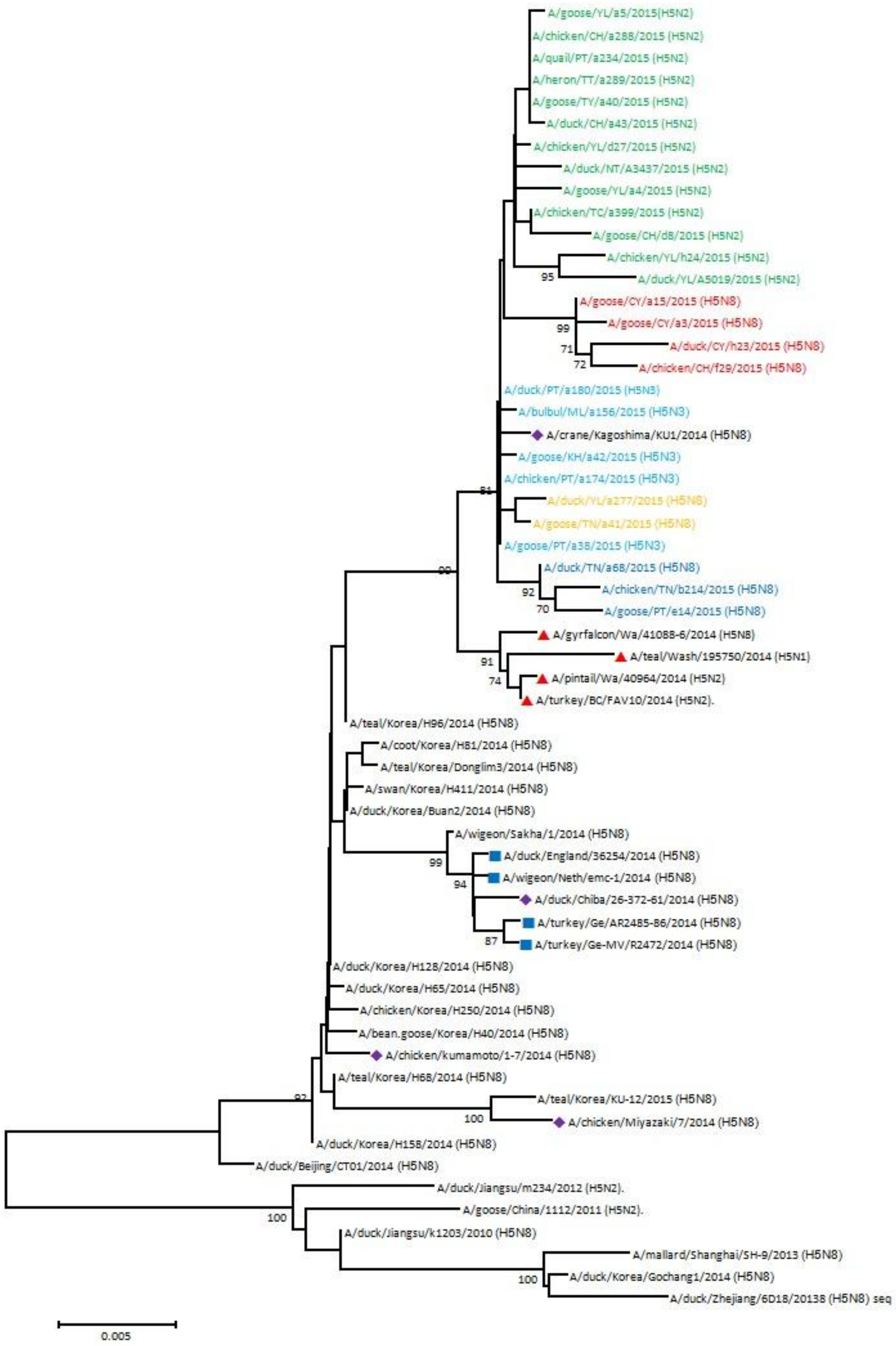


圖1、HA基因親緣演化樹。2015年臺灣爆發新型H5禽流感病毒依基因組成分成5病毒群：H5N8-0、H5N8-I、H5N8-II、H5N2及H5N3，分別以橙色、紅色、深藍、綠色及淺藍標示字體。而2014年起散布至日本、歐洲及美國2.3.4.4分群之H5禽流感病毒則分別以◆、■及▲符號標示。

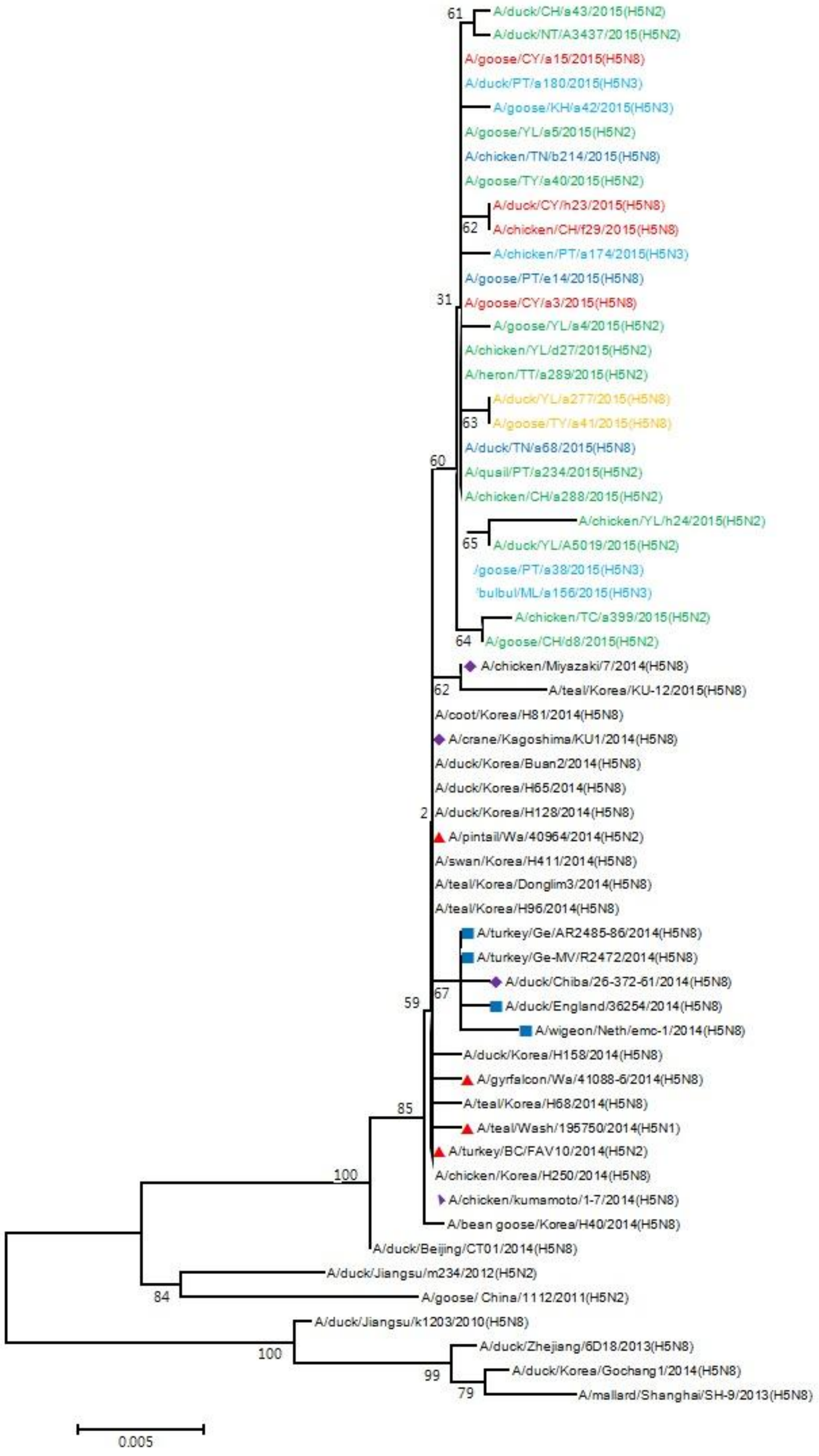


圖2、M基因親緣演化樹。2015年臺灣爆發新型H5禽流感病毒依基因組成共分成5病毒群：H5N8-0、H5N8-I、H5N8-II、H5N2及H5N3，分別以橙色、紅色、深藍、綠色及淺藍標示字體。而2014年起散布至日本、歐洲及美國2.3.4.4分群之H5禽流感病毒則分別以◆、■及▲符號標示。

家畜衛試所研報 No.51：53~68 (2017)

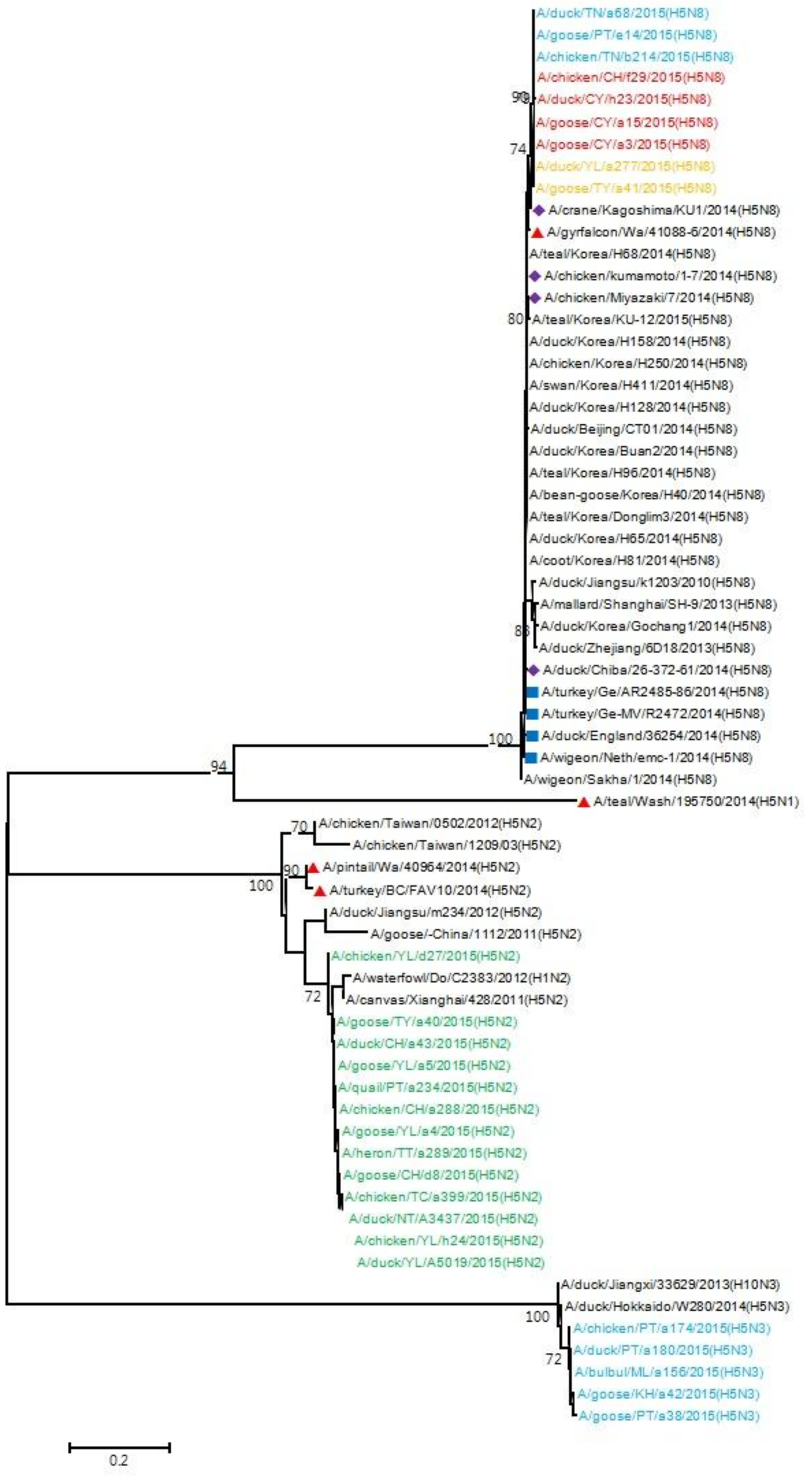


圖3、NA基因親緣演化樹。2015年臺灣爆發新型H5禽流感病毒依基因組成共分成5病毒群：H5N8-0、H5N8-I、H5N8-II、H5N2及H5N3，分別以橙色、紅色、深藍、綠色及淺藍標示字體。而2014年起散布至日本、歐洲及美國2.3.4.4分群之H5禽流感病毒則分別以◆、■及▲符號標示。

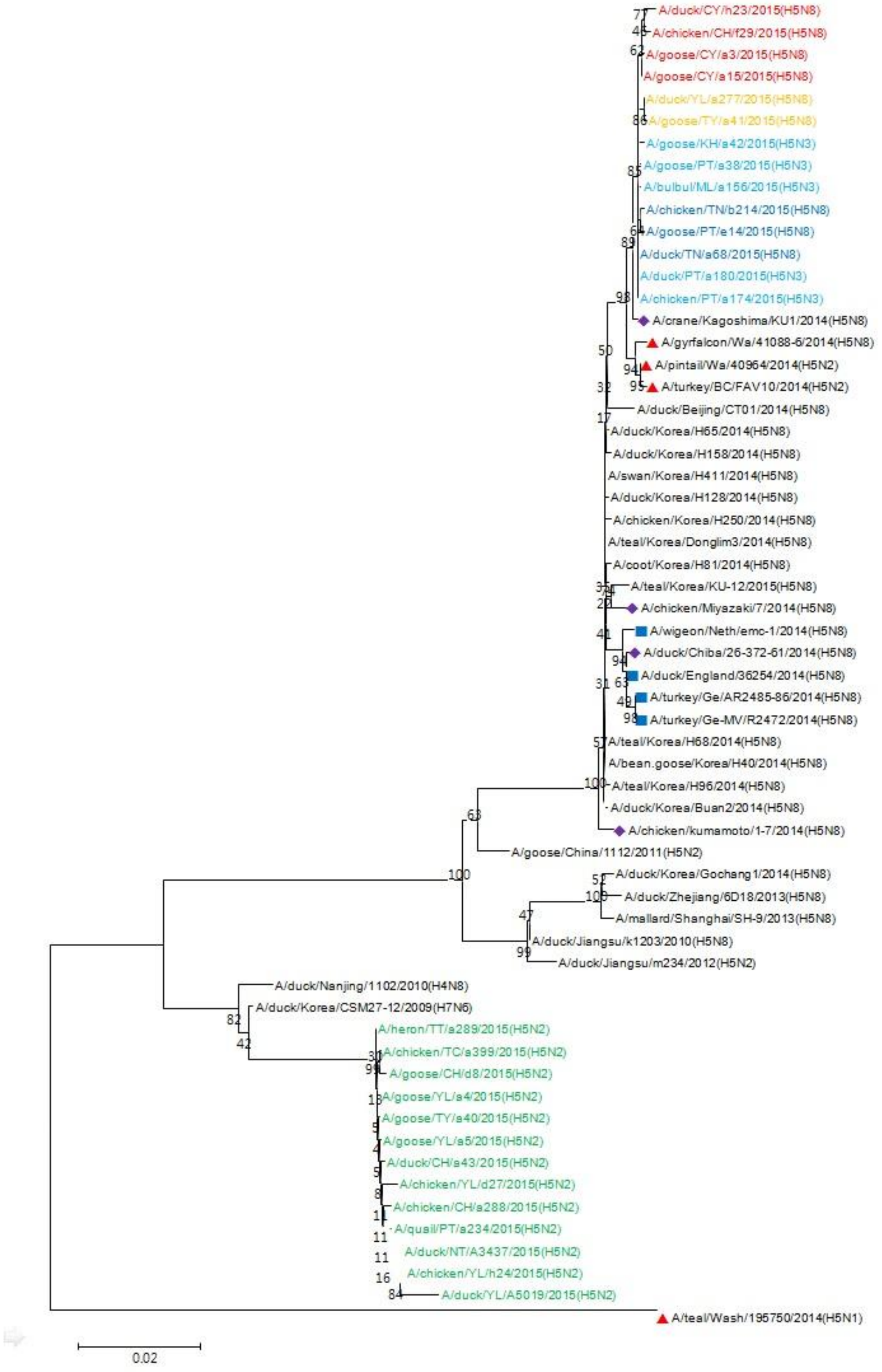


圖4、PA基因親緣演化樹。2015年臺灣爆發新型H5禽流感病毒依基因組成共分成5病毒群：H5N8-0、H5N8-I、H5N8-II、H5N2及H5N3，分別以橙色、紅色、深藍、綠色及淺藍標示字體。而2014年起散布至日本、歐洲及美國2.3.4.4分群之H5禽流感病毒則分別以◆、■及▲符號標示。

家畜衛試所研報 No.51：53~68 (2017)

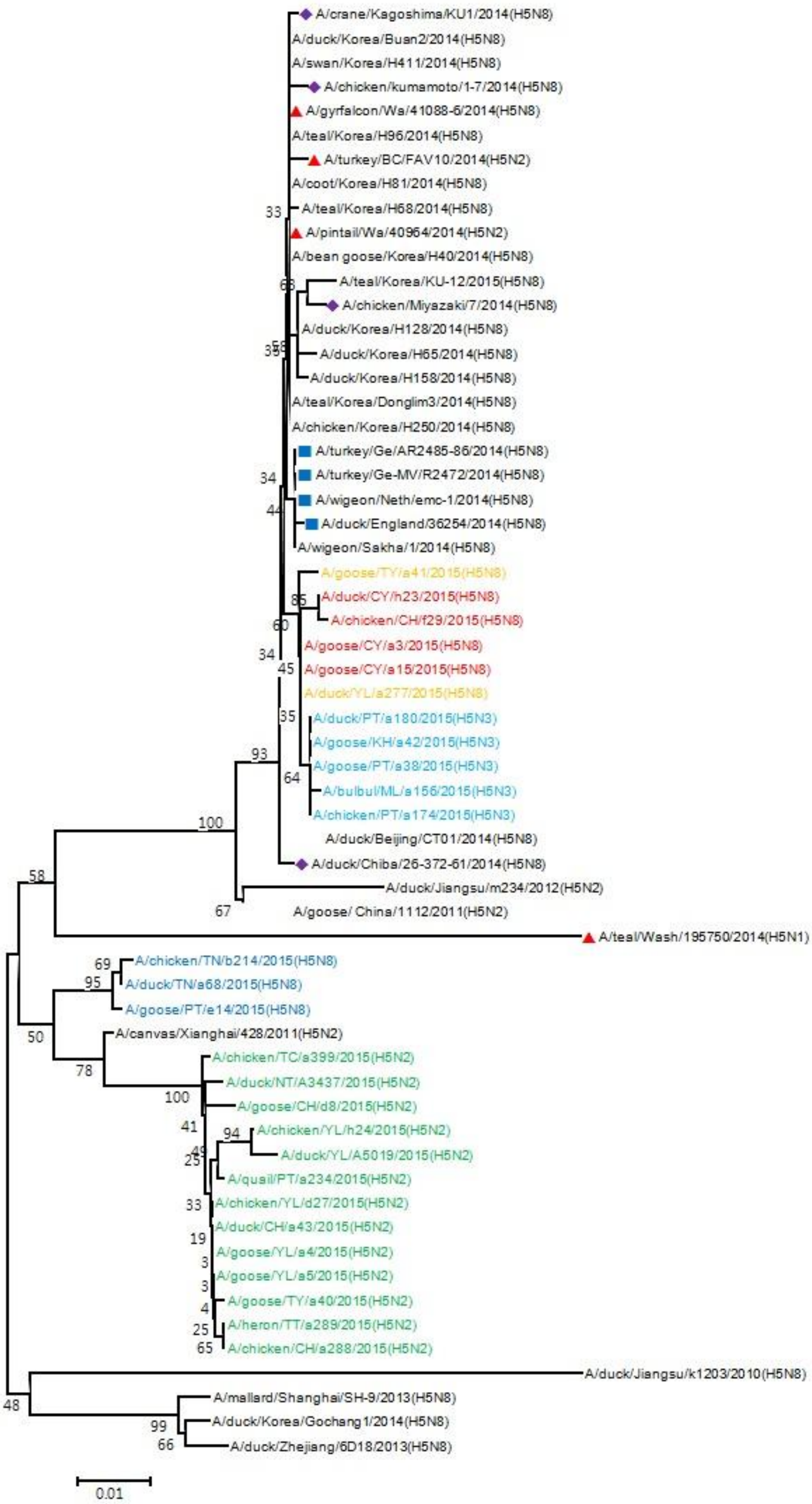


圖5、NS基因親緣演化樹。2015年臺灣爆發新型H5禽流感病毒依基因組成共分成5病毒群：H5N8-0、H5N8-I、H5N8-II、H5N2及H5N3，分別以橙色、紅色、深藍、綠色及淺藍標示字體。而2014年起散布至日本、歐洲及美國2.3.4.4分群之H5禽流感病毒則分別以◆、■及▲符號標示。

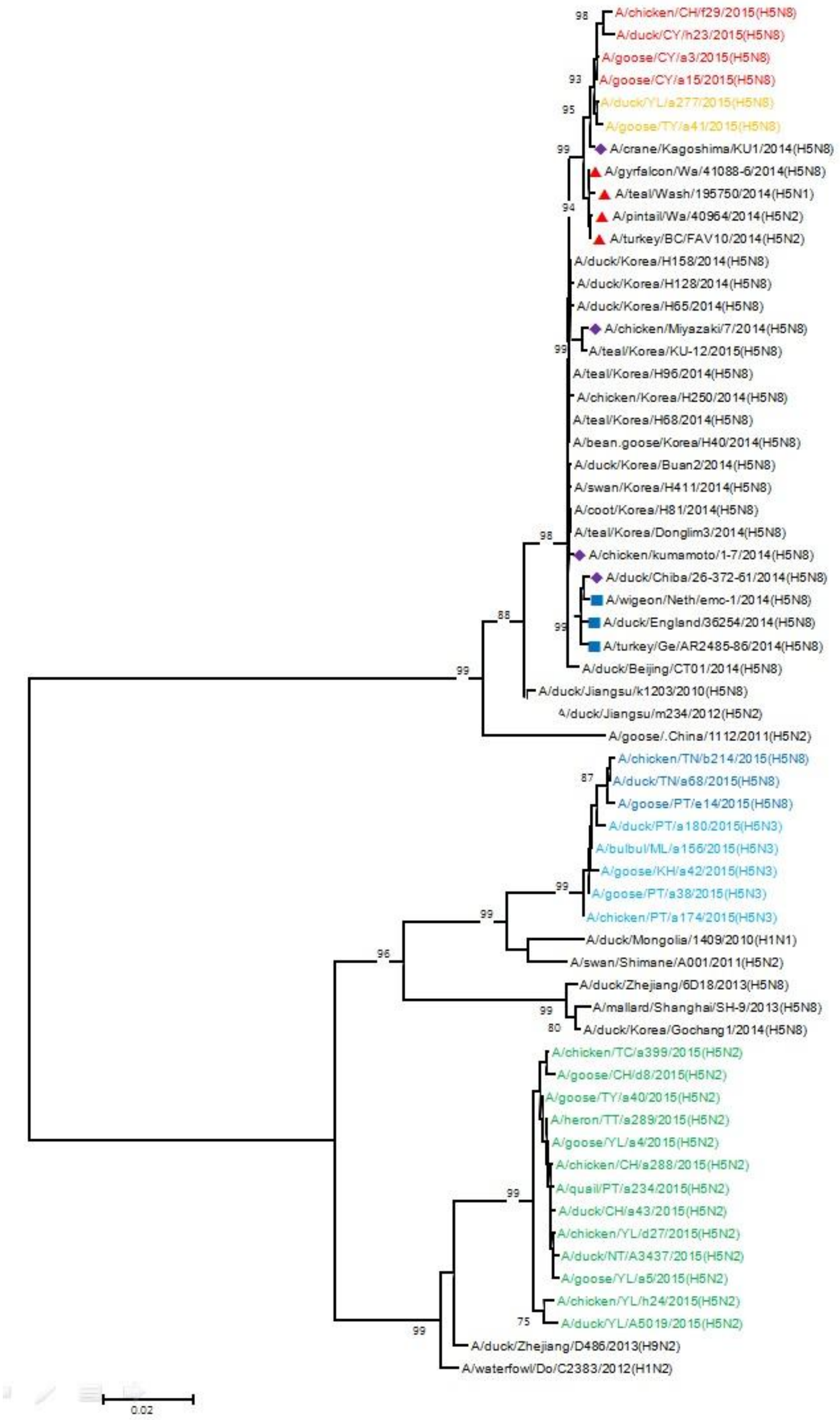


圖6、PB2基因親緣演化樹。2015年臺灣爆發新型H5禽流感病毒依基因組成共分成5病毒群：H5N8-0、H5N8-I、H5N8-II、H5N2及H5N3，分別以橙色、紅色、深藍、綠色及淺藍標示字體。而2014年起散布至日本、歐洲及美國2.3.4.4分群之H5禽流感病毒則分別以◆、■及▲符號標示。

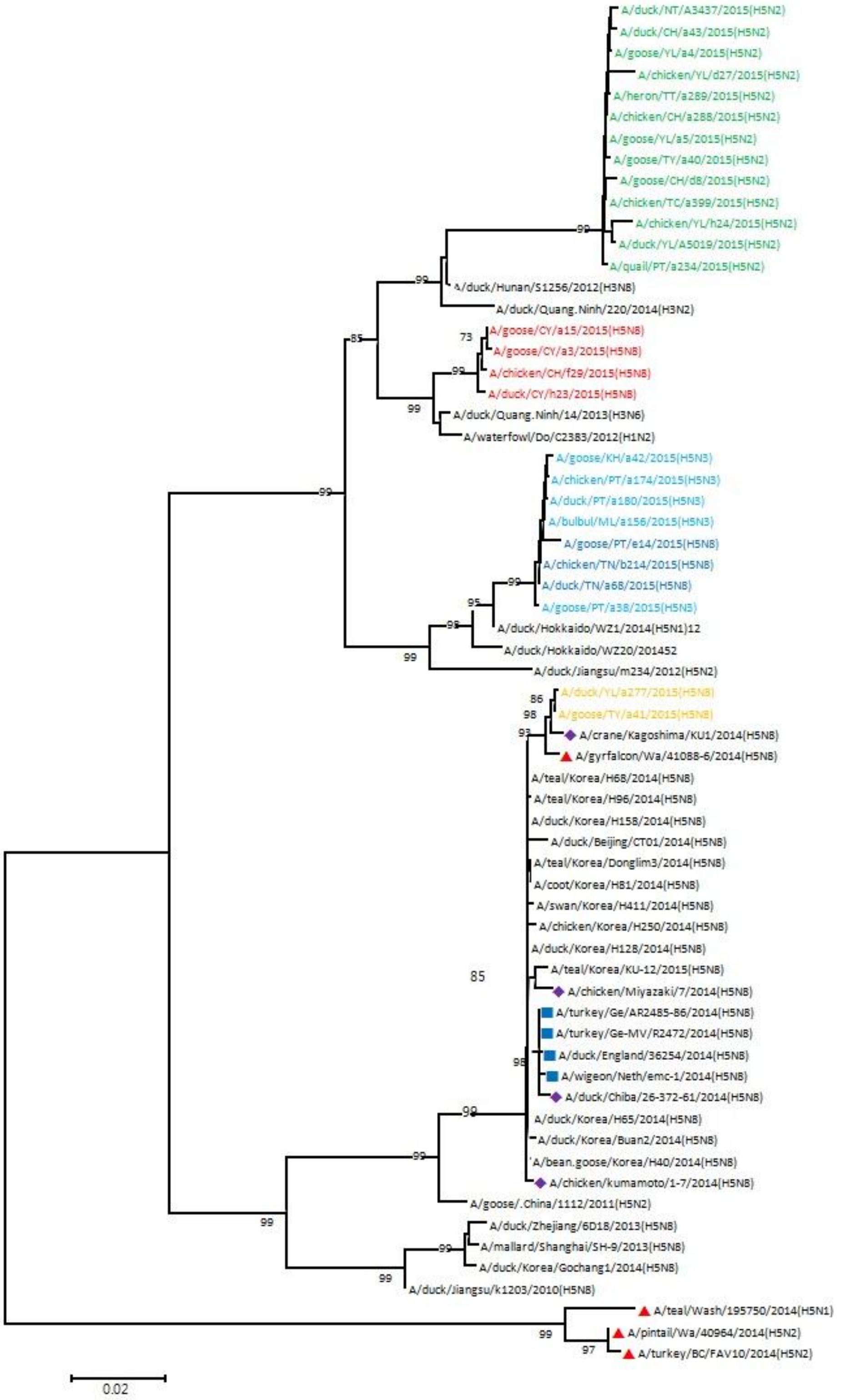


圖7、PB1基因親緣演化樹。2015年臺灣爆發新型H5禽流感病毒依基因組成共分成5病毒群：H5N8-0、H5N8-I、H5N8-II、H5N2及H5N3，分別以橙色、紅色、深藍、綠色及淺藍標示字體。而2014年起散布至日本、歐洲及美國2.3.4.4分群之H5禽流感病毒則分別以◆、■及▲符號標示。

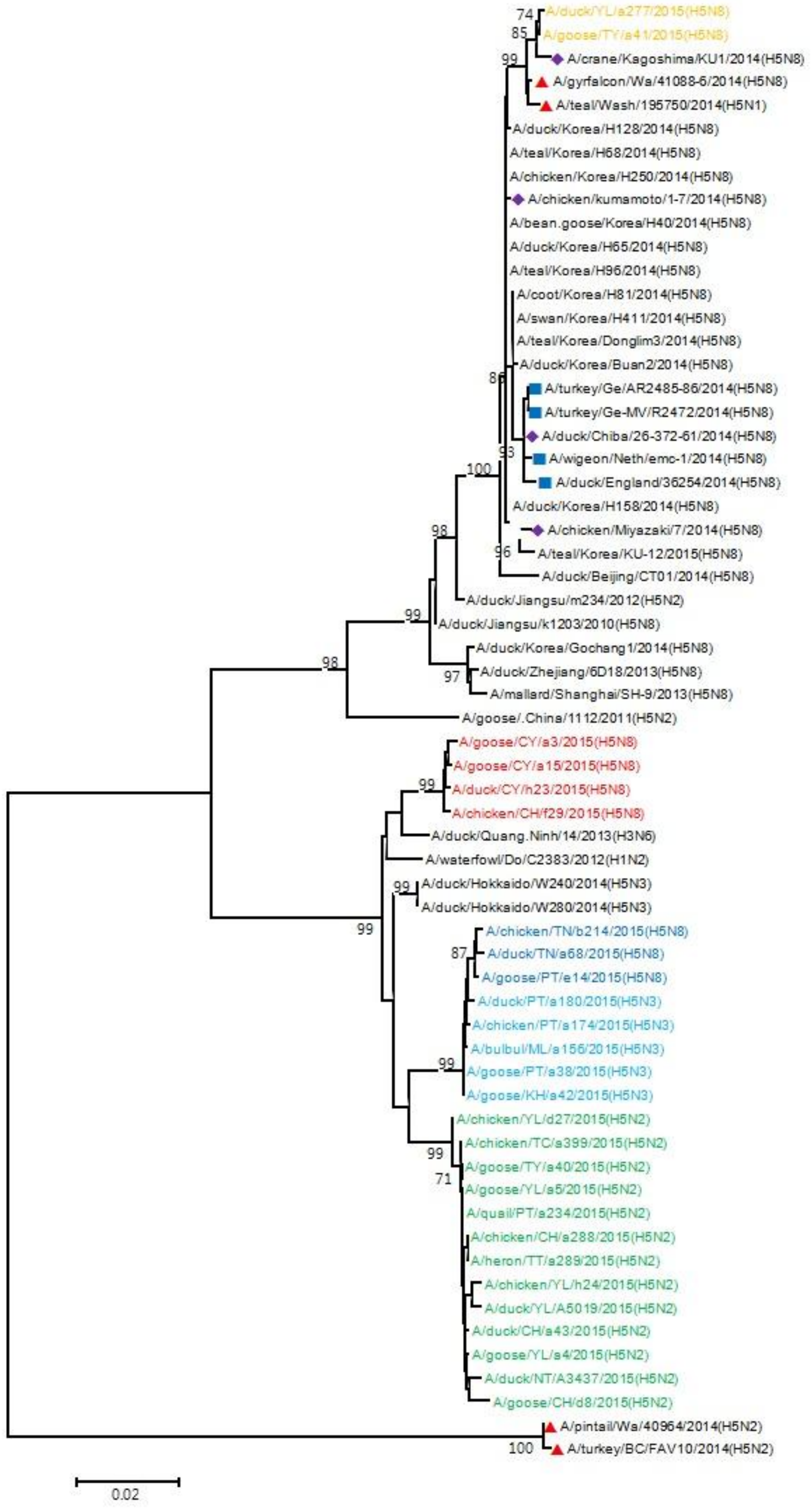


圖8、NP基因親緣演化樹。2015年臺灣爆發新型H5禽流感病毒依基因組成共分成5病毒群：H5N8-0、H5N8-I、H5N8-II、H5N2及H5N3，分別以橙色、紅色、深藍、綠色及淺藍標示字體。而2014年起散布至日本、歐洲及美國2.3.4.4分群之H5禽流感病毒則分別以◆、■及▲符號標示。

## 參考文獻


1. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局。禽流感資訊專區-104年疫情狀況圖表。網址：http://ai.gov.tw/index.php?id=1314。2016。
2. 李敏旭，張伯俊，沈瑞鴻，李龍湖，謝快樂。應用單管多引子反轉錄聚合酶連鎖反應檢測並區分家禽流行性感冒及新城雞病。中華獸醫誌，25:191-198，1999。
3. 孫洪磊，劉金華。H5N1亞型禽流感病毒的流行與致病性。生命科學 27:525-530, 2015.
4. 鄭明珠，李敏旭，李淑慧，王金和。14日齡雞胚胎累代感染造成之H5N2低病原性家禽流行性感冒病毒毒力變異。台灣獸醫誌，37:221-226，2011。
5. Cheng MC, Lee MS, Ho YH, Chyi WL, Wang CH. Avian influenza monitoring in migrating birds in Taiwan from 1998–2007. Avian Dis 54:109–114, 2010a.
6. Cheng MC, Soda K, Lee MS, Lee SH, Sakoda Y, Kida K Wang CH. Isolation and characterization of potentially pathogenic H5N2 influenza virus from a chicken in Taiwan in 2008. Avian Dis 54:885-893, 2010b.
7. Hoffmann E, Stech J, Guan Y, Webster RG, Perez DR. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. Arch Virol 146:2275-89, 2001.
8. Huang PY, Lee CC, Yip CH, Cheung CL, Yu G, Lam TT, Smith DK, Zhu H, Guan Y. Genetic characterization of highly pathogenic H5 influenza viruses from poultry in Taiwan, 2015. Infect Genet Evol 38:96-100, 2016.
9. Kwon JH, Lee DH, Swayne DE, Noh JY, Yuk SS, Erdene-Ochir TO, Hong WT, Jeong JH, Jeong S, Gwon GB, Song CS. Highly Pathogenic avian Influenza A(H5N8) viruses reintroduced into South Korea by migratory waterfowl, 2014-2015. Emerg Infect Dis 22:507-10, 2016.
10. Lee CC, Zhu H, Huang PY, Peng L, Chang YC, Yip CH, Li YT, Cheung CL, Compans R, Yang C, Smith DK, Lam TT, King CC, Guan Y. Emergence and evolution of avian H5N2 influenza viruses in chickens in Taiwan. J Virol 288:5677-86, 2014.
11. Lee DH, Bahl J, Torchetti MK, Killian ML, Ip HS, DeLiberto TJ, Swayne DE. Highly pathogenic avian influenza viruses and generation of novel reassortments, United States, 2014-2015. Emerg Infect Dis 22:1283-5, 2016.
12. Lee MS, Chang PC, Shien JH, Cheng MC, Chen CL, Shieh HK. Genetic and pathogenic characterization of H6N1 avian influenza viruses isolated in Taiwan between 1972 and 2005. Avian Dis 50:561-71, 2006.
13. Lee MS, Chang PC, Shien JH, Cheng MC, Shieh HK. Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. J Virol Methods 97:13-22, 2001.
14. Lee MS, Chen LH, Chen YP, Liu YP, Li WC, Lin YL, Lee F. Highly pathogenic avian influenza viruses H5N2, H5N3, and H5N8 in Taiwan in 2015. Vet Microbiol 187:50-7, 2016.
15. Lee YJ, Kang HM, Lee EK, Song BM, Jeong J, Kwon YK, Kim HR, Lee KJ, Hong MS, Jang I, Choi KS, Kim JY, Lee HJ, Kang MS, Jeong OM, Baek JH, Joo YS, Park YH, Lee HS. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses, South Korea, 2014. Emerg Infect Dis 20:1087-9, 2014.
16. Saito T, Tanikawa T, Uchida Y, Takemae N, Kanehira K, Tsunekuni R. Intracontinental and intercontinental dissemination of Asian H5 highly pathogenic avian influenza virus (clade 2.3.4.4) in the winter of 2014-2015. Rev Med Virol 25:388-405, 2015.
17. Soda K, Cheng MC, Yoshida H, Endo M, Lee SH, Okamatsu M, Sakoda Y, Wang CH, Kida K. A low pathogenic H5N2 influenza virus isolated in Taiwan acquired high pathogenicity by consecutive passages in chickens. J Vet Med Sci 73:767-72, 2011.
18. Song Y, Cui J, Song H, Ye J, Zhao Z, Wu S, Xu C, Jiao P, Liao M. New reassortant H5N8 highly pathogenic avian influenza virus from waterfowl in Southern China. Front Microbiol 23:1170, 2015.
19. Sun H, Pu J, Hu J, Liu L, Xu G, Gao GF, Liu X, Liu J. Characterization of clade 2.3.4.4 highly pathogenic H5 avian influenza viruses in ducks and chickens. Vet Microbiol 182:116-22, 2016.
20. Webster RG, Hulse DJ. Microbial adaptation and change: avian influenza. Rev Sci Tech 23:453-65, 2004.

21. Zhao K, Gu M, Zhong L, Duan Z, Zhang Y, Zhu Y, Zhao G, Zhao M, Chen Z, Hu S, Liu W, Liu X, Peng D, Liu X. Characterization of three H5N5 and one H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses in China. Vet Microbiol 163:351-7, 2013.

Exp.Rep AHRI.,No.51：53~68 (2017)

# Molecular Epidemiology in H5Nx Subtypes of Avian Influenza Virus in Taiwan in 2015

LH Chen*, YP Liu, YJ Lin, MS Lee, WC Li, YP Chen, MC Cheng

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

**Abstract** Novel H5Nx HPAI outbreak happened in early 2015 in Taiwan; this outbreak caused large loss among poultry industry. Total of 27 different subtype isolates were chosen for molecular epidemiological analysis. Those strains included novel H5N2, H5N3 and H5N8 subtypes and were also isolated from different host containing goose, duck, chicken and wild birds. HA and M gene of 27 strains are all close to the gene of H5N8 from Korean duck in 2014. Beside NA genes of 9 strains with N8 subtype are also close to the H5N8 of Korea, N2 and N3 genes related to the NA gene of influenza viruses circulated in wild bird. In brief, there is one group of virus which whole gene is totally close to the gene of H5N8 virus in Korea, and four groups belong to reassortment viruses that composed variant genes from viruses circulated in wild bird. To prevent reassortment and variation of avian influenza in Taiwan, the best and only way is to positively eliminate avian influenza in poultry farm.

***Keywords:*** *avian influenza, molecular epidemiology*

*Corresponding Author
Animal Health Research Institute