

2014—2018 年贵港市活禽市场外环境禽流感病毒检测和职业暴露人群血清学监测结果分析

梁正林, 杨忠秀, 邓星超, 林愈凤, 黄美玲

贵港市疾病预防控制中心, 广西 贵港 537100

摘要: **目的** 了解 2014—2018 年贵港市禽流感病毒在活禽交易市场中的阳性情况、变化规律以及职业暴露人群禽流感病毒血清学监测结果, 为人禽流感防控工作提供依据。 **方法** 2014—2018 年采集贵港市规模活禽交易市场、禽类农贸市场外环境样本 1 026 份和职业暴露人群血清 231 份, 外环境标本采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应方法检测禽流感病毒核酸, 血清标本采用马血球凝集抑制实验方法检测血清中 H9N2、H7N9、H5N6 抗体。 **结果** 2014—2018 年外环境标本甲型流感病毒核酸总阳性率为 37.62%, 阳性率在 13.89%~52.63% 之间波动, 有逐年增加的趋势。阳性标本中, 以 H9 亚型为主, 阳性数占 51.04%。贵港市唯一的大规模活禽交易市场阳性率为 22.57%, 以 H9 阳性为主; 农贸市场阳性率为 51.01%, 以 H9、H5 亚型阳性为主。5 种不同类型样本中, 以清洗禽类污水 (53.67%) 阳性率最高。全年进行监测, 第一、第四季度检出阳性率高于第二、第三季度。不同年份、标本类型、监测季度、场所、病毒分型等标本阳性检出率差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。2014—2018 年职业暴露人群血清监测结果均为阴性, 有禽类暴露史的人感染禽流感病例仅 1 例, 为 H5N6 感染病例。 **结论** 2014—2018 年贵港市活禽交易市场、农贸市场禽流感病毒核酸检出率较高, 但职业暴露人群普遍未受感染, 提示禽流感感染人群风险较低。但外环境的高污染率和散发病例的发生提示普通人群仍有感染风险, 故应加强市场特别是冬春季的监测监管, 落实活禽交易市场的消毒、规范管理等防控措施, 同时做好流感、不明原因肺炎病例监测工作, 最大限度地降低人感染禽流感的风险。

关键词: 禽流感病毒; 活禽交易市场; 外环境监测; H9 亚型; H5 亚型

中图分类号: R511.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2020)02-0138-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2020.02.004

Detection of avian influenza virus in external environment of live poultry markets and serological surveillance results of occupationally exposed population in Guigang city, 2014–2018

LIANG Zheng-lin, YANG Zhong-xiu, DENG Xing-chao, LIN Yu-feng, HUANG Mei-ling

Guigang Municipal Center for Disease Control and Prevention, Guigang, Guangxi 537100, China

Abstract: **Objective** To investigate the positive rate and changing rules of avian influenza virus in live poultry trading markets and the serological monitoring results of people occupationally exposed to avian influenza virus in Guigang city from 2014 to 2018, and to provide a basis for prevention and control of human infection with avian influenza virus. **Methods** We collected 1,026 external environmental specimens from live poultry trading markets and poultry farmers markets and 231 serum specimens of occupationally exposed population in Guigang city during 2014–2018. Real-time fluorescent quantitative reverse transcription polymerase chain reaction was used to detect avian influenza virus nucleic acid in the external environmental specimens. And horse blood hemagglutination inhibition test was employed to detect H9N2, H7N9 and H5N6 antibodies in the serum specimens. **Results** The total positive rate of influenza A virus nucleic acid in the external environmental specimens from 2014 to 2018 was 37.62%, and the positive rate fluctuated between 13.89% and 52.63%, with an increasing trend year by year. Among the positive specimens, H9 subtype played a dominant role, with the positive number of 51.04%. The positive rate in the only one large-scale live poultry trading market in Guigang city was 22.57%, and H9 subtype was the main type. The positive rate in the farmer markets was 51.01%, H9 and H5 subtypes were the main types. Among the 5 different types of specimens, the positive rate in cleaning poultry sewage was the highest (53.67%). The positive rates in the first and fourth quarters were both higher than those in the second and third quarters. There were statistically significant differences in the positive detection rate of specimens among different years, specimen types, monitoring quarters, sites and virus typing (all $P < 0.05$). The serological monitoring results of occupationally exposed population in 2014–2018 were all negative. There was only one case of human infection with avian influenza A (H5N6) virus among people with a history of exposure to poultry. **Conclusions** The detection rates of avian influenza virus nucleic acid in live

poultry trading markets and farmers markets in Guigang city from 2014 to 2018 were relatively high, but the occupationally exposed people were generally not infected, indicating that the risk of human infection with avian influenza virus was relatively low. However, the high contamination rate of external environment and the occurrence of sporadic cases suggested there was still a risk of infection among general population. It is necessary to strengthen the supervision of markets, especially the monitoring in winter and spring, implementing prevention and control measures, such as disinfection of live poultry trading markets and standardized management, and simultaneously monitor influenza and unexplained pneumonia cases so as to maximumly decrease the risk of human infection with avian influenza virus.

Key words: avian influenza virus; live poultry trading market; external environmental monitoring; H9 subtype; H5 subtype

禽流感病毒属正粘病毒科甲型流感病毒属,目前引起人类感染和发病的禽流感病毒主要为 H5、H7 及 H9 亚型,1998 年我国报道了首例人感染 H9N2 禽流感病例^[1],之后各地相继出现不同类型的人感染禽流感病例^[2-6]。本市 2017 年也出现首例人感染 H5N6 禽流感病例。近年来,禽流感病毒感染的宿主范围不断扩大,人感染禽流感疫情在我国和其他国家、地区时有发生,全国各地均加强了活禽市场外环境禽流感病毒监测工作。贵港市人口众多,虽只有一个大规模的活禽交易市场,但各地农贸市场均有活禽交易,且各地农贸市场禽类来源复杂,存在传播扩散禽流感病毒的风险。为了解贵港市禽流感病毒在活禽交易市场环境中的污染和分布情况,笔者对 2014 年 1 月—2018 年 12 月贵港市活禽交易市场外环境病原学监测以及职业暴露人群血清学监测情况进行了整理和分析,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 样本来源 按照《广西活禽市场外环境禽流感病毒监测工作方案(2014 年版)》要求,2014—2018 年对贵港市豫丰活禽交易市场和桂平市、平南县、港南区、港北区、覃塘区部分城区及乡镇禽类农贸市场开展监测,全年监测,每月监测 1 次,采集清洗禽类污水、禽类笼具、宰杀的案板表面、鸡粪和禽类饮水等 5 类外环境样本,累计采集标本 1 026 份。期间采集全市范围内禽类从业人员空腹静脉血标本共 231 份,从业人员

类型包括活禽市场从业人员、家禽规模养殖场工作人员、家禽屠宰加工厂从业人员。

1.2 方法 外环境标本采用实时反转录聚合酶链式反应对 A 型流感病毒核酸进行检测,A 型流感病毒核酸阳性的再进行 H5、H9、H7 亚型检测。血清标本采用马血球凝抑制实验方法检测血清中 H9N2、H7N9、H5N6 抗体。

1.3 统计学分析 相关数据录入 Excel 2013 软件中进行整理,数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件,描述性资料用频数与百分比进行描述,率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 禽流感病毒核酸检测情况 2014 年 1 月—2018 年 12 月累计检测外环境样本 1 026 份,共检出甲型流感病毒核酸阳性样本 386 份,检出率为 37.62%。2014—2018 年度检出率分别为 13.89%、18.92%、18.87%、38.72%、52.63%,检测的阳性标本中病毒分型构成比由高至低依次为 H9 (51.04%),未分型 (16.84%),H5+H9 混合 (16.84%),H5 (11.40%),H7 (2.85%),而 H5+H7、H7+H9 混合型的构成比例较低,均为 0.52%。各类混合型仅在 2017—2018 年出现,各年度阳性率有逐渐升高的趋势。不同年份病毒阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 73.624, P < 0.01$),见表 1。

表 1 2014—2018 年贵港市禽流感病毒核酸检测情况(n,%)

| 年份 | 样本数 | 阳性数 | 各亚型阳性分布 | | | | | | |
|------|-------|------------|-----------|----------|------------|-----------|---------|---------|-----------|
| | | | H5 | H7 | H9 | H5+H9 | H7+H9 | H5+H7 | 未分型 |
| 2014 | 72 | 10(13.89) | 2(20.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | 8(80.00) |
| 2015 | 74 | 14(18.92) | 1(7.14) | 0(0.00) | 6(42.86) | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | 7(50.00) |
| 2016 | 106 | 20(18.87) | 0(0.00) | 0(0.00) | 15(75.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | 0(0.00) | 5(25.00) |
| 2017 | 470 | 182(38.72) | 15(8.24) | 11(6.04) | 95(52.20) | 23(12.64) | 2(1.10) | 2(1.10) | 34(18.68) |
| 2018 | 304 | 160(52.63) | 26(16.25) | 0(0.00) | 81(50.63) | 42(26.25) | 0(0.00) | 0(0.00) | 11(6.88) |
| 合计 | 1 026 | 386(37.62) | 44(11.40) | 11(2.85) | 197(51.04) | 65(16.84) | 2(0.52) | 2(0.52) | 65(16.84) |

2.2 不同标本类型监测情况 5 种不同类型样本中,清洗禽类污水阳性率最高 53.67% (117/218),其余依次为宰杀的案板表面 41.53% (49/118)、笼具表面

37.50% (99/264)、禽类饮水 35.04% (48/137) 和粪便 25.26% (73/289),不同类型标本之间核酸阳性率差异有统计学意义($\chi^2 = 43.902, P < 0.01$),见表 2。

表 2 2014—2018 年贵港市
不同类型外环境标本检测结果($n, \%$)

| 标本类型 | 检测数 | 阳性数 | 2014 年 | 2015 年 | 2016 年 | 2017 年 | 2018 年 |
|--------|-------|------------|----------|----------|----------|------------|------------|
| 清洗禽类污水 | 218 | 117(53.67) | 1(0.85) | 7(5.98) | 4(3.42) | 48(41.03) | 57(48.72) |
| 案板表面 | 118 | 49(41.53) | 0(0.00) | 5(10.20) | 3(6.12) | 22(44.90) | 19(38.78) |
| 禽类笼具 | 264 | 99(37.50) | 1(1.01) | 2(2.02) | 3(3.03) | 55(55.56) | 38(39.39) |
| 禽类饮水 | 137 | 48(35.04) | 5(10.42) | 0(0.00) | 6(12.50) | 24(50.00) | 13(27.08) |
| 禽类粪便 | 289 | 73(25.26) | 3(4.11) | 0(0.00) | 4(5.48) | 33(45.21) | 33(45.21) |
| 合计 | 1 026 | 386(37.62) | 10(2.59) | 14(3.63) | 20(5.18) | 182(47.15) | 160(41.45) |

2.3 不同场所监测情况 2014—2018 年贵港市外环境 1 026 份样本中,乡镇禽类农贸市场环境标本 A 型禽流感病毒核酸阳性率最高,为 55.48%,其次是城区

表 3 2014—2018 年贵港市不同场所外环境标本检测结果($n, \%$)

| 场所类型 | 样本数 | 阳性数 | 各亚型阳性分布 | | | | | |
|----------|-------|------------|-----------|----------|------------|-----------|---------|---------|
| | | | H5 | H7 | H9 | H5+H9 | H7+H9 | H5+H7 |
| 规模活禽交易市场 | 483 | 109(22.57) | 3(2.75) | 0(0.00) | 76(69.72) | 5(4.59) | 0(0.00) | 0(0.00) |
| 城区禽类农贸市场 | 242 | 110(45.45) | 17(15.46) | 10(9.09) | 43(39.09) | 8(7.27) | 2(1.82) | 2(1.82) |
| 乡镇禽类农贸市场 | 301 | 167(55.48) | 24(14.37) | 1(0.60) | 78(46.71) | 52(31.14) | 0(0.00) | 0(0.00) |
| 合计 | 1 026 | 386(37.62) | 44(11.40) | 11(2.85) | 197(51.04) | 65(16.84) | 2(0.52) | 2(0.52) |

2.4 不同季节监测情况 2014—2018 年每月份都进行采样。不同季节采集环境标本的检测结果显示 A 型禽流感病毒核酸阳性率在第四季度最高,为 47.94%;第一季度次之,为 41.90%。第二、第三季度阳性率明显低于第一、第二季度,总阳性率在不同季度之间差异有统计学意义($\chi^2 = 43.182, P < 0.01$),见表 4。

表 4 2014—2018 年贵港市不同季度
外环境标本监测阳性结果($n, \%$)

| 季度 | 检测数 | 阳性数 | 2014 年 | 2015 年 | 2016 年 | 2017 年 | 2018 年 |
|----|-------|------------|----------|----------|----------|------------|------------|
| 一 | 525 | 220(41.90) | 9(4.09) | 5(2.27) | 13(5.91) | 52(23.64) | 141(64.09) |
| 二 | 215 | 60(27.91) | 0(0.00) | 6(10.00) | 4(6.67) | 44(73.33) | 6(10.00) |
| 三 | 92 | 13(14.13) | 1(7.69) | 0(0.00) | 1(7.69) | 6(46.15) | 5(38.46) |
| 四 | 194 | 93(47.94) | 0(0.00) | 3(3.23) | 2(2.15) | 80(86.02) | 8(8.60) |
| 合计 | 1 026 | 386(37.62) | 10(2.59) | 14(3.63) | 20(5.18) | 182(47.15) | 160(41.45) |

2.5 职业暴露人群血清学检测情况 2014—2018 年共采集职业暴露人群血液标本 231 份,采用马血球凝抑制实验方法检测血清中 H9N2、H7N9、H5N6 抗体。231 份样品检测结果均为阴性。

3 讨论

禽流感病毒的自然宿主是水禽,但它也可以感染多种家禽和人等哺乳动物,因此禽流感是威胁养殖业和人类健康的主要传染病之一^[7]。活禽批发市场是禽类的集聚地和周转地,活禽来源十分复杂,其携带的病毒可随禽类流动大范围散播^[8],禽接触和涉禽场所暴露是发生人禽流感病例的重要原因^[9]。本次检测结果显示,2014—2018 年贵港市禽类外环境禽流感病毒总体阳性率不断升高,且具有明显的季节差异性,每

禽类农贸市场,阳性率为 45.45%,规模活禽交易市场环境阳性率为 22.57%,以 H9 阳性为主,阳性数占 69.72%(76/109);农贸市场总阳性率为 51.01%(277/543),其中以 H9、H5 亚型阳性为主,阳性数分别占 43.68%(121/277)、14.80%(41/277)。禽类农贸市场环境标本 A 型禽流感病毒核酸阳性率显著高于规模活禽交易市场环境标本阳性率;市城区禽类农贸市场、乡镇禽类农贸市场和规模活禽交易市场环境标本 A 型禽流感病毒核酸阳性率差异有统计学意义($\chi^2 = 93.884, P < 0.01$),见表 3。

年 1、4 季度监测标本检测阳性率明显高于其他季度,这可能与禽流感病毒在炎热干燥季节体外存活的时间较短,而在寒冷潮湿季节体外存活时间较长有关^[10]。

自从 2017 年开始扩大监测范围后,标本检测阳性率明显高出 2014—2015 年,且禽流感病毒型别出现多样化,其中 H5、混合阳性主要在城乡农贸市场样本中,而贵港市唯一一家大型活禽交易市场反而很少检出。原因可能为贵港市唯一的大型活禽交易市场以活鸡交易为主,水禽类活禽基本无销售,且贵港市无大型水禽类如鸭、鹅交易市场,各地农贸市场除了从大型活禽市场批发外还可能从各地散户及小或不知名的养殖场购买活禽特别是水禽类,来源复杂的禽类可能是禽流感病毒的高危载体。频繁的家禽贸易同样能使流感病毒基因间不断发生重配,导致病毒持续进化和传播^[11]。因此,除了增加城乡农贸市场监测工作外,还应掌握城乡农贸市场活禽来源,联合动物疫病预防控制中心加强外来禽类管理及监测工作,重点监测水禽类养殖场及较为隐秘的水禽类活禽交易场地。虽然此次禽流感职业暴露人群血清学监测均为阴性,但 2017 年发现 1 例有禽类暴露史的人感染 H5N6 禽流感病例,故仍需警惕人感染禽流感的可能,有报导称接触鸭子为 H7N9 病毒感染的高危因素^[12],今后职业暴露人群监测工作可适当增加接触鸭子的暴露人群采样比例。

从检测出的型别来看,阳性标本中病毒分型构成比由高至低依次为 H9、A 未分型、H5+H9 混合、H5、H7,而 H5+H7、H7+H9 混合型的构成比例较低,均为 0.52%。各类混合型仅在 2017—2018 年出现,其中有

逐年升高趋势的是 H9 型。禽流感病毒 H9 型有强大生命力,它能与其他病毒或细菌引起共感染,还能与其他亚型流感病毒进行重排,形成新型重组病毒,对公共卫生安全造成了不容忽视的潜在危害^[13]。有报道称 H9 亚型能够为其内部提供基因重组来源,并致使重组后的禽流感病毒能够突破宿主屏障^[14-16]。近年来报告的人感染 H9N2 病例不断增加,外环境标本中 H9 亚型阳性率呈逐年升高的趋势,且持续出现不同亚型禽流感病毒混合感染情况,可能导致禽流感病毒进一步重组、变异,增加禽类和人类感染的风险,应予以重视,加强监测。

不同类型标本监测结果显示:清洗禽类污水阳性率最高,其余依次为宰杀的案板表面、笼具表面、禽类饮水和粪便。提示贵港市在具有活禽交易的农贸市场和批发市场中,禽类屠宰、加工及运输贩卖等环节极易造成环境被禽流感病毒污染。本次数据结果显示清洗禽类污水、宰杀的案板表面擦拭标本的阳性率最高,由此可见,禽流感感染及传播的高危人群仍然是活禽交易从业人员以及购买人员。有研究^[17-19]发现,关闭活禽市场暂停活禽交易可降低城市居民的感染风险,提示涉禽场所应及时进行无害化清洗消毒处理,禽类饮水、清洗禽类污水、宰杀或摆放肉案板是重点清洗、消毒的对象。有条件可做阳性标本的鸡胚培养,评估外环境禽流感病毒存活情况。

活禽来源复杂,且贵港市城乡农贸市场禽类销售方式多为现场宰杀、零售,市场清洗消毒等措施不到位,各地农贸市场、大型活禽交易市场外环境中常年存在各类亚型的禽流感病毒,且有逐年升高的趋势是目前贵港市禽流感管理的重点与难点,因此建议:(1)加强对活禽批发市场和农贸市场活禽交易摊位的市场监管,从源头上管理好活禽来源。(2)多部门联防联控是预防禽流感的有效措施^[20],结合美丽广西、清洁乡村活动,在本市城乡范围内深入开展环境卫生集中整治行动,大力开展爱国卫生运动,加强活禽经营市场卫生治理,改善环境卫生水平。建议在无疫情地活禽市场做到一日一清洗,一周一消毒,一月一休市;在有疫情地由政府组织对活禽市场进行休市,并采取彻底消毒措施;在有条件的阶段,鼓励采取季节性休市措施。(3)做好活禽运输检疫工作,有条件可推广活禽定点集中宰杀后销售、销售冰鲜禽类及其制品的模式^[21]。(4)加强人禽流感防控宣传工作,提高从业人员自我防护意识,降低人感染禽流感发病风险。(5)继续做好涉禽场所外环境病原学监测及职业暴露人群血清学

监测,掌握外环境病毒变化趋势及暴露人群感染状况,在疾病流行季节进一步扩大流感和不明原因肺炎监测医院的数量和范围^[22],做到及时发现病例及时处理疫情,把人感染禽流感风险降到最低。

参考文献

- [1] 辛丽,白天,周剑芳,等.中国职业暴露人群感染 H9N2 禽流感病毒血清学调查[J].疾病监测,2015,30(5):368-371.
- [2] 邓婷,吴铁钢.国内首例人感染高致病性禽流感病例流行病学调查[J].中国热带医学,2006,6(1):47-48,88.
- [3] 余宏杰,陈裕旭,舒跃龙,等.中国大陆首例人感染禽流感病毒(H5N1)的调查与确认[J].中华流行病学杂志,2006,27(4):281-287.
- [4] 上海:2 人感染 H₇N₉ 禽流感死亡 系全球首例[J].中国畜禽种业,2013,9(4):156.
- [5] 郑艳,郭卉,王荣华,等.云南省首例人感染 H5N6 禽流感病例流行病学调查[J].中国公共卫生,2015,31(10):1293-1296.
- [6] 刘晓雷,袁洁,欧新华,等.长沙市首例人感染 H9N2 禽流感病毒的分离及基因特征分析[J].现代预防医学,2016,43(17):3225-3231.
- [7] 李伟强,何婉婷,王霞,等.当前我国 H5 亚型禽流感的流行情况及防控对策[J].中国兽医杂志,2018,54(2):114-116.
- [8] 邹联斌,莫胜兰,屈素洁,等.广西边境地区活禽批发市场禽流感流行病学监测[J].中国动物检疫,2018,300(5):7-10.
- [9] 王凤英,朱军礼,张兵,等.2014 年浙江省金华市涉禽场所 A 型流感病毒监测分析[J].疾病监测,2015,30(8):629-633.
- [10] 谭伟,徐倩,谢芝勋.禽流感病毒研究概述[J].基因组学与应用生物学,2014,33(1):194-199.
- [11] 邢永才,王大燕.鄱阳湖地区禽流感病毒相关监测研究进展[J].中国人兽共患病学报,2016,32(4):388-391.
- [12] 唐秀娟,房师松,吕星,等.深圳市活禽市场活禽经营人员 H7N9 禽流感病毒抗体水平及感染危险因素调查[J].实用预防医学,2015,22(7):809-812.
- [13] 赵聪慧,郭晶,李旭勇.H9N2 亚型禽流感病毒研究进展[J].黑龙江畜牧兽医,2019,567(3):41-45,185.
- [14] 李艳华,高海女,杨仕贵,等.H7N9 禽流感病毒分子生物学变异的研究进展[J].病毒学报,2018,34(6):904-910.
- [15] 孙增辉,朱银川,王嘉婧,等.H6N1 亚型禽流感病毒跨种属传播研究进展[J].中国人兽共患病学报,2017,33(3):236-240.
- [16] 顾敏,彭大新,刘秀梵.我国 H9N2 亚型禽流感病毒的流行和进化特点[J].生命科学,2015,27(5):531-538.
- [17] 张敏,李伟权.广东省人感染 H7N9 禽流感流行特征与防控对策[J].公共卫生与预防医学,2015,26(6):5-9.
- [18] 潘琼娇,倪朝荣,孙宝昌,等.13 例人感染 H7N9 禽流感病例特征分析[J].预防医学,2018,30(12):1261-1263.
- [19] 何林,周小锋,许少坚,等.深圳市龙华新区 2013—2015 年人感染 H7N9 禽流感发病及监测情况分析[J].实用预防医学,2017,24(6):728-730.
- [20] 樊旭成,韩志国,薛娜,等.2015—2017 年乌鲁木齐市外环境禽流感病毒监测结果[J].职业与健康,2018,34(22):3125-3128.
- [21] 鲍静,马广源,陈善辉,等.无锡市活禽交易市场家禽禽流感监测[J].中国热带医学,2018,18(5):452-455.
- [22] 刘燕,方巧云,曾健君,等.2013—2017 年惠州市重症社区获得性肺炎病例甲型流感/禽流感监测结果分析[J].实用预防医学,2018,25(8):922-925.