

· 现场流行病学调查热点报告 ·

一例H5N1人禽流感病例感染源调查分析

袁俊 刘于飞 李魁彪 周杰 谢朝军 蔡文锋 潘捷云 刘青连 肖晓玲
狄飏 刘建平 马晓薇 刘艳慧 杨智聪

【摘要】 目的 明确1例人禽流感H5N1确诊病例的感染来源。方法 通过现场流行病学调查、密切接触者医学观察、高危从业人员症状监测、实验室检测和溯源调查等方法,判断感染来源。结果 2012年5月17—19日该患儿随母在广州A市场购买活鸭,现场经历屠宰过程。23、24日发病后在当地医院就诊,诊断为呼吸道感染;26日抵香港后诊断为人禽流感病例。23名密切接触者和34名市场禽类销售屠宰从业人员未出现流感样症状。患儿住家附近B市场2名禽类销售人员H9型血清抗体阳性,阳性率为6.06%(2/33)。A、B两市场砧板、禽笼等环境标本H5、H9型阳性率分别为9.8%(5/51)和2.0%(1/51)。B市场一份砧板H5型阳性标本与患儿标本同属2.3.2.1分支。B市场阳性档口的进货来源与A市场一致。结论 该禽流感病例的感染来源为广州市肉菜市场禽类销售档口。

【关键词】 禽流感; 流行病学调查; 感染来源

Investigation on the source of infection regarding an avian influenza (H5N1) case in Hong Kong that returning from Guangzhou YUAN Jun¹, LIU Yu-fei¹, LI Kui-biao¹, ZHOU Jie², XIE Chao-jun¹, CAI Wen-feng¹, PAN Jie-yun³, LIU Qing-lian⁴, XIAO Xiao-ling⁴, DI Biao¹, LIU Jian-ping¹, MA Xiao-wei¹, LIU Yan-hui¹, YANG Zhi-cong¹. 1 Guangzhou Center for Disease Control and Prevention, Guangzhou 510440, China; 2 Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention; 3 Haizhu District Center for Disease Control and Prevention; 4 Yuexiu District Center for Disease Control and Prevention
Corresponding author: YANG Zhi-cong, Email: yangzc@gzcdc.org.cn

This work was supported by grants from the Major Medical Science and Technology Research Projects of Guangzhou Municipality (No. 2009-ZDa-02) and Medical Science and Technology Research Projects of Guangzhou Municipality (No. 201102A213219).

【Abstract】 **Objective** We conducted an epidemiologic investigation to determine the source of infection on an avian influenza (H5N1) case who returned from Guangzhou, in Hong Kong. **Methods** Data related to epidemiologic investigation, medical observation on close contacts, Syndromic Surveillance on poultry salesmen, emergency monitoring, detection of the samples, source tracing on potential Avian influenza virus (H5, H7, H9) infected people, situation on environment pollution by avian influenza virus in the markets etc. were gathered. The determination of infection source was through comparing the different genes between the case and positive environmental samples. **Results** The infected case witnessed the procedure of how a live duck was killed, in market A in Guangzhou during May 17th to 19th. The case was diagnosed as respiratory tract infection in 2 Third-grade-Class A hospitals in Guangzhou on May 23th and 24th. The diagnosis was made as Avian influenza cases on May 26th after going back to Hong Kong. 23 close contacts and 34 markets poultry salesmen did not show any ILI related symptoms. However, 2 poultry salesmen from the markets nearby the place where the Avian influenza case stayed, were detected having positive H9 avian influenza antibody, with the H9 positive rate as 6.06%(2/33). Among the environmental samples in the 2 markets nearby home of the patient, chopping block was found to have carried H5, with positive rate as 9.8%(5/51) while poultry cage was found to carry H9, with the positive rate as 2.0%(1/51). A H5 positive sample was found with clade 2.3.2.1, same to the case, from a chopping block at the market B where the sources of poultry was the same as market A. **Conclusion** The source of infection seemed to come from the markets in Guangzhou, that calling for the strengthening of poultry

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.11.014

作者单位: 510440 广州市疾病预防控制中心(袁俊、刘于飞、李魁彪、谢朝军、蔡文锋、狄飏、刘建平、马晓薇、刘艳慧、杨智聪); 广东省疾病预防控制中心(周杰); 广州市海珠区疾病预防控制中心(潘捷云、刘青连); 广州市越秀区疾病预防控制中心(肖晓玲)

袁俊、刘于飞同为第一作者

通信作者: 杨智聪, Email: yangzc@gzcdc.org.cn

market management, for avian influenza prevention. History related to contact of poultry should be gathered when a diagnosis of respiratory tract infection was made. Timely sampling and testing should be made to improve the sensitivity of diagnosis.

【Key words】 Avian influenza; Epidemiology investigation; Infection sources

2012年6月1日香港卫生署向广东省卫生部门通报一名由穗返港禽流感检测H5亚型阳性2岁男童。5日该患儿被确诊为人高致病性禽流感H5N1感染病例并上报WHO^[1]。据香港卫生防护中心流行病学调查,患儿发病前到过广州(穗)、安徽等地停留,并有随家属在广州某菜市场购买过活鸭的接触史。为明确该患儿感染来源,开展本次现场流行病学调查分析。

对象与方法

1. 调查对象:包括患儿发病前1周及病后共同居住的家属,患儿发病后就医时无防护措施或防护措施不足的接诊医生和护士等,患儿住家附近2家市场(发病前随母购买活鸭的A市场和住家附近300 m范围内的B市场)禽类宰杀和销售从业人员。

2. 调查方法:通过面对面访谈和电话调查方法了解患儿发病前后活动史及家人活动情况。确定患儿密切接触者并开展医学观察。确定可疑危险暴露的肉菜市场禽类宰杀和销售从业人员为高危人群并开展症状监测。设立患儿住家附近3家医疗机构作为应急监测医院。采集密切接触者、高危人群、应急监测流感样症状病例咽拭子、血标本和采集可疑市场环境标本开展禽流感病毒检测排查。

3. 样本采集:①采集病例密切接触者、市场禽类从业人员、应急监测流感样症状病例的咽拭子,通过荧光PCR方法检测禽流感病毒(H5、H7、H9型)核酸。②采集病例密切接触者、市场禽类从业人员血标本,检测禽流感病毒(H5、H7、H9型)血清抗体。③涂抹棉拭子采集肉菜市场屠宰和销售禽类档口的砧板、禽笼等环境标本,采用荧光PCR方法检测禽流感病毒(H5、H7、H9型)核酸。

4. 实验室检测:样本采集后立即置于病毒运输液中,保存于4℃送往实验室。禽流感病毒核酸采用试剂盒QIAamp Viral RNA mini Kit (Qiagen, Germany)提取。利用国家流感中心下发的禽流感病毒(H5、H7、H9亚型)检测探针引物和Real-time PCR检测试剂盒QuantiTect probe RT-PCR Kit (Qiagen, Germany)对病毒核酸进行荧光PCR检测。对环境标本阳性结果进行基因测序,并与患儿禽流感病毒基因序列进行比对和系统进化树分析,

根据流行病学溯源调查结果判断感染来源。进化树分析采用软件Mega 4.0。采用Neighbor-joining法(Bootstrap=1000)构建进化树。进化树中包含的代表参比株来自GenBank。

结 果

1. 病例就诊概况:患儿男性2岁,香港户籍,与父母、外祖母共居于广州市,父为香港户籍。患儿于5月23日出现反复发热(体温最高40℃),伴流涕、轻微咳嗽,有痰,遂至广州市某医疗中心就诊。查体发现咽红,并有多个小滤泡;双肺呼吸音粗,未闻及干湿啰音;血红蛋白计数 $16.2 \times 10^9/L$,中性粒细胞比例81%,超敏C反应蛋白35.1 mg/L。临床诊断为急性上呼吸道感染,予以对症和抗感染治疗。24日前往某高校附属医院门诊就医,临床诊断为呼吸道感染。该两家医院均未怀疑为人禽流感病例,未进行病原学采样检测。26日患儿随父母抵香港。28日患儿出现抽搐症状,在香港某医院急诊以“脑炎”收入院,6月1日禽流感检测H5亚型阳性,随后转至香港马嘉烈医院诊治并入住ICU,病情稳定。

2. 病例发病前活动史:5月17—19日该患儿与母亲在居家附近的A市场某档口(具体不详)购买过活鸭,并现场经历了活鸭屠宰过程(距离约1 m)。20日与父母3人乘火车至安徽省马鞍山市(外祖父家),但无禽类产品接触史。23日返穗。据其外祖母陈述,患儿病前1个月内除安徽之旅外未离开过广州。患儿外祖父曾于5月23日来穗与患儿同住,31日离开。

3. 密切接触者调查:根据禽流感密切接触者判定标准和处理原则,经过省市级疾病预防控制中心分析甄别,最终确定患儿在广州地区密切接触者23名,包括患儿家属4人(父母及外祖父母)、接诊医护人员19人。其中由香港相关机构实施对患儿父母医学观察和预防服药,安徽省相关机构对患儿外祖父实施医学观察,其他人员由广州市辖区疾病预防控制中心实施医学观察。23名密切接触者在医学观察期间均未出现发热、咳嗽等呼吸道感染症状,于6月4日解除医学观察。

4. 市场及禽类从业人员调查:A市场内有4间售卖活禽(鸡、鸭、鹅、鸽)档口,其分区设置为售卖、

储存三间式,但各档活禽均在市场内另设的屠宰间宰杀,环境卫生情况较差;市场内售卖禽类均来自广州市 X 村综合批发市场,少部分来自本省外市 H 三鸟批发市场。市场门口有一水族店,内有寄售鹦鹉等动物。临街居民楼首层也有 5 家档口销售活禽。B 市场一楼内有 4 间售卖活禽档口,设置为售卖、屠宰、储存标准三间式;二楼设有 6 个档口,销售鸡、鸭、鹅;禽类来源同 A 市场及另有 J 三鸟批发市场。自 5 月以来市场未出现异常病死禽类现象;所有禽类从业人员否认近期曾出现发热、咳嗽等呼吸道感染症状。活禽档口所用禽笼为多层多格的铁笼,各类家禽分格混放,通风铁笼特别是笼底积存禽粪或可见明显粪迹。市场禽类档口无有效清洁消毒措施,档口员工在宰杀售卖过程中也未采取防护。

5. 样本检测:

(1)生物样本:采集 20 名密切接触者、34 名两市场禽类从业人员以及开展应急监测发现的 8 例流感样病例咽拭子或血清标本检测禽流感病毒核酸。结果咽拭子禽流感病毒(H5、H7、H9 型)核酸均为阴性,2 名 B 市场禽类从业人员 H9 型血清抗体阳性。

(2)环境样本:采集两市场禽类档口环境标本共 51 份(A 市场 6 个档口 33 份和 B 市场 10 个档口 18 份)。其中砧板 17 份、鸡笼 21 份、鸭笼 6 份、鸽笼 2 份、宠物笼 5 份(鹦鹉笼 2 份、相思鸟笼 1 份、小鸡笼 1 份、小鸭笼 1 份)。从 3 个档口中检出 5 份 H5 型核酸阳性,分别是 A 市场某档口鸽子笼、B 市场甲档口砧板和鸡笼以及乙档口的砧板和鸭笼。检出 H9 型核酸阳性 1 份,为 B 市场丙档口砧板。经溯源调查,6 份阳性禽笼、砧板等环境涂抹拭子的档口、禽类进货来自 3 家不同的禽类批发市场。

6. 同源性分析:仅从 B 市场一份砧板 H5 型阳性标本中获得 HA 基因序列 1421 bp。利用 GenBank 的 Blast 工具比对,发现其属于禽流感 H5N1 的 2.3.2.1 分支,与香港卫生防护中心通报的患儿标本基因同属 2.3.2.1 分支^[2],与 2011 年 12 月深圳市发生的禽流感病毒 HA 核苷酸相似性在 98.7%,与 A/duck/Zhejiang/213/2011 的相似

性在 98.4%(图 1)。

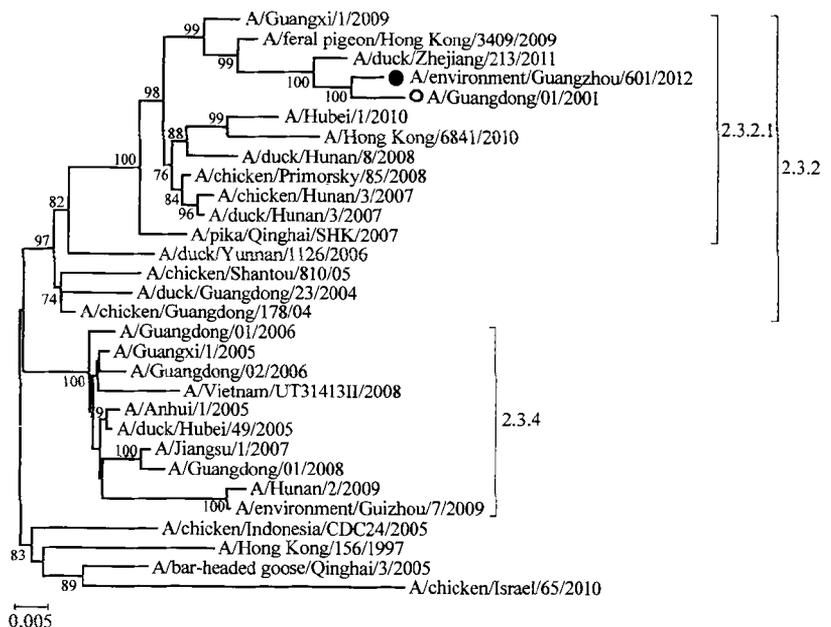
流行病学溯源调查结果显示,患儿随母亲购买活鸭的 A 市场虽未直接检出与患儿同源性一致的禽流感病毒,但 B 市场检出同源性一致的禽流感病毒档口的禽类进货来源与 A 市场一致,均来自 X 村批发市场。提示感染来源于 A 市场的可能性大。

讨 论

本次通过流行病学调查,发现暴露于市场活鸭宰杀过程的线索,并运用分子流行病学检测技术,在来自同一批发市场禽类销售档口的环境标本中检出同源性一致的病毒株,证实了该病例感染源于市场禽类售卖宰杀环节。

在我国,城市居民直接从市场购买活禽是获取该类食物的重要方式,广州市 80%的居民一年内平均 20.5 次购买禽类^[3],同时也是城市居民感染禽流感病毒的一个重要来源^[4]。以往多次人禽流感病例调查均发现感染来自活禽市场^[5-7]。本次调查虽然在病例曾暴露或住家附近的禽类市场未发现有病死禽现象,但这些市场被禽流感病毒污染较为严重,在检测的环境标本中 H5 亚型禽流感病毒阳性标本平均达到 9.8%,其中一家市场达到 22.2%,这些结果与国内外其他学者研究相似^[6,8,9]。

本次调查发现,在 B 市场禽类宰杀销售档口的环境标本中同时发现 H9 亚型(检出率为 5.6%),且



注:进化树采用软件 Mega 4.0, Neighbor-joining 法(Bootstrap=1000)构建。●为外环境中检测到的阳性样本,○为 2011 年 12 月深圳市发生的禽流感病例

图 1 外环境禽流感 H5N1 系统进化树分析

在档口从业人员中也发现H9亚型血清抗体阳性。提示禽类市场中同时存在H5、H9型混合感染。而H9亚型禽流感病毒的市场环境污染和从业人员感染状况与国内外文献报道一致^[10-12]。虽然H9亚型引起人的感染并不严重,但目前普遍检出该亚型的感染值得关注。H9型禽流感病毒在我国禽间感染率高,且传播范围广^[13],一旦形成新亚型可能导致H5型的感染率增高,从而增加人类感染的危险。

根据流行病学调查结果,本研究所有从业人员和密切接触者中均未发现人禽流感病例,该例患儿仍为禽流感个别案例。患儿曾去过A市场,并非是检出H5亚型阳性率高的B市场,提示动物禽流感感染人类并不是在动物禽流感感染率越高的地区越易发生,而是更多取决于人类的敏感性、动物禽流感病毒感染人的侵袭力和传入人类的偶然性。

[本研究为广州市医药卫生重大科技项目(2009-ZDa-02)、广州市医药卫生科技项目(201102A213219)资助;感谢广东省疾病预防控制中心柯昌文、张欣、邹丽容老师提供实验室检测,何剑峰、宋铁、钟豪杰老师给予的帮助]

参 考 文 献

[1] WHO. Avian influenza-situation in China, Hong Kong Special Administrative Region (Hong Kong, SAR) -update [EB/OL]. [2012-06-10]. http://www.who.int/csr/don/2012_06_05/en/index.html.
 [2] 香港卫生署卫生防护中心. 2012年6月4日H5N1个案最新情况 [EB/OL]. [2012-06-10]. <http://www.chp.gov.hk/tc/content/116/25450.html>.
 [3] Liao Q, Lam WT, Leung GM, et al. Live poultry exposure, Guangzhou, China, 2006. *Epidemics*, 2009, 1(4):207-212.
 [4] 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.
 [5] Yang P, Shi J, Ma JX, et al. Investigation on the source of the first

human of avian influenza A (H5N1) case in Beijing. *Chin J Epidemiol*, 2009, 30(11):1114-1116. (in Chinese)
 杨鹏, 师鉴, 马建新, 等. 北京市首例人禽流感H5N1病例的感染来源调查. *中华流行病学杂志*, 2009, 30(11):1114-1116.
 [6] Wang H, Feng Z, Shu Y, et al. Probable limited person-to-person transmission of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus in China. *Lancet*, 2008, 371(9622):1427-1434.
 [7] Samaan G, Gultom A, Indriani R, et al. Critical control points for avian influenza A H5N1 in live bird markets in low resource settings. *Prev Vet Med*, 2011, 100(1):71-78.
 [8] Indriani R, Samaan G, Gultom A, et al. Environmental sampling for avian influenza virus A (H5N1) in live-bird markets, Indonesia. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16(12):1889-1895.
 [9] Jiang LJ, Huang GB, Pan L, et al. Avian influenza virus pollution in external environment and the infection situation of occupational exposure population in Wuzhou. *J Prev Med Infor*, 2011, 27(8): 645-646. (in Chinese)
 姜里迎, 黄贵彪, 潘丽, 等. 梧州市外环境禽流感病毒污染及职业暴露人群感染状况调查. *预防医学情报杂志*, 2011, 27(8): 645-646.
 [10] Kong LQ, Gao Y, Jiang JC, et al. Serological surveillance on antibody to influenza A subtype H1, H3, H5, H9 viruses in people of Shanghai. *Shanghai J Preve Med*, 2003, 15(1):10-12. (in Chinese)
 孔利群, 高焯, 蒋杰辰, 等. 上海市人群甲型流感病毒H1、H3、H5、H9抗体血清学监测. *上海预防医学*, 2003, 15(1):10-12.
 [11] Sun H, Ma HB, Yang WL, et al. Serological surveillance on antibody to avian influenza subtype H5, H9 virus in poultry breeding workers. *Chin J Public Health*, 2004, 20(8):989-990. (in Chinese)
 孙虹, 马洪波, 杨卫路, 等. 禽类养殖场人员禽流感病毒抗体水平调查. *中国公共卫生*, 2004, 20(8):989-990.
 [12] Pawar SD, Tandale BV, Raut CG, et al. Avian influenza H9N2 seroprevalence among poultry workers in Pune, India, 2010. *PLoS One*, 2012, 7(5):e36374.
 [13] Bi YZ. Epidemic situation and prevalence and control measures of H9N2 avian influenza. *China Poultry*, 2009, 31(11):33-34. (in Chinese)
 毕英佐. H9N2亚型禽流感的流行现状和防控措施. *中国家禽*, 2009, 31(11):33-34.

(收稿日期:2012-07-14)

(本文编辑:张林东)

· 征 订 启 事 ·

本刊2013年征订启事

《中华流行病学杂志》是由中华医学会主办的流行病学及其相关学科的高级专业学术期刊、国内预防医学和基础医学核心期刊、国家科技部中国科技论文统计源期刊,2004—2010年被中国科学技术信息研究所定为“百种中国杰出学术期刊”,并被美国国立图书馆医学文献联机数据库(Medline)和美国化学文摘社(CAS)收录。读者对象为医学(预防医学、临床医学、基础医学及流行病学科研究与教学)和健康相关学科的科研、疾病控制、临床、管理和教学工作者。刊稿范畴:重点或新发传染病现场调查与控制;慢性病的病因学及流行病学调查(含社区人群调查)、干预与评价;伤害的流行病学与防控;环境污染与健康;食品安全与食源性疾病;临床流行病学和循证医学;流动人口与疾病;行为心理障碍与疾病;分子和遗传流行病学与疾病控制;我国西部地区重点疾病的调查与控制;理论流行病学;流行病学教学与实践等。本刊设有述评,论著(原著)包括现场调查、监测、实验室研究、临床研究、基础理论与方法、疾病控制、国家课题总结、国外杂志华人研究导读(科海拾贝)、文献综述、问题与探讨等重点栏目。

全年出版12期,每期定价9元(含邮费),全年108元,由全国各地邮局统一订阅,邮发代号:2-73。本刊编辑部常年办理邮购。地址:北京昌平区昌百路155号传染病所B115《中华流行病学杂志》编辑部,邮编:102206,电话(传真):010-58900730, Email:zhxb1981@sina.com 欢迎广大读者踊跃投稿(<http://www.cma.org.cn>),积极订阅。

本刊编辑部