

# 2014 年成都市人和猪体内人流感病毒感染状况初步调查

孟建彤<sup>1</sup>, 陈振华<sup>1</sup>, 任红兵<sup>2</sup>, 黄韦唯<sup>1</sup>, 白艳<sup>1</sup>, 黄薇<sup>1</sup>, 张晓春<sup>1</sup>

1. 成都市疾病预防控制中心, 四川 成都 610041; 2. 崇州市疾病预防控制中心

**摘要:** **目的** 初步了解成都市流感病毒主要宿主感染状况, 为流感防控提供科学依据。 **方法** 以 2014 年成都市疾病预防控制中心门诊体检人群和成都市区生猪屠宰场内生猪为调查对象, 分别采集人血清 50 份和猪血清 49 份。以同期分离的 A 型 H1N1、H3N2、B-Victoria 和 B-Yamagata 代表毒株为抗原进行血凝抑制 (HI) 试验, 检测血清中的相应抗体。结合当地流感流行情况, 比较分析宿主中及宿主间各型病毒感染状况。 **结果** 流感样监测病例中流感病毒各亚型间的阳性检出率差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 50.393, P < 0.001$ ), 其中 B-Yamagata 阳性检出率最高 (6.03%)。人血清中 B-Yamagata 和 B-Victoria 的 HI 抗体阳性率高于其它流感病毒 ( $\chi^2 = 239.104, P < 0.001$ )。猪血清中 A (H1N1) 和 B-Yamagata 流感病毒抗体阳性率高于其它流感病毒 ( $\chi^2 = 231.642, P < 0.001$ )。人血清中各型和各亚型的 HI 抗体滴度均高于猪血清中的滴度, 且差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 17.099, P = 0.008; \chi^2 = 31.581, P < 0.001; \chi^2 = 57.623, P < 0.001; \chi^2 = 5.713, P = 0.032$ )。 **结论** 2014 年成都市疾病预防控制中心体检门诊体检人群中 A (H1N1) 和 B 型流感病毒的感染率较高, 人群中较高的 B-Yamagata HI 抗体阳性率并未形成有效的免疫屏障阻止病原持续循环。猪可能是人 B 型流感病毒的潜在宿主。

**关键词:** 流感病毒; 抗体; 血清; 人群; 猪

中图分类号: R373.1<sup>3</sup> 文献标识码: A 文章编号: 1006-3110(2017)11-1308-04 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2017.11.008

## Preliminary investigation on infection status of seasonal influenza virus in human and swine in Chengdu City, 2014

MENG Jian-tong\*, CHEN Zhen-hua, REN Hong-bing, HUANG Wei-wei, BAI Yan, HAUNG Wei, ZHANG Xiao-chun

\* Chengdu Municipal Center for Disease Control and Prevention, Chengdu, Sichuan 610041, China

Corresponding author: ZHANG Xiao-chun, E-mail: 294982434@qq.com

**Abstract:** **Objective** To preliminarily investigate the infection status of influenza virus in main hosts in Chengdu City so as to provide a scientific basis for influenza prevention and control. **Methods** Fifty check-up persons from the Physical Examination Department of Chengdu Municipal Center for Disease Control and Prevention and 49 swines from the slaughterhouse of urban area in Chengdu in 2014 were investigated. Serum samples were collected and haemagglutination inhibition (HI) assay with representative strains (A (H1N1), H3N2, B-Victoria and B-Yamagata) isolated in the same period as antigens were carried out to detect the corresponding antibodies. Combined with the local epidemic situation of influenza, the infection status in and between the hosts were analyzed. **Results** The positive detection rates of subtypes of influenza viruses in the influenza-like cases were statistically significant ( $\chi^2 = 50.393, P < 0.001$ ), with the highest positive rate (6.03%) for influenza B-Yamagata lineage virus. As for human serum samples, HI antibody positive rates of influenza B-Yamagata and B-Victoria lineage virus strains were higher than those of the other influenza viruses ( $\chi^2 = 239.104, P < 0.001$ ), while the positive rates of influenza A (H1N1) and B-Yamagata lineage virus strain in swine serum samples were higher than those of the other influenza viruses ( $\chi^2 = 231.642, P < 0.001$ ). Generally, the antibody titers of A (H1N1), H3N2, B-Victoria and B-Yamagata were statistically higher in human serum samples than in swine serum samples ( $\chi^2 = 17.099, P = 0.008; \chi^2 = 31.581, P < 0.001; \chi^2 = 57.623, P < 0.001; \chi^2 = 5.713, P = 0.032$ ). **Conclusions** The check-up persons from the Physical Examination Department of Chengdu Municipal Center for Disease Control and Prevention in 2014 get higher infection rates of influenza A (H1N1) and B virus and the infection of B-Yamagata in crowd fails to form an effective immune barrier to prevent pathogen cycling. Swine may be a potential host of human influenza B virus.

**Key words:** influenza virus; antibody; serum; human; swine

流感病毒可分为 A、B、C 三型, 虽均以人作为主要宿主, 但与人类疾病最为密切相关的是 A 型和 B 型, 可

基金项目: 四川省卫生厅科研项目 (100055)

作者简介: 孟建彤 (1969-), 男, 四川大邑县人, 副主任技师, 主要从事病原微生物检验工作。

通信作者: 张晓春, E-mail: 294982434@qq.com。

引起具有传染性强、传播速度快、并发症严重的急性呼吸道感染性疾病, 给人类健康带来极大威胁。A 型流感病毒能够在禽类、猪、马和人等哺乳动物中流行, 常常引发大流行。根据其表面的血凝素 (hemagglutinin, HA) 和神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 蛋白抗原性的

不同,又分为 HA1-18、NA1-11,可组合成各个亚型<sup>[1]</sup>。对人类致病的 A 型流感主要有 H1、H2、H3 亚型,其中 H1 和 H3 是常见季节性流感病毒亚型;H2 亚型自 1968 年以来已在人间消失;而禽流感病毒 H5、H7、H9,尚未证实具有有效人-人传播能力。2009 年发生甲型 H1N1 流感病毒大流行取代此前流行的季节性流感 H1 实现人际传播。B 型流感病毒虽有报道在海豹中检出<sup>[2]</sup>,但一般认为 B 型流感病毒由于没有自然动物宿主而变异受到限制,极少引发大流行<sup>[3]</sup>。B 型流感病毒依据其血凝素的抗原性不同,分为 B/Victoria/2/87(以下简称 BV)和 B/Yamagata/16/88(以下简称 BY)两个系<sup>[4-5]</sup>,同时或者独自在人间长期循环<sup>[6]</sup>。猪是流感病毒的储存宿主,对禽流感病毒和猪流感病毒均敏感,允许人流感病毒、禽流感病毒和猪病毒在体内复制<sup>[7-8]</sup>。人季节性流感病毒已在猪群中分离获得,并在猪群中地方流行,上世纪七十年代欧洲猪群中流行的人源 H3N2 就是典型的例子<sup>[9]</sup>。

流感病毒作为抗原进入机体后,能在血清中检测出相应的抗体,其抗体水平可反映感染和免疫状况。因此本研究针对人群和猪群展开血清学抗体水平调查,了解流行毒株在感染宿主和储存宿主中的传播感染情况,评估人群的易感性,为有效防控提供科学依据。

## 1 对象与方法

1.1 病例监测 对 2014 年 1-6 月成都市流感哨点监测的流感样病例(influenza-like illness, ILI)咽拭子标本同时进行实时荧光 RT-PCR 法(rRT-PCR)检测流感病毒核酸和借助 MDCK 细胞分离病毒。病毒经分离后采用血凝抑制实验(HI)确定亚型或者系。以上检测结果任一项为阳性,均判为流感病毒阳性病例。

1.2 毒株来源 结合同期的流行情况,选取经中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所国家流感中心复核鉴定一致的毒株为代表株。A 型 H1N1 代表株为: A/四川锦江/SWL253/2014(H1)(简称 A(H1N1)-CD2014); H3N2 代表株为: A/四川锦江/2144/2014(H3)(简称 H3N2-CD2014); B-Victoria 系的代表株是 B/四川温江/272/2014(简称 BV-CD2014); B-Yamagata 系的代表株为 B/四川青羊/1303/2014(简称 BY-CD2014)。

1.3 病毒分离培养 所选毒株均按照《国家流感中心标准操作规程(2007 年修订版)》进行 MDCK 细胞分离培养收获病毒悬液,HA 滴度均 $\geq 1:16$ 。

1.4 宿主样本收集 同期随机选取于成都市疾病预

防控制中心体检门诊体检人群 50 例,主要包括当地食品、公共卫生场所从业人员、职业病相关体检人员,其中男/女为 19:31,年龄( $31.57 \pm 21.43$ )岁,最小 18 岁,最大 53 岁,抽取肘中静脉血。猪群采用整群抽样和简单随机抽样相结合的方式,首先从成都市一、二、三圈层中各随机抽取 1 个区县,在选中的区县中,随机选取一个生猪屠宰场,随机抽取 15~20 份猪静脉血,共 49 份。所有静脉血经 4℃ 1 500 r/min 离心 15 min 分离血清,-20℃ 保存待检。

### 1.5 血清中流感病毒 HI 抗体检测

1.5.1 主要材料 已知抗原为上述分离培养的人流感病毒。待检血清先与霍乱滤液按 1:4 混合,置 37℃ 水浴箱过夜(约 16~18 h),以除去血清中非特异性抑制物,次日取出于 56℃ 水浴 50 min。4 个亚型或系的标准抗血清使用国家流感中心下发的流感病毒分型鉴定试剂盒中的标准参照血清。红细胞悬液使用保存于 4℃ Alsever 液中的人“O”型红细胞,经 PBS 洗涤 3 次后配制成浓度为 1%的血球。

1.5.2 微量血球凝集抑制试验测定 操作参照《中国国家流感中心流感/禽流感红细胞凝集抑制试验抗体检测标准操作规程》。取待检血清按 25  $\mu$ l 体积用 PBS 倍比稀释,每份血清稀释 5 份,其中 4 份分别加入 25  $\mu$ l 新配制的 8 个凝集单位的 A(H1N1)-CD2014、H3N2-CD2014、BV-CD2014 和 BY-CD2014 病毒抗原,另 1 份加入 25  $\mu$ l PBS 作为血清对照。轻轻弹击微量板,使抗原与抗体充分混合,室温下孵育 20 min 后,每孔加入红细胞悬液 50  $\mu$ l,振荡混匀,室温孵育 45 min 观察结果。同时设血球对照和抗原对照。在血清对照和血球对照不发生血球凝集,抗原对照发生血球凝集的情况下,观察待检血清的 HI 抗体滴度。以血球凝集抑制的最高稀释度为最终结果,滴度 $\geq 1:40$  视为 HI 抗体阳性, $<1:40$  为阴性<sup>[10-12]</sup>。

1.6 统计分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。率的比较使用卡方检验;抗体滴度以几何平均滴度(geometric mean titer, GMT)表示,依次经自然对数变换、正态分布检验后进行单因素方差分析或 *t* 检验,检验水准  $\alpha=0.05$ (双侧)。

## 2 结果

2.1 成都市流感病毒各型和各亚型的流行情况 2014 年 1-6 月成都市 ILI 的样本数为 896 份,检出流感病毒 129 份,阳性率为 14.40%,其中各型和各亚型的阳性检出率见表 1,且差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

表 1 2014 年 1-6 月成都市哨点医院流感样病例 (ILI) 流感病毒检测结果 (n=896)

流感病毒型和亚型	阳性数	阳性率 (%)	$\chi^2$ 值	P 值
A (H1N1)	43	4.80	50.395	<0.001
H3N2	31	3.46		
BV	1	0.11		
BY	54	6.03		
合计	129	14.4		

2.2 流感病毒的抗体水平在宿主中的分布情况 各型和各亚型流感病毒在不同宿主 (人群及猪群) 间的

表 2 两种宿主血清中各流感病毒各型和各亚型的抗体水平分布

不同型和亚型	GMT (1: ) ( $\bar{x} \pm s$ )				阳性率 (%)			
	人 (n=50)	猪 (n=49)	t 值	P 值	人 (n=50)	猪 (n=49)	$\chi^2$ 值	P 值
A (H1N1)	65.59±59.25	16.19±23.43	10.787	0.001	76.00	34.69	17.099	0.008
H3N2	38.91±28.73	10.11±18.69	13.509	0.001	56.00	4.08	31.581	0.001
BV	55.79±66.64	2.56±10.77	27.151	0.001	94.00	18.37	57.623	0.001
BY	164.5±143.76	25.73±32.65	9.896	0.001	100.00	63.26	5.713	0.032
F 值	0.027	0.027	-	-	239.104	231.642	-	-
P 值	0.535	0.539	-	-	0.001	0.001	-	-

3 讨论

HA 作为流感病毒的重要抗原, 不仅限于鉴定型别之用, 而且其刺激感染宿主所产生的中和抗体, 能在体外观测到特异性的抗原抗体反应。因此, 通过 HI 实验检测血清中中和抗体的水平能够回顾性分析被检对象的感染状况及免疫状况, 进而对了解病原的流行特征具有重要意义<sup>[7]</sup>。

2014 年 1-6 月, 成都市的 ILI 病例监测结果显示, 流行的流感病毒有 A (H1N1)、H3N2、BV 和 BY, 阳性率以 BV 的阳性率最低, BY 最高。提示这段时期人际间, 极少发生 BV 感染, 而 A (H1N1)、H3N2 及 BY 均存在季节性流行。

人血清中流感各型和亚型流感病毒的 HI 抗体结果显示, 各型和各亚型之间的 HI 抗体水平差异无统计学意义, 提示人群对各型流感病毒产生中和抗体的能力相近, 即病毒的抗原性相近。抗体阳性率方面以 BY-CD2014 最高, 符合这段时期该地域的病原流行状况; 但监测到的 ILI 病原学标本中的 BV 流感病毒阳性率极低, 而人血清中针对 BV 的 HI 抗体阳性率却高达 94.00%, 推测人群中可能存在既往感染的累积效应。另外, 加之 BY 的 HI 抗体阳率也为 100%, 共同说明人群对 B 型流感病毒更易感。由于本研究人群宿主样本容量的制约, 尚不清楚人群中各型和各亚型感染状况差异上的功效大小以及年龄、性别、从业环境等因素对其的影响, 未来需设计更严密的前瞻性研究来进一步扩大验证。

猪血清的流感各型和各个亚型流感病毒间 HI 抗

抗体检测结果见表 2。血清中流感病毒各型和各亚型 HI 抗体滴度在人群或猪群内差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。但抗体阳性率在人血清中和猪血清中则差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。两种宿主间比较, 在人血清中各型和各亚型的 HI 抗体滴度都高于猪血清中的滴度, 且差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。各型和各亚型的抗体阳性率同样为人血清显著高于猪血清 ( $P < 0.05$ )。

体水平, 以 BY-CD2014 最高, A (H1N1)-CD2014 其次, BV-CD2014 最低, 而抗体阳性率也具有同样的趋势。提示这期间猪群中循环的人流感病毒主要是 BY 和 A (H1N1)。结合人群的病原学监测数据, BV 流感病毒在人际间的阳性率极低, 这与猪群中显示 BV 的较低感染率可能存在某种关联。此外, 人际间流行的 BY 和 H3N2, 则只有 BY 在猪群中具有很高的感染率, 这不仅提示猪对人 H3N2 和 BY 流感病毒的易感性可能存在较大的差别, 而且结合 Zhiguang Ran 等<sup>[13]</sup>在有呼吸道症状的猪鼻咽拭子中检测到 B 型流感核酸的研究事实, 有理由认为猪是人 B 型流感病毒的潜在宿主。

流感各型和各亚型间抗体水平分别在人血清与猪血清间比较, 人血清中的各型和各亚型 HI 抗体水平均高于猪血清, 阳性率也与其一致, 同样是人血清均高于猪血清。这可能是由于人对人流感病毒的易感性高于猪, 但不排除人群历年来的感染积累。

不少资料认为 HI 抗体滴度  $\geq 1:40$  时即对流感病毒有保护性<sup>[11-12]</sup>。本研究针对感染宿主的调查结果显示, 人血清中 BY 病毒的 HI 抗体阳性率为 100%, BV 病毒的 HI 抗体阳性率为 94.00%, 但在 ILI 病例中排除年龄偏倚 (相对于人血清采集对象) 后 18~53 岁成人的 BY 检出率是 4.20% (20/476), BV 检出率为 0.21% (1/476), 其在检出流感病毒阳性者中的构成比分别为 27.40% (20/73) 和 1.37% (1/73), 与理应形成的保护性不相符, 也无法解释近年来 B 型流感持续在人际间循环的事实<sup>[14-15]</sup>。分析原因可能如下: B 型流感病毒的 HA 抗原性相对稳定, 但 B 型其它 7 个基 (下转第 1317 页)