

北京市首例人禽流感 H5N1 病例的感染来源调查

杨鹏 师鉴 马建新 刘秀军 齐顺祥 黄芳 石伟先 彭晓旻 吕燕宁
梁慧洁 黎新宇 窦相峰 王小莉 张奕 庞星火 贺雄 王全意

【摘要】 目的 调查北京市首例人禽流感(H5N1)病例的感染来源。方法 通过对患者家属和其他关键人物访谈,检测患者标本以及流行病学关联的环境标本,对患者可能的感染来源进行追踪调查。结果 该患者在其发病前5天曾经接触过宰杀的鸭子(购自河北省燕郊某市场活禽摊位),采集该摊位及邻近活禽摊位的环境标本10份,经PCR方法检测有6份标本为H5N1亚型病毒核酸阳性,并通过鸡胚分离出5株H5N1亚型病毒。将从环境标本中分离的H5N1亚型病毒与患者体内分离的H5N1亚型病毒(禽源、属于Clade 2.3.4)进行全基因组序列比对,氨基酸同源性高达99.8%~100%。结论 流行病学和病原学双重证据表明,北京市首例人禽流感H5N1病例的感染来源为接触携带H5N1亚型禽流感病毒的鸭子。

【关键词】 禽流感H5N1; 感染来源

Investigation on the source of the first human of avian influenza A (H5N1) case in Beijing YANG Peng¹, SHI Jian¹, MA Jian-xin¹, LIU Xiu-jun¹, QI Shun-xiang¹, HUANG Fang¹, SHI Wei-xian¹, PENG Xiao-min¹, LV Yan-ning¹, LIANG Hui-jie¹, LI Xin-yu¹, DOU Xiang-feng¹, WANG Xiao-li¹, ZHANG Yi¹, PANG Xing-huo¹, HE Xiong¹, WANG Quan-yi¹. *Institute of Infectious and Endemic Diseases Control, Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China*
Corresponding author: WANG Quan-yi, Email: bjcdcxm@126.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the source of the first human case of avian influenza A (H5N1) infection in Beijing. **Methods** Interviewing the relatives of the case and other key persons, collecting and detecting samples of related biological, epidemiological and environmental data of the case were conducted. Later, the infection source was thoroughly investigated. **Results** The case ever contacted a slaughtered duck 5 days prior to the onset of illness, and the duck was bought from a stall of a wet market in Yanjiao area of Hebei province. Ten environmental samples were collected in this stall and the neighboring stall of the market. Another 6 samples were tested positive for H5N1 virus by PCR method, with 5 virus strains isolated. The whole-genome sequencing indicated that the amino acid homology between the H5N1 virus strains from the environment and the virus isolated from the case reached 99.8%–100%. **Conclusion** From both epidemiological and virological evidence, it was proved that the first human case of avian influenza A (H5N1) infection in Beijing was infected by a duck that carrying H5N1 virus the case contacted 5 days preceding the onset of illness.

【Key words】 Avian influenza H5N1; Infection source

H5N1 禽流感病毒引起的肺炎主要临床表现为急性呼吸道传染病^[1]。该病毒可以通过多种方式感染人,最为常见的是直接接触病死禽^[2];其次大约有25%的禽流感病例感染来源不明,有可能是发病前曾暴露于H5N1禽流感病毒污染的环境,其中包括

活禽交易市场的暴露^[3];还有极少数病例是通过有限的、非可持续的人传人的方式感染^[4]。本研究对北京市公布的首例人禽流感H5N1病例的感染来源进行调查。

对象与方法

1. 对象: 2009年1月6日北京市公布首例人禽流感H5N1病例,患者19岁女性,2008年12月24日发病,先后就诊过3家医院,于1月4日由第三家医院以“不明原因肺炎”病例上报,经RT-PCR和实时荧光PCR检测患者下呼吸道吸取物标本,为H5N1

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.11.005

作者单位: 100013 北京市疾病预防控制中心(杨鹏、黄芳、石伟先、彭晓旻、吕燕宁、梁慧洁、黎新宇、窦相峰、王小莉、张奕、庞星火、贺雄、王全意); 河北省疾病预防控制中心(师鉴、齐顺祥); 北京市朝阳区疾病预防控制中心(马建新); 北京市通州区疾病预防控制中心(刘秀军)

通信作者: 王全意, Email: bjcdcxm@126.com

亚型禽流感病毒核酸阳性,最终确诊为人禽流感 H5N1 病例。从患者的肺穿刺标本中分离出 H5N1 亚型禽流感病毒,命名为 A/Beijing/1/2009(H5N1)。

2. 方法:

(1)流行病学调查:通过向病例家属以及其他知情人员进行面对面的访谈,了解病例发病前 1 个月的旅游史;发病前 2 周的禽类接触史、活禽市场暴露史、其他动物接触史以及发热病例接触史。

(2)标本采集和检测:对从患者体内分离出的 H5N1 亚型禽流感病毒的 8 个片段进行全基因组序列分析。采集与病例有流行病学关联的环境标本,通过 RT-PCR 和实时荧光 PCR 进行 H5N1 亚型禽流感病毒核酸检测;将环境标本接种 SPF 鸡胚进行禽流感病毒分离;对分离的病毒进行全基因组序列分析。采集与患者具有共同暴露史人员的血清标本,通过马红细胞血凝抑制试验进行 H5N1 亚型禽流感病毒血清抗体检测。

结 果

1. 一般特征及病例暴露史:该患者为福建省莆田市人,发病前随打工父母住北京市朝阳区三间房乡,已来北京市 3 年多,在家待业。患者家与舅舅家同住在一个出租院内。患者在北京期间,主要在家做饭,最近一次外出为 2007 年底回老家莆田市,2008 年 2 月(春节后)再次来京,发病前 1 个月未离开过三间房乡。病家未饲养禽类,患者未接触过活禽,仅在发病前 5 天(即 2008 年 12 月 19 日)曾清洗处理过同乡赠予的鸭子;20 日中午由患者父亲分割鸭子并烹饪,直至 2008 年 12 月 25 日吃完。患者发病前 2 周曾去过附近的一个农贸市场买菜,未购买禽类产品,该市场有活禽摊档 2 个;经询问,该市场近期未出现过异常病死禽,周边地区未听说过出现禽流感疫情。患者家未饲养宠物或其他动物,在发病前 2 周无类似发热患者接触史,也无其他动物暴露史。

2. 溯源调查:患者接触的鸭子是其同乡于 2008 年 12 月 19 日在河北省燕郊某市场活禽摊位购买的活鸭,经现场宰杀清洗后送给患者家。销售鸭子的燕郊市场有固定摊位约 400 个,经营形式为全天候露天式,固定禽类经营摊位 4 家。其中患者同乡曾购买鸭子的摊位共有 4 人,经营活禽鸡、鸭、鹅;其来源主要是燕郊周边养殖散户和天津养殖散户。摊主自述未收购、贩卖过病死禽,所购禽类未出现异常死亡情况,该市场近期及周边地区未出现过异常病死

禽和禽流感疫情。

3. 实验室检测:

(1)病毒全基因组序列分析:病例体内分离的病毒没有发现与人流感病毒的重配,重要位点分析表明仍然是禽源的,属于 Clade 2.3.4。该病毒神经氨酸酶(NA)274 位氨基酸(组氨酸)未发生突变,表明对神经氨酸酶抑制剂类药物仍敏感;M2 蛋白 31 位氨基酸发生变异(丝氨酸变异突变为天冬酰胺),表明对烷胺类药物耐药。

(2)环境标本检测:采集患者同乡购买鸭子的摊位及邻近摊位的环境标本 10 份,进行 H5N1 病毒核酸检测,结果 6 份标本检测阳性。对 6 份 H5N1 病毒核酸阳性标本进行病毒分离,结果 5 份标本为 H5N1 病毒分离阳性(表 1)。

表 1 流行病学关联环境标本检测结果

标本来源	标本类型	检测方法	H5N1 亚型禽流感病毒	
购买鸭子摊位	地面污水	RT-PCR	阳性	
		实时荧光 PCR	阳性	
		病毒分离	阳性	
桶内污水	地面污水	RT-PCR	阳性	
		实时荧光 PCR	阳性	
		病毒分离	阳性	
邻近摊位	地面污水	RT-PCR	阳性	
		实时荧光 PCR	阳性	
		病毒分离	阳性	
	鸭粪	鸭粪	RT-PCR	阳性
			实时荧光 PCR	阳性
			病毒分离	阳性
	鸭粪	鸭粪	RT-PCR	阳性
			实时荧光 PCR	阳性
			病毒分离	阳性
鸭笼涂抹标本	鸭笼涂抹标本	RT-PCR	阳性	
		实时荧光 PCR	阳性	
		病毒分离	阴性	

(3)基因序列比对:将环境标本与病例体内标本分离的 H5N1 病毒全基因组序列进行比对分析,环境标本病毒与人源病毒(病例体内分离病毒)的氨基酸同源性高达 99.8%~100%。结合流行病学调查结果,可推断环境标本分离病毒与病例标本分离病毒为同一病毒。

(4)共同暴露人员标本检测:采集销售鸭子摊位 4 名人员、购买鸭子的同乡、患者父母亲、患者舅舅一家三口的血清标本;经马红细胞血凝抑制试验检测,共同暴露人员的血清中 H5N1 禽流感病毒抗体均为阴性。

讨 论

目前全球已经有 15 个国家报告了确诊人禽流感(H5N1)病例^[5]。H5N1 禽流感病毒传染给人的方式有多种,包括由禽传染人、由禽污染的环境传染人以及个别可疑的人传人;人感染此病毒的途径包括:呼吸道感染、消化道感染以及母婴传播^[6-8]。

确定人禽流感(H5N1)病例感染来源主要是依靠流行病学证据,即通过流行病学调查了解到病例可疑的暴露史;还须依靠病原学证据(从有流行病学关联的禽、禽相关环境或原发人禽流感病例中检测到 H5N1 病毒);且此病毒与病例体内分离的病毒为相同的病毒。目前,同时通过流行病学证据和病原学证据确定人禽流感病例感染来源的报道鲜见。本次调查中的人禽流感病例发病前 5 天曾接触过宰杀后的鸭子;由于禽类可以无症状携带 H5N1 禽流感病毒^[9],同时接触鸭子至发病的时间在常见潜伏期(7 d)内^[11],因此从流行病学角度看,患者接触的鸭子为可疑感染来源。虽然调查时已无剩余鸭子标本,但采集了销售鸭子摊位的环境标本,从中分离出的 H5N1 禽流感病毒与病例体内分离的病毒同源性高达 99.8%~100%,可判断为同一病毒。由于患者从其他途径感染此同一病毒的可能性几乎不存在,因此患者感染的病毒必然来自于售活禽摊位,感染来源为接触的鸭子。

病例感染来源确认后,及时通过扑杀、消毒、隔离、关闭活禽市场等措施可以从源头上消除对其他人群的威胁;进一步了解人禽流感的传染源、传播途径、潜伏期等;明确不同人群在不同状况下的感染风险;并不断更新人禽流感的防控策略。由于患者接触的鸭子未出现异常症状,所以隐性感染禽流感病毒的禽类可成为人禽流感的一个重要传染源;直接接触传播是主要的传播途径。在此活禽市场,患者发病前未发现异常病死禽,同时在北京、天津、河北地区近期也未出现过禽流感疫情^[10];可以说在没有任何异常的情况下,由鸭子携带的 H5N1 禽流感病毒感染了患者。一般来讲,对于病死禽大众在发现后可以不接触、不食用;然而对于携带病毒无症状的禽,大众会在不知情的状态下接触此种禽,从而导致发病。

我国大部分禽类为散户养殖(感染此病例的鸭子即为散户养殖),散户养殖与规模化养殖相比较,养殖方式粗犷、管理存在漏洞、疫苗免疫不规范、营

销渠道复杂^[11]。由于禽类可以无症状携带 H5N1 禽流感病毒^[9],因此在一定程度上加大了人群感染人禽流感病毒的风险。有必要针对散户养殖鸭子的流通渠道在各个环节加强综合的防控措施;包括疫苗接种、加强监测、禽种分类饲养、定期消毒、检验检疫、健康教育等,从源头上减少人群感染 H5N1 禽流感病毒的风险;从而降低由于 H5N1 禽流感病毒的变异或重配而导致的人与人之间传播的可能性,避免由此病毒引起的流感流行。

参 考 文 献

- [1] 卫生部. 人禽流感诊疗方案(2008 版). 2008.
- [2] Dinh PN, Long HT, Tien NTK, et al. Risk factors for human infection with avian influenza A(H5N1), Vietnam, 2004. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(12): 1841-1847.
- [3] Wang M, Di B, Zhou DH, et al. Food markets with live birds as source of avian influenza. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(11): 1773-1775.
- [4] Ungchusak K, Auewarakul P, Dowell SF, et al. Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N Engl J Med*, 2005, 352(4): 333-340.
- [5] World Health Organization. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO, 2009 [OL]. Available from http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2009_04_17/en/index.html.
- [6] Gambotto A, Barratt-Boyes SM, de Jong MD, et al. Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus. *Lancet*, 2008, 371(9622): 1464-1475.
- [7] Writing Committee of the Second World Health Organization Consultation on Clinical Aspects of Human Infection with Avian Influenza A (H5N1) Virus, Abdel-Ghaffar AN, Chotpitayasunondh T, et al. Update on avian influenza A (H5N1) virus infection in humans. *N Engl J Med*, 2008, 358(3): 261-273.
- [8] Gu J, Xie Z, Gao Z, et al. H5N1 infection of the respiratory tract and beyond: a molecular pathology study. *Lancet*, 2007, 370(9593): 1137-1145.
- [9] Songserm T, Jam-on R, Sae-Heng N, et al. Domestic ducks and H5N1 influenza epidemic, Thailand. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(4): 575-581.
- [10] 农业部. 京津冀兽医部门紧急排查未发现家禽禽流感疫情 2009 [OL]. http://www.agri.gov.cn/xxlb/t20090108_1201805.htm.
- [11] 王光瑛. 水禽生产现状、存在问题及发展对策. *中国水禽*, 2003, 25(13): 1-4.

(收稿日期: 2009-05-08)

(本文编辑: 尹康)