

## 2013年3月江苏省禽流感职业暴露人群H5N1抗体水平及影响因素分析

秦圆方, 许可, 祁贤\*, 邓斐, 余慧燕, 田华, 付建光, 李志锋, 王慎骄, 单军, 汤奋扬

(江苏省疾病预防控制中心, 卫生部肠道病原微生物重点实验室, 江苏 南京 210009)

**[摘要]** 目的: 调查H7N9流行初始江苏省职业暴露人群H5N1禽流感抗体水平及其影响因素。方法: 分别使用香港株、广东株与安徽株抗原, 用血清凝集抑制法(hemagglutination inhibition, HI)测定血清样本抗体滴度, 计算几何平均滴度(geometric mean titer, GMT), 统计分析影响抗体水平的因素。结果: 检测职业暴露人群血清标本416份, 性别与抗原株对职业暴露人群抗体滴度有显著影响。结论: 江苏省职业暴露人群H5N1禽流感抗体滴度普遍较低。男性抗体滴度低于女性, 广东株抗原与禽流感病毒现有流行株较为接近。

**[关键词]** 禽流感病毒; 职业暴露人群; 血清凝集抑制试验; 流行特征

**[中图分类号]** R181.8

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)06-839-05

doi:10.7655/NYDXBNS20140632

### Antibody level of H5N1 avian influenza in occupationally exposed population in Jiangsu province in March, 2013

Qin Yuanfang, Xu Ke, Qi Xian\*, Deng Fei, Yu Huiyan, Tian Hua, Fu Jianguang, Li Zhifeng, Wang Shenjiao, Shan Jun, Tang Fenyang

(Key Lab of Enteric Pathogenic Microbiology, Ministry of Health, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210009, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the H5N1 avian influenza antibody level in occupational exposure population in Jiangsu province during the beginning of the influenza A (H7N9) outbreak. **Methods:** The antibody levels of Hong Kong, Guangdong and Anhui strain were detected using serum hemagglutination inhibition (HI) tests. The results were converted into geometric mean titer (GMT) and analyzed. Statistical analysis of the influencing factors of antibody levels was performed. **Results:** The difference was significant between antibody levels of different gender and antigen strains of all 416 serum samples tested. **Conclusion:** Our study showed that the antibody level of H5N1 avian influenza is low, and the levels of male are not as high as those of female. HI antibody level of Guangdong strain is closer to currently epidemic strains of avian flu in Jiangsu Province.

**[Key words]** avian influenza virus (AIV); occupationally exposed population; hemagglutination inhibition test; epidemiological characteristics

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(06): 839-843]

2013年3月31日, 安徽省确诊第1例人感染H7N9禽流感病例<sup>[1]</sup>以来, 禽流感病毒再次成为全球关注热点。现认为禽流感病毒在野生鸟类<sup>[2]</sup>、以及野生鸟类与家禽间相互传播的过程中发生变异<sup>[2-4]</sup>, 最终经接触家禽而感染人<sup>[5-6]</sup>。且H5N1与H7N9亚型

禽流感病毒仅具有有限且不稳定的人际间传播能力<sup>[7-8]</sup>, 直接或间接接触禽类很可能是大部分禽流感患者的感染途径<sup>[5]</sup>。及时大规模灭杀家禽, 可以避免可能的禽流感大流行<sup>[9]</sup>。因此, 本研究监测因职业关系与禽类密切接触的职业暴露人群血清抗体水平, 以期能对疫情进行预测和预警。

**[基金项目]** 江苏省医学重点人才培养项目(RC2011084); 江苏省科技厅项目(BK20131450)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: qixiansyc@hotmail.com

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

选择江苏省内发生过动物和(或)人禽流感疫情

的4个地市(扬州、常州、淮安与宿迁),在疫情发生地或其周边设立监测点。选择的研究对象为:家禽散养户及其家庭成员,家禽散养户聚集地住户家庭成员;活禽屠宰、批发市场,城乡农贸市场或菜市场中直接与禽类接触的人员;野生候鸟栖息地中与候鸟或其排泄物有接触的人员。于2013年3月15~31日采集监测对象空腹静脉血5 ml,分离血清,避免反复冻融,-20℃保存待检。采血同时进行问卷调查并签署知情同意书。

### 1.2 方法

本研究均使用血凝抑制试验法(hemagglutination inhibition, HI)检测H5N1亚型流感病毒抗体<sup>[9]</sup>,分别用H5N1亚型流感病毒香港株(A/chicken/Hongkong/AP156/2008, LOT#CNIC2012112201)、广东株(A/Guangdong-shenzhen/1/2011, LOT#CNIC2012111203)与安徽株(A/Anhui/1/2005, LOT#CNIC2012110801)3种抗原,所用抗原均由中国疾病预防控制中心病毒所提供。HI实验检测血清标本,具体实验步骤如下:将待测血清按1:4比例加入霍乱弧菌滤液(RDE, 中国疾病预防控制中心下发),37℃过夜(14~16 h);用马压积红细胞吸附,去除非特异性抑制素和凝集素后,配制1%马红细胞悬液,参考文献<sup>[9]</sup>检测H5N1亚型流感病毒抗体。

针对不同抗原株分别设立抗血清作为阳性对照:雪貂抗血清(香港株阳参:FS A/chicken/

Hongkong/AP156/2008 H5N1; 广东株阳参:FS A/Guangdong-shenzhen/1/2011 H5N1),鸡抗血清(安徽株阳参:CS A/Anhui/1/05 H5N1)、自凝对照(1%马红细胞加同体积RDE处理后的标本血清)、阴性对照(健康羊血清),同时每板设定红细胞对照(1%马红细胞加同体积生理盐水)。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。

### 1.3 统计学方法

数据资料录入整理使用Excel 2007数据库软件,使用SPSS21.0软件进行统计分析。若血清抗体滴度低于1:10按1:5进行计算,计算几何平均滴度(geometric mean titer, GMT)和GMT的95%可信区间。由于甲流HI抗体滴度研究提示年龄对于抗体滴度有显著影响<sup>[10]</sup>,因此,使用协方差分析对年龄变量进行控制,进而考察性别、抗原、城市、地点对抗体滴度的影响。

## 2 结果

### 2.1 H5N1抗体检测结果

职业暴露人群血清标本采样416份,分别采用香港株、广东株与安徽株抗原HI检测, GMT=5.544(5.434~5.657),调查对象的GMT值及95%可信区间见表1。

香港株、广东株与安徽株阳性对照结果分别为

表1 江苏省职业暴露人群分类禽流感H5N1抗体水平与GMT值

Table 1 Avian H5N1 antibody levels and GMT values of occupational exposure population in Jiangsu province

分类	调查对象		GMT (95%可信区间)
	标本检测数量	构成比(%)	
性别			
男	648	51.923	5.408 (5.256~5.560)
女	600	48.077	5.696 (5.533~5.869)
抗原			
广东株	416	33.333	5.408 (5.220~5.602)
安徽株	416	33.333	5.724 (5.525~5.930)
香港株	416	33.333	5.506 (5.315~5.704)
城市			
扬州市	312	25.000	5.381 (5.166~5.602)
常州市	315	25.240	5.521 (5.300~5.748)
淮安市	300	24.000	5.408 (5.187~5.637)
宿迁市	321	25.760	5.864 (5.637~6.105)
地点			
家禽规模养殖场(户)	522	41.827	5.533 (5.359~5.708)
城乡活禽市场	180	14.423	5.525 (5.238~5.832)
家禽散养户集中的地区	297	23.798	5.764 (5.529~6.008)
野生候鸟栖息地	60	4.077	5.812 (5.296~6.373)
家禽屠宰加工厂	189	15.875	5.187 (4.921~5.464)

1:1 280、1:1 280 与 1:640,自凝对照、血清阴性对照结果与红细胞对照结果相同,均无红细胞凝集。2%血清标本复核检测结果一致率 100%。

### 2.2 禽流感职业暴露人群血清标本 HI 检测结果协方差比较

#### 2.2.1 斜率同质性检验

本研究中以抗体滴度对数为因变量,进行斜率的同质性检验(表 2)。由表 2 可知年龄与各个自变量的交互作用均不显著( $P$ 均 $> 0.05$ ),这表明满足了斜率同质性的要求,可以进行协方差分析。

表 2 江苏省职业暴露人群禽流感 H5N1 抗体水平斜率同质性检验表

Table 2 Slope homogeneity test table of avain H5N1 antibody levels of occupational exposure population in Jiangsu province

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
抗原	1.282	2	0.641	2.387	0.092
地点	0.255	4	0.064	0.238	0.917
性别	0.125	1	0.125	0.467	0.494
城市	0.939	3	0.313	1.166	0.322
抗原×年龄	0.338	2	0.169	0.629	0.533
地点×年龄	0.296	4	0.074	0.275	0.894
性别×年龄	0.012	1	0.012	0.045	0.833
城市×年龄	1.533	3	0.511	1.904	0.127
抗原×地点×年龄	2.823	8	0.353	1.314	0.232
抗原×性别×年龄	0.748	2	0.374	1.393	0.249
抗原×城市×年龄	2.373	6	0.396	1.473	0.184
地点×性别×年龄	0.736	4	0.184	0.686	0.602
地点×城市×年龄	0.714	2	0.357	1.330	0.265
性别×城市×年龄	0.275	3	0.092	0.341	0.796
抗原×地点×性别×年龄	1.199	8	0.150	0.558	0.813
抗原×地点×城市×年龄	0.619	4	0.155	0.576	0.680
地点×性别×城市×年龄	0.336	2	0.168	0.625	0.535
抗原×地点×性别×城市×年龄	1.879	10	0.188	0.700	0.726
Error	316.040	1 177	0.269	-	-
Total	7 958.275	1 248	-	-	-

#### 2.2.2 协方差分析

将抗原、城市、性别、地点作为自变量,年龄作为协变量,血清抗体滴度对数值作为因变量进行协方差分析(表 3)。在本研究中,抗原、性别对血清抗体滴度有显著性影响( $P < 0.05$ ),其他自变量以及自变量之间的交互作用对抗体滴度的影响均不显著( $P > 0.05$ )。

#### 2.2.3 事后分析

由于抗原分类比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),所以本研究进行事后两两比较(Bonferroni 校正)来检验各个自变量下各个水平之间是否有差异,仅广东株与安徽株抗体滴度差异有统计学意义( $P = 0.026$ ),余两组比较无明显差异( $P_{\text{香港-安徽}} = 0.132$ ;  $P_{\text{香港-广东}} = 0.471$ )。

### 3 讨论

禽流感在冬春季高发<sup>[10]</sup>,本研究在 3 月中下旬

采集禽流感职业暴露人群血清标本进行抗体滴度检测。实验室设置多种参照:阳性对照、阴性对照、自凝对照与红细胞对照并且抽检复核,确保实验结果确实可靠。

早有研究提示与男性相比,女性的免疫反应更为稳固与持久<sup>[11-12]</sup>,本研究结果与此论述相符,即职业暴露人群中,性别对抗体滴度影响是显著的,女性高于男性。且不同抗原对抗体滴度影响也是显著的,所检测的 3 种抗原株,广东株抗体滴度 GMT 最高,与往年结果类似<sup>[13]</sup>,进一步提示广东株(A/Guangdong-shenzhen/1/2011)更接近江苏省职业暴露人群禽流感病毒流行株。

此外,与 2012 年广东株与安徽株 H5N1 抗原血清 HI 检测结果<sup>[13]</sup>  $t$  检验比较, $P$ 均 $< 0.001$  ( $t_{\text{广东}} = 14.604$ ,  $t_{\text{安徽}} = 14.764$ ),即 2013 年职业暴露人群 H5N1 抗体滴度与 2012 年相比明显下降。然而,此血清抗体水平是否有进一步下降的趋势,仍有待更

表3 江苏省职业暴露人群禽流感 H5N1 抗体水平协方差分析表

Table 3 Covariance analysis of avian H5N1 antibody levels of occupational exposure population in Jiangsu province

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
年龄	0.620	1	0.620	2.277	0.132
抗原	1.867	2	0.933	3.425	0.033
地点	0.821	4	0.205	0.753	0.556
性别	1.680	1	1.680	6.166	0.013
城市	2.141	3	0.714	2.620	0.050
抗原×地点	2.698	8	0.337	1.238	0.273
抗原×性别	0.644	2	0.322	1.181	0.307
抗原×城市	2.792	6	0.465	1.708	0.116
地点×性别	0.512	4	0.128	0.470	0.758
地点×城市	0.699	2	0.349	1.282	0.278
性别×城市	0.136	3	0.045	0.167	0.919
抗原×地点×性别	0.678	8	0.085	0.311	0.962
抗原×地点×城市	1.002	4	0.251	0.919	0.452
抗原×性别×城市	1.443	6	0.240	0.882	0.507
地点×性别×城市	0.354	2	0.177	0.650	0.522
抗原×地点×性别×城市	0.382	4	0.095	0.350	0.844
Error	323.425	1 187	0.272	-	-
Tota	7 958.275	1 248	-	-	-

多数据证实。

有研究使用基于微矩阵的蛋白检测方法<sup>[14]</sup>,检测到人群 H7 与 N9 抗体血清滴度高于 H5 滴度<sup>[15]</sup>。然而,本实验室 H7N9 抗原的 HI 检测结果(结果另文发表)与本研究中 3 种 H5N1 抗原结果配对 *t* 检验比较,差异均有统计学意义( $t_{\text{香港}} = 5.132, t_{\text{广东}} = 5.171, t_{\text{安徽}} = 6.513, P$  均  $< 0.001$ ),即职业暴露人群 H7N9 抗体滴度水平明显低于 H5N1 抗体滴度,提示职业暴露人群对 H5N1 亚型流感病毒的防护能力高于 H7N9 亚型流感病毒。

综上,H7N9 禽流感病例开始在江苏省出现,江苏省职业暴露人群禽流感抗体水平普遍较低,与 2012 年相比有明显下降。H5N1 禽流感病毒广东株更接近病毒流行株,且在此人群中,H5N1 抗体水平与保护力高于 H7N9。本研究丰富了禽流感职业暴露人群抗体水平监测的研究,为江苏省禽流感防控工作提供了参考依据。

#### [参考文献]

- [1] Qiao JG, Zhang L, Tong YH, et al. Management of the first confirmed case of avian influenza A H7N9 [J]. *Respir Care*, 2013, 12(10):4187-4188
- [2] Thinh TV, Gilbert M, Bunpamong N, et al. Avian influenza viruses in wild land birds in northern Vietnam [J]. *J Wildl Dis*, 2012, 48(1):195-200
- [3] Siengsanon-Lamont J, Robertson I, Blacksell SD, et al. Vi-

rological and molecular epidemiological investigations into the role of wild birds in the epidemiology of influenza A/H5N1 in central Thailand [J]. *Vet Microbiol*, 2011, 148(2-4):213-218

- [4] He CQ, Xie ZX, Han GZ, et al. Homologous recombination as an evolutionary force in the avian influenza A virus [J]. *Mol Biol Evol*, 2009, 31(2):177-187
- [5] Malik Peiris JS. Avian influenza viruses in humans [J]. *Rev Sci Tech*, 2009, 28(1):161-173
- [6] Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. Pandemic influenza viruses--hoping for the road not taken [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(25):2345-2348
- [7] Wang H, Feng Z, Shu Y, et al. Probable limited person-to-person transmission of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus in China [J]. *Lancet*, 2008, 371(9622):1427-1434
- [8] Qi X, Qian YH, Bao CJ, et al. Probable person to person transmission of novel avian influenza A (H7N9) virus in Eastern China, 2013; epidemiological investigation [J]. *BMJ*, 2013(5):347-452
- [9] Shortridge KF. Poultry and the influenza H5N1 outbreak in Hong Kong, 1997: abridged chronology and virus isolation [J]. *Vaccine*, 1999, 17(1):26-29
- [10] Peiris JS, de Jong MD, Guan Y. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20(2):243-267
- [11] Klein SL. The effects of hormones on sex differences in

- infection;from genes to behavior[J]. *Neurosci Biobehav Rev*,2000,24(6):627-638
- [12] Klein SL,Poland GA. Personalized vaccinology:one size and dose might not fit both sexes [J]. *Vaccine*,2013,31(23):2599-2600
- [13] 秦圆方,许可,祁贤,等. 2011~2012年江苏省职业暴露人群禽流感病毒抗体水平及影响因素分析[J]. *江苏预防医学*,2013,24(4):6-8
- [14] Koopmans M,de Bruin E,Godeke GJ,et al. Profiling of humoral immune responses to influenza viruses by using protein microarray [J]. *Clin Microbiol Infect*,2012,18(8):797-807
- [15] Boni MF,Chau NV,Dong N,et al. Population-level antibody estimates to novel influenza A/H7N9 [J]. *J Infect Dis*,2013,208(4):554-558
- [收稿日期] 2014-02-18

## 参考文献著录原则和方法

- 1.为了反映论文的科学依据和作者尊重他人研究成果的严肃态度,以及读者提供有关信息的出处,应在论文的结论(无致谢段时)或致谢之后列出参考文献。
- 2.参考文献列出的一般应限于作者直接阅读过的、最主要的、发表在正式出版物上的文献。私人通信和未公开发表的资料,一般不宜列入参考文献,可紧跟在引用的内容之后注释或标注在当页的地脚。
- 3.参考文献著录应执行 GB7714-2005 的规定,建议采用顺序编码制。
- 4.顺序编码制的要求如下:
  - (1)在引文处按论文中引用文献出现的先后,用阿拉伯数字连续编序,将序号置于方括号内,并视具体情况把序号作为上角标,或作为语句的组成部分。如“张xx<sup>[1]</sup>研究发现……”,“李xx等<sup>[2]</sup>认为……”,“模型构建参考文献[3]”。
  - (2)参考文献的每条文献著录项目应齐全,著录格式为:  
主要责任者. 题名:其他题名信息[文献类型标志]. 其他责任者. 版本项. 出版地:出版者,出版年,引文页码[引用日期]. 获取和访问路径
  - (3)论文中若同一篇参考文献出现引用多次的情况,则不需重复著录,按参考文献首次出现的顺序标注上角即可。

(本刊编辑:接雅俐)