

乌鲁木齐市外环境标本禽流感病毒监测情况 及相关因素分析

韩志国, 薛娜, 樊旭成, 高枫

乌鲁木齐市疾病预防控制中心, 新疆 乌鲁木齐 830026

摘要: **目的** 分析乌鲁木齐市外环境标本禽流感病毒阳性检出情况及相关因素, 为进一步规范外环境标本的采样和检测流程及疫情防控提供依据。 **方法** 对 2015 年 1 月—2017 年 12 月三年期间采集的 909 份禽类外环境标本, 采用实时荧光定量 PCR 方法进行核酸检测, 分析禽流感病毒阳性检出率及相关因素。 **结果** 在 909 份标本中, 共检出禽流感阳性 116 份, 阳性率为 12.76%; 阳性标本中, 以 H9 亚型为主; 不同监测场所和不同季度禽流感病毒阳性检出率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 以城乡活禽市场和第一季度的阳性率最高, 分别为 16.45% (90/547)、22.33% (46/206); 不同标本类型和不同的送检检测时间间隔的病毒阳性检出率差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。 **结论** 乌鲁木齐市外环境禽流感病毒阳性检出率偏高, 存在禽流感流行风险, 监测场所和监测季度是禽流感病毒阳性检出率相关因素。

关键词: 外环境; 禽流感病毒; 阳性检出率; H9 亚型

中图分类号: R511.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2020)02-0135-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.02.003

Surveillance of avian influenza virus in external environment specimens and analysis of its related factors in Urumqi

HAN Zhi-guo, XUE Na, FAN Xu-cheng, GAO Feng

Urumqi Center for Disease Control and Prevention, Urumqi, XinJiang 830026, China

Corresponding author: FAN Xu-cheng, E-mail: 27980310@qq.com

Abstract: **Objective** To analyze the positive detection of avian influenza virus in external environmental specimens and its related factors in Urumqi, and to provide a basis for further standardization of sampling and detection process of external environmental specimens and epidemic prevention and control. **Methods** A total of 909 specimens were collected from poultry-related external environment between January 2015 and December 2017. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect nucleic acid, and the positive detection rate of avian influenza virus and its related factors were analyzed. **Results** Among the 909 specimens, 116 were positive for avian influenza virus, with the positive rate of 12.76%. Among the positive specimens, H9 subtype played a dominant role. The positive detection rate of avian influenza virus was significantly different in different monitoring sites and seasons (both $P < 0.05$), and the positive detection rates in urban and rural live poultry markets (16.45%, 90/547) and the first quarter (22.33%, 46/206) were found to be the highest. No statistically significant differences were found in the positive rate of avian influenza virus among different types of specimens as well as in different time intervals between submission time and detection time (both $P > 0.05$). **Conclusions** The positive detection rate of avian influenza virus in external environment in Urumqi city is high, and there is a risk for avian influenza virus epidemic. Monitoring sites and quarters are factors related to the positive detection rate of avian influenza virus.

Key words: external environment; avian influenza virus; positive detection rate; H9 subtype

人禽流感是禽类流感病毒引起人类感染的人禽共患传染病。目前能引起人类感染发病的禽流感病毒有 H5N1、H7N1、H7N2、H7N3、H7N7、H9N2 和 H10N8 等

基金项目: 乌鲁木齐市新发和重点传染病快速监测重点实验室 (H171313001)

作者简介: 韩志国 (1982-), 男, 山东高密人, 主管技师, 硕士研究生, 主要从事病毒检测研究工作。

通信作者: 樊旭成, E-mail: 27980310@qq.com。

亚型毒株^[1-3]以及 2013 年 2 月以来我国部分省(市)地区出现的 H7N9 亚型^[4]。禽类作业环境可以增加人感染禽流感病毒的危险性^[5]。乌鲁木齐从 2014 年发生高致病性禽流感后, 外环境禽流感监测就一直被作为禽流感防控体系建设中的一项重要内容。禽类外环境标本禽流感病毒阳性检出率受到多种因素的影响。为了解乌鲁木齐市外环境标本禽流感病毒阳性情况并提高监测的准确性, 本文从监测场所、标本类型及监测

季度和检测及时性等方面,统计分析外环境禽流感病毒阳性率检出情况,为进一步规范外禽环境标本的采样和检测流程及疫情防控提供依据。

1 材料与方法

1.1 样本来源 根据新疆卫计委《职业暴露人群血清学和环境高致病性禽流感监测方案(2011 版)》和国家卫计委《人感染 H7N9 禽流感疫情防控方案(第三版)》的要求进行监测点的设置并安排区县疾病预防控制中心进行采样。在 2015 年 1 月—2017 年 12 月期间,共收集到样本 909 份,实验室冷冻保存。

1.2 仪器及试剂 德国凯杰(QIAGEN)全自动核酸提取仪(QIAxtractor)和美国伯乐实时荧光 PCR 仪(iQ5)。检测试剂主要是使用北京普若维生物技术有 限公司的磁珠法病毒 DNA/RNA 提取试剂盒和深圳市梓健生物科技有限公司的甲型流感病毒核酸检测荧光 RT-PCR 试剂盒和禽流感病毒 H5、H7、H9 亚型核酸 检测荧光 RT-PCR 试剂盒。

1.3 检测方法 利用核酸提取试剂盒,采用磁珠法对

样本的病毒 RNA 进行提取,根据荧光 PCR 检测试剂 盒说明进行不同类型病毒的反应体系配制、反应体系 的分管、加样和扩增检测。并严格按照说明书的要求 判定结果。

1.4 统计学方法 利用 SPSS 23.0 软件对数据进行 统计分析,计数资料采用例数(%)表示,采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 外环境禽流感病毒总体监测情况 三年间共收 集禽类外环境标 909 份,检出禽流感阳性标本 116 份, 禽流感病毒 A 型阳性率为 12.76%,其中,H5 亚型阳 性率 0.99%(9/909),H7 亚型阳性率 0.55%(5/909), H9 亚型阳性率 10.45%(95/909),H5+H9 亚型阳性 率 0.33%(3/909),H7+H9 亚型阳性率 0.11% (1/909),H5+H7 亚型阳性率 0.33%(3/909)。阳性 标本中,H9 亚型阳性标本占总阳性标本的比例最高, 为 81.90%(95/116)。见表 1。

表 1 2015—2017 年间外环境标本禽流感病毒总体监测情况

年份	检测数	阳性数	阳性率 (%)	H5 亚型		H7 亚型		H9 亚型		H5+H9 亚型		H7+H9 亚型		H5+H7 亚型	
				阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)
2015	202	40	19.80	4	1.98	2	0.99	33	16.34	0	0.00	1	0.50	0	0.00
2016	246	11	4.47	0	0.00	0	0.00	11	4.47	0	0.00	0	0.00	0	0.00
2017	461	65	14.10	5	1.08	3	0.65	51	11.06	3	0.65	0	0.00	3	0.65
合计	909	116	12.76	9	0.99	5	0.55	95	10.45	3	0.33	1	0.11	3	0.33

2.2 不同监测场所监测结果分析 在不同监测场所 中,城乡活禽市场阳性率为 16.45%(90/547),家禽屠 宰加工厂阳性率为 8.51%(4/47),家禽散养户集中地 的最低,阳性率为 1.09%(1/92),其它类型监测场所 9.42%(21/223)。不同监测场所禽流感病毒阳性检出 率差异有统计学意义($\chi^2=20.96,P<0.05$)。

2.3 不同标本类型监测结果分析 禽类粪便标本的 阳性率为 9.63%(18/187),笼具表面擦拭标本的阳性 率为 14.22%(30/211)、禽类饮水的阳性率为 17.22% (26/151)、清洗禽类的污水阳性率为 10.99%(10/91) 和案板表面的擦拭标本的阳性率为 10.05% (19/189),其他类型样本的阳性率为 16.25% (13/80),不同标本类型禽流感病毒阳性检出率差异 无统计学意义($\chi^2=7.13,P>0.05$)。

2.4 不同季度监测结果分析 一季度的阳性率最高 22.33%(46/206),其次为第二季度 12.00%(27/125), 三季度为 7.73%(26/336),而第四季度标本的阳性率

最低分为 7.02%(17/242)。不同季度禽流感病毒阳 性检出率总体差异有统计学意义($\chi^2=24.86,P< 0.05$)。

2.5 采样至检测时间间隔与禽流感病毒阳性检出率 的相关分析 所有标本的采样时间和送检时间间隔均 为 0 d,而送检时间和检测时间间隔为 0~16 d 不等,将 送检时间和检测时间间隔分为两组:0~6 d 和大于 6 d 的,其中间隔 0~6 d 标本阳性率为 13.43%(90/670), 间隔大于 6 d 的标本阳性率为 10.88%(26/239),通过 组间统计分析,不同的送检检测时间间隔的病毒阳性 检出率无统计学意义($\chi^2=1.03,P>0.05$)。

3 讨 论

通过实验室检测发现,三年间,乌鲁木齐市外环境 样本核酸检测阳性标本 116 份,FluA 阳性率为 12.76%,这一结果高于北方地区辽宁(4.38%)^[6]和宁 夏(8.95%)^[7];其中 H9 阳性 95 份,占阳性标本的

81.90%,这与目前流行于我国大陆的禽流感病毒主要是 H5 亚型和 H9 亚型的结论一致^[8-10];而 H7 亚型以及各种混合亚型别近几年也不断出现,有研究表明,禽类外环境中禽流感病毒混合型别的持续存在有利于禽流感病毒的进一步重组、变异,特别是 H9 亚型能够为 H5N1、H7N9 以及 H10N8 等禽流感病毒内部基因重组提供来源,有利于重组后的禽流感病毒突破宿主屏障^[11]。这提示在以后工作中要进一步加强外环境的监测力度,多部门联合,规范禽类环境市场,降低阳性率,尽最大可能杜绝人感染禽流感病的可能。

不同监测场所的监测数据统计分析来看,乌鲁木齐市禽流感感染风险主要集中在城乡活禽市场和家禽屠宰加工厂,与这两处场所环境卫生差,空气流通性不好以及禽类种类比较混乱有关;而规模化养殖场与家禽散养户集中的地区的禽类外环境标本禽流感病毒阳性检出率较低,这与该类场所禽类大多在出生后接种了禽流感疫苗,导致机体平均免疫抗体水平较高有关,这与王英等^[12]、王喜云等^[13]、孙晓强等^[14]的研究结果一致。

城乡活禽市场和家禽屠宰加工厂这类场所的特点:禽类来源复杂、密度高、摊位卫生条件差、清洗消毒不及时以及禽类混养,这都为禽流感病毒的传播提供了良好的条件;同时,由于一些人感染高致病性禽流感病毒(例如 H7N9)相对于对于禽类来说,是非高致病性病毒,所以受感染的禽类很难被发现,这就导致了活禽市场成为 H7N9 禽流感病毒传播及重组的主要病毒库有关,也就成为了目前人感染 H7N9 禽流感患者的禽类暴露来源的主要场所^[15-16],需要引起足够的重视。

不同来源的样本中均检测出 FluA 阳性标本,这表明表明禽流感病毒不仅存在于鸡、鸭等禽体中,更广泛分布于各种活禽市场外环境之中。这需要在在外环境禽流感病毒的样本采集和防控工作中,要做到更加详细,在防控方面考虑的更加全面,更要有足够的重视。

不同季度监测数据分析来看,禽类外环境标本禽流感病毒阳性检出率总体差异有统计学意义,这与王凤英等^[17]的研究结果相一致,这完全符合流感病毒的流行特点。提示外环境禽流感病毒防控的重点是在春节前后,在相应的时间点上,加强宣传,检查和防控工作,做到事无巨细,从点滴防控,从实际行动中引起足够重视。但是本市的外环境检测工作全年都不能放松,需要做好全年全面的监测工作。

综上所述,乌鲁木齐市外环境禽流感病毒阳性检

出率偏高,存在禽流感流行风险,因此在日常的监测工作中,应当加大在重点季度和重点场所的检查和防控工作,严格按照标准来执行;同时在采样和检测过程中,以监测方案要求的为标准,引起足够的重视,大大提高环境禽流感阳性检出率,从而为禽流感病毒的防控提供科学的实验室依据。

参考文献

- [1] 郭元吉.高致病性禽流感研究进展[J].中华实验和临床病毒学杂志,2006,20(2):90-93.
- [2] Parry J. H7N9 avian flu infects humans for the first time [J]. BMJ, 2013, 346: f2151.
- [3] 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.
- [4] 国家卫生和计划生育委员会.人感染 H7N9 禽流感诊疗方案(2013 年第 2 版)[Z].2013-04-10.
- [5] 崔小波,赵国兵,梅玉发,等.2013 年湖北省十堰市禽类职业暴露人群及外环境禽流感病毒监测分析[J].实用预防医学,2015,22(3):343-344.
- [6] 王璐璐,孙海波,孙佰红,等.辽宁省外环境禽流感病毒监测结果[J].预防医学,2019,31(3):221-224.
- [7] 张敏,朱海阳,孙晓强.2014—2015 年宁夏外环境禽流感监测结果分析[J].宁夏医科大学学报,2017,39(1):50-52.
- [8] 亓云鹏,顾伟玲,富小飞,等.嘉兴市外环境禽流感病毒污染状况及职业暴露人群 H5N6、H7N9 和 H9N2 抗体水平调查[J].实用预防医学,2018,25(4):417-420.
- [9] 鲍静,马广源,陈善辉,等.无锡市活禽交易市场家禽禽污染监测[J].中国热带医学,2018,18(5):452-453.
- [10] 薛娜,樊旭成,韩志国,等.乌鲁木齐市 2017 年 2 起人感染 H7H9 禽流感疫情分析[J].中国热带医学,2018,18(12):1226-1229.
- [11] Liu M, Li X, Yuan H, et al. Genetic diversity of avian influenza A (H10N8) virus in live pouhry markets and its association with human infection sin China[J].Sci Rep,2015,5(19):7632.
- [12] 王英,孔雯骅,朱洪浩,等.武汉市外环境中禽流行性感冒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.
- [13] 王喜云,梅玉发,刘经凤,等.十堰市 2011 年禽流感职业暴露人群抗体水平与外环境分布[J].中国热带医学,2013,13(1):66-68.
- [14] 孙晓强,温秋芳,马学曼,等.宁夏 2011—2013 年度职业暴露人群血清学和环境禽流感监测分析[J].中国卫生检验杂志,2013,24(1):103-106.
- [15] Li Q, Zhou L, Zhou M, et al. Epidemiology of human infections with avian influenza A (H7N9) virus in China[J].N Engl J Med,2014,370(6):520-532.
- [16] Han J, Jin M, Zhang P, et al. Epidemiological link between exposure to poultry and all influenza A (H7N9) confirmed cases in Huzhou city, China, March to May 2013 [J].Euro Surveill,2013,18(20):20481.
- [17] 王凤英,朱军礼,方琼楼,等.金华市 2011—2013 年活禽市场甲型流感病毒监测分析[J].中国预防医学杂志,2015,16(1):14-17.

收稿日期:2019-01-21