

贵州省部分地区 H7 亚型禽流感监测与分析

秦雯¹, 郑敏², 华敏², 万润², 文明^{2*}

(1. 贵阳护理职业学院卫生管理系, 贵阳 550081; 2. 贵州大学动物疫病研究所, 贵阳 550025)

[收稿日期] 2016-11-09 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2017)02-0013-03 [中图分类号] S858.3

[摘要] 为了解贵州省 H7 亚型禽流感感染情况, 采用 HI 试验对全省 9 个地区家禽血清样本进行血清抗体检测, PT-PCR 方法对家禽咽-肛拭子、养殖场环境样本和野鸟粪便进行病原核酸检测。结果显示: 在 1570 份家禽血清样本中, H7 亚型禽流感血清抗体阳性率为 0.45% (7/1570); 在 350 份家禽咽-肛拭子和 310 份养殖场环境样本中, 均未检测出 H7 亚型禽流感病毒核酸; 在 160 份野鸟粪便中, 有 1 份为 H7 亚型禽流感病毒核酸阳性, 阳性率为 0.63% (1/160)。试验提示, 在贵州省养禽场中不存在 H7 亚型禽流感感染, 但迁徙野禽中可能存在 H7 亚型禽流感隐性感染, 应当引起重视。

[关键词] H7 亚型禽流感; 监测; 贵州省

Detection and Analysis of H7 Subtype Avian Influenza in 2015 in Guizhou Province

QIN Wen¹, ZHENG Min², HUA Min², WAN Run², WEN Ming²

(1. Department of Health Management, Guiyang Nursing Vocational College, Guiyang 550081, China;

2. Institute of Animal Diseases Research, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: To master the infection situation of H7 subtype avian influenza (AI-H7) in Guizhou province, the serum samples of poultry were collected to detect the AI-H7 antibodies by HI test, and the samples of swallow-anal swabs and environment and wild bird faeces were gathered to determine the pathogenic nucleic acid of AI-H7 by RT-PCR method. The results showed that the positive rate of AI-H7 antibodies was 0.45% in 1570 of poultry serum samples. And the pathogenic nucleic acid of AI-H7 were not detected in 350 of swallow-anal swabs and 310 of farm environment samples, but 1 sample in 160 of wild bird faeces which the positive rate was 0.63%. These results suggested that there were no infection of AI-H7 in poultry farm, but maybe latent infection in wild birds and should be paid attention.

Key words: H7 subtype avian influenza; detection; Guizhou province

基金项目: 贵州省百层次创新型人才项目(黔科合人才[2016]4009号); 贵州省科技创新人才团队建设项目(黔科合人才团队[2015]4016号)

作者简介: 秦雯, 硕士, 讲师, 从事卫生检疫检验教学与科研工作。

通讯作者: 文明。E-mail: as.mwen@gzu.edu.cn

禽流感(avian influenza, AI)是由A型流感病毒引起的一种严重危害禽类健康的传染性疾病。本病于1878年在意大利首次发现,现几乎已遍布世界各地^[1]。禽流感分非致病性、低致病性和高致病性三类,前两类属于温和型禽流感,一般不引起家禽发病或发病症状较轻,而高致病性禽流感主要是由H5和H7亚型禽流感病毒引起,一旦暴发,常导致鸡群全军覆灭而造成严重的经济损失,尤其在火鸡和鸡中。

H7亚型禽流感属于高致病性禽流感,近年来呈现扩大蔓延趋势,疫情遍及全球各地,导致家禽死亡已达7000万以上,现已引起全球养殖业和人类的广泛关注^[2]。2013年我国首次发现人感染新型H7N9亚型禽流感^[3]。由于H7亚型禽流感病毒感染后,家禽常呈现无症状态势^[4-6],因此人们对H7亚型禽流感不够重视,这增加了H7亚型禽流感隐性感染的可能性和机会。贵州省是经济欠发达地区,也是我国受到禽流感侵袭次数和发病数最多的地区之一^[7]。为此,笔者于2015年采集贵州省9个地区(州、市)45个县(区、市)的养禽场、活禽交易市场、活禽屠宰点和自然保护区的样本,采用HI试验和RT-PCR方法进行了检测分析^[8-9],以期对贵州省H7亚型禽流感的防控提供基础数据。

1 材料及方法

1.1 样本来源 采集自贵州省9个地(州、市)45个县(区、市)定点监测点,包括规模养殖场、散养户、活禽交易市场、活禽屠宰点和自然保护区,其中家禽血清样本1570份、家禽咽-肛拭子350份、环境土壤样本310份和野鸟粪便160份。

1.2 检测试剂 H7亚型禽流感血凝诊断抗原及阳性血清、H7亚型禽流感病毒RT-PCR检测试剂盒等,购自中国农业科学院哈尔滨兽医研究所;RNA提取试剂盒,购自宝生物工程(大连)有限公司;1%鸡红细胞悬液,本实验室自制。

1.3 H7亚型禽流感血清抗体检测 参照《高致病性禽流感诊断技术》(GB/T18936-2003),采用血凝抑制试验(HI)进行检测,然后对检测结果进行详细记录。

1.4 H7亚型禽流感病毒核酸检测 取家禽咽-

肛拭子、养禽场环境样本和野鸟粪便样本,按常规方法处理后,用RNA提取试剂盒提取总RNA样本,超微量核酸蛋白仪进行RNA的质量检测,然后按照H7亚型禽流感病毒RT-PCR检测试剂盒说明书步骤进行检测,观察和记录结果。

2 结果

2.1 家禽血清样本中H7亚型禽流感抗体检测结果 采用HI试验对采集的1570份家禽血清样本进行H7亚型禽流感抗体检测,结果如表1所示:在贵州省9个地(州、市)监测点中,有6个地(州、市)均可检出H7亚型禽流感抗体阳性,总体阳性率为0.45%(7/1570)。

表1 贵州省H7亚型禽流感抗体检测结果

样本来源	检测样本数	抗体阳性数	抗体阳性率/%
GYS	220	2	0.91
ZYS	195	1	0.51
ASS	203	1	0.49
LPSS	205	1	0.49
TRS	142	1	0.70
BJS	160	0	0.00
QDNZ	154	1	0.65
QNZ	133	0	0.00
QXNZ	158	0	0.00
合计	1570	7	0.45

2.2 家禽咽-肛拭子中H7亚型禽流感病毒核酸检测结果 提取家禽咽-肛拭子中总RNA样本,所有样本经检测其OD_{260/280}均在1.8~2.0范围内,说明RNA纯度较高。采用荧光定量RT-PCR进行禽流感病毒核酸检测,结果在350份家禽咽-肛拭子中均未检出H7亚型禽流感病毒核酸。

2.3 环境样本中H7亚型禽流感病毒核酸检测结果 提取环境样本中总RNA样本,所有样本经检测其OD_{260/280}均在1.8~2.0范围内,说明提取的RNA纯度较高。采用荧光定量RT-PCR进行禽流感病毒核酸检测,结果在310份养禽场环境样本中均未检出H7亚型禽流感病毒核酸。

2.4 野鸟粪便中H7亚型禽流感病毒核酸检测结果 提取野鸟粪便样本中总RNA样本,经检测所有提取样本的OD_{260/280}均在1.8~2.0范围内,说明RNA纯度较高。采用荧光定量RT-PCR进行禽流感病毒核酸检测,结果如表2所示:在160份野鸟粪便样本中有1份检出H7亚型禽流感病毒核酸,检出率为0.63%(1/160)。

表2 野鸟粪便样本 H7 亚型禽流感抗体检测结果

样本来源	检测样本数	核酸检出数	核酸检出率
GYS	20	0	0
ZYS	10	0	0
ASS	10	0	0
LPSS	10	0	0
TRS	10	0	0
BJS	60	1	1.67%
QDNZ	20	0	0
QNZ	10	0	0
QXNZ	10	0	0
合计	160	1	0.63%

3 讨论

H7 亚型禽流感大多表现为高致病性,但近年来发现在禽类机体内存在一些低致病性的 H7 亚型禽流感病毒毒株^[10]。这些低致病性毒株能在家禽肠道上皮细胞进行有效的复制,并随其粪便排泄污染周边环境,导致其他禽类接触受污染的环境时可能会感染,使得这些低致病性毒株在禽类中处于隐性传播态势。但人类感染这类低致病性毒株后,则可表现出严重的临床症状,有的甚至死亡,给人类健康造成严重的威胁^[11-12]。因此,加强禽类 H7 亚型禽流感的监测是十分有必要的。

血清抗体与病原核酸检测是开展禽类 H7 亚型禽流感监测的重要手段。本次血清抗体检测发现,在贵州省 9 个地(州、市)1570 份家禽血液样本中有 7 份检出 H7 型禽流感抗体阳性,抗体阳性率为 0.45% (7/1570),且在 6 个地(州、市)家禽血液样本中都能检出,鉴于此,本研究组对这 7 份阳性样本进行了病原核酸检测,结果均为阴性。出现抗体阳性的原因可能是:(1)个别家禽存在既往隐性感染的情况;(2)在贵州省养禽场均强制免疫注射 H5 型禽流感疫苗,这些 H5 亚型禽流感疫苗中可能存在极少部分与 H7 型禽流感病毒共同的抗原;(3)在个别鸡血清样本中存在某些非特异性凝集因子。但在养禽场家禽咽-肛拭子和环境样本中均未检出 H7 亚型禽流感病毒核酸,这说明贵州省家禽养殖场中不存在 H7 亚型禽流感病毒感染。

禽流感的发生与流行跟野禽的迁徙活动存在密切的关系^[13-15]。研究表明,野禽迁徙途经沿线地区的家禽禽流感感染率要显著高于其他地区,如位于密西西比野禽迁徙路线的美国明尼苏达州,其家禽禽流感病毒感染率明显高于没有野禽迁徙经过的其他州^[16-17]。本次采集贵州省各个地区野鸟粪便进行禽流感病毒核酸检测发现,处于野禽迁徙路线的毕节地区(即威宁草海)的野鸟粪便样本检出 1 份 H7 亚型禽流感病毒核酸阳性(检出率为

1.67%),说明这些迁徙野鸟可能存在 H7 亚型禽流感病毒隐性感染。但随后调查组先后 2 次到该地区采集野鸟粪便样本计 200 份进行检测,均未检出 H7 亚型禽流感病毒核酸,说明这些迁徙的野鸟并未普遍携带或隐性感染 H7 亚型禽流感病毒。但由于贵州省特别是威宁草海是野鸟迁徙的聚居地^[18],发生 H7 亚型禽流感疫情的可能性较大,因此应加强该地区禽流感疫情的监测,以防止禽流感的发生与流行。

参考文献:

- [1] Alexander D J. A review of avian influenza in different bird species[J]. *Vet Microbiol*, 2000, 22, 74(1/2): 3-13.
- [2] 朱闻斐,高荣保,王大燕,等. H7 亚型禽流感病毒概述[J]. *病毒学报*, 2013, 29(3): 245-249.
- [3] Gao R, Cao B, Hu Y, *et al.* Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus[J]. *N Engl J Med*, 2013, 16: 1888-1897.
- [4] Shi J, Deng G, Liu P, *et al.* Isolation and characterization of H7N9 viruses from live poultry markets - Implication of the source of current H7N9 infection in humans [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2013, (58): 1857-1863.
- [5] Zhang Q, Shi J, Deng G, *et al.* H7N9 influenza viruses are transmissible in ferrets by respiratory droplet [J]. *Science*, 2013, 341: 410-414.
- [6] Bao C J, Cui L B, Zhou M H, *et al.* Live-animal markets and influenza (H7N9) virus infection [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368: 2337-2339.
- [7] 黄泽颖,王济民. 2004-2014 年我国禽流感发生状况与特征分析[J]. *广东农业科学*, 2015, (4): 93-98.
- [8] 陈旭,齐凤坤,康立功,等. 实时荧光定量 PCR 技术研究进展及其应用[J]. *东北农业大学学报*, 2010, 41(8): 148-155.
- [9] 王永卫. 荧光 RT-PCR 在检测出口禽或肉中禽流感病毒的应用[D]. 中国农业大学, 2004.
- [10] Vogel G. Sequence offers clues to deadly Flu. [J]. *Science*, 1998, 279(5349): 324.
- [11] Murhekar. Influenza research database. 2013 H7N9 influenza outbreak [EB/OL]. (2013-04-08). <http://www.fludb.org/bre/home.decorator=influenza>.
- [12] 范亚新,张菁. 世界卫生组织: 新型禽流感 H7N9 为“最致命”流感病毒之一[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2014, 14(2): 148.
- [13] Kilpatrick A M, Chmura A A, Gibbons D W, *et al.* Predicting the global spread of H5N1 avian influenza [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 19368-19373.
- [14] Kuiken T, Leighton F A, Fouchier A M, *et al.* Public health: pathogen surveillance in animals [J]. *Science*, 2005, 309: 1680-1681.
- [15] Parnley E J, Bastien N, Booth T F, *et al.* Wild bird influenza survey [J]. *Emerg Infect Dis*, 2005, 2008, 14: 84-87.
- [16] Hinshaw V S, Webster R G, Turner B. The perpetuation of orthomyxoviruses and paramyxoviruses in Canadian waterfowl [J]. *Can J Microbiol*, 1980, 26(5): 622-629.
- [17] Alexander D J. An overview of the epidemiology of avian influenza [J]. *Vaccine*, 2007, 25(30): 5637-5644.
- [18] 张孚允,杨若莉. 中国鸟类迁徙研究[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997: 1-364.

(编辑:李文平)