·疾病预防控制·

2015 – 2017 年广元市禽相关环境中禽流感病毒监测分析

侯雪芹[1],侯元林[2],朱俊[1]

1. 广元市疾病预防控制中心,四川 广元 628000; 2. 成都艾迪康医学检验中心,四川 成都 610000

摘要: 目的　了解禽流感病毒在相关环境中的分布状况,为禽流感防控提供科学依据。**方法**　在 2015 – 2017 年冬春季选择与禽类相关的 4 类场所,采集不同种类的环境标本用 Real – time PCR 方法进行禽流感病毒核酸检测,对监测结果进行分析。**结果**　共采集禽类相关环境标本 416 份,A 型禽流感病毒核酸阳性率 31.97%(133/416),其中城乡活禽市场阳性率 61.42%(121/197),屠宰加工厂阳性率 54.55%(12/22),清洗禽类的污水阳性率 74.51%(38/51),宰杀或摆放禽肉案板表面擦拭标本阳性率 56.37%(31/55)。**结论**　广元市冬春季节禽流感病毒在禽类相关环境中活跃存在,城乡活禽市场以及屠宰加工厂是主要污染场所,检出禽流感病毒亚型多,交叉污染现象较重。建议对活禽市场及屠宰加工厂加强管控,针对重点人群进行宣传提高防护意识,减少人感染禽流感病毒风险。

关键词: 禽流感; 病毒核酸; 实时荧光定量 PCR; 监测分析

中图分类号: R181.2+3　　**文献标志码:** A　　**文章编号:** 1003 – 8507(2017)17 – 3236 – 04

Monitoring and analysis of avian influenza viruses in the poultry related environments in Guangyuan city,2015 – 2017

HOU Xue – qin*,HOU Yuan – lin,ZHU Jun

* *Guangyuan Municipal Center for Disease Control and Prevention,Guangyuan,Sichuan* 628000,*China*

Abstract: Objective　To investigate the prevalence of avian influenza viruses in the poultry related environments,and to provide a scientific basis for its prevention and control. **Methods**　The samples in poultry related environment were collected from four different kinds of places in winter and spring during 2015 to 2017,and the avian influenza virus nucleic acid was detected by Real – time PCR method,then the monitoring results were analyzed by statistical methods. **Results**　A total of 416 samples from poultry related environment were collected in this study,the positive rate of avian influenza A virus was 31.97% (133/416),the positive rate in live avian marks in urban and rural areas was 61.42%(121/197),in poultry slaughter houses was 54.55%(12/22),in water used for washing poultry was 74.51%(38/51) and on chopping boards for killed poultry was 56.37%(31/55). **Conclusion**　Avian influenza virus in the winter and spring is active in the poultry related environment in Guangyuan City,and urban and rural live poultry markets and poultry slaughter houses are the main polluted places. There are many subtypes of avian influenza virus,and the cross contamination status is worse. So prevention and control of live avian marks in urban and rural areas and poultry slaughter houses should be strengthened. It is necessary to strengthen surveillance and health education,to focus on the high – risk group,and to reduce the risk of human infection with avian influenza virus.

Keywords: Avian influenza; Virus nucleic acid; Real – time PCR; Surveillance analysis

禽流感病毒属甲型流感病毒属,除感染禽外,还可感染人、猪、马、水貂和海洋哺乳动物。可感染人的禽流感病毒亚型为 H5N1、H7N9、H9N2、H7N7、H7N2、H7N3、H5N6、H10N8 等[1]。1997 年中国香港首次报告了禽流感病毒 H5N1 引起的人间疫情[2],之后中国相继有 H5N6、H7N9、H9N2 以及 H10N8 亚型人禽流感病例报告[3-6],自 2016 年 10 月以来,中国报告的人感染 H7N9 禽流感病例数出现上升[7],报告病例数及疫情波及范围均高于前几年同期水平,多省份报告 H7N9 感染病例和死亡病例[8-10],给人类健康带来严重威胁。为了解广元市禽类相关环境中禽流感病毒污染情况。2015 – 2017 年广元市开展了禽相关环境中禽流感病毒监测,现将监测情况报告如下。

1　材料与方法

1.1　监测点和监测时间　参照《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)》,选取广元市辖区内与禽类接触的四类场所设置监测点[11]。城乡活禽市场:每家活禽市场为一个监测点,

作者简介: 侯雪芹(1972 –),女,本科,主任技师,研究方向: 微生物检验

通讯作者: 侯元林,E – mail: 279674528@qq.com

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

共 18 个;家禽规模养殖场(户):每家家禽规模养殖场(户)为一个监测点,共 13 个;家禽散养户集中的地区:每个自然村为一个监测点,共 1 个;家禽屠宰加工厂:每家家禽屠宰加工厂为一个监测点,共 2 个。监测时段为 2015 年 11 – 12 月和 2016 年 2 – 3 月,以及 2016 年 11 – 12 月和 2017 年 2 – 3 月。

1.2 标本采集 每个监测点采集标本包括禽类粪便、笼具表面擦拭标本、宰杀或摆放禽肉案板表面擦拭标本、清洗禽类污水、禽类饮用水以及其他标本等。各类标本采集方法按照《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)》附录 1 进行。

1.3 标本检测 标本采集后于 4℃保存,并在 48h 内运送至实验室。实验室收到标本后经混匀、离心后取上清液进行 RNA 提取,然后用实时荧光定量 PCR(Real – time PCR)方法进行病毒核酸检测,先检测甲型流感病毒(A)核酸,A 阳性的标本进一步检测 H5、H7、H9 亚型核酸,进行分型。在本研究中"H5 + H7 阳性"表示 H5 亚型和 H7 亚型交叉污染 "H5 + H9 阳性"表示 H5 亚型和 H9 亚型交叉污染 "H7 + H9 阳性"表示 H7 亚型和 H9 亚型交叉污染;若标本分型结果为除 H5、H7、H9 亚型之外的其他型别,表述为"A 未分型"。

1.4 仪器与试剂 检测仪器使用全自动核酸提取仪(Promega Maxwell 16)、实时荧光 PCR 扩增仪(ABI7500);检测试剂使用病毒 RNA 提取试剂盒(普洛麦格 AS1150)、禽流感检测试剂盒(上海之江及卓诚惠生生物有限公司)。

1.5 数据分析 将有关数据录入 WPS 表格进行整理分析。

2 结 果

2.1 不同时间监测结果 2015 – 2017 年度共采集禽类相关环境标本 416 份,经 Real – time PCR 检测甲型流感病毒(A)核酸阳性 133 份,平均阳性率 31.97%,其中 2015 – 2016 年度 A 核酸阳性率为 35.00%(28/80),2016 – 2017 年度 A 核酸阳性率 31.25%(105/336),两个年度间阳性率差异无统计学意义(χ^2 = 0.418,P = 0.518)。冬季(11 – 12 月)监测阳性率 34.00%(34/100),春季(2 – 3 月)监测阳性率 31.33%(99/316),冬春两个监测时段阳性率差异无统计学意义(χ^2 = 0.249,P = 0.618)。

2.2 病原分型监测结果 对甲型流感病毒(A)核酸阳性标本进一步分型检测,H5 亚型阳性率 2.16%(9/416),H9 亚型阳性率 22.36%(93/416),A 未分型阳性率 3.61%(15/416),H5 + H9 阳性率 3.37%(14/416),H5 + H7 阳性率 0.24%(1/416),H7 + H9 阳性率 0.24%(1/416)。H9 亚型阳性标本占阳性总数的 69.92%(93/133),同时检出两类亚型的交叉污染标本占 12.03%(16/133)。见表 1。

表 1 2015 – 2017 年广元市禽相关环境禽流感监测结果

监测时间	H5	H9	H9 + H5	H7 + H9	H5 + H7	A 未分型	阴性	总计	总阳性率(%)
2015.11	0	0	0	0	0	14	26	40	35.00
2016.4	2	8	2	1	1	0	26	40	35.00
2016.11	2	14	4	0	0	0	40	60	33.33
2017.2	5	71	8	0	0	1	191	276	30.80
合计	9	93	14	1	1	15	283	416	31.97

2.3 不同县区、不同场所监测情况 四类监测场所中仅在城乡活禽市场以及屠宰加工厂检测出 A 型阳性标本,阳性率分别为 61.42%(121/19),54.55%(12/21),经统计学分析二者阳性率差异无统计学意义(χ^2 = 0.392,P = 0.531)。散养户和规模养殖场未检出阳性。见表 2。18 个城乡活禽市场中 17 个检出了阳性,2 家宰杀加工厂也均检出阳性。所有交差污染标本均来自城乡活禽市场。不同地区活禽市场 A 阳性率有差异(χ^2 = 30.180,P < 0.001),苍溪县、青川县、利州区高于其他县区,其中苍溪县活禽市场标本阳性率最高为 89.66%(26/29)。见图 1。

表 2 不同场所监测结果

监测场所	标本份数	阳性份数	阳性率(%)
城乡活禽市场	197	121	61.42
散养户集中地区	19	0	0.00
屠宰加工厂	22	12	54.55
规模养殖场	178	0	0.00
合计	416	133	31.97

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

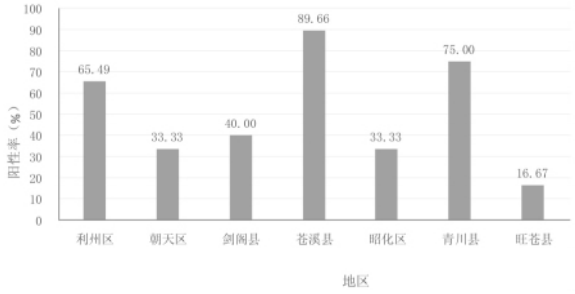

图 1 不同地区监测结果

2.4 不同种类标本监测情况 不同种类标本 A 型禽流感病毒核酸阳性率差异经分析有统计学意义($\chi^2 = 82.640$,$P < 0.001$)。清洗禽类的污水和宰杀或摆放禽肉案板表面擦拭标本阳性率明显高于其他标本。见表 3。

表 3 不同种类标本监测结果

标本类型	标本份数	阳性份数	阳性率(%)
粪便标本	87	9	10.34
笼具表面擦拭标本	109	26	23.85
禽类饮水	100	27	27.00
清洗禽类的污水	51	38	74.51
宰杀或摆放禽肉案板表面的擦拭标本	55	31	56.37
其他	14	2	14.29
合计	416	133	31.97

3 讨 论

2015 – 2017 年广元市禽相关环境中禽流感病毒核酸阳性率达到 31.97%,高于济宁韩应成[12]、十堰市王喜云[13]等的报道,提示广元市冬春季节禽流感病毒在相关环境中广泛存在,污染程度较重,发生人感染禽流感的风险比较高。分析原因可能是广元地处四川北部,秦岭以南,是部分候鸟的迁徙通道,每年 11 月从北方往南飞的候鸟飞越秦岭后会在广元停歇,候鸟带入禽流感病毒的几率大;另外广元地处川陕甘三省交界,是交通要道,人员来往频繁,商品流通量大,禽类市场交易活跃,病毒易于输入和传播。

从病原学分型看,广元市禽相关环境中检出禽流感病毒亚型众多,其中 H9、H5 是主要污染型别,H7 及其他未知型别均有检出,且混合污染标本占阳性标本的 12.03%(16/133),提示禽间存在不同亚型的交叉污染,病毒发生重组变异的几率较高。禽流感病毒在野生水禽中广泛存在,是 A 型流感病毒的天然储存库,主要通过野鸭向家鸭传播,有研究报道中国家鸭的病毒分离率达到 13%。水禽感染后往往不出现症状,持续排毒污染水源,造成病毒广泛传播[14],中国家禽普遍存在多种流感病毒亚型共存的现象[15-16]。城乡活禽市场摊位多,隔离设施差、通风效果不佳,同一摊位鸡、鸭、鹅、鸽、鹌鹑等各品种禽类混养,饲养密度大也增加了病毒不同亚型之间的交叉污染现象。

活禽市场和禽类屠宰加工厂禽流感病毒核酸阳性率分别为 61.42%(121/197)和 54.55%(12/22),不同种类标本比较中,清洗禽类的污水和宰杀或摆放禽肉案板表面擦拭标本阳性率明显高于其他标本,提示活禽市场和禽类屠宰加工厂更易被病毒污染,是人感染禽流感病毒的高危场所。分析原因可能是:禽流感病毒主要在禽类肠道和泄殖腔里繁殖,宰杀过程中家禽内脏破裂,肠道内的病毒容易污染清洗家禽的水以及处理禽类的案板,且活禽市场中重复使用宰杀、清洗禽类的污水,使得禽流感病毒在污水中不断富集,导致病毒污染程度较严重。

因此应加强活禽市场及屠宰场所的管理,特别是检测阳性率较高的县(区)更应加强重视,采取在流行季节关闭活禽市场,加强活禽市场及屠宰加工厂的清洁、消毒、检疫措施,加强从业人员的培训教育,提高防护意识,佩戴防护用品,减少病毒感染和传播机会。积极倡导并推进“规模养殖、集中屠宰、冷链运输、冰鲜上市”的生产消费新模式,避免人群与活禽的接触暴露,努力阻断病毒在禽间的传播,从而从根本上预防和减少人感染病例的发生[10]。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 人感染 H7N9 禽流感诊疗方案(2017 年第 1 版)[Z]. 北京:中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,2017.

[2] Yuen KY,Chan PK,Peiris M,*et al*. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus [J]. Lancet,1998,351(911):467 – 471.

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 2014 年 5 月 9 日国家卫生计生委例行新闻发布会文字实录[EB/OL]. (2014 - 05 - 09)[2017 - 07 - 21]. http://www.moh.gov.cn/zhuz/xwfb/201405/3828e81f291f4d388720a207fd60c3c3.shtml.

[4] 张宝,黄克勇,郭劲松,等. H7N9 病毒的来源和重组模式[J]. 南方医科大学学报,2013,33(7):1017 - 1021.

[5] Sun Y,Liu J. H9N2 influenza virus in China: a cause of concern[J]. Protein & Cell,2015,6(1):18 - 25.

[6] 傅伟杰,胡茂红,刘晓青,等. 江西省 3 例 H10N8 禽流感病毒感染者回顾性分析[J]. 中华流行病学杂志,2014,35(10):1131 - 1134.

[7] World Health Organization. Human infection with avian influenza A (H7N9) virus - China[EB/OL]. (2017 - 01 - 17)[2017 - 07 - 15]. http://www.who.int/csr/don/17 - january - 2017 - ah7n9 - china/en.

[8] 世界卫生组织. 人感染 H7N9 禽流感近期科学认识综述(译稿)[EB/OL]. (2017 - 02 - 21)[2017 - 07 - 15]. http://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/zl/rgrgzbxqlgg/rgrqlgyp/201702/t20170221_138523.html.

[9] 中国疾病预防控制中心. 中国疾病预防控制中心召开全国人感染 H7N9 禽流感疫情视频会商会[EB/OL]. (2017 - 01 - 20)[2017 - 07 - 15]. http://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/zl/rgrgzbxqlgg/zjjdqlg_5307/201701/t20170120_137569.html.

[10] 中国疾病预防控制中心. 中国疾病预防控制中心再次召开重点省份人感染 H7N9 疫情视频会商会议[EB/OL]. (2017 - 03 - 15)[2017 - 07 - 15]. http://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/zl/rgrgzbxqlgg/zjjdqlg_5307/201703/t20170315_139056.html.

[11] 中华人民共和国卫生部. 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]. 北京: 中华人民共和国卫生部,2011.

[12] 韩应成,孙喜红,李为为,等. 济宁市禽流感职业暴露人群血清学和环境禽流感监测分析[J]. 现代预防医学,2015,42(21):3863 - 3866,3879.

[13] 王喜云,梅玉发,崔龙,等. 2009 - 2011 年十堰市 H5 与 H9 亚型禽流感检测结果分析[J]. 预防医学情报杂志,2014,30(9):761 - 764.

[14] 田纯见,罗琼,高佳卉,等. 中国高致病性禽流感疫情流行特征及其防控措施[J]. 湖北农业科学,2017,56(5):912 - 914,918.

[15] Peng Y,Xie ZX,Liu JB,*et al*. Epidemiological surveillance of low pathogenic avian influenza virus(LPAIV) from poultry in Guangxi Province,Southern China[J]. PLOS One,2013,8(10):e77132.

[16] Wan XF. Lessons from emergence of A/goose/Guangdong/1996 - like H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses and recent influenza surveillance efforts in southern China[J]. Zoonoses and Public Health,2012,59(Suppl 2):32 - 42.

收稿日期: 2017 - 05 - 30

读者·作者·编者

表格的常用种类及编排位置

(1) 文字叙述表: 表格以文字叙述为主,多见于临床研究论文中各种病症的比较。采用文字表时应注意归类总结,力求专业术语少而精,并根据需要加用表线。(2) 统计表: 是医学论文最常用的一种,它在表达、积累、分析、比较资料方面都有着极为重要的作用。(3) 表格的位置应紧随“见表×”或“(表×)”之文字的自然段落之下,即先见文,后见表。

读者·作者·编者

作者撰写论文时使用参考文献的要求

参考文献不仅增加论文的学术性,而且表明论文的科学依据,也是对他人劳动成果的尊重。凡无参考文献的文章,国家进行论文统计时不予统计。因此,希望作者撰写论文时,凡在文中引用他人数据或观点时,应使用参考文献。并应接参考文献的书写要求书写完整,按论文中引用出现的先后进行参考文献排序和在论文中作相应标注。参考文献宜选用新近 1 ~ 5 年内的权威性学术期刊。欢迎引用本刊论文。未公开发表的文献不宜引用。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net