

综合养鱼与人类甲型流感流行的关系

顾惠心¹ 胡善联¹ 杨志刚¹ 张建国² 金秀媛² 何家龙³
崔长法³ 袁宇释⁴ 王 扬⁵ 林玉尊¹ 蔺 岩¹ 王曾遂¹

摘要 用血清学、生态学及纵向流行病学研究方法研究在河南、山东两省选择有、无综合养鱼及不养鱼的 4 个农村观察点，比较农村人群的发病及人猪鸭群中人猪鸭甲型流感病毒感染情况，以验证综合养鱼导致人类甲型流感流行的假设，结果提出了综合养鱼对人群中甲型流感的发病和感染无关，养鸭对人群中人甲型流感病毒感染率升高起重要作用；而养猪则对感染率似无影响，以及人猪鸭甲型流感病毒可在人猪鸭群间相互传播的见解。

关键词 流感 生态学 纵向研究

The Relationship between Integrated Fish Farming and Human Influenza Pandemic Gu Hui-xin, Hu Shan-lian, Yang Zhi-gang, et al. Dept. of Epidemiology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032

Abstract The study was carried out for reviewing the hypothesis on the relationship between integrated fish farming (IFF) and human influenza A pandemic using study methods of longitudinal epidemiology, ecology and serology. Four rural villages with IFF, non- IFF and non-fish farming, selected from two provinces (Henan and Shandong of PRC) were investigated for the status about human influenza A epidemic and infections with human, duck, swine influenza A viruses in those communities. The results put forward views on that there is no relation between IFF and the increase of incidence rate, infection rate and antibodies level to human influenza A virus. Duck may play an important role in the increase of infection rate to human influenza A viruses among human communities. Pigs seem not to play obvious role in the increase of infection rate to human influenza A viruses among human communities. Human, duck, swine influenza A viruses may spread among human duck and pigs communities interchangeably.

Key words Influenza Ecology Longitudinal epidemiology

目前，联合国粮农组织等正在发展中国家推广一种成本低廉的综合养殖淡水鱼技术，就是水产养殖结合农业实施；利用猪鸭粪作为鱼池肥料或鱼饲料。然而有些学者^[1]提出了“综合养鱼导致人甲型流感流行”假设，引起了国际公众关注。他们认为综合养鱼会增加人鸭猪群间接触机会，可能提供人鸭中的甲型流感病毒在猪中重组产生新的流

行株的生态环境，构成人类流感流行的潜在危险，故该假设的验证对我国和国际的公共卫生政策和综合养鱼技术的发展有重要意义。我们用生态学、血清学和纵向流行病学研究方法比较有无综合养鱼和不养鱼的四个农村观察点人流感的发病及人鸭猪群中人猪鸭甲型病毒感染情况，以验证该假设。

对象和方法

一、研究点和对象：1992 年在山东和河南两省共选择 4 个观察村。山东济宁市选择一个综合养鱼 (IFF) 村 (以兼养猪鸭鱼为副

1 上海医科大学流行病学教研室 200032
2 山东省卫生防疫站
3 河南省卫生防疫站
4 山东省济宁市任城区卫生防疫站
5 河南省新乡市卫生防疫站

业) 和一个对照村 (以养猪鸭为副业)。由于单以养鱼为副业农村实际上不存在, 故非综合养鱼 (NIFF) 村共选两个, 分别在山东济宁县选择一个以养鸭鱼和在河南新乡县选择一个养猪鱼为副业的农村作为 NIFF 村。四村各随机抽取占各村总村户 10% 村民中所有居民为人群中流感样发病情况观察的样本。其中 IFF 村调查 111 户共 514 人, NIFF (鸭鱼) 村 107 户 506 人, NIFF (猪鱼) 村 120 户 518 人和对照村 122 户 480 人。又在这些样本中随机抽取 50% 左右包括 0~55 岁男女各年龄组人群作为流感抗体血清学调查的样本。其中 IFF 村 228 例, NIFF (鸭鱼) 村 224 例, NIFF (猪、鱼) 村 495 例和对照村 234 例。各村样本年龄构成均以 10 岁以下年龄组占较高比重 (27%~30%), 10~、20~、30 岁~占 14%~20%, 40~50 岁及以上占 7%~11%。4 村样本各年龄组构成无统计学差别 ($\chi^2=9.23, df=15, P=0.87$)。同时各村采集猪、鸭血标本各 40~50 份测定流感抗体。

二、研究方法:

1. 纵向和生态学流行病学研究: 1992 年 5 月~1993 年 5 月间, 每隔三个月调查各村研究人群中近二周内流感样发病情况, 以有发热、感冒二者症状为流感样发病标准。用年标化每百人平均二周流感罹患次数为该村流感样发病的频率指标, 作不同环境与流感发病关系生态学比较分析。

2. 血清学和生态学流行病学研究: 检测各村人猪血中人猪鸭流感抗体情况。作不同环境中人猪鸭流感感染生态学比较分析。血清学试验由上海市卫生防疫站提供人猪鸭甲型流感病毒株 [A/Taiwan/1/86 (H₁N₁), A/上海/1/87 (H₃N₂), A/京防/47/92 (H₃N₂), A/鸭/上海/1/76 (H₄N₉), A/swine/Iowa/1/30 (H₁N₁)], 各接种于鸡胚尿囊腔, 收集尿囊液为下述测定抗体血清学试验中应用的各种抗原。

(1) 微量血凝抑制试验 (HI): 用常规

法^[2]。血清于试验前用霍乱弧菌滤液 1:5 处理。以 HI 效价 ≥ 20 的血清为 HI 抗体阳性。

(2) 单扩溶血试验 (SRH): 参照 Schild 方法^[3]。用正常鸭血清作补体, 以溶血圈直径 $\geq 2.5\text{mm}$ 为阳性, 为减少动物血在 HI 试验中的非特异性, 动物血均用该试验测定抗体。但由于猪血标本在试验结果判断中出现特异和非特异性溶血圈交织现象而不能确切判断结果。故猪血仍用 HI 试验测定。

三、统计方法: 村间罹患率和抗体阳性率统计学检验的卡方检验由 EPI info 软件 (5.01a) 的 STATCALC 程序处理。

结果和分析

一、观察村人群流感罹患率比较: 两村间一年内每百人平均二周罹患次数各各比较。仅对照村高于 NIFF (猪鱼) 村, 其余各村间比较均无统计学差别, 不能显示综合养鱼与流感罹患率升高存在联系 (表 1)。

表 1 4 个观察村人群每百人平均二周流感罹患次数比较

村名	调查人数	平均二周流感罹患总次数		
		各村	每百人	每百人标化
综合养鱼村 (猪鸭鱼)	514	41.25*	8.03	8.14
非综合养鱼村 (鸭鱼)	506	47.75*	9.44	9.18
非综合养鱼村 (猪鱼)**	518	35.75*	6.85	6.81
对照村 (猪鸭)**	480	51.25*	10.68	10.68

* 各村平均二周流感罹患总次数是一年四次调查的平均数

** 卡方检验结果: 对照村高于非综合养鱼村 (猪鱼), $\chi^2=4.26, df=1, P=0.03$, 其余各村间无统计学差别

二、4 村人群中人猪鸭甲型流感抗体阳性率比较: IFF 村人群中 3 株人甲型流感病毒 HI 抗体阳性率均低于或无差别于对照村和 NIFF (鸭鱼) 村, 未能显示综合养鱼与人群中人甲型病毒感染的升高联系 (表 2)。固定鱼因素又生比较有鸭的 NIFF (鸭鱼) 村高于无鸭的 NIFF (猪鱼)。固定猪因素有鸭的对照村高于无鸭的 NIFF (猪鱼) 村均显示鸭

表 2 4 观察村人群中人类甲型流感病毒
HI 抗体阳性率比较

观察村	标本数	A/Taiwan/1/86 (H ₂ N ₂)		A/上海/11/87 (H ₃ N ₂)		A/京防/47/92 (H ₃ N ₂)	
		阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)
综合养鱼村 (猪鸭鱼)	228	218	92.1	195	85.5	166	72.8
非综合养鱼村 (鸭鱼)	223	209	93.7	195	87.4	200	89.7
非综合养鱼村 (猪鱼)	495	379	76.6	374	75.6	251	43.4
对照村 (猪鸭)	234	232	99.2	212	90.6	171	73.1

两村间卡方检验结果 (Yates 校正法), 无统计学差别不列出:

A/Taiwan/1/86: 对照村高于综合养鱼村 $\chi^2=12.17$, $P=0.0005$; 对照村高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=58.06$, $P=0.000001$; 对照村高于非综合养鱼村 (鸭鱼) $\chi^2=8.40$, $P=0.004$; 非综合养鱼村 (鸭鱼) 高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=29.37$, $P=0.000001$; 综合养鱼村高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=23.95$, $P=0.000001$ 。

A/上海/11/87: 对照村高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=8.67$, $P=0.003$; 非综合养鱼村 (鸭鱼) 高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=12.5$, $P=0.0004$; 综合养鱼村高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=8.67$, $P=0.003$ 。

A/京防/47/92: 对照村高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=54.86$, $P<0.000001$; 非综合养鱼村 (鸭鱼) 高于对照村 $\chi^2=19.55$, $P=0.000009$; 非综合养鱼村 (鸭鱼) 高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=132.94$, $P<0.000001$; 非综合养鱼村 (鸭鱼) 高于综合养鱼村 $\chi^2=19.91$, $P=0.000008$; 综合养鱼村高于非综合养鱼村 (猪鱼) $\chi^2=52.86$, $P<0.000001$ 。

似与人群中人甲型病毒感染率升高有联系。也解释出现 IFF 村高于 NIFF (猪鱼) 村, 而低于或无差别于 NIFF (鸭鱼) 村矛盾结果均是由鸭因素混杂而致。又固定鸭鱼因素有猪的 IFF 村低于或无差别于 NIFF (鸭鱼) 村的结果, 提示猪在人群中人流感病毒感染率升高中似无明显作用。人群中猪流感病毒抗体阳性率在 IFF 村 (1.3%), NIFF (猪鱼) 村 (4.4%) 和对照村 (1.7%) 间均无统计学差别。未能显示养猪, 综合养鱼与人群中猪流感病毒感染率升高有联系。虽在无猪的 NIFF (鸭鱼) 村人群中猪流感病毒感染率高达 11.6%, 然而该村各年龄组人群感染率无差别; 故推论该人群中猪病毒感染率高可能

是 H₁N₁ 甲型病毒由外村传入而致。4 村人群中均未能检出鸭流感病毒 HI 抗体。由于鸭病毒种类多, 本研究仅有 1 株地方株 (上海) 鸭甲型病毒作血清学调查, 其阴性结果不能反映人群中鸭甲型流感病毒感染的全貌。

三、3 村鸭群中人猪鸭甲型流感病毒抗体阳性率比较: 3 个有鸭村中各检测 50 只鸭的人猪鸭病毒抗体, 仅 IFF 村鸭中检出人流感病毒抗体 (5/50), 但其抗体阳性率分别与 NIFF (鸭鱼) 村或对照村比较均无统计学差别。不能显示综合养鱼与鸭群中人流感病毒感染率升高有联系。鸭群中未能检出猪病毒抗体, 由于仅用 1 株古典型猪病毒株作抗体检测, 样本少, 采集又以幼鸭为主和采集时间局限于一天等影响抗体阳性率因素, 故其阴性结果尚不能说明鸭群中未受猪病毒侵袭。鸭病毒抗体仅在 IFF 村检出, 阳性率为 12% (6/50) 显著高于 NIFF (鸭鱼) 村和对照村。然而 IFF 村养鸭户占总村户的比例 (75%) 高于 NIFF (鸭鱼) 村 (60%) 和对照村 (20%)。故鸭因素混淆而导致 IFF 村鸭群中有较高鸭病毒感染率是不得不考虑的。故仍难作出综合养鱼与鸭群中鸭病毒感染率升高有联系的结论。

四、3 村猪群中人猪鸭甲型流感抗体阳性率比较: 3 村猪群 [IFF 村和对照村各 40 只, NIFF (猪鱼) 村 50 只] 中检测抗体结果, 3 村猪群中均有 2 株人甲型病毒 (H₃N₂) 抗体, 但其抗体阳性率在 3 村间均无统计学差别。虽 IFF 村猪群中人甲型病毒 (H₁N₁) 抗体阳性率 (5/40) 高于 NIFF (猪鱼) 村 (0/50); 但 IFF 村 (5/40) 和对照村 (1/40)、NIFF (猪鱼) 村 (0/50) 和对照村 (1/40) 抗体阳性率均无统计学差别, 故 IFF 村猪群中人甲型病毒 (H₁N₁) 感染率高于 NIFF (猪鱼) 村的结果推论是鸭因素的混淆而致, 猪病毒抗体仅在 IFF 村 1 头猪中检出 (1/40), 3 村猪群中猪病毒感染率间无统计学差别。故从上述结果不能显示综合养鱼与猪群中人, 猪病毒感染率升高有联系。3 村猪群中均未检出

鸭病毒抗体, 由于鸭病毒种类多, 本研究仅有 1 株地方株鸭病毒抗原作血清学调查, 其阴性结果不能全部反映猪群中鸭病毒感染情况。

综上所述。本研究得出以下结论: ①综合养鱼和人群中人甲型流感病毒感染率和罹患率的升高不存在关联; ②养鸭对人群中人甲型流感病毒感染率升高起着重要作用; ③养猪对人群中人甲型流感病毒感染率升高似无明显作用; ④人、猪、鸭甲型流感病毒可在人猪鸭群间相互传播。

[本研究得到中国水产科学研究院淡水渔业研

究中心(无锡)的支持及加拿大国际发展研究中心和我国国家教委博士点科研基金资助, 一并感谢]

参 考 文 献

- 1 Scholtissek C Nayler. Fish farming and influenza pandemics. Nature, 1988, 331: 215.
- 2 戴华生. 新实验病毒学. 北京: 中国学术出版社, 1983, 774~776.
- 3 G C Schild, M. S. Pereira. Single-radial-haemolysis: A new method for the assay of antibody to influenza haemagglutinin. Bull WHO, 1975, 52: 43.

(收稿: 1994-12-27 修回: 1995-07-19)

东北部分地区恙虫病血清学调查

胡玲美 鲁志新 蔡增林 金显涛 赵占林

为了进一步了解东北地区人群及鼠间恙虫病立克次体感染及分布情况, 自 1991 年 8 月~1994 年 6 月, 我们在东北三省东部部分县、市收集了人血清 1100 份, 收集了三个地区鼠血清 322 份, 进行了恙虫病血清学调查, 结果报告如下。

一、材料及方法: 1. 血清标本: 采集农业人口血清 1100 份。辽宁省大连市旅顺区 120 份, 庄河市 235 份, 东港市 99 份, 宽甸县 184 份; 吉林省靖宇县 116 份, 抚松县 83 份, 珲春市 50 份; 黑龙江省伊春市汤旺河区 42 份, 绥芬河市 80 份, 密山市 91 份。鼠血清系采用布笼法捕获活野鼠采血分离血清 322 份。宽甸县 115 份, 珲春市 105 份, 密山市 102 份。

2. 方法及判定标准: 恙虫病抗体检测按间接免疫荧光法进行。人血清 1:20 稀释, 鼠血清 1:10 稀释时, 可见特异性荧光颗粒判定为阳性。

二、结果:

1. 人血清恙虫病 IgG 抗体检测结果: 东北三省 10 县、市 1100 份人血清经检测, 其中 7 个县、市的人血清中检出有恙虫病抗体, 其中密山市阳性率最高为 21.98%。其余地区的阳性率依次为珲春 14.00%、宽甸 10.87%、东岗 3.16%、庄河 2.98%、抚松 2.48%、靖宇 0.86%。血清效价多在 1:20~1:80, 宽甸县有 1 例达 1:1280。旅顺、绥芬河、汤

旺河地区均未检出阳性血清。

2. 野鼠血清恙虫病 IgG 抗体检测结果: 检测密山、珲春、宽甸三地 322 份野鼠血清的结果表明, 上述地区的野鼠间均存在着恙虫病立克次体的感染, 其阳性率分别为 29.60%、20.00%、6.95%。

3. 抗体分型: 上述地区的人和野鼠恙虫病抗体阳性血清, 经检测存在三种血清型 (Gilliam、karp、kato 型), 各型的阳性率人血清分别为 73.85%、1.54%、16.92%; 野鼠血清分别为 18.64%、6.78%、18.64%。

三、讨论: 自 1991 年以来, 我们先后在吉林省珲春市、黑龙江省密山市和辽宁省宽甸县从病原上证实了恙虫病自然疫源地的存在。

本实验结果进一步表明, 东北三省东部地区人群及野鼠间均有恙虫病立克次体的感染, 最北者达北纬 45°以北。特别是密山和珲春一带, 人及鼠的恙虫病立克次体的感染率都比较高, 虽然未见有临床病例的报道, 这可能同我们调查季节有关, 也有可能因其他原因而致漏诊或误诊。

从血清抗体分型来看, 东北地区的恙虫病立克次体的类型不是单一的, 主要为 Gilliam 型部分为 Kato 型, 个别有 Karp 型, 这提示我们东北不同地区的恙虫病立克次体可能存在着差异, 有待于进一步的调查研究。