

·论 著·

十堰市2011年禽流感职业暴露人群抗体水平与外环境分布

王喜云¹,梅玉发¹,刘经凤¹,崔龙¹,郑向梅¹,刘海波¹,赵国兵¹,江文君²

摘要:目的 了解禽流感职业暴露人群抗体水平与不同场所外环境分布状况,为作好禽流感防控提供依据。方法 2011年先从十堰地区不同场所采集职业暴露人群血清200份,同时完成200份调查问卷,并按季度采集234份外环境标本;后用两种抗原进行血凝抑制实验(HI)与Real-time PCR方法进行检测,最后使用Epidata与SPSS 17.0进行统计分析。结果 血清标本全部为阴性;外环境标本阳性率为21.37%,其中城乡活禽农贸市场检出率64%;大型家禽屠宰加工厂42.5%,野生候鸟栖息地1.96%,家庭规模养殖场与家庭散养户集中的地区未检出,不同场所检出率差异有统计学意义($\chi^2=54.734, P<0.05$),采样时间对检出率没有影响($\chi^2=2.837, P>0.05$)。结论 不同场所的外环境禽流感分布不同,职业暴露人群抗体水平较低,需要重点防护的人群为城乡活禽农贸市场与大型家禽屠宰加工厂人员。

关键词:禽流感;红细胞凝集抑制实验;Real-time PCR;抗体

中图分类号:R511.7 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2013)1-66-03

Results of monitoring of antibody level of population occupationally exposed to avian influenza virus in Shiyan City in 2011. WANG Xi-yun¹, MEI Yu-fa¹, LIU Jing-feng¹, et al. (Shiyan Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shiyan 442000, Hubei, P. R. China)

Abstract: Objective To understand the infection status of avian influenza in the occupation exposure population and in different external environmental distribution and provide the evidence for prevention and control of avian influenza H5N1. Methods Two hundred serum samples were collected from population exposed to avian influenza virus and 234 external environment samples were obtained from the different district in Shiyan City in 2011 and detected by the hemagglutination inhibition test (HI) and Real-time PCR methods. Questionnaire survey was conducted at the same time, The data were analyzed by Epidata and SPSS 17.0 software. Results All the serum samples were negative. The positive rate of the external environment samples was 21.37%, being 64% for samples from urban and rural live poultry markets, 42.5% for samples from poultry slaughtering and processing factory, 1.96% for samples from wild migratory bird habitats, showing significant difference in different sites ($\chi^2=54.734, P<0.05$) and no significant difference was found in different seasons ($\chi^2=2.837, P>0.05$). Conclusion The distribution of avian influenza virus was different in the different external environment sites, the antibody level among occupationally exposed population was relatively lower. The key population needed protected were those in the urban and rural live avian markets and the poultry slaughtering and processing factory.

Key words: Avian influenza; Hemagglutination inhibition test; Real-time PCR; Antibody

禽流感(Avian influenza, AIV)是一种由A型流感病毒引起的严重的危害动物健康与人类偶发的烈性传染病综合症,其中的一些毒株称为高致病性禽流感,危害巨大^[1,2]。目前研究表明,访问有禽类的场所与禽类接触史可能是人感染高致病性禽流感的重要高危因素^[3,4],因此,在十堰开展职业暴露人群抗体及不同场所外环境的调查,进一步监测感染来源,确定感染高危因素,为制定合理有效的防控措施提供依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2011年1~3月,选择200名丹江口市家禽规模养殖场所与郧县11乡镇家禽散养户中直接与禽类接触的人员,抽取其静脉血,分离血清-20℃保存待检,并且把血清标本对应的流行病学调查问卷资料录入Epidata数据库以便分析;每季度分别选取本

地区城乡活禽农贸市场、大型家禽养殖场,家禽散养户集中的地区、大型家禽屠宰加工厂、野生候鸟栖息地各采集一次外环境标本,标本种类有禽类粪便、禽类饮用水、禽类内脏及清洗内脏水、鸡笼涂抹物、禽类尸体及羽毛,蛋壳等,共采集234份,标本处理后留作PCR检测。

1.2 仪器与试剂 红细胞凝集抑制实验(HI)检测抗体试剂中RDE、马浓红细胞,标准血清由中国疾病预防控制中心提供;PCR检测仪器为Real-time PCR仪(ABI 7300,美国),病毒RNA提取试剂盒Rneasy Mini Kit购自QIAGEN公司,禽流感病毒RNA检测试剂盒(PCR荧光法)由QIAGEN公司提供,PCR扩增引物探针由国家流感中心提供。

1.3 方法 按照《职业暴露人群高致病性禽流感监测方案》(2009年)及试剂盒相关说明书操作进行,在

作者单位:1.十堰市疾病预防控制中心,湖北 十堰 442000 2.十堰市人民医院,湖北 十堰 442000

作者简介:王喜云(1980~),男,研究生,主管技师,主要从事流感、禽流感检测工作。

HI实验中,抑制效价 ≥ 80 记为阳性;在Real-time PCR中,阴性对照无Ct值或Ct值为0,阳性对照Ct值 < 30 ,检测标本Ct值 ≤ 33 ,为阳性,数据通过Epidata与spss 17.0软件分析。

2 结果

2.1 血清抗体检测结果

2.1.1 职业暴露人群流行病学特征 200份调查问卷通过Epidata软件分析,结果如下:性别比为男45.5%,女54.5%,非参数检验Chi-square值为0.802, $P>0.05$,性别间差异无统计学意义;平均年龄38岁,职业主要为农民,占总数49.5%,民工占6.4%,其它职业共占44.1%, Chi-square值33.618, $P<0.05$,有统计学意义;职业暴露人群种类主要为规模化养殖人员(90.1%),暴露方式主要以喂养、清扫禽舍以及加工为主,禽类养殖方式为圈养,平均养殖鸡10 000只,接触禽种类为鸡,所接触禽类32.7%接种过疫苗,职业暴露人群采集血清前一个月未接触过病死禽类,未接种流感疫苗。

2.1.2 血清抗体检测 采用两种抗原A/Hubei/1/2010(甲)与A/Anhui/1/2005(乙)对200人份血清进行H5N1抗体检测,结果显示:本地区人群禽流感血清抗体阴性,采用甲抗原检测有3份标本有滴度;采用乙抗原有5份标本有滴度,两抗原检测结果差异无统计学意义($\chi^2=0.5$, $P>0.05$)。

2.2 病原结果检测 通过Real-time PCR方法对本地区234份外环境标本进行核酸检测,检测结果如表1所示;A型阳性率21.37%(50/234),其中野生候鸟栖息地检测标本阳性率1.96%(1/51),城乡活禽农贸市场阳性率64%(32/50);大型家禽屠宰加工厂阳性率42.5%(17/40),在大型规模养殖场,家禽散养户集中地区均未检出。通过Chi-square分布类型的检验得 $\chi^2=54.734$, $P<0.05$,不同场所禽流感分布不同,有统计学意义。第一、二、三、四季度的阳性率分别为24.07%(13/54)、21.67%(13/60)、15.25%(9/59)、24.59%(15/61),通过卡方检验得 $\chi^2=2.837$, $P>0.05$,表明采样时间对检出率没有影响。

表1 2011年外环境标本禽流感核酸检测结果(阳性标本/检测标本)%

Table 1 The nucleate detection results of the avian influenza samples in external environment in 2011 (positive sample/detection sample)%

场所 Places	第一季度 Spring quarter	第二季度 Summer quarter	第三季度 Autumn quarter	第四季度 Winter quarter
野生候鸟栖息地 Wild migratory bird habitats	(0/12)0	(0/13)0	(0/12)0	(1/14)7.14
家禽散养户集中地区 Concentrated areas of free-range poultry farmers	(0/12)0	(0/15)0	(0/13)0	(0/13)0
城乡活禽农贸市场 Urban and rural live poultry markets	(6/10)60	(7/12)58.33	(8/14)57.14	(11/14)78.57
大型家禽养殖场 Large poultry farm	(0/10)0	(0/10)0	(0/10)0	(0/10)0
大型家禽屠宰加工厂 Large poultry slaughtering and processing factory	(7/10)70	(6/10)60	(1/10)10	(3/10)30

3 讨论

本研究对200份调查问卷,200人份血清标本,234份外环境标本进行了检测与分析,得知职业暴露人群中90.1%的人员是规模化养殖人员,这可能与抽样有关,暴露方式主要是以喂养与清扫禽舍为主,接触种类为鸡,32.7%以上的禽类接种过疫苗,而职业暴露人群近一年却未接种疫苗。未从职业暴露人群中检测出抗体,这与武汉市与温州市结果均不一致^[5,6]。但从城乡活禽市场与家禽屠宰加工厂外环境标本中检测出了H5N1禽流感,跟武汉市检测的城乡活禽市场结果一致,而家庭规模养殖场,家禽散养户集中的地区未检测到,可能的原因是:规模化养殖场与家禽散养户集中的地区的禽类平均免疫抗体水平较高,而城乡活禽市场抗体水平较低^[7]。在这种情况下,规模化养殖人员暴露感染机会减少,这可能是检测不到抗体的原因,而城乡活禽市场与家禽屠宰加工厂属于下游-消费环节,家禽已经停止用药,因此免疫抗体水平

较低,这可能是城乡活禽市场与家禽屠宰加工厂禽流感检出率较高的原因,武汉市对活禽市场暴露人群检测抗体阳性;野生候鸟栖息地阳性率低可能原因有几点:一是本地区候鸟未携带禽流感病毒,二是由于野生候鸟数量大,采样比例较小,未检测出禽流感病毒,又或采样不够及时,经过雨水淋太阳照导致检测难度加大,三是可能禽流感病毒携带者其感染处于一个相对稳定状态,不向外排毒,故而检测不到。通过分析,可以推断城乡活禽市场与家禽屠宰加工厂的职业暴露人群感染的风险高,从业人员要提高认识,做好防护,相关部门要做好监测与免疫规划等预防工作。

参考文献:

- [1] Na Jia, Sake J. de Vlas, Yun-Xi Liu, et al. Serological reports of human infections of H7 and H9 avian influenza viruses in northern China[J]. Journal of Clinical Virology, 2009, 44: 225-229
- [2] Wong SS, Yuen KY. Avian influenza virus infections in humans[J]. Chest, 2006, 129: 156-168.