·现场调查·

江苏省2009年3岁以上自然人群新甲型H1N1流感血清流行病学调查

汤奋扬 祖荣强 李亮 祁贤 嵇红 吴斌 许可 付建光 秦圆方 邓斐 羊海涛

【摘要】 **目的** 了解江苏省2009年3岁以上自然人群新甲型H1N1流感抗体水平及流行趋势。**方法** 利用微量半加敏血凝抑制(HI)方法检测江苏省不同时间(2008年11月和2009年7、8、11月)人群新甲型H1N1流感抗体,比较不同时间、人群及地区的新甲型H1N1流感保护性抗体阳性率和抗体几何平均滴度(GMTs)。**结果** 在新甲型H1N1流感输入江苏地区后第一个流行季节内,2009年7、8、11月人群HI保护性抗体阳性率依次为3.46%、7.59%和16.94%,表现出随时间推移而呈总体增长趋势($P=0.000$),不同时间点的性别间保护性抗体阳性率的差异无统计学意义($P>0.05$);除2009年11月外,不同性别间的抗体GMT差异均无统计学意义。同一时间点不同年龄组间、同一年龄组的不同时间点间,HI保护性抗体阳性率、抗体GMT水平比较的差异均有统计学意义($P<0.05$)。HI保护性抗体阳性率和抗体GMT存在地区差异($P<0.05$)。**结论** 在2009年8月后江苏地区12~17岁人群成为新甲型H1N1流感暴发的主要人群,至2009年11月该人群总体新甲型H1N1流感保护性抗体阳性率仍较低,该病在全省的流行仍将持续一段时间。

【关键词】 新甲型H1N1流感; 血清流行病学调查; 血凝抑制试验; 抗体

Serologic survey on pandemic influenza A (H1N1) virus among aged ≥3 years population from Jiangsu province in 2009, China

TANG Fen-yang, ZU Rong-qiang, LI Liang, QI Xian, JI Hong, WU Bin, XU Ke, FU Jian-guang, QIN Yuan-fang, DENG Fei, YANG Hai-tao. Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210009, China

Corresponding author: YANG Hai-tao, Email: yht@jscdc.cn

【**Abstract**】 **Objective** To understand the antibody levels against pandemic influenza A (H1N1) virus (2009 H1N1) among aged ≥3 years population in 2009, from Jiangsu province, and to describe the distribution of 2009 H1N1. **Methods** Serum specimens were collected from natural populations at four different periods in Jiangsu, and tested with hemagglutination-inhibition (HI) assays. Rates of protective antibody against 2009 H1N1 and Geometric mean titers (GMTs) were estimated. **Results** The rates of protective antibody against 2009 H1N1 rose with the progress of epidemics in Jiangsu, which were 3.46%, 7.59%, 16.94%, respectively in July, August and November, 2009. There were no significant differences on the rates of protective antibody between males and females at four different cross-sectional periods ($P>0.05$), and no significant differences on GMTs were observed at different periods except for November 2009. Significant differences on rates of protective antibody and GMTs among various age groups were observed at four different periods ($P<0.05$), and similar results were observed among different periods in various age groups ($P<0.05$). There were significant differences on rates of protective antibody and GMTs among different areas ($P<0.05$). **Conclusion** The 2009 H1N1 strain had been widely spread out in Jiangsu province since July 2009. People aged 12-17 years became the major victims after August. As of November 2009, the rate of protective antibody against 2009 H1N1 was still low, predicting that the epidemic might continue to exist for a certain period of time.

【**Key words**】 Pandemic influenza A (H1N1) 2009; Serologic survey; Hemagglutination-inhibition assays; Antibody

新甲型H1N1流感始于2009年3月[1],由于该病毒在遗传特性和抗原性等方面都有别于人群中流行多年的季节性H1N1流感病毒,人群普遍缺乏免疫力。江苏省于2009年6月初发现首例输入病例,8月中旬出现首例"本土病例",之后疫情迅速蔓延。为了更好地掌握新甲型H1N1流感流行规律,除对

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.05.003

作者单位:210009 南京,江苏省疾病预防控制中心

汤奋扬、祖荣强、李亮同为第一作者

通信作者:羊海涛, Email: yht@jscdc.cn

其病原体变异情况开展常规监测外，还需对人群易感状态进行持续监测。为此本研究对江苏省新甲型H1N1流感流行前和流行早期的自然人群进行抗体检测，了解该病在人群中流行情况，以便有效预测疫情趋势。

对象与方法

1. 研究对象：研究对象来源于江苏省2008—2009年不同时间点（2008年11月和2009年7、8、11月）的自然人群，分别代表江苏省新甲型H1N1流感的流行前、输入性病例出现后、"本土病例"出现后以及第一波流行高峰后的人群状态。采用多阶段整群随机抽样原则，于2008年11月底在江苏省5个地级市收集3岁以上自然人群血清标本632份，于2009年7月底、8月底共在3个地级市收集血清标本6374份，2009年11月在5个地级市收集血清标本2030份（排除已经接种过新甲型H1N1流感疫苗者）。

2. 实验室检测：由江苏省疾病预防控制中心采用血凝抑制（HI）试验统一检测新甲型H1N1流感病毒HI抗体。

（1）实验材料：实验中使用的霍乱滤液（receptor destroying enzyme）购自Sigma公司。新甲型H1N1流感病毒抗原源自新甲型H1N1代表疫苗候选毒株A/California/07/2009（H1N1），由华兰生物公司按WHO疫苗生产有关规程制备。

（2）实验方法：采用已建立的半加敏血凝抑制试验检测血清抗体[2]。所有批次血清在同一时间段开展检测，实验人员仅掌握血清编号以维持实验在盲态条件下完成。对2%的血清标本按同样的实验方法复核检测，复核结果一致率为100%；部分血清标本经中国药品生物制品检定所检测，结果一致。

（3）判断标准：参照欧盟季节性H1N1亚型流感抗体检测有关规程，HI抗体效价≥1∶10为检测起点，以能完全抑制红细胞凝集的最高血清稀释度的倒数为血清抗体效价；血清HI抗体效价≥1∶40为保护性水平[3]。血清抗体滴度<1∶10按1∶5进行统计分析，抗体滴度高于最高检测上限（1∶5120）按1∶5120计[2]。

3. 统计学分析：采用EpiData 3.1软件建立数据库，SPSS 13.0软件进行数据清理、分析。重点统计人群中新甲型H1N1流感抗体几何平均滴度（GMT）和保护性抗体阳性率；保护性抗体阳性率按照2000年全国人口普查资料进行标化。不同时间、人群、地区的新甲型H1N1流感保护性抗体阳性率差异采用χ^2或校正χ^2检验；GMT分析，两组比较采用t检验；三组及以上比较采用方差分析，两两比较采用q检验。

结　果

1. 不同时间点人群抗体水平：不同时间点人群新甲型H1N1流感抗体水平分布的差异有统计学意义（$\chi^2=840.468$，$P=0.000$）（图1）。2008年11月和2009年7、8、11月4个时间点抗体滴度≥1:10的人数占检测总数的比例分别为13.29%、19.66%、41.16%和34.83%，差异有统计学意义（$\chi^2=440.743$，$P=0.000$）。2009年7、8、11月3个时间点的甲型H1N1流感保护性抗体阳性率，随着时间推移总体呈增加趋势，依次为3.46%、7.59%和16.94%，差异有统计学意义（$\chi^2=382.817$，$P=0.000$）。不同时间点HI抗体GMT水平随着时间推移呈递增趋势，差异有统计学意义（$F=177.786$，$P=0.000$）（表1）。

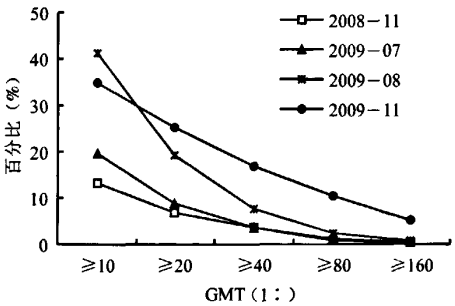

图1　江苏省人群不同时间点新甲型H1N1流感HI抗体滴度分布

表1　江苏省不同时间点新甲型H1N1流感HI抗体水平比较

采样时间（年-月）	观察人数	HI抗体滴度≥1:40				GMT(1:)(95%CI)
		人数	率(%)	标化率(%)	环比增长(%)	
2008-11	632	23	3.64	3.62	-	5.94(5.70～6.18)[a]
2009-07	4399	152	3.46	3.32	-4.95	6.33(6.22～6.44)[a]
2009-08	1975	150	7.59	5.98	119.36	8.21(7.95～8.48)[b]
2009-11	2030	344	16.94	17.09	123.19	9.73(9.26～10.21)[c]
合计	9036	668	7.39	7.48	-	7.35(7.23～7.47)

注：q检验法做两两比较，[a,b,c]示相同字母为差异无统计学意义（$P\geq0.05$），不同字母为差异有统计学意义（$P<0.05$）

2. 不同年龄组人群抗体水平：不同年龄组人群在不同时间点的甲型H1N1抗体滴度分布差异较大（图2）。在4个时间点HI抗体滴度≥1:10的人数占检测总数的比例：3～11岁年龄组分别为4.37%、10.80%、14.63%和24.30%，12～17岁年龄组分别为21.43%、28.86%、33.33%和44.07%，18～60岁年龄组分别为12.50%、20.14%、38.24%和35.61%，≥61岁年龄组分别为13.92%、17.59%、55.90%和42.16%。

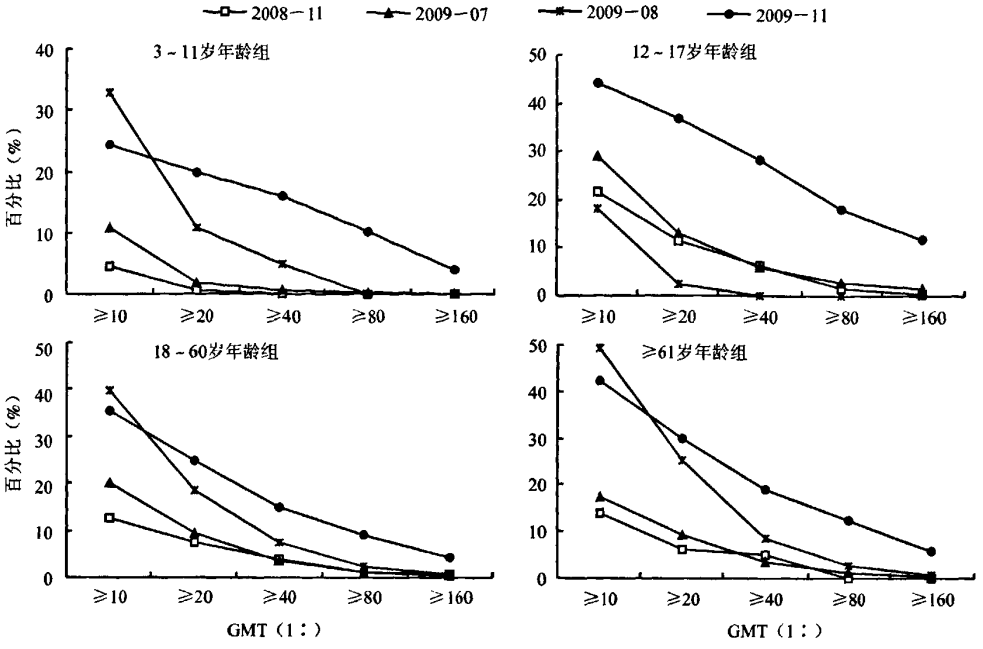

图2 江苏省不同年龄组人群在不同时间点新甲型H1N1流感抗体滴度分布

2008年11月和2009年7、8、11月4个时间点不同年龄组人群保护性抗体阳性率的差异均有统计学意义($\chi_1^2=11.271$, $P=0.010$; $\chi_2^2=42.059$, $P=0.000$; $\chi_3^2=15.002$, $P=0.002$; $\chi_4^2=19.958$, $P=0.000$)。4个时间点不同年龄组人群HI抗体GMT两两比较，2008年11月3～11岁组和其他各年龄组比较差异有统计学意义($P<0.001$)；2009年7月仅18～60岁和≥61岁组比较差异无统计学意义($P=0.503$)，其余组间比较差异均有统计学意义($P<0.001$)；2009年8月≥61岁组和其他各年龄组比较差异有统计学意义($P<0.01$)，18～60岁组和3～11岁组比较差异有统计学意义($P<0.001$)；2009年11月不同年龄组两两比较，差异均有统计学意义($P<0.05$)。

3～11岁、12～17岁、18～60岁、≥61岁年龄组在不同时间点的HI保护性抗体阳性率均随着时间推移呈上升趋势，4个年龄组在不同时间点的保护性抗体阳性率相比较，差异均有统计学意义($\chi_1^2=168.217$, $P=0.000$; $\chi_2^2=97.787$, $P=0.000$; $\chi_3^2=130.098$, $P=0.000$; $\chi_4^2=80.344$, $P=0.000$)。4个年龄组人群在不同时间点的新甲型H1N1流感抗体GMT水平，随着时间推移总体均呈增加趋势，差异均有统计学意义($F_1=55.551$, $P=0.000$; $F_2=34.642$, $P=0.000$; $F_3=61.902$, $P=0.000$; $F_4=66.712$, $P=0.000$)(表2)。

3. 不同性别人群抗体水平：男性和女性的甲型H1N1抗体滴度分布趋势一致。4个时间点男性HI抗体滴度≥1:10的人数占检测总数的比例分别为12.75%、20.05%、41.98%和37.21%($\chi^2=231.784$, $P=0.000$)；女性分别为13.77%、19.27%、40.47%和32.78%($\chi^2=213.454$, $P=0.000$)。在4个不同时间点，男性和女性保护性抗体阳性率差异均无统计学意义($\chi_1^2=0.616$, $P=0.432$; $\chi_2^2=0.724$, $P=0.395$; $\chi_3^2=0.491$, $P=0.483$; $\chi_4^2=3.189$, $P=0.074$)；不同时间点

表2 江苏省不同年龄组人群不同时间点新甲型H1N1流感抗体水平比较

年龄组(岁)	采样时间(年-月)	观察人数	HI抗体滴度≥1:40 人数	HI抗体滴度≥1:40 率(%)	GMT(1:)(95%CI)
3～11	2008-11	183	0	0.00	5.17(5.05～5.30)[a]
	2009-07	880	5	0.57	5.49(5.38～5.60)[a]
	2009-08	82	0	0.00	7.01(6.19～7.94)[b]
	2009-11	428	68	15.89	8.42(7.63～9.3)[c]
12～17	2008-11	210	13	6.20	6.64(6.09～7.24)[a]
	2009-07	991	60	6.05	7.20(6.88～7.54)[a]
	2009-08	45	1	2.22	6.80(5.85～7.91)[b]
	2009-11	177	50	28.25	13.84(11.25～17.03)[c]
18～60	2008-11	160	6	3.75	6.00(5.48～6.56)[a]
	2009-07	1539	53	3.44	6.36(6.18～6.54)[a]
	2009-08	1399	101	7.22	7.92(7.62～8.23)[b]
	2009-11	1157	175	15.13	9.44(8.87-10.04)[b]
≥61	2008-11	79	4	5.06	5.96(5.33～6.67)[a]
	2009-07	989	34	3.40	6.26(6.04～6.49)[a]
	2009-08	449	48	10.69	11.02(9.31～10.78)[b]
	2009-11	268	51	19.03	11.03(9.56～12.74)[b]

注：[a,b,c]同表1

男性和女性HI抗体GMT比较，除2009年11月的差异有统计学意义(t=2.047，P=0.041)以外，其余时间点差异均无统计学意义。男女性在不同时间点的保护性抗体阳性率差异均有统计学意义(男：χ^2=236.710，P=0.000；女：χ^2=154.582，P=0.000)；男女性HI抗体GMT水平随着时间推移均呈递增趋势(男：F=100.994，P=0.000；女：F=79.478，P=0.000)。2009年8月以后，人群保护性抗体阳性率大幅度提高，其中男性增幅显著，女性增幅略低(表3)。

表3　江苏省不同性别人群不同时间点新甲型H1N1流感抗体水平比较

采样时间(年-月)	观察人数	HI抗体滴度≥1:40 人数	率(%)	标化率(%)	环比增长(%)	GMT(1:)(95%CI)
男性						
2008-11	298	9	3.02	4.28	-	5.88(5.55～6.24)[a]
2009-07	2204	71	3.22	3.72	6.62	6.35(6.20～6.51)[a]
2009-08	910	65	7.14	5.31	121.74	8.21(7.84～8.61)[b]
2009-11	938	174	18.55	18.46	159.80	10.28(9.54～11.07)[c]
女性						
2008-11	334	14	4.19	3.03	-	5.99(5.66～6.33)[a]
2009-07	2195	81	3.69	2.94	-11.93	6.31(6.16～6.46)[a]
2009-08	1065	85	7.98	6.54	116.26	8.21(7.85～8.59)[b]
2009-11	1092	170	15.57	15.80	95.11	9.28(8.70～9.90)[c]

注：[a,b,c]同表1

4. 不同地区人群抗体水平：对2009年11月不同地区进行分析比较，苏南、苏中、苏北地区HI抗体滴度≥1:10的人数占检测总数的比例分别为29.69%、43.25%和33.93%(χ^2=28.067，P=0.000)。HI保护性抗体阳性率分别为10.45%、23.01%和20.16%，差异有统计学意义(χ^2=44.827，P=0.000)；不同地区GMT水平差异也具有统计学意义(F=24.880，P=0.000)，其中苏南地区低于其他两个地区，苏中和苏北地区差异无统计学意义(图3，表4)。

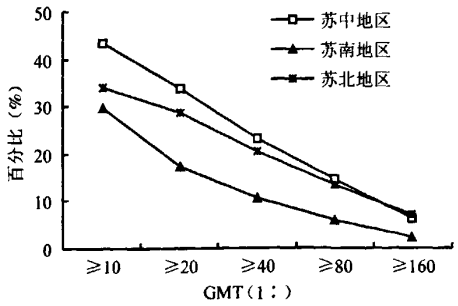

图3　江苏省不同地区新甲型H1N1流感抗体滴度分布

对2009年11月的城乡不同人群进行分析，结果显示城市和农村人群HI抗体滴度≥1:10的人数占检测总数的比例分别为39.18%、29.96%(χ^2=18.95，P=0.000)；城市和农村人群保护性抗体阳性率分别为17.54%、16.28%，差异无统计学意义(χ^2=0.565，P=0.452)。城乡之间HI抗体GMT水平比较，差异无统计学意义(t=1.724，P=0.085)。

表4　江苏省不同地区人群新甲型H1N1流感抗体水平比较

地区	观察人数	HI抗体滴度≥1:40 人数	率(%)	标化率(%)	GMT(1:)(95%CI)
苏南	842	88	10.45	10.60	7.96(7.49～8.46)[a]
苏中	578	133	23.01	22.42	11.86(10.74～13.09)[b]
苏北	610	123	20.16	21.65	10.63(9.62～11.75)[a]
合计	2030	344	16.95	17.09	9.73(9.26～10.21)

注：[a,b,c]同表1

讨　论

本研究对江苏省新甲型H1N1流感流行早期不同时间点的抗体水平进行分析，结果显示流行前人群抗体水平很低(3.64%)，至2009年11月底全省3岁以上人群新甲型H1N1流感保护性抗体阳性率有较大幅度上升，但总体仍处于较低水平(16.94%)。较低的保护性抗体水平提示，流行早期在全省采取的"防堵"策略有效延缓了新甲型H1N1流感在人群中的流行。

本次调查的新甲型H1N1流感HI抗体时间序列具有以下特征：①2009年7月江苏省人群新甲型H1N1流感抗体达到保护性水平的比例为3.46%，该时间点尚未发现省内"本土病例"；而此期间流感病原学监测提示，新甲型H1N1流感病毒仅占流感病毒总检出数的1.65%。②2009年8月底为出现新甲型H1N1流感"本土病例"后2个星期左右，人群保护性抗体阳性率升至7.59%；同期病原学监测显示新甲型H1N1流感病毒占流感病毒总检出数的比例升至5.01%。不同年龄组分析显示，12～17岁人群保护性抗体阳性率相对较低(2.22%)，此结果可能与该时间点12～17岁人群检测样本量较少有关。③2009年11月是江苏省出现"本土疫情"第一波流行后的2周至1个月，第一波主要体现为9—10月中小学校集中疫情暴发，新甲型H1N1流感占流感病毒总检出数的比例高达97.79%。血清学调查显示该时间点人群保护性抗体阳性率上升至16.94%，且12～17岁中学人群保护性抗体阳性率(28.25%)远高于其他人群，血清学调查与病原学监测结果相符。

新甲型H1N1流感发生后备受关注的焦点是，人群在流行前是否存在一定的交叉反应抗体？季节

性流感疫苗对新甲型H1N1流感病毒是否有交叉保护能力？Hancock等[4]研究发现，1980年后出生的107人中有4人(3.7%)对新甲型H1N1流感病毒有免疫反应(≥1:40)，而1950年前出生的115人中有39人(34%)有免疫反应(≥1:80)，推测接种过A/New Jersey/1976毒株制备猪流感疫苗的人群所产生的微量中和抗体与本次新甲型H1N1流感病毒有交叉免疫反应。Chen等[5]对广西地区2008年7—8月期间收集的4043份血清进行血清学检测，结果显示少量人群(12人，0.30%)存在针对新甲型H1N1流感病毒的中和抗体，少量人群(13人，0.32%)存在针对从当地动物分离的猪流感病毒的中和抗体，且有5人上述两种抗体均阳性。本研究中，2008年11月632份血清中有3.64%能检出保护性抗体，其中12～17岁组、≥60岁组的抗体阳性率略高于其他人群。自然人群在新甲型H1N1流感流行前所存在的交叉反应抗体，可能由于感染猪流感病毒或其他有抗原性交叉的H1N1亚型流感病毒而产生；由于我国既往无人群接种猪流感疫苗史，故大年龄组人群抗体水平并不高于其他人群。值得注意的是，不同时间点人群中均存在较高比例的低滴度抗体(≥1:10)，且该比例随时间推移而逐渐增高；该现象可能由于感染后抗体消退或隐性感染所致，其与发病的关系及对人群的保护作用有待进一步论证。

Hancock的同一研究显示，接种季节性流感疫苗后，儿童及60岁以上老年人很少出现针对新甲型H1N1流感的交叉免疫反应，但有一定比例的成年人检出交叉免疫反应[4,6]。江苏省近年监测显示，季节性流感H1N1亚型抗体滴度≥1:10的比例较高，GMT达1:19.57[7]；2009年8月后全省出现新甲型H1N1流感较高强度流行，以12～17岁及≥61岁人群为主。上述资料提示，特定人群中的季节性H1N1流感抗体可能对新甲型H1N1流感有一定程度保护作用，但仍需更多证据支持。

本文分析提示，疫情蔓延过程中男性抗体阳性率略高于女性，可能与男性社会活动范围较广等因素有关。从地区分布来看，2009年11月苏中和苏北地区的人群保护性抗体阳性率高于苏南地区。江苏省首例输入性病例在苏中地区的南通市发现，故新甲型H1N1流感在苏中、苏北地区的流行可能较早。

根据输入性疫情向“本土疫情”过渡阶段、第一波“本土疫情”流行后2个时间点的新甲型H1N1流感保护性抗体阳性率增长情况，结合江苏省近年季节性流感流行态势，初步推断甲型H1N1流感在未来几个月内将继续流行，但流行强度将随着抗体阳性率增高而逐步下降。

参 考 文 献

[1] Ginsberg M, Hopkins J, Maroufi A, et al. Swine influenza A (H1N1) infection in two children—Southern California, March-April 2009. MMWR, 2009, 58(15): 400-402.

[2] Zhu FC, Wang H, Fang HH, et al. A novel influenza A(H1N1) vaccine in various age groups. N Engl J Med, 2009, 361(25): 2414-2423.

[3] Commission of the European Communities. Harmonization of requirements for influenza vaccine. EEC Document Ⅲ, 1991.

[4] Hancock K, Veguilla V, Lu X, et al. Cross-reactive antibody responses to the 2009 pandemic H1N1 influenza virus. N Engl J Med, 2009, 361(20): 1945-1952.

[5] Chen H, Wang Y, Liu W, et al. Serologic survey of pandemic (H1N1) 2009 virus, Guangxi province, China. Emerg Infect Dis, 2009, 15(11): 1849-1850.

[6] Katz J, Hancock K, Veguilla V, et al. Serum cross-reactive antibody response to a novel influenza A (H1N1) virus after vaccination with seasonal influenza vaccine. MMWR, 2009, 58(19): 521-524.

[7] Kong YY, Pan H, Zhu FC, et al. Analysis on the epidemical of influenza and its epidemical characteristics in Jiangsu in 2005. Mod Prevent Med, 2007, 34(15): 2833-2834. (in Chinese)
孔园园，潘浩，朱凤才，等. 江苏省2005年流感的流行概况及其特征. 现代预防医学，2007，34(15)：2833-2834.

(收稿日期：2010-01-11)
(本文编辑：张林东)