

· 论 著 ·

辽宁省外环境禽流感病毒监测结果

王璐璐, 孙海波, 孙佰红, 刘双, 宋亦春, 毛玲玲, 孙英伟, 姚文清

辽宁省疾病预防控制中心感染与传染性疾病预防所, 辽宁 沈阳 110005

摘要: **目的** 了解辽宁省外环境禽流感病毒分布特征, 为预防和控制禽流感提供依据。**方法** 收集2016—2017年辽宁省城乡活禽市场、活禽批发市场、家禽规模养殖场(户)、散养户集中地和屠宰加工厂等场所禽流感病毒监测资料, 以及2016年6—8月和2017年3—5月应急监测资料, 采用实时荧光定量PCR法检测A型、H5、H7和H9亚型流感病毒核酸, 分析辽宁省涉禽环境的禽流感病毒亚型分布。**结果** 2016—2017年采集并检测外环境标本4 037份, 检出A型禽流感病毒阳性177份, 阳性率为4.38%; 2017年阳性率为6.26%, 高于2016年的2.40% ($P < 0.05$); 以H9亚型阳性率最高, 为3.07%; 2017年首次检出H7亚型。第一至四季度禽流感病毒核酸阳性率分别为8.54%、4.88%、2.17%和1.45%。不同涉禽场所活禽市场的禽流感病毒核酸阳性率最高, 为8.08%, 检出亚型以H9为主。不同类型涉禽标本以笼具表面擦拭物、清洗禽类的污水标本的禽流感病毒核酸阳性率较高, 分别为23.47%和15.96%; 各类标本均有H5、H9亚型检出, 在禽类粪便、笼具表面擦拭物、禽类饮水和宰杀或摆放禽类砧板表面擦拭物中检测到H7亚型或其混合型。**结论** 辽宁省外环境禽流感病毒主要为H9和H5亚型, 2017年检出H7亚型, 活禽市场应重点监测和防控, 特别是在冬春季。

关键词: 禽流感; 外环境; 核酸检测; 活禽市场

中图分类号: R511.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2019) 03-0221-04

Surveillance for avian influenza virus in environments in Liaoning Province

WANG Lu-lu, SUN Hai-bo, SUN Bai-hong, LIU Shuang, SONG Yi-chun, MAO Ling-ling, SUN Ying-wei,
YAO Wen-qing

Institute for Communicable and Infectious Diseases Prevention and Control, Liaoning Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shenyang, Liaoning 110005, China

Abstract: Objective To learn the epidemic distribution of avian influenza virus in external environments in Liaoning Province, and to provide evidence for the prevention and control of avian influenza. **Methods** The environmental samples were collected monthly during 2016 and 2017 (including samples from emergency monitoring in June to August, 2016 and March to May, 2017) from live poultry markets, live poultry wholesale markets, large-scale poultry farms (households), free-range poultry famers and poultry processing factories in Liaoning Province. Real-time polymerase chain reaction assay was used to detect nucleic acid of Influenza A as well as H5, H7 and H9 subtypes in the environmental samples. The distribution of avian influenza virus in external environments in Liaoning Province was analyzed. **Results** A total of 4 037 environmental samples were collected and detected from 2016 to 2017, there were 177 copies of type A avian influenza virus and the positive rate of avian influenza A virus was 4.38%. The positive rate in 2017 was 6.26%, which was higher than 2.40% in 2016 ($P < 0.05$). H9 subtype had the highest positive rate of 3.07%; H7 subtype was first detected in 2017. The positive rates of avian influenza virus from the first to fourth quarters of a year were 8.54%, 4.88%, 2.17% and 1.45%, respectively. The positive rates of avian influenza virus in live poultry markets were 8.08%, the highest among different sites, and the subtypes were mainly H9. The positive rates of avian influenza virus in samples of poultry cage and poultry washing sewage were 23.47% and 15.96%. H5 and H9 subtypes were detected in all types of samples, and H7 subtypes or mixed types were detected in samples of feces, poultry cage, poultry drinking water and chopping board. **Conclusion** The subtypes of avian influenza virus in the environments of Liaoning Province were mostly H9 and

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2019.03.002

基金项目: 国家重大传染病防治科技重大专项项目 (2017ZX10103007-001)

作者简介: 王璐璐, 本科, 主管医师, 主要从事传染病防控工作

通信作者: 姚文清, E-mail: wenqingyao@sina.com

H5, and the H7 was first detected in 2017. Live poultry markets should be the key monitoring sites, especially in winter and spring.

Key words: Avian influenza; External environment; Nucleic acid detection; Poultry market

禽流感是由甲型禽流感病毒感染禽类引起的一种急性呼吸道传染病，主要在禽类间传播，能直接感染人类的毒株主要有 H5、H7 和 H9 亚型^[1]，感染途径为接触已感染病毒的禽类及其分泌物或排泄物^[2]。自 1997 年首次在中国香港暴发人感染 H5N1 禽流感以来，人感染禽流感病例不断增加，对人群健康和禽类养殖业造成很大冲击^[3-6]。2016 年辽宁省报告省内首例人感染 H7N9 禽流感病例，截至 2018 年 12 月 7 日共报告 5 例（2017 年报告 4 例）。禽类接触史和活禽市场暴露是人感染禽流感病毒的高危因素^[7]，因此，对活禽养殖、加工处理和销售等高危场所进行监测，可及时掌握外环境禽流感病毒传播情况，采取防控措施，降低人群感染风险。为了解辽宁省外环境禽流感病毒亚型分布和流行情况，为禽流感疫情预测预警提供依据，收集 2016—2017 年辽宁省外环境禽流感病毒监测资料并分析，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本采集 根据《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）》和《2016 年辽宁省不明原因肺炎监测项目实施方案》要求，辽宁省各地市疾病预防控制中心（疾控中心）负责采集城乡活禽市场环境标本。辽宁省设有鞍山、丹东、锦州、盘锦和葫芦岛 5 个禽流感外环境监测点，每个监测点每月对辖区内城乡活禽市场、活禽批发市场、家禽规模养殖场（户）、散养户集中地和屠宰加工厂（仅 2017 年采样）等场所进行采样，包括笼具表面擦拭标本、宰杀或摆放禽肉砧板表面擦拭标本、粪便标本、清洗禽类污水标本、禽类饮水标本和其他类型标本（如禽、蛋及刀具和脱毛机等宰杀工具涂抹物等）。2016 年和 2017 年辽宁省报告当年首例人感染 H7N9 禽流感病例后，监测范围扩大至全省，除每月常规监

测外，14 个地级市按照监测方案采样要求分别在 2016 年 6—8 月和 2017 年 3—5 月开展了连续 3 个月的外环境应急监测工作，根据各地区实际情况采集涉禽环境标本进行核酸检测，监测资料一并纳入本文分析。根据 2016 年各监测场所禽流感病毒检出情况，2017 年增加了城乡活禽市场，减少了家禽散养户集中地区的采样比例。

1.2 标本检测 依据《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）》和《辽宁省不明原因肺炎监测项目实施方案》，采用实时荧光定量 PCR 法检测 A 型、H5、H7 和 H9 亚型禽流感病毒核酸，检测阳性标本送辽宁省疾控中心复核。辽宁省疾控中心采用实时荧光定量 PCR 法检测 A 型、H5、H7 和 H9 亚型流感病毒基因片段，检测仪器为 ABI ViiA7 实时荧光定量 PCR 仪，试剂购自硕世生物技术有限公司和达安基因股份有限公司。

1.3 统计分析 采用 Excel 2016 软件建立数据库，采用 SPSS 21.0 软件统计分析，禽流感病毒核酸阳性率的组间比较采用 χ^2 检验，多组间进一步两两比较采用 Bonferroni 法调整检验水准。检验水准 $\alpha=0.05$ ，调整后 $\alpha'=0.008$ 或 0.003。

2 结果

2.1 2016—2017 年辽宁省外环境禽流感病毒核酸阳性率 2016—2017 年共采集并检测外环境标本 4 037 份，检出 A 型禽流感病毒阳性 177 份，阳性率为 4.38%。2017 年 A 型禽流感病毒核酸阳性率为 6.26%，高于 2016 年的 2.40% ($\chi^2=35.860$, $P < 0.001$)。检出亚型有 H5、H7、H9、H5+H7、H5+H9 和 H7+H9，以 H9 亚型阳性率最高，为 3.07%；H5 亚型次之，为 0.82%。见表 1。

表 1 2016—2017 年辽宁省外环境禽流感病毒核酸阳性率及亚型分布

年份	检测数	阳性数	阳性率 (%)	阳性亚型 [n (%)]					
				H5	H7	H9	H5+H7	H5+H9	H7+H9
2016	1 960	47	2.40	13 (0.66)	0 (0)	33 (1.68)	0 (0)	1 (0.05)	0 (0)
2017	2 077	130	6.26	20 (0.96)	2 (0.10)	92 (4.43)	2 (0.10)	8 (0.34)	7 (0.34)
合计	4 037	177	4.38	33 (0.82)	2 (0.05)	124 (3.07)	2 (0.05)	9 (0.22)	7 (0.17)

2.2 不同季度禽流感病毒核酸阳性率比较 第一季度采集标本 738 份, 检出禽流感病毒核酸阳性 63 份, 阳性率为 8.54%; 第二季度采集标本 1 661 份, 检出禽流感病毒核酸阳性 81 份, 阳性率为 4.88%; 第三季度采集标本 1 293 份, 检出禽流感病毒核酸阳性 28 份, 阳性率为 2.17%; 第四季度采集标本 345 份, 检出禽流感病毒核酸阳性 5 份, 阳性率为 1.45%。不同季度禽流感病毒核酸阳性率比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=53.586, P<0.001$), 两两比较结果显示, 第一季度禽流感病毒核酸阳性率高于第二、三、四季度 (均 $P<0.008$)。

2.3 不同监测场所禽流感病毒核酸阳性率比较 采

集城乡活禽市场标本 1 831 份, 占 45.36%; 家禽散养户集中地区 1 460 份, 占 36.16%; 家禽规模养殖场 (户) 716 份, 占 17.74%; 家禽屠宰加工厂 30 份, 占 0.74%。不同监测场所禽流感病毒核酸阳性率比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=109.477, P<0.001$), 两两比较结果显示, 城乡活禽市场禽流感病毒核酸阳性率高于家禽散养户集中的地区、家禽规模养殖场 (户) 和家禽屠宰加工厂 (均 $P<0.008$)。城乡活禽市场、家禽规模养殖场 (户) 检出亚型以 H9 为主, 家禽散养户集中地区以 H5 为主, H7 亚型仅在 2017 年城乡活禽市场和家禽散养户集中地区检出。见表 2。

表 2 不同监测场所禽流感病毒核酸阳性率及型别分布

监测场所	检测数	阳性数	阳性率 (%)	阳性亚型 [n (%)]					
				H5	H7	H9	H5+H7	H5+H9	H7+H9
城乡活禽市场	1 831	148	8.08	22 (1.20)	1 (0.05)	111 (6.06)	2 (0.11)	7 (0.38)	5 (0.27)
家禽规模养殖场 (户)	716	9	1.26	1 (0.14)	0 (0)	8 (1.12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
家禽散养户集中地区	1 460	20	1.37	10 (0.68)	1 (0.07)	5 (0.34)	0 (0)	2 (0.14)	2 (0.14)
家禽屠宰加工厂	30	0	0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

2.4 不同类型标本禽流感病毒核酸阳性率比较 各类型标本均检出禽流感病毒核酸阳性标本, 不同类型标本禽流感病毒核酸阳性率比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=331.407, P<0.001$); 两两比较结果显示, 笼具表面擦拭物禽流感病毒核酸阳性率最高, 为 23.47%;

其次为清洗禽类的污水, 阳性率为 15.96% (均 $P<0.003$)。各类标本均有 H5、H9 亚型检出, 在禽类粪便、笼具表面擦拭物、禽类饮水和宰杀或摆放禽类砧板表面擦拭物中检测到 H7 亚型或其混合型。见表 3。

表 3 不同类型标本禽流感病毒核酸阳性率及型别分布 [n (%)]

标本类型	检测数	阳性数	阳性率 (%)	阳性亚型 [n (%)]					
				H5	H7	H9	H5+H7	H5+H9	H7+H9
禽类粪便	1 420	44	3.10	6 (4.23)	0 (0)	34 (2.39)	0 (0)	0 (0)	4 (0.28)
笼具表面擦拭物	213	50	23.47	1 (0.47)	1 (0.47)	43 (20.19)	0 (0)	2 (0.94)	3 (1.41)
禽类饮水	1 569	11	0.70	1 (0.06)	0 (0)	8 (0.51)	2 (0.13)	0 (0)	0 (0)
清洗禽类的污水	94	15	15.96	2 (2.13)	0 (0)	10 (10.64)	0 (0)	3 (3.19)	0 (0)
宰杀或摆放禽肉砧板表面擦拭物	552	27	4.89	8 (1.45)	1 (0.18)	15 (2.72)	0 (0)	3 (0.54)	0 (0)
其他	189	30	15.87	15 (7.94)	0 (0)	14 (7.41)	0 (0)	1 (0.53)	0 (0)

3 讨论

2016—2017 年辽宁省共报告 5 例人感染 H7N9 禽流感本地病例, 同期外环境监测结果提示禽流感病毒长期存在, 但总体阳性率 (4.38%) 低于甘肃 (19.90%)^[8]、湖北 (19.10%)^[9]、江西 (50.44%)^[10]、新疆 (17.18%)^[11] 和浙江 (32.54%)^[12]。禽流感

病毒以 H9 亚型为主 (70.62%), H5 亚型次之 (18.64%), 与相关研究^[8-12]一致。2017 年各亚型核酸检测阳性率均有所升高, 混合型比例增加, 为病毒重配提供了可能。2017 年辽宁省首次在城乡活禽市场、家禽散养户集中地区的外环境中检出 H7 亚型, 结合 2016 年已出现人感染 H7N9 禽流感病例, 病例来自不同地市, 且均有禽类暴露史, 说明在病例

报告之前病毒已经存在,且扩散速度快,分布范围广。

禽流感疫情与季节性流感类似,冬春季高发。辽宁省第一季度禽流感病毒核酸阳性率最高,基本符合了禽流感每年10月至次年4月形成发病高峰的季节性特征。第四季度禽流感病毒核酸阳性率偏低,可能与监测时间较短有关。

活禽市场不同种属和产地的禽类集中在一起,为禽流感病毒基因重组和跨种传播提供了条件^[13]。2016—2017年辽宁省城乡活禽市场标本禽流感病毒核酸阳性率(8.08%)明显高于其他监测场所,与其他研究结果^[8-12]一致,但低于新疆(21.70%)^[11]、吉林(8.47%)^[14]。辽宁省家禽散养户集中地区(1.37%)、家禽规模养殖场(1.26%)、家禽屠宰加工厂(0)的禽流感病毒核酸阳性率处于较低水平。

不同类型的外环境标本中,笼具表面擦拭物、清洗禽类的污水标本禽流感病毒核酸阳性率较高。监测结果显示活禽市场砧板和清洗禽类污水污染严重,提示禽类宰杀环节和销售过程中工作人员存在感染风险,对于活禽市场的监管、清洗和消毒是禽流感防控的重点。有研究发现活禽市场存在宰杀方式易污染、禽类从业人员个人防护意识差等情况^[15-17],因此需要加强健康教育,利用大众媒体开展人感染H7N9禽流感传播途径、预防措施、治疗方法和健康生活方式等知识的宣传普及^[18],严格落实清洁消毒等相关措施预防禽流感疫情。

2017年2月,广东省病例分离到对禽高致病性H7N9病毒株,之后相邻的湖南、广西等地区的环境和病例标本中也相继检出,该病毒可能持续存在并向其他地区扩散,对我国养禽业构成巨大威胁^[19]。2017年9月起,农业部在全国开展禽类重组(H5+H7)二价灭活疫苗强制免疫,其免疫效果还有待观察。高致病性H7N9病毒的宿主范围有扩大趋势,为疫情防控带来新的挑战。因此,除需继续加强活禽交易市场监管,强化禽流感病毒监测以便及时发现病毒变异和流行趋势,还需增加对鸭等水禽的监测,以应对高致病性H7N9疫情的扩散及宿主范围的扩大趋势,加强禽流感疫情防控。

参考文献

- [1] 朱闻斐,舒跃龙.新型H7N9禽流感病毒的病原学研究进展[J].生命科学,2015,27(5):518-524.
- [2] 康来仪,董柏青,陈直平,等.实用传染病防治[M].3版.北京:学苑出版社,2010.

- [3] BI Y H, ZHANG Z J, LIU W J, et al. Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus struck migratory birds in China in 2015 [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 12986.
- [4] GAO R, CAO B, HU Y, et al. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus [J]. N Engl J Med, 2013, 368 (20): 1888-1897.
- [5] SHI W, SHI Y, WU Y, et al. Origin and molecular characterization of the human-infecting H6N1 influenza virus in Taiwan [J]. Protein Cell, 2013, 4 (11): 846-853.
- [6] CHEN H, YUAN H, GAO R, et al. Clinical and epidemiological characteristics of a fatal case of avian influenza A H10N8 virus infection: a descriptive study [J]. Lancet, 2014, 383 (9918): 714-721.
- [7] 张焯,李晓丹,邹淑梅,等.2009—2013年我国活禽市场环境样本中禽流感病毒的检测[J].病毒学报,2015,31(6):615-619.
- [8] 李保娣,李红育,张慧,等.甘肃省2015—2016年外环境禽流感监测及职业暴露人群血清学分析[J].中国病毒病杂志,2017,7(4):267-270.
- [9] 刘琳琳,叶国军,江永忠,等.2013—2014年湖北省外环境中禽流感病毒污染情况分析[J].微生物与感染,2016,11(3):159-164.
- [10] 刘美,刘晓青,傅伟杰,等.2015—2016年江西省外环境禽流感病毒监测分析[J].现代预防医学,2017,44(23):4373-4376,4401.
- [11] 邵振国,刘万里,赵俊,等.2016年新疆地区外环境禽流感监测及职业暴露人群血清学调查[J].职业与健康,2018,34(8):1034-1037.
- [12] 王笑笑,程伟,余昭,等.浙江省冬春季涉禽场所禽流感病毒污染特征及影响因素研究[J].中华预防医学杂志,2016,50(3):250-254.
- [13] 陈裕华,林鸿,彭南秀,等.2015年广州市活禽批发市场市场链调查[J].中国动物检疫,2017,34(6):6-9.
- [14] 邓立权,范明,黄飏,等.吉林省活禽市场外环境禽流感污染情况调查[J].中国公共卫生,2017,33(3):493-495.
- [15] 戴映雪,杜训波,杨磊,等.冬春季节成都市活禽市场禽流感病毒污染情况及其影响因素[J].疾病监测,2017,32(2):135-140.
- [16] 陈裕华,沈丹,朱建翠,等.广东省广州市活禽批发市场从业人员H7N9流感“知行信”现状调查[J].中国动物检疫,2018,35(2):1-4.
- [17] 曹家穗,富小飞,林云,等.人感染H7N9禽流感农贸市场传播风险调查[J].浙江预防医学,2014,26(7):679-682.
- [18] 何向莲,张翔,蒋小东,等.不同人群人感染H7N9禽流感的知行信调查[J].浙江预防医学,2015,27(2):204-205,210.
- [19] 李超,任瑞琦,黎丹,等.2016—2018年中国大陆人感染高致病性H7N9禽流感疫情和死亡病例分析[J].疾病监测,2018-12-07. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2928.R.20181108.1543.020.html>.

收稿日期:2018-12-07 修回日期:2018-12-25 本文编辑:徐文璐