

2014 年菏泽市城乡活禽市场禽流感病毒监测结果分析

刘启林 李晓寒(山东省菏泽市疾病预防控制中心 274000)

【摘要】目的:2014 年菏泽市城乡活禽市场禽流感病毒监测结果分析。**方法:**在菏泽市随机选取的城乡活禽市场采集外环境标本 256 份, 荧光 RT-PCR 进行禽流感病毒 H5、H7、H9 亚型核酸检测。**结果:**256 份外环境标本中, 共检出 A 型禽流感病毒阳性 89 份, 阳性率 34.77%; 不同类型标本之间 A 型禽流感病毒阳性率无统计学差异; 不同类型标本之间 H5 亚型禽流感病毒分布无统计学差异, H9 亚型禽流感病毒分布有统计学差异。**结论:**有关部门应加强对城乡活禽市场活动人员消毒防范的宣传, 降低禽流感潜在感染的风险。

【关键词】禽流感; H5 亚型; H7 亚型; H9 亚型

【中图分类号】R373

【文献标识码】A

【文章编号】1674-361X(2016)03-0066-01

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 版, 2014 年全年对菏泽市城乡活禽市场中致病性禽流感病毒 H5、H7 和 H9 亚型的分布进行监测分析, 检测结果如下:

1 材料与与方法

1.1 采样 选取菏泽市城乡活禽市场 4 处作为监测点, 每月分别采集环境标本 1 次(2014 年 1 月至 2014 年 12 月)。标本种类有禽类笼具表面擦拭标本、禽类粪便、禽类饮用水、宰杀或摆放禽肉案板擦拭标本及清洗禽类的污水, 采集标本后剧烈振荡 30min; 高速离心机, 3000g, 离心 15min, 取出上清液分装, 留 1 份作荧光 RT-PCR 检测。

1.2 仪器与试剂 核酸提取试剂盒: Roche High Pure Viral RNA Kit (瑞士 Roche 公司); 荧光定量 PCR 试剂盒: 甲型流感病毒通用型核酸检测试剂盒, 以及禽流感病毒 H5、H7、H9 亚型核酸检测试剂盒(中国广州 中山达安基因股份有限公司); Stepone-Plus™ Real-Time PCR 仪(美国 ABI 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 荧光 RT-PCR 检测 病毒 RNA 提取按试剂盒说明操作; 检测环境标本中 A 型禽流感病毒(FluA)、H5 亚型、H7 亚型、H9 亚型禽流感病毒。荧光 RT-PCR 扩增预混合试剂操作按试剂盒说明进行, 反应如下: 逆转录: 50℃, 15min; 预扩增: 95℃, 15min; 扩增: 94℃, 15s; 荧光收集: 58℃ 45s.40 个循环。

1.3.2 结果判断 设置阴阳性对照, 阴性对照无扩增曲线无 Ct 值; 阳性对照有典型 S 型扩增曲线且 Ct 值在 26~30 之间。阴性结果: 无明显扩增曲线且无 Ct 值, 该样本中无 H5、H7、H9 亚型的基因片段。阳性结果: 有明显的 S 型扩增曲线且 Ct 值 ≤ 37.0, 该样本中存在 H5、H7、H9 亚型的基因片段。Ct 值 > 37.0 的标本重复检测, Ct 值仍 > 37.0, 判为阴性。

1.4 统计分析 建立数据库用 SPSS 17.0 统计分析软件进行 X² 检验。

2 结果

2.1 2014 年城乡活禽市场禽流感病毒检出情况

表 2 不同类型标本中 H5、H9、H7 亚型禽流感病毒检出情况

标本类别	标本数(份)	H5 阳性数(份)	H5 阳性率(%)	H9 阳性数(份)	H9 阳性率(%)	H7 阳性数(份)
笼具表面擦拭标本	64	1	1.56	8	12.50	0
宰杀或摆放禽肉案板擦拭标本	31	1	3.23	8	25.81	0
粪便标本	107	4	3.74	7	6.54	0
清洗禽类的污水	30	1	3.33	5	16.67	0
禽类饮水	24	1	4.17	1	4.17	0
合计	256	8	3.13	29	11.33	0

3 讨论

通过对 2014 年菏泽市城乡活禽市场外环境标本禽流感病毒核酸检测提示: 在菏泽市城乡活禽市场中, 普遍存在致病性禽流感病毒 H5、H9 亚型, 但尚未发现高致病性禽流感病毒 H7 亚型。其中, A 型禽流感病毒的检出率为 34.77%, 提示在城乡活禽市场禽流感病毒普遍存在, 与相关报道基本一致^[1]。不同类型的环境标本中禽流感病毒的阳性率无统计学差异。不同类型环境标本中均检出 H5、H9 亚型禽流感病毒, H5 亚型在不同类型标本间的阳性率无明显统计学差异; H9 亚型在不同类型标本间阳性率有统计学差异, 宰杀或摆放禽肉案板擦拭标本中 H9 阳性率较高。2014 年菏泽市城乡活禽市场外环境调查采样发现, H9 亚型禽流感病毒在城乡活禽市场分布广泛, 其虽为中致病性的禽流感病毒, 但在其致病传播性、毒力等特征尚未发生变异之前, 需提醒相关部门加强城乡活禽市场从业人员消毒防范意识, 及时清理粪便、清洗鸡笼和污水排放, 减少环境中禽流感病毒的存在, 降低人感染禽流感的风险^[1-5]。

此外, 调查中还发现虽然外环境中存在潜在感染的风险, 但由于消毒、防患意识的不足, 暴露在此环境中的屠宰人员、交易买卖人员仍无相应的防护措施, 大大提高感染高致病性禽流感的风

险。在选取的 4 处城乡活禽市场共采集标本 256 份, 全部进行荧光 RT-PCR 检测。检测结果为: 256 份标本中共检出 A 型禽流感病毒阳性标本 89 份, 阳性率 34.77%, 其中 H5 亚型禽流感病毒阳性 8 份, 阳性率 3.13%; H9 亚型禽流感病毒阳性 29 份, 阳性率 11.33%; A 未分型禽流感病毒阳性 52 份, H7 亚型禽流感病毒未检出。结果提示, 禽流感病毒在城乡活禽市场普遍、持续存在, 潜在感染因素不容忽视。

2.2 不同类型环境标本禽流感病毒检出情况

256 份环境标本中, 禽类笼具表面擦拭标本 64 份, A 型禽流感病毒阳性标本 25 份, 宰杀或摆放禽肉案板擦拭标本 31 份, A 型禽流感病毒阳性标本 15 份; 禽类粪便标本 107 份, A 型禽流感病毒阳性标本 29 份; 清洗禽类的污水 30 份, A 型禽流感病毒阳性标本 12 份; 禽类饮水 24 份, A 型禽流感病毒阳性标本 8 份。不同类型标本禽流感病毒阳性率无统计学差异。(见表 1)

表 1 不同类型环境标本禽流感病毒检出情况

标本类别	标本数	A 型禽流感病毒核酸阳性数(份)	阳性率(%)
笼具表面擦拭标本	64	25	39.05
宰杀或摆放禽肉案板擦拭标本	31	15	48.39
粪便标本	107	29	27.10
清洗禽类的污水	30	12	40.00
禽类饮水	24	8	33.33
合计	256	89	34.77

2.3 不同类型标本中 H5、H9、H7 亚型禽流感病毒检出情况

在五种类型的环境标本中, 均检出 H5、H9 亚型禽流感病毒; H7 亚型均未检出。H5 亚型禽流感病毒在不同类型标本之间检出率无统计学差异; H9 亚型禽流感病毒在不同标本之间的检出率有统计学差异, 其中宰杀或摆放禽肉案板擦拭标本中 H9 阳性率较高为 25.81%。提示在不同类型的外环境标本中均能反应 H5、H9、H7 亚型禽流感病毒的存在情况。(见表 2)

应加大对屠宰点买卖人群的宣传教育工作, 增强防护意识, 注意个人卫生, 减少活禽集中宰杀, 尽可能的减少人禽流感病例的发生, 及时采取有效的防控措施。

参考文献

- [1]王承民, 王婧, 罗静, 等. H7 亚型禽流感病毒与禽类和人类的关系[J]. 生物化学与生物物理学进展, 2013, 40(5): 416-424.
- [2]李忠, 刘佩, 裴耀文, 等. 山东省首例人禽流感病例的诊断过程分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2009, 4(9): 649-651.
- [3]路开顺, 刘军, 孙宝霞, 等. 山东省首起人感染 H7 N9 禽流感确诊病例感染因素分析[J]. 预防医学论坛, 2014, 20(9): 672-674.
- [4]王喜云, 梅玉发, 刘经凤, 等. 十堰市 2012 年不同场所禽流感 H5 与 H9 检测结果分析[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(1): 30-32.
- [5]龚震宇, 陈恩富, 吕华坤, 等. 人感染甲型 H7N9 禽流感疫情及动物源性疾病防控分析[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(1): 35-37.

(收稿: 2015-10-21 修回: 2015-11-19)

(收稿编辑: 沙福东)