

## 十堰市 2012 年不同场所禽流感 H5 与 H9 检测结果分析\*

王喜云<sup>1</sup>, 梅玉发<sup>1</sup>, 刘经凤<sup>1</sup>, 崔龙<sup>1</sup>, 郑向梅<sup>1</sup>, 刘海波<sup>1</sup>, 赵国兵<sup>1</sup>, 江文君<sup>2</sup>

**摘要:**目的 了解 2012 年湖北省十堰市五类场所禽流感 H5 与 H9 亚型分布特点, 为有效防控禽流感提供依据。方法 选择十堰市与禽类有接触的且有代表性的五类场所(野生候鸟栖息地、城乡活禽农贸市场、大型家禽屠宰加工厂、大型家禽养殖场、家禽散养户集中地区), 按季度采集不同类型的外环境标本 302 份, 采用 Real-time PCR 方法进行检测, 使用 SPSS 17.0 软件对数据进行分析。结果 2012 年五类场所 FluA 的检出率为 26.82% (81/302), H5 亚型检出率为 5.96% (18/302), H9 亚型检出率为 17.88% (54/302), H5-H9 亚型环境分布差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.0, P = 0.014$ ); 五类场所中集中散养户与大型家禽养殖场未检测到 FluA 阳性标本, 野生候鸟栖息地检测到 1 例(1.69%), 活禽农贸市场 37 例(64.91%), 大型家禽屠宰厂 43 例(56.58%); 活禽农贸市场与大型家禽屠宰厂 H5 检出率明显低于 H9 亚型, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 7.784, 21.564, P < 0.05$ ); 不同标本种类对 FluA、H5 与 H9 阳性检出率有影响, 采样季节对其检出率无影响。结论 十堰市五类场所禽流感病毒以 H9 亚型为主; 相关部门应重点监测与防控活禽农贸市场和大型家禽屠宰厂。

**关键词:** 禽流感; H5 亚型; H9 亚型

中图分类号: S 851.31; R 195.4 文献标志码: A 文章编号: 1001-0580(2014)01-0030-03 DOI: 10.11847/zgggws2014-30-01-09

### Detection of H5 and H9 subtype avian influenza viruses isolated at various sites in Shiyan city, 2012

WANG Xi-yun\*, MEI Yu-fa, LIU Jing-feng, et al (\* Department of Monitoring and Laboratory, Shiyan Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shiyan, Hubei Province 442000, China)

**Abstract: Objective** To explore the distribution of H5 and H9 subtype avian influenza viruses in Shiyan city of Hubei province and to provide evidence for prevention and control of avian influenza. **Methods** Totally 302 samples were collected from five different typical sites with poultry exposure quarterly in Shiyan in 2012, and then the samples were detected with real-time PCR methods. The data were analyzed with SPSS 17.0. **Results** The detection rate of influenza A virus (Flu A) was 26.82% (81/302) for the 5 sites, with the detection rate of 5.96% (18/302) for H5 subtype and 17.88% (54/302) for H9 subtype. There was a significant difference in the distribution of H5 and H9 subtype ( $\chi^2 = 6.0, P = 0.014$ ). The positive rate of Flu A of the samples was 64.91% (37) for rural live poultry markets, 58.58% (43) for poultry slaughtering and processing factories, 1.69% (1) for wild migratory bird habitats, respectively, and there were no Flu A positive samples detected for household free-range poultry farms and large poultry farms. The detection rates of H5 subtype were lower than that of H9 subtype obviously for rural live poultry markets and large poultry slaughtering factories ( $\chi^2 = 7.784, P < 0.05; \chi^2 = 21.564, P < 0.05$ ). The detection rates of Flu A, H5, H9 were affected by the type of the sample and seasonal time of the sampling. **Conclusion** H9 subtype is a dominant avian influenza virus strain in the five sites with poultry exposure in Shiyan city, and urban and rural live poultry markets and poultry slaughtering and processing factories are key sites to be monitored for the control of avian influenza.

**Key words:** avian influenza; H5 subtype; H9 subtype

禽流感(avian influenza, AIV)是一种由甲型流感病毒引起的严重危害多种动物健康与人类偶发的传染性疾病, 目前已能够感染人类的有 H5、H9 与 H7 亚型, 人感染禽流感病例存在着部分感染来源不明的情况<sup>[1]</sup>, 推测健康禽类接触史和访问禽类活动场所可能是人感染禽流感的重要高危因素<sup>[2-3]</sup>。前期的研究表明, 湖北十堰市职业暴露人群禽流感相关知识不足, 抗体水平较低, 接触禽类及环境存在着高感染风险<sup>[4]</sup>, 而十堰市外环境中禽流感存在

情况尚不清楚。为了解十堰市与禽类密切接触场所禽流感存在的情况, 进一步监测感染来源, 确定感染高危因素, 本研究于 2012 年 3、6、9、12 月选择十堰市内具有代表性的五类场所分 4 次采集 302 份标本进行外环境中 H5 与 H9 亚型禽流感的检测, 现将结果报告如下。

### 1 材料与方法

1.1 标本来源 选取十堰市辖区内野生候鸟栖息

\* 基金项目: 2009 年十堰市科学技术研究与开发计划项目(2009s52)

作者单位: 1. 十堰市疾病预防控制中心监测检验科, 湖北 442000; 2. 湖北医药学院附属人民医院

作者简介: 王喜云(1980-), 男, 山西原平人, 主管技师, 硕士, 主要从事流感禽流感的检测与控制工作。(江文君为本文并列第一作者)

通讯作者: 刘海波, E-mail: 519697818@qq.com

数字出版日期: 2013-12-23 14:57

数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20131223.1457.015.html>

地、城乡活禽农贸市场、大型家禽屠宰加工厂、大型家禽养殖场、家禽散养户集中的地区 5 类场所作为监测点,每季度(2012 年 3、6、9、12 月)分别采集 1 次环境标本。标本种类有禽类粪便、禽类饮用水、禽类内脏、案板及清洗内脏污水、鸡笼涂抹物、禽类尸体及羽毛、蛋壳等,采集处理后留作 PCR 检测。

1.2 仪器与试剂 Real-time PCR 仪(ABI 7300,美国应用生物公司),病毒 RNA 提取试剂盒 Rneasy Mini Kit(德国 QIAGEN 公司),反应体系为 QuantiTect Probe RT-PCR Kit (200)(德国 QIAGEN 公司),PCR 扩增引物探针序列为 FluA-Forward (5'-GACCRATCCTGTACCTCTGAC-3'), FluA-Reverse (5'-GGGCATTYTGACAAKCGTCTACG-3'), FluA-probe (5'-TGCAGTCCTCGCTCACTGGGCACG-3'), AH5Forward (5'-TGGAAAGTRTAARAAACGGAA-CGT-3'), AH5Reverse (5'-YGCTAGGGARCTCGC-CACTG-3'), AH5probe (5'-TACCCGCAGTATTCAG-AAGAAGC-3'), AH9Forward (5'-CAAGCTGGAA-TCTGARGGAACCTTACA-3'), AH9Reverse (5'-GCA TCTGCAAGATCCATTGGACAT-3') AH9Probe (5'-CCCAGAACARGAAGGCAGCAAACCCCATTTG-3') 由国家流感中心提供。

1.3 检测方法 按照文献[5]及试剂盒相关说明书操作检测环境标本中 A 型通用(FluA)、H5 亚型、H9 亚型、H5-H9 亚型(同时检出 2 种亚型的标本)禽流感,在 Real-time PCR 中,阴性对照无 Ct 值或 Ct 值为 0,阳性对照 Ct 值 < 30,检测标本 Ct 值 ≤ 33 为阳性。

1.4 统计分析 使用 SPSS 17.0 软件进行非参数  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

2.1 五类场所禽流感病毒核酸检测结果(表 1) 2012 年共采集五类场所标本 302 份,FluA 阳性率为 26.82% (81/302),H5 亚型阳性率为 5.96% (18/302),H9 亚型阳性率为 17.88% (54/302),同时检出 H5 与 H9 亚型的标本为 7 份,阳性率为 2.32%。H5-H9 亚型环境分布差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.0, P = 0.014$ );五类场所中野生候鸟栖息地、活禽农贸市场与大型家禽屠宰厂检出 FluA 阳性标本,集中散养户与大型家禽养殖场未检测到阳性标本,差异有统计学意义( $\chi^2 = 56.919, P < 0.05$ );活禽农贸市场与大型家禽屠宰厂 H5 检出率明显低于 H9 亚型,差异有统计学意义( $\chi^2 = 7.784, 21.564, P < 0.05$ )。

表 1 五类场所禽流感病毒核酸检测结果

监测场所	标本数	FluA		H5		H9		H5-H9	
		阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%
野生候鸟栖息地	59	1	1.69	0	0.00	0	0.00	0	0.00
集中散养户	40	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
活禽农贸市场	57	37	64.91	14	24.56	28	49.12	7	12.28
大型家禽养殖场	70	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
大型家禽屠宰厂	76	43	56.58	4	5.26	26	34.21	0	0.00

2.2 活禽农贸市场与大型家禽屠宰厂不同标本检测结果(表 2) 不同种类标本的 FluA、H5、H9 的检出率差异有统计学意义( $\chi^2 = 20.407、25.073、$

$30.834, P < 0.05$ );四类标本 H9 检出率均明显高于 H5 亚型,差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.00、24.2、18.284、14.087, P < 0.05$ )。

表 2 2012 年活禽农贸市场与大型屠宰厂不同标本种类的禽流感检测结果

标本种类	标本数	FluA		H5		H9		H5-H9	
		阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%
粪便	40	15	37.50	2	5.00	6	15.00	1	2.50
鸡舍(笼)	31	18	58.06	2	6.45	12	38.71	1	3.23
污水	37	25	67.57	6	16.22	19	51.35	3	8.10
鸡内脏	25	22	88.00	7	28.00	16	64.00	2	8.00

注:由于只有活禽农贸市场及大型家禽屠宰厂检出禽流感 H5 与 H9 亚型,故只对这两个场所标本进行分析。

2.3 五类场所不同月份禽流感核酸检测结果(表 3) 对 5 个场所 4 个月份进行检测,FluA、H5 与 H9 4 个

月份的检出率差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.79、0.79、4.333、0.778, P > 0.05$ )。

表 3 五类场所不同季度禽流感核酸检测结果

月份	标本数	FluA		H5		H9		H5-H9	
		阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%
3 月	82	20	24.39	3	3.66	13	15.85	0	0.00
6 月	77	23	29.87	7	9.09	16	20.78	4	5.19
9 月	72	19	26.38	2	2.78	13	18.05	0	0.00
12 月	71	18	25.35	6	8.45	12	16.90	3	4.23

### 3 讨论

2012 年对十堰市与禽类相关的五类场所进行禽流感核酸检测,外环境标本中 FluA 的检出率为 26.82%,与相关文献报道基本一致<sup>[6]</sup>;但五类场所的 FluA 检出率不同,活禽农贸市场与大型家禽屠宰厂检出率较高;野生候鸟栖息地在 6 月份检出 1 例,检测结果与文献<sup>[7-8]</sup>报道相似,可能原因有以下几点:第一是与候鸟迁徙有关,每年的三四月份候鸟才陆续从南方迁来筑巢,前期鸟类数量不足;第二是本地区候鸟携带禽流感病毒量少;第三是由于野生候鸟数量大,采样比例较小,或采样不够及时,经过雨水淋和太阳照射导致检测难度加大;集中散养户与大型家禽养殖场未检测到,这与刘菊辉等<sup>[9]</sup>报道的结果(散养户检出率为 30%,家禽养殖场检出率为 13.33%)不同,原因不明。不同种类标本检出率不同,其中家禽内脏的检出率最高,达到 88%,明显高于其他种类标本,表明家禽体内普遍携带着禽流感病毒,只是由于种属与特异性受体等各方面的屏障,目前未造成大量的人员感染。2012 年五类场所标本的检测结果表明,此年度外环境主要分布以 H9 亚型为主的禽流感病毒,今后在病毒尚未出现可导致病毒传播力、致病性和毒力等特征发生根本改变

的变异前,需提醒相关部门加强十堰市内活禽农贸市场与大型家禽屠宰厂环境的常规监测及职业暴露人群的 H9 抗体水平监测,并告知从业人员及时清扫粪便、消毒鸡笼和排放污水来减少环境中禽流感的存在,以预防禽流感的变异和疫情的发生。

#### 参考文献

- [1] 周蕾,向妮娟,彭质斌,等. 如何进行人感染禽流感 H5N1 病例的感染来源调查[J]. 中国预防医学杂志,2012,13(11):879-882.
- [2] 朱军礼,张子根,王凤英,等. 职业暴露人群人感染高致病性禽流感 H5N1 风险研究进展[J]. 中国预防医学杂志,2012,13(10):799-803.
- [3] 官旭华,张险峰,张瑜,等. 湖北省首例人感染高致病性禽流感病例的流行病学调查[J]. 中国热带医学,2007,7(10):1783-1785.
- [4] 王喜云,梅玉发,刘经风,等. 十堰市禽类职业暴露人群抗体水平与禽流感相关知识调查[J]. 中国公共卫生,2012,28(增刊):47-48.
- [5] 中国疾病预防控制中心. 职业暴露人群血清学和环境高致病性禽流感监测方案(2011 年版)[Z]. 中疾控疾发[2011]367 号,2011.
- [6] 崔小波,王定芳,方正斌,等. 2011 年郧县禽流感高危职业人群及外环境监测结果分析[J]. 实用预防医学,2012,19(2):252-253.
- [7] 柳洋,王鸣,王玉林,等. 家禽零售及饲养人群禽流感病毒抗体检测分析[J]. 中国公共卫生,2008,24(9):1120-1121.
- [8] 王英,孔雯,朱洪浩,等. 武汉市外环境中禽流行性感胃病毒分布及禽类职业暴露人群 H5N1 抗体水平调查[J]. 中华预防医学杂志,2011,45(12):1082-1085.
- [9] 刘菊辉,何锋,周仲南,等. 宁乡县家禽养殖环境禽流感病毒监测分析[J]. 实用预防医学,2012,19(11):1724-1726.

收稿日期:2013-04-09

(张翠编辑 郑新校对)

## · 专题报道之二 ·

# 一起家庭聚集性人感染 H7N9 禽流感事件调查

胡越,蔡恩茂,吴金贵,张泽中,李颖,汤泓,姜璿慈,袁祖英,卫鹭,何晓定,张佳蕾,庄建林

关键词:人感染 H7N9 禽流感;家庭聚集性;流行病学调查

中图分类号:S 851.31; R 181.3 文献标志码:A 文章编号:1001-0580(2014)01-0032-03 DOI:10.11847/zggws2014-30-01-10

2013 年 3 月 31 日,国家卫生和计划生育委员会发布公告,上海、安徽等地发生 3 例人感染 H7N9 禽流感病例,这是全球首次发现人类中感染此种亚型的病毒;截至 5 月 27 日,中国内地共 10 个省 39 个地市发现了人感染 H7N9 禽流感确诊病例,共报告人感染 H7N9 禽流感确诊病例 130 例,其中死亡 37 例<sup>[1]</sup>。在此次疫情中,上海市共报告 33 例确诊病例,其中 14 例死亡;其中长宁区辖区内共发现 3 例确诊病例,死亡 2 例,而 2 例死亡者为夫妻,属于家庭聚集性病例。现将该起事件的流行病学调查经过报告如下。

作者单位:上海市长宁区疾病预防控制中心,200051

作者简介:胡越(1962-),男,上海人,副主任医师,本科,研究方向:临床医学和公共卫生管理。

通讯作者:庄建林,E-mail:zhuangjianlin208@126.com

数字出版日期:2013-12-23 14:06

数字出版网址:http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20131223.1406.007.html

## 1 疫情回顾

1.1 病例的发现和报告 2013 年 4 月 4 日凌晨 1 时 36 分,上海市某三甲医院 H 医院网络直报 1 例“不明原因肺炎”病例,该患者为女性,52 岁,退休职工(以下称为患者 A)。4 月 4 日,经上海市疾病预防控制中心实验室检测,患者 A 为 H7N9 禽流感病毒核酸阳性,H 医院当日将其更正为“人感染 H7N9 禽流感”实验室确诊病例。4 月 11 日,上海市疾病预防控制中心实验室报告,患者 A 的丈夫(以下称为患者 B),56 岁,物业管理人,其咽拭子检测标