

2009 年海南省甲型 H1N1 流感病毒核酸检测结果

曾祥洁, 潘家兴, 马焱, 李臻, 李丹丹, 林春燕, 邱丽

摘要 **目的** 及时了解海南省 2009 年流感样病例及其密切接触者中甲型 H1N1 流感病毒感染情况。**方法** 应用实时荧光定量 PCR 法对呼吸道鼻咽拭子标本中的流感病毒核酸进行定性检测。**结果** 全年共检测哨点监测和爆发疫情标本 1 148 份, 荧光定量 PCR 法检测结果: 流感病毒 A 型核酸阳性为 686 份, B 型核酸阳性为 7 份。流感样病例中流行型别以 A 型为主, 占 59.6%; A 型中甲型 H1N1 流感病毒核酸阳性为 500 例, 占 72.9%(500/686), 其中学生占 84.8%(424/500)。10 月~11 月份达到流行高峰。随机抽取 30 份核酸阳性标本进行核酸序列测定, 27 份为甲型 H1N1 流感病毒。**结论** 2009 年海南省流感样病例中甲型 H1N1 流感病毒感染主要以学生为主, 开展流感病毒核酸检测, 有助于尽早了解流感样病例中流感病毒感染情况, 为及时了解甲型 H1N1 流感疫情的动态变化以及制定科学有效的甲型 H1N1 流感防控策略提供可靠的实验室依据。

关键词 甲型 H1N1 流感病毒; 核酸检测; 流感样病例

中图分类号 R511.7 **文献标识码** B **文章编号** 1009-9727(2011)10-1253-02

Analysis of H1N1 influenza virus nucleic acid testing in Hainan Province in 2009. ZENG Xiang-jie, PAN Jia-xing, MA Yan et al. (Hainan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Haikou, 570203, Hainan, China)

Abstract: Objective To know in time H1N1 influenza virus infection situation in flu-like illness and their close contacts of Hainan Province in 2009. **Method** Real-time fluorescent quantitative (RT-PCR) method was applied to qualitatively detect the influenza virus nucleic acid of nasopharyngeal swab specimens of respiratory tract. **Result** Annual sentinel surveillance and outbreak specimens were 1 148, the fluorescent quantitative PCR results were below 686 specimens were tested with nucleic acid type A influenza virus positive, 7 specimens were positive of B-type nucleic acid. The main population incidence type of influenza-like illness case was type A, accounting for 59.6%, among which there were 500 cases with H1N1 influenza virus nucleic acid positive, accounting for 72.9%(500/686), in which students accounted for 84.8%(424/500). October to November reached epidemic peak. 30 nucleic acid-positive samples were randomly selected for sequencing, 27 were H1N1 influenza virus. **Conclusion** The main infected people by influenza virus was students in Hainan Province in 2009. It's helpful to carry out influenza virus nucleic acid detection to know as soon as possible about influenza-like illness in influenza virus cases. It's necessary to know epidemic situation in time and to provide a reliable basis of sound and scientific prevention and control strategies formulation for H1N1 influenza virus.

Key words: H1N1 influenza virus; Nucleic acid detection; Influenza-like illness case

流行性感冒(以下简称流感)是由流行性感冒病毒所引起的常见呼吸道传染病^[1]。该病传染性强,传播快,易于变异;是迄今尚未能得到有效控制的世界性传染病,对人类健康和社会稳定均会产生重大影响,危害极大。我国已把流感列为需要重点防治的传染病之一,同时流感也是海南省重点防治的传染病之一;2004 年海南省疾控中心被列入国家流感监测网后,系统地建立起了流感监测网并开展流感监测工作。流感病毒的快速检测与诊断将对海南省流感监测工作和流感疫情的处置提供科学可靠的实验室依据,对快速有效的控制流感疫情有着十分重要的意义。

2009 年,甲型 H1N1 流感在世界范围内的大流行使流感受到了全球的广泛关注。海南省疾病预防控制中心流感网络实验室于 2009 年 5 月 11 日开始对流感样病例标本进行甲型 H1N1 流感病毒核酸检测,并同时开展季节性流感病毒核酸检测。现将实验室检测流感病毒核酸结果分析如下。

1 材料与方法

1.1 标本与试剂

1.1.1 标本的采集 2009 年度全省流感监测点发热病人标本、流感样病例标本及其密切接触者标本、流感爆发病例标本,冷藏运送。不能及时送检的标本必须储存于 -80℃ 超低温冰箱中。

1.1.2 试剂 ①RNA 提取试剂盒为 Rneasy Mini Kit RNA 提取试剂盒(QIAGEN74104)提取相关样本的核酸,按试剂盒说明书进行操作。②Real-time RT-PCR 试剂盒购自北京金豪制药有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 核酸检测 核酸提取及 Real-time RT-PCR 操作均按试剂盒说明书进行^[2]。

1.2.2 测序 随机抽取 30 份核酸阳性标本由上海辉睿公司进行检测。

2 结果

2.1 流感病毒核酸检测结果 2009 年度采用荧光定量 RT-PCR 法检测全省流感监测点发热病人标本、流感样病例标本及其密切接触者标本、流感爆发病例标本共 1 148 份。荧光定量 PCR 检测结果:流感病毒 A 型阳性为 686 份,B 型阳性为 7 份。发病人群中流行型别以 A 型为主,占 59.6%;A 型中甲型 H1N1 流感病毒核酸阳性为 500 例,占 72.9%;流行型别主要以甲型 H1N1 为主。H3 占 14.6%。6 月份确诊首例输入性甲型 H1N1 流感病毒感染病例后,10 月~11 月份达到流行高峰。

2.2 甲型 H1N1 流感病毒实验室确诊病例流行病学特征

2.2.1 实验室确诊病例性别、年龄分布 500 例实验室确诊病例中,男性 276 例,占实验室确诊病例的 55.2%(276/500);女性 223 例,占实验室确诊病例的 44.6%(223/500)。从年龄分布来看,实验室确诊病例发病年龄主要集中在 10~ 岁、15~ 岁,构成比分别为 33.13%、41.67%。详见表 1。

表 1 甲型 H1N1 流感病毒核酸检测阳性病例年龄分布

年龄组	病例数	构成比
0~	18	3.6%
5~	48	9.6%
10~	163	32.6%
15~	205	41.0%
20~	24	4.8%
25~	15	3.0%
30~	5	1.0%
35~	4	0.8%
40~	4	0.8%
45~	2	0.4%
>50	4	0.8%
年龄不详	8	1.6%
合计	500	100.0%

2.2.2 实验室确诊病例职业人群分布 500 例实验室确诊病例中,学生为 424 例,占甲型 H1N1 实验室确诊病例的 84.8%;其次为婴幼儿及散居儿童、工人等,分别占 2%、1.13%。

2.2.3 不同月份甲型 H1N1 流感病毒核酸检测情况 详见表 2。

表 2 甲型 H1N1 流感病毒核酸阳性检出时间分布

月份	病例数	阳性数	阳性率 (%)
5 月	15	0	0
6 月	72	7	9.7%
7 月	56	10	17.8%
8 月	18	2	11.1%
9 月	499	182	36.5%
10 月	242	155	64.0%
11 月	145	102	70.3%
12 月	101	42	41.6%

2.3 测序结果 30 份核酸阳性标本经核酸序列测定,27 份为甲型 H1N1 流感病毒。

3 讨论

2009 年 3 月,墨西哥爆发“人感染猪流感”疫情,并迅速在全球范围内蔓延^[3]。世界卫生组织初始将此型流感称为“人感染猪流感”,后将其更名为“甲型 H1N1 流感”。此次流感为一种新型呼吸道传染病,其病原为新甲型 H1N1 流感病毒株,病毒基因中包含有猪流感、禽流感和人流感三种流感病毒的基因片段^[4]。本研究采用针对此甲型 H1N1 流感病毒的核酸检测方法,通过对 2009 年 5 月~12 月海南省流感监测点流感样病例及其密切接触者标本、流感爆发病例标本共 1 148 份咽拭子样本进行核酸检测,结果显示流感病毒 A 型阳性为 686 份,其中甲型 H1N1 流感病毒核酸阳性为 500 例,占 72.9%;流行型别主要以甲型 H1N1 为主。海南省自 6 月 10 日确诊首例输入性病例后,疫情增长相对缓慢,但自 9 月份后,疫情进入快速增长期,并于 10 月~11 月达到流行高峰,均与中小学校爆发疫情有关,所以感染人群主要以学生为主,与其他地区报告的结果相似^[5,6]。

将核酸检测技术应用于流感疫情监测工作中,为本次甲型 H1N1 流感病例的临床快速确诊和疫情处置提供了快速、可靠的实验室依据。根据流感病毒常规检测方法,病毒培养法虽然准确、可靠、稳定,但耗时长,而且受限于特定的实验室条件和人员条件。核酸检测技术从核酸提取至完成检测,需时短,操作方便、特异性强、敏感性高;为流感疫情的实验室应急检测提供了快速、有效的技术手段,奠定了流感监测工作的基础,为流感疫情的处置争取了宝贵的时间。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部. 流行性感冒诊断标准 [S]. WS285-2008.

[2] 中华人民共和国卫生部. 甲型 H1N1 流感监测方案 [S]. (第一版),2009.

[3] 蒋荣猛,徐艳利,李兴旺. 甲型 H1N1 流感研究进展 [J]. 传染病信息,2010,23 (1):54-58.

[4] 王衍海,王大燕,胡寒雁,等. 甲型 H1N1 流感病毒实验室风险评估 [J]. 中国公共卫生,2011,27 (1):33-34.

[5] 张奕,杨鹏,王小莉,等. 北京市 2009 年甲型 H1N1 流感疫情分析 [J]. 中国公共卫生,2011,27 (1):6-8.

[6] 孙晓冬,潘浩,董晨,等. 2009 年上海市甲型 H1N1 流感的流行病学特征分析 [J]. 疾病监测,2010,25 (1):4-8.

收稿日期 2011-08-18 编辑:谢永慧