

# 2018—2020 年万州区外环境禽流感病毒监测分析

王恒芹, 甘雨露, 贺良, 郎中凯

重庆市万州区疾病预防控制中心, 重庆 404100

**摘要:** **目的** 了解重庆市万州区外环境禽流感病毒分布情况, 为禽流感防控工作提供依据。 **方法** 收集 2018—2020 年万州区城乡农贸市场、集中宰杀点等场所外环境样本, 采用实时荧光定量 PCR 法进行禽流感病毒核酸检测, 分析禽流感病毒在不同季节、场所、标本中的分布情况, 比较不同年份间禽流感病毒阳性检出率的差异。 **结果** 2018—2020 年共采集各类标本 720 份, 禽流感 A 型病毒核酸阳性 357 份, 总阳性率为 49.58%, 亚型中以 H9 型占比最高 (77.59%); 各年份禽流感病毒阳性检出率分别为 40.10%、52.08% 和 54.17%, 总体呈上升趋势; 城、乡农贸市场阳性率高于集中宰杀点, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 10.421, P = 0.001$ ); 各类型样本中, 案板擦拭标本、笼具擦拭标本、粪便标本和其他标本阳性检出率分别为 46.26%、57.50%、46.25% 和 34.62%, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 10.359, P = 0.001$ ); 2018—2020 年春、夏、秋、冬各季节总阳性率分别为 58.97%、31.11%、53.24% 和 55.95%, 冬春季显著高于夏秋季 ( $\chi^2 = 14.426, P = 0.000$ )。 **结论** 万州区相关外环境中均暴露有禽流感病毒, 主要以 H9 型为主, 其次为 A 未分型, 存在人感染禽流感病毒的风险。

**关键词:** 禽流感; 外环境; 监测; 分析

**中图分类号:** R511.73 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2022)02-0249-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2022.02.033

禽流感病毒 (avian influenza virus) 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。可感染人类的型别主要有 H5、H7、H9 亚型<sup>[1-2]</sup>。人禽流感 (human avian influenza) 是由禽流感病毒中某些亚型病毒所引起的急性呼吸道传染病, 它所表现出的临床症状随所感染病毒的亚型不同而异, 从结膜炎、轻微的上呼吸道卡他症状至出现急性呼吸窘迫征和多器官功能衰竭, 甚至导致死亡。感染途径主要为已感染病毒的禽类及其分泌物或排泄物<sup>[3]</sup>。重庆市万州区于 2017 年 3 月检出重庆市第二、第三例人感染 H7N9 型禽流感本土病例, 经调查, 病例均有不同程度的活禽暴露史, 因此加强外环境禽流感监测, 对预测预警禽流感的发生、降低人群感染风险具有重要意义。本文对重庆市万州区 2018—2020 年外环境禽流感监测资料进行分析, 探讨万州区人感染禽流感的风险, 为疫情防控提供科学数据。

## 1 材料与方法

**1.1 标本采集** 按照重庆市渝卫办发〔2017〕145 号文件要求, 从 2017 年 8 月起开展外环境禽流感病毒监测工作, 本文为方便统计, 收集 2018—2020 年万州区城、乡农贸市场、集中宰杀点三类场所禽流感病毒核酸

检测资料, 根据重庆市制定的监测方案要求, 选取该市辖区内城乡农贸市场、活禽场所作为监测点, 每月定时定点监测 1 次, 每次样本数不低于 24 份 (2018 年 1—8 月每月 12 份)。采样时选取禽类粪便、笼具表面、案板表面等部位进行棉拭子涂抹采样。所有标本 4℃ 保存运输并在 24 h 内送实验室开展核酸检测。2018—2020 年共采集标本 720 份, 其中案板表面擦拭标本 214 份, 笼具表面擦拭标本 240 份, 禽粪便标本 240 份, 其他标本 26 份。

**1.2 标本的检测** 应用江苏硕世生物科技公司生产的磁珠法自动提取仪器 (SSNP-3000A 型) 提取样本核酸, 样品量 140  $\mu$ l, 以 real-time PCR 方法进行核酸扩增 (荧光 PCR 分析仪 BIO-RAD CFX96), 具体操作及结果判定按照试剂盒说明书要求, 所有样本先进行甲型通用流感病毒核酸检测, 阳性标本再进一步分型, 包括 H5、H7、H9 亚型。甲型单通道核酸检测试剂盒由江苏硕世生物科技公司提供, 禽流感四通道核酸检测试剂盒 (PCR-荧光探针法) 由北京卓诚惠生有限公司提供, 均在有效期内使用。

**1.3 统计学分析** 将标本信息和实验室检测结果录入 Excel 数据库, 采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析, 监测数据采用百分比统计描述, 率的比较采用  $\chi^2$  检验, 检验水准  $\alpha = 0.05$ 。两两比较采用 Pearson  $\chi^2$  调整检验水准。

**作者简介:** 王恒芹 (1971—), 女, 大专, 副主任技师, 主要从事微生物检验工作。

**通讯作者:** 郎中凯, E-mail: 1070444253@qq.com。

2 结 果

2.1 外环境禽流感病毒监测情况 2018—2020 年重庆市万州区共采集外环境样本 720 份,检出甲型流感病毒通用核酸阳性 357 份,阳性率为 49.58%。其中 2018、2019 和 2020 年阳性率分别为 40.10% (77/192)、52.08% (150/288) 和 54.17% (130/240),呈逐年上升趋势,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 9.638, P = 0.002$ )。

表 1 2018—2020 年万州区外环境样本禽流感病毒及亚型监测情况 (n, %)

年份	样本数	阳性数	H5	H7	H9	H5+H9	A 未分型
2018	192(26.67)	77(40.10)	6(7.79)	0(0.00)	53(68.83)	8(10.39)	10(12.99)
2019	288(40.00)	150(52.08)	11(7.33)	0(0.00)	111(74.00)	20(13.33)	8(5.34)
2020	240(33.33)	130(54.17)	1(0.77)	0(0.00)	113(86.92)	1(0.77)	15(11.54)
合计	720(100.00)	357(49.58)	18(5.05)	0(0.00)	277(77.59)	29(8.12)	33(9.24)

2.2 不同场所禽流感病毒监测情况 2018—2020 年重庆市万州区共采集城、乡农贸市场、集中宰杀点三类场所的外环境样本进行禽流感病毒检测,阳性检出率总体差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 10.421, P = 0.001$ );2018 和 2019 年城、乡农贸市场阳性率差异均无统计学意义

2020 年阳性率与 2019 年差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 0.228, P = 0.633$ ),与 2018 年差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 8.452, P = 0.004$ );2019 年与 2018 年差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.632, P = 0.010$ )。亚型中检出了 H5、H9、H5+H9 和 A 未分型,H9 型总占比最高(85.71%),各年度分别占 68.83%、74.00%和 86.92%,见表 1。

( $\chi^2$  值分别为 0.065、0.501,  $P > 0.05$ );2020 年城、乡农贸市场、集中宰杀点阳性率差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 17.912, P = 0.000$ ),集中宰杀点与城、乡农贸市场检出率差异均有统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 12.578、13.115,  $P < 0.001$ ),见表 2。

表 2 2018—2020 年万州区不同外环境场所禽流感病毒监测情况

年份	乡镇农贸市场			城区农贸市场			集中宰杀点城区		
	标本数	阳性数	阳性率 (%)	标本数	阳性数	阳性率 (%)	标本数	阳性数	阳性率 (%)
2018	48	20	41.37	144	57	39.58	0	0	0.00
2019	144	72	50.00	144	78	54.17	0	0	0.00
2020	93	59	63.44	57	38	66.67	90	33	36.67
合计	285	151	52.98	345	192	55.65	90	33	36.67

2.3 不同季节禽流感病毒监测情况 2018—2020 年三年不同季节的禽流感病毒阳性检出率总体差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 33.955, P = 0.000$ ),冬春季高于夏秋季,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 14.426, P = 0.000$ )。对各季节采用 Pearson 检验水准调整法(检验水准  $\alpha = 0.05$ )做两两比较,表现为夏季与春、秋、冬三季之间检出率差异均有统计学意义,  $\chi^2$  分别为 26.326、19.597、21.865,  $P$  值均为 0.000。同一年份不同季节阳性检出率比较,2018 年不同季节差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 13.769, P < 0.05$ ),夏季检出率最低,与春、秋、冬

三季之间检出率差异均有统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 6.545、5.494、13.513,  $P$  值均  $< 0.05$ );2019 年不同季节差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 30.553, P = 0.000$ ),夏季检出率最低,与春、秋、冬三季之间检出率差异均有统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 12.806、25.175、20.571,  $P < 0.05$ );2020 年不同季节差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 14.238, P < 0.05$ ),夏季检出率最低,与春季差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 12.555, P < 0.05$ ),与秋、冬两季差异无统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 1.361、0.0224,  $P > 0.05$ ),见表 3。

表 3 2018—2020 年万州区不同季节外环境标本禽流感病毒监测情况

年份	春季(3~5月)			夏季(6~8月)			秋季(9~11月)			冬季(12~2月)		
	样本数	阳性数	阳性率 (%)	样本数	阳性数	阳性率 (%)	样本数	阳性数	阳性率 (%)	样本数	阳性数	阳性率 (%)
2018	36	16	44.44	36	6	16.67	72	28	38.89	48	27	56.25
2019	72	39	54.17	72	18	25.00	72	48	66.67	72	45	62.50
2020	48	37	77.08	72	32	44.44	72	39	54.17	48	22	45.83
合计	156	92	58.97	180	56	31.11	216	115	53.24	168	94	55.95

2.4 不同类型样本禽流感病毒检出情况 2018—2020 年分别采集案板表面擦拭样、笼具表面擦拭样、禽类粪便、其他(包括:冲洗污水及宰杀器具综合涂抹样)

四类样本,各类型标本总体阳性检出率差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 10.359, P = 0.001$ );其中笼具的阳性率最高,为 57.50%。三年间案板、笼具、粪便 3 种标本总体

阳性检出率差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 7.941$ ,  $P = 0.005$ );其中,2018 年差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 7.589$ ,  $P = 0.006$ )。同一标本不同年度比较,案板阳性检出率差异有统计学意义,2018 年最低,分别与 2019、2020 年

比较,差异均有统计学意义 ( $\chi^2$  值分别为 6.509、10.437, $P$  值分别为 0.011、0.001);三年间笼具、粪便标本检出率均无统计学意义,见表 4。

表 4 2018—2020 年万州区不同类型标本禽流感病毒检测情况

年份	案板			笼具			粪便			其他		
	标本数	阳性数	阳性率(%)	标本数	阳性数	阳性率(%)	标本数	阳性数	阳性率(%)	标本数	阳性数	阳性率(%)
2018	64	19	29.69	64	34	53.13	64	24	37.50	0	0	0.00
2019	96	48	50.00	96	56	58.33	96	46	47.92	0	0	0.00
2020	54	32	59.26	80	48	60.00	80	41	51.25	26	9	34.62
合计	214	99	46.26	240	138	57.50	240	111	46.25	26	9	34.62
$\chi^2$ 值	11.281			0.733			2.883			-		
$P$ 值	0.001			0.392			0.090			-		

3 讨 论

重庆市万州区 2018—2020 年禽类市场外环境禽流感病毒总体阳性率为 49.58%,低于重庆市北碚区杨联伟等<sup>[4]</sup>同期报道(61.88%),高于成都市温江区任禹博等<sup>[5]</sup>报道(21.72%),呈逐年上升趋势,与重庆市南川区曹霞等<sup>[6]</sup>报道一致(46.43%)。检出的禽流感病毒以 H9 亚型为主(85.71%),与宁夏吴忠市丁慧萍等<sup>[7]</sup>、湖北省刘琳琳等<sup>[8]</sup>、无锡市鲍静等<sup>[9]</sup>研究一致,A 未分型次之(9.24%),H5 和 H9 混合阳性占 8.12%。提示万州区禽类交易市场受禽流感病毒污染严重,同时存在多种禽流感病毒污染。

高致病性禽流感在一年四季均可发生,但以冬春季多发,主要原因是禽流感病毒对温度比较敏感,随着环境温度的升高,病毒存活时间缩短,夏秋时节,光照强度相对更高,阳光中的紫外线对病毒有很强的杀灭作用。本文监测资料显示,重庆市万州区活禽市场外环境全年均有禽流感病毒存在,不同季节差异显著,冬春季节为发病高峰,与文献报道一致<sup>[6,10-11]</sup>。2018 年、2019 年冬春季和夏秋季外环境禽流感病毒阳性率差异显著,2020 年冬春季和夏秋季外环境禽流感病毒阳性率无明显差异,可能是因为新冠疫情影响,采集样本未按规定时间采集,加上按照新的文件要求,从 2020 年 7 月开始,采集场所主要为集中宰杀点,由于诸多因素的影响,需要扩大监测范围、增加检测样本数量进一步予以验证。

禽类不同交易场所监测结果显示,集中宰杀点禽流感病毒阳性检出率低于城区、乡镇农贸市场,城区、乡镇农贸市场禽流感病毒阳性率无明显差异。表明万州区集中宰杀点受禽流感病毒污染较轻,而活禽类交易市场污染普遍。提示相关部门进一步加强活禽交易管理,严格落实活禽集中宰杀措施,同时,需做好从业

人员个人防护和相关场所终末消毒,阻止高致病性禽流感病毒在禽类市场间流行,进一步降低环境污染、人员暴露和感染风险。

本次调查结果显示:2018—2020 年万州区各种类型标本中禽流感病毒阳性检出率最高是笼具(57.50%),其次为案板和粪便,其他污水、宰杀器具擦拭标本都有不同程度的污染。与广东省珠海市焦亮等<sup>[12]</sup>(禽粪便最高,为 55.10%)、惠州市熊颖聪等<sup>[13]</sup>报道(笼具最高,为 23.47%)不一致,与辽宁省王璐璐等<sup>[14]</sup>研究相符。揭示在禽类的流通环节中,笼具最容易受到不同来源、批次、种类的活禽污染。笼具是禽类交易活动中最频繁使用工具,可成为禽类交叉感染场所;因此,禽类交易相关环境的及时清洗消毒尤为重要,建议活禽市场商家在每一批活禽售卖结束后都要进行彻底终末消毒。3 年间笼具阳性率差异无统计学意义,粪便阳性率差异也无统计学意义,揭示万州区活禽交易市场受禽流感病毒污染的强度大体一致。3 年间案板标本差异有显著性,2018 年最低,与 2017 年全国大部分省市发生人感染高致病性禽流感 H7N9 病毒后,2018 年禽类交易市场监管力度大,“1110”(一日一清洗,一周一消毒,一月一休市,过夜零存栏)政策落实到位等因素有关。由于本次调查研究未对禽类进行分类,无法溯源某种禽类感染率最高,建议主管部门增加种禽类别监测,分析感染来源,切实为禽流感防控提供科学数据。

综上所述,重庆市万州区外环境中禽流感病毒普遍存在,病毒分型复杂,混合感染、A 未分型三个监测年度均有,应特别关注 A 未分型标本,及时发现新的型别病毒。阳性检出率呈逐年上升趋势;冬春季节检出率高于夏秋季,笼具擦拭标本检出率最高,城乡农贸市场阳性检出率显著高于集中宰杀点,表明在城区内