

自我国四川省报告全球首例人感染H5N6禽流感病例以来^[1],至2019年4月,全球共报告病例23例,均发生在我国,死亡15例,病死率65.22%^[2]。广州市共报告3例,死亡1例。H5N6禽流感病毒不断发生适应性进化和突变,人间感染风险增高,存在引发流感大流行的潜在风险^[3-4]。2018年9月30日,广州市CDC从送检的1例重症肺炎病例下呼吸道抽取物中检出H5N6禽流感病毒核酸阳性。经流行病学调查,感染来源为批发市场购买的活禽,病例存在该活禽临时存放密闭狭小环境的气溶胶暴露史,可能为其感染原因。本研究对该病例进行流行病学特征和临床进展分析,旨在探讨人感染H5N6禽流感发生和传播途径,为人禽流感防控提供依据。

对象与方法

1. 调查对象:对1例H5N6禽流感病毒核酸阳性病例的临床诊疗、流行病学史、密切接触者、可疑禽类及可疑禽类场所外环境采样检测情况进行调查。

2. 调查方法:依据《人禽流感诊疗方案(2008版)》对病例进行核实诊断;参照《人感染H7N9禽流感疫情防控方案(第3版)》和《人感染H7N9禽流感流行病学调查方案》,对病例及密切接触者开展流行病学调查,主要包括病例基本情况、发病诊疗经过、临床表现、实验室检查、病例家庭及家居环境情况、禽类暴露史、相关涉禽场所情况、密切接触者医学观察情况等。采集病例、密切接触者呼吸道标本、病家外环境及冰箱剩余肉类涂抹标本、购买活禽的批发市场外环境涂抹标本等,4℃保存,按生物安全规范专车送检。标本使用天根生化科技(北京)有限公司“病毒检测用RNA提取试剂盒(离心柱型)”对本标本进行核酸提取,使用中山大学达安基因股份有限公司“甲型流感病毒核酸测试剂盒(PCR-荧光探针法)”、江苏硕世生物科技有限公司“禽流感病毒H5/H7/H9亚型核酸测试剂盒(荧光PCR法)”和“禽流感病毒N6/N9/N2亚型核酸测试剂盒(荧光PCR法)”进行流感病毒通用A型核酸检测以及亚型鉴定,所有标本当天完成检测。

结果

1. 病例发现与报告:病例为男性,22岁,待业,居住于广州市活禽交易非限制区。平素身体健康,有长期吸烟史,作息不规律,长期熬夜。9月25日病例出现高热、咳嗽、咳痰,伴畏寒、寒战、全身乏力。26日前往当地社区医院门诊就诊。因反复高热,当日又

前往广州市某三甲医院(A医院)北院区急诊就诊,27日病例出现呼吸困难,再次前往A医院就诊,以“肺炎”收治入院。入院后,病例肺炎症状进行性加重,29日医院采集病例咽拭子标本送广东省CDC检测,当日检测结果显示H5禽流感病毒核酸阳性,N亚型未能分型。30日,广东省和广州市CDC对病例下呼吸道抽取物进行检测,结果均为H5N6禽流感病毒核酸阳性。依据病例临床表现、流行病学调查及实验室检查,判定为人感染H5N6禽流感病例,当日广州市CDC对该病例在国家传染病报告信息管理系统进行网络报告。

2. 临床治疗及转归:病例在当地社区医院以“上呼吸道感染”接受对症治疗,症状未缓解。26日A医院北院区急诊门诊血常规示白细胞 $6.57 \times 10^9/L$,淋巴细胞百分比16.1%(降低),中性粒细胞百分比76.4%(升高),血小板 $132 \times 10^9/L$,生化显示磷酸肌酸激酶192 U/L(升高),肌酸激酶同工酶5 U/L,胸片显示右下肺少许炎症,拟肺炎,予莫西沙星抗感染治疗。27日在A医院北院区入院后,病例胸部CT显示右肺下叶大叶性肺炎,肺炎症状进行性加重,院方对病例进行甲型流感病毒抗原检测阴性。28日病例出现烦躁、谵妄。29日,病例病情仍进行性加重,高热,气促,血常规示白细胞 $3.17 \times 10^9/L$ (降低),淋巴细胞百分比19.6%(降低),中性粒细胞百分比78.2%(升高),血小板 $102 \times 10^9/L$ (降低),生化显示磷酸肌酸激酶8 534 U/L(升高),肌酸激酶同工酶44 U/L(升高),血气示动脉血氧分压5.82 kPa(降低),胸部CT示双肺感染实变明显加重,予磷酸奥司他韦治疗。

30日病例确诊人感染H5N6禽流感病例,转院至A医院南院区ICU负压病房,病例出现严重呼吸衰竭,立即气管插管、呼吸机辅助通气,予充分镇静、镇痛,静脉升压药物维持血压等抢救治疗,予磷酸奥司他韦(9月29日至10月21日)和帕拉米韦(9月30日至10月23日)联合抗病毒治疗。10月4日病例呼吸衰竭加重、缺氧明显,肺部渗出明显增加,开始予体外膜肺氧合(ECMO,V-V转流)改善氧合,随后其氧合逐渐改善,神志渐转清,肝、肾、心等器官功能好转,16日胸部CT示双肺渗出明显吸收,氧合显著改善,撤除ECMO,18日停用呼吸机,19日拔除气管插管,胸部CT示纵膈气肿及右肺下叶不张,皮下切开引流,并行支纤镜清除右肺下叶痰栓,21日起病例呼吸道标本H5N6禽流感病毒核酸阴性,25日因咳痰能力差,行气管切开及支纤镜治疗,11月16日病

例神志清,痰可从口腔咳出,咳嗽能力较前好转,痰液量较前减少,行气管套管拔除术并予气管切开处缝合,28 日病例吞咽功能好,无呛咳,食道造影无异常,拔除空肠管,经口进食,肺部感染基本控制,无吸氧情况下肺功能正常,各器官、系统功能稳定,病愈出院。

病例血常规在疾病早期出现白细胞总数不高,血小板减少,中性粒细胞百分比持续增高,发病后第 9 天即出现白细胞总数升高,血小板计数在中后期出现短期增高。血生化检查发现,病例 ALT、AST、肌酸激酶、肌红蛋白、血尿素氮均增高,氧合指数在发病第 6 天即 $<250 \text{ mmHg}$ ($1 \text{ mmHg}=0.133 \text{ kPa}$),出现气体交换障碍(图 1)。

3. 流行病学调查:9 月 30 日,广州市 CDC 分 3 组在就诊医院、病家及涉及禽类交易市场开展流行病学调查。调查发现病例在发病前 1 个月无外出旅游史,无发热病例接触史,平日,病例父母负责食材的采购和烹饪。9 月 24 日,病例父亲驾驶病例轿车前往病家所在区的活禽批发市场购买 3 只活鸡,装后备箱运回家后由病例家人宰杀烹饪,病例与父母及亲属共 16 人一同食用。9 月 25 日早上,病例驾驶购买活禽的轿车与堂弟前往珠海游玩,往返自驾车程累计约 8 h,全程为空调内循环。调查发现病例无禽类直接接触史和禽类市场暴露史,但存在活禽暂存密闭狭小空间暴露史。

随后调查者对病例密切接触者进行甄别和采

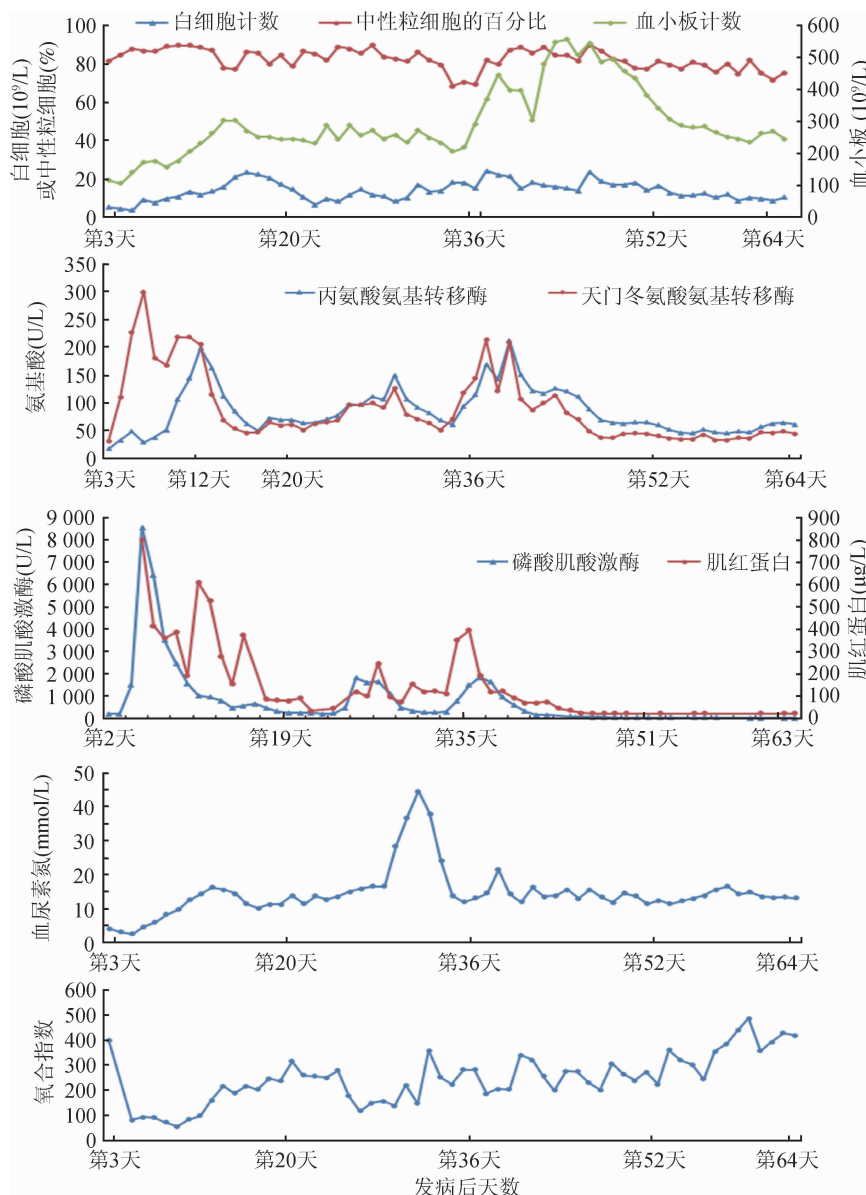


图 1 病例血常规和血生化主要指标变化趋势

样,对病家环境、购买活禽的市场进行调查采样。共甄别发现密切接触者 57 人,包括病例亲属 15 人,居住地社区医院 2 人,A 医院医护人员 38 人,A 医院北院区同病房病友 2 人。采集密切接触者咽拭子 9 份,其中医护人员 2 份,病例亲属 7 份,检测结果均为禽流感病毒核酸阴性。10 d 的医学观察中,A 医院北院区 1 名主治医师出现咳嗽,病例堂弟出现发热,最高 38.5 ℃,2 人呼吸道标本均为禽流感病毒核酸阴性,其余人员均未出现不适症状。

病家为自建两层楼房,建筑面积约 100 m²,通风采光一般。病家及附近未发现圈养家禽和候鸟停留痕迹。采集病家外环境 23 份及冰箱存放的剩余冷冻鸡块涂抹标本 1 份,其中 1 份冷冻鸡块涂抹标本检出 H5N6 禽流感病毒核酸阳性。病例驾驶轿车已在 9 月 25 日后进行内外清洗,加之介入处置时已是发病后第 6 天,错失了轿车环境和气溶胶采集的最佳时机。

病例父亲购买活禽的批发市场为广州市大型活禽批发市场,内设活禽批发档口 110 个,日销售鸡、鸭、鹅等活禽 5 万~8 万羽。采集批发市场外环境标本 86 份,均未检出 H5N6 禽流感病毒核酸。

为持续监测病例呼吸道标本禽流感病毒感染情况,9 月 30 日至 10 月 31 日(发病后第 6~37 天),每日对病例呼吸道标本进行核酸检测,结果发现发病后第 14 天咽拭子标本最后一次检出 H5N6 核酸阳性,痰液/气管抽吸物在第 25 天最后一次检出阳性(表 1)。

讨 论

本案例是广州市首例成年人且被治愈的人感染 H5N6 禽流感病例。以往研究表明早期(48 h 内)使用神经氨酸酶抑制剂对控制禽流感病毒效果较好^[5-6],而该病例虽在发病后的次日已到社区医院及三甲医院就诊,但在发病第 5 天才服用神经氨酸酶抑制剂进行抗病毒治疗,较晚使用抗病毒药物可能是导致病例病程长达 60 d 的原因之一。另外,病例在持续 14 d 的 ECMO 和 25 d 的抗病毒药物治疗后,最终痊愈,提示规范、持续的支持与抗病毒治疗是降

低病死率的关键影响因素。同时,病例痰液/呼吸道抽吸物病毒核酸阳性持续时间长于咽拭子,且在连续 2 d 或 3 d 阴性后仍检出核酸阳性,说明病例仍有一定的传染性,提示应审慎对待病原检测结果或进一步完善病例病原检测策略。

直接或间接接触活禽或暴露于活禽交易市场是人类感染禽流感病毒的危险因素^[7],但气溶胶传播也是不容忽视的因素。过往研究在 2014—2015 年间在广州地区活禽市场的空气样本中曾检出 H5N6 禽流感病毒^[8],本研究在 2015 年对 1 例 H5N6 儿童感染病例调查时也发现气溶胶传播是其感染的重要传播途径^[9]。本研究病例在发病前 10 d,未暴露于禽类或禽类交易场所,未接触过发热病例。发病前 1 d,其父亲驾驶病例常用轿车前往活禽批发市场购买活鸡并运载回家,次日一早病例便驾驶该轿车跑长途。时值广州地区炎热季节,轿车在使用过程中一直车窗密闭,病例暴露于活禽暂存密闭狭小空间时长约 8 h。推测该病例传播链为:携带 H5N6 禽流感病毒的活鸡污染轿车密闭狭小空间,病例长时间暴露于受污染的气溶胶环境后而感染。虽然介入处置时已是发病后第 6 天,错失了采集气溶胶的最佳时机,但本案例仍进一步丰富了人暴露于被污染的气溶胶而感染禽流感病毒的证据。另外,病例父亲曾参与购买、宰杀、烹饪活鸡过程,病例堂弟与病例曾一同暴露于轿车密闭环境,但病例的父亲和堂弟均未感染 H5N6 禽流感病毒,提示 H5N6 禽流感病毒的感染存在个体差异。

2014—2016 年对我国 16 个省份的活禽市场开展监测发现,H5N6 禽流感病毒逐渐取代 H5N1 禽流感病毒在我国南部地区成为优势毒株^[10]。广州市禽类交易市场环境禽流感病毒污染监测显示,2018 年广州市非限制区禽类市场环境标本中 H5 亚型阳性率为 3.09%,高于以往水平,且全年均处于较为平稳的持续污染态势。H5 亚型污染率升高原因可能是禽流感二价灭活疫苗中的 H5N1 RE-8 株对应的是 2.3.4.4b,而我国 H5N6 对应的则主要是 2.3.4.4d 分支和 2.3.2.1d 分支^[11]。提示今后应加强活禽市场监测并及时变更疫苗组分,提高禽类防病效果。

表 1 病例发病后第 6~37 天呼吸道标本 H5N6 禽流感病毒核酸检测情况

标本类型	发病后天数																														
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
咽拭子	/	/	/	-	/	+	/	/	+	-	/	/	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	/
痰液/气管抽吸物	+	+	+	/	+	/	+	+	/	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注:/为未采集到患者呼吸道标本,未开展 H5N6 禽流感病毒核酸检测;+为呼吸道标本检测 H5N6 禽流感病毒核酸阳性;-为呼吸道标本检测 H5N6 禽流感病毒核酸阴性

广州市于2014年5月推出生鲜试点区,实行“集中屠宰、冷链配送、生鲜上市”。截至目前中心城区越秀、海珠,以及天河、荔湾和白云的大部分片区已连成一整片活禽销售限制区。2018年广州市限制区环境标本H5、H7、H9亚型污染率均低于非限制区,且自实行活禽限制区措施后,报告的人感染H7N9及H5N6禽流感病例的感染市场均来自活禽销售非限制区,表明活禽经营限制区的推广有利于我市人禽流感的防控,这与2014—2016年谢朝军等^[12]研究结果一致,提示应进一步扩大生鲜上市区域,最终实现全市“集中屠宰、冷链配送、生鲜上市”。但与此同时,2013—2018年多项研究表明广州市民对全市范围内实行“集中屠宰、冷链配送、生鲜上市”的支持率 $<50\%$ ^[13-17],表明在全市范围内推行生鲜上市仍存在较大阻力,提示应加强宣传教育,特别注重对低收入、低文化程度者、女性等重点人群的宣教^[15-17],促进市民自我防护意识的形成。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Pan M, Gao RB, Lv Q, et al. Human infection with a novel, highly pathogenic avian influenza A (H5N6) virus: Virological and clinical findings [J]. *J Infect*, 2015, 72 (1) : 52-59. DOI: 10.1016/j.jinf.2015.06.009.
- [2] Centre for Health Protection. Avian Influenza Report [EB/OL]. (2019-04-16) [2019-04-23]. https://www.chp.gov.hk/files/pdf/2019_avian_influenza_report_vol15_wk15.pdf.
- [3] 冯子健. 流感、禽流感 and 流感大流行: 我们准备好了吗? [J]. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(8): 1017-1020. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.08.001.
- [4] Feng ZJ. Seasonal, avian and pandemic influenza: are we prepared? [J]. *Chin J Epidemiol*, 2018, 39(8): 1017-1020. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.08.001.
- [5] Russell A, Fonville JM, Brown AEX, et al. The potential for respiratory droplet-transmissible A/H5N1 influenza virus to evolve in a mammalian host [J]. *Science*, 2012, 336 (6088) : 1541-1547. DOI: 10.1126/science.1222526.
- [6] 姜慧, 赖圣杰, 秦颖, 等. 全球人感染禽流感疫情及其流行病学特征概述 [J]. *科学通报*, 2017, 62(19): 2104-2115. DOI: 10.1360/N972017-00267.
- [7] Jiang H, Lai SJ, Qin Y, et al. A review of global human infection with avian influenza and epidemiological characteristics [J]. *Chin Sci Bull*, 2017, 62(19): 2104-2115. DOI: 10.1360/N972017-00267.
- [8] Ison MG. Optimizing antiviral therapy for influenza: understanding the evidence [J]. *Expert Rev Anti-Infect Ther*, 2015, 13(4): 417-425. DOI: 10.1586/14787210.2015.1018183.
- [9] 韩迪迪, 韩春霞, 李璐钰, 等. 中国2013—2017年人感染H7N9禽流感的流行病学特征 [J]. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(1): 44-46. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.01.009.
- [10] Han DD, Han CX, Li LY, et al. Epidemiology of human infection with avian influenza A (H7N9) virus in China, 2013-2017 [J]. *Chin J Epidemiol*, 2018, 39(1): 44-46. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.01.009.
- [11] Zhou J, Wu J, Zeng XQ, et al. Isolation of H5N6, H7N9 and H9N2 avian influenza A viruses from air sampled at live poultry markets in China, 2014 and 2015 [J]. *Euro Surveill*, 2016, 21 (35): 30331. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.35.30331.
- [12] Li TG, Yu M, Li KB, et al. Death of a very young child infected with influenza A (H5N6) [J]. *J Infect*, 2016, 73 (6) : 626-627. DOI: 10.1016/j.jinf.2016.07.015.
- [13] Bi YH, Chen QJJ, Wang QL, et al. Genesis, evolution and prevalence of H5N6 avian influenza viruses in China [J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 20 (6) : 810-820. DOI: 10.1016/j.chom.2016.10.022.
- [14] Li JP, Hou GY, Wang Y, et al. Protective efficacy of an inactivated chimeric H5 avian influenza vaccine against H5 highly pathogenic avian influenza virus clades 2.3.4.4 and 2.3.2.1 [J]. *J Gen Virol*, 2018, 99 (12) : 1600-1607. DOI: 10.1099/jgv.0.001140.
- [15] 谢朝军, 苏文哲, 李魁彪, 等. 禽类生鲜上市减少市场环境禽流感病毒污染的研究 [J]. *中华流行病学杂志*, 2016, 37(3): 353-357. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.03.012.
- [16] Xie CJ, Su WZ, Li KB, et al. Effect of supply of fresh poultry products on reducing environment contamination of avian influenza virus in markets [J]. *Chin J Epidemiol*, 2016, 37(3): 353-357. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.03.012.
- [17] Wang LP, Cowling BJ, Wu P, et al. Human exposure to live poultry and psychological and behavioral responses to influenza A (H7N9), China [J]. *Emerg Infect Dis*, 2014, 20 (8) : 1296-1305. DOI: 10.3201/eid2008.131821.
- [18] Yuan J, Tang XP, Yang ZC, et al. Enhanced disinfection and regular closure of wet markets reduced the risk of avian influenza a virus transmission [J]. *Clin Infect Dis*, 2014, 58 (7) : 1037-1038. DOI: 10.1093/cid/cit951.
- [19] 袁俊, 谢朝军, 刘于飞, 等. 广州市居民对永久实施活禽全市集中屠宰接受意愿及其影响因素分析 [J]. *中华预防医学杂志*, 2015, 49(3): 237-242. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2015.03.010.
- [20] Yuan J, Xie CJ, Liu YF, et al. Acceptance and influence factor of central slaughtering of live poultry in residents of Guangzhou [J]. *Chin J Prev Med*, 2015, 49(3): 237-242. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2015.03.010.
- [21] 刘艳慧, 袁俊, 马晓薇, 等. 不同人群对活禽市场短期休市制度的接受意愿及影响因素 [J]. *中国健康教育*, 2015, 31 (9) : 837-840. DOI: 10.16168/j.cnki.issn.1002-9982.2015.09.006.
- [22] Liu YH, Yuan J, Ma XW, et al. Willingness and influencing factors to short-term closure of live poultry markets among different populations [J]. *Chin J Health Educ*, 2015, 31 (9) : 837-840. DOI: 10.16168/j.cnki.issn.1002-9982.2015.09.006.
- [23] 刘文辉, 马钰, 陆剑云, 等. 广州市家庭主厨人员对“集中屠宰、生鲜上市”措施接受意愿及影响因素分析 [J]. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(2): 204-207. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.02.013.
- [24] Liu WH, Ma Y, Lu JY, et al. Willingness and influencing factors related to “centralized slaughtering, fresh poultry listing and marketing” strategy among the household chefs in Guangzhou [J]. *Chin J Epidemiol*, 2018, 39 (2) : 204-207. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.02.013.

(收稿日期: 2019-07-18)

(本文编辑: 李银鸽)