

# 新兵急性呼吸道疾病病原体检测结果分析

方健<sup>1</sup>, 宋海燕<sup>1</sup>, 刘波<sup>1</sup>, 张骏飞<sup>1</sup>, 吴伟立<sup>2</sup>, 陈从新<sup>1</sup>

**【摘要】** 目的 调查入伍新兵急性呼吸道疾病的常见病原体, 为预防控制呼吸道传染病提供科学依据。方法 留取 40 例老兵、204 例新兵和 40 例急性呼吸道疾病新兵咽拭子, 提取 DNA 和 RNA, 检测 15 种病原体的核酸, 并留取急性呼吸道疾病新兵双份血清检测抗病原体抗体。结果 老兵组咽拭子流感病毒、肺炎支原体和肺炎链球菌核酸的检出率分别为 32.5%、25.0% 和 15.0%, 高于新兵组的 2.5%、2.5% 和 2.9% ( $P < 0.05$ ); 在 40 例散发的患有急性呼吸道疾病的新兵中, 甲型和乙型流感病毒核酸阳性率分别为 5.0% 和 55.0%, 肺炎支原体、肺炎链球菌和嗜肺军团菌的阳性率分别为 20.0%、7.5% 和 15.0%, 与老兵组(分别为 25.0%、15.0% 和 17.5%) 或新兵入营时(分别为 2.5%、2.9% 和 7.4%) 相比, 差异均无统计学意义(均有  $P > 0.05$ ); 对患有急性呼吸道疾病的新兵急性期和恢复期双份血清检测发现, 乙型流感病毒感染发生率为 65.0% (26/40), 甲型流感病毒感染率为 5.0% (2/40), 无甲型流感病毒 H5N1 等感染病例发生。结论 入伍新兵在入训期间散发的急性呼吸道疾病以流感病毒感染为主。

**【关键词】** 军事人员; 呼吸道疾病; 流感; 人

**【中图分类号】** R373.1

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1674-3679(2011)08-0695-03

**Etiologic investigation of acute febrile respiratory illness in military recruits** FANG Jian<sup>1</sup>, SONG Hai-yan<sup>1</sup>, LIU Bo<sup>1</sup>, ZHANG Jun-fei<sup>1</sup>, WU Wei-li<sup>2</sup>, CHEN Cong-xin<sup>1</sup>. 1. Department of Infectious Disease, the 105th Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Heifei 230031, China; 2. Beijing Gene Institute, Chinese Academy of Sciences, 101300 Beijing, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the common causes of acute respiratory illness (ARI) in conscripts. **Methods** The throat swabs from 40 military personnel, 204 conscripts and 40 conscripts with ARI were collected for detection of 15 common respiratory pathogens by a real-time fluorescent quantitative PCR assays; the sera were collected in acute stage of infection and in convalescent stage for serologic detection. **Results** The positive rates of nucleic acids of influenza A or B virus, *Mycoplasma pneumoniae* and *Streptococcus pneumoniae* in military personnel were 32.5%, 25.0% and 15.0%, much higher than 2.5%, 2.5% and 2.9% in conscripts ( $P < 0.05$ ); during two-month training periods, 40 recruits had ARI with 5.0% of influenza A and 55.0% of influenza B virus infection; the positive rates of nucleic acids of *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in febrile conscripts were 20.0%, 7.5% and 15.0%, not significantly different as compared to 25.0%, 15.0% and 17.5% in military personnel or to 2.5%, 2.9% and 7.4% in conscripts at recruitment; the serologic detection showed that influenza B infection accounted for 65.0% (26/40), and influenza A infection for 5.0% (2/40); the detection results were negative for adenovirus, measles virus, severe acute respiratory syndrome (SARS) associated coronavirus, human coronavirus, epidemic mumps virus, human respiratory syncytial virus, influenza A virus H5N1, rubella virus, *Streptococcus suis* and *Chlamydia pneumoniae*. **Conclusions** The ARI in conscripts in our series is mainly caused by influenza B and A virus infection.

**【Key words】** Military personnel; Respiratory tract diseases; Influenza, human

(Chin J Dis Control Prev 2011, 15(8): 695-697)

有报道称, 入伍新兵因患肺炎而住院的比例比非入伍年青人高 30 倍, 而常见的病因为流感病毒、腺病毒和肺炎支原体感染等<sup>[1,2]</sup>。芬兰国防部曾报告, 在连续 3 年的监测中共发现入伍新兵患上呼吸

道感染 102 600 例次, 其中还包含了两次由 H3N2 和 B 型流感病毒感染的暴发流行<sup>[3]</sup>。在安徽省也曾发生过入伍新兵传染性肺炎的暴发流行<sup>[4]</sup>。本研究应用可以同时检测 15 种常见呼吸道病原体的实时荧光定量 PCR 法<sup>[5]</sup>, 对在驻训期间发生急性呼吸道疾病的入伍新兵进行了呼吸道病原体检测, 现将结果报道如下。

**【基金项目】** 全军十一五医学科科技攻关项目(2008G021)

**【作者单位】** <sup>1</sup>解放军第 105 医院传染病科, 安徽 合肥 230031

<sup>2</sup>中国科学院北京基因研究所, 北京 101300

**【作者简介】** 方健(1959-), 男, 安徽六安人, 主任医师, 硕士。主要研究方向: 公共卫生和医院管理。

**【通讯作者】** 陈从新, E-mail: congxin@mail.hf.ah.cn

## 1 材料与方法

**1.1 呼吸道分泌物及血液标本的收集** 于 2009 年

12月~2010年2月在合肥某教导大队新兵入营时收集干部、老兵和职工(老兵组)标本40份,其中男31份,女9份,研究对象平均年龄为(36.5±4.2)岁,收集新兵标本204份,其中男191份,女13份,研究对象平均年龄为(18.5±0.8)岁;收集在新兵入营后2个月军训中发生急性呼吸道疾病的新兵标本40份,其中男30份,女10份。标本为发病时的咽拭子和双份外周静脉血。用3ml生理盐水冲洗咽拭子,冻存于-40℃冰箱备检。急性呼吸道疾病指发热、咽痛、咳嗽和X线片支持的肺部非特异性炎性改变。

**1.2 病原体核酸检测** 取咽拭子分别用DNA(QI-AGRN Plasmid Purification, Qiagen, 德国)和RNA(QIAamp viral RNA mini kit<sup>®</sup>, Qiagen, 德国)提取试剂盒提取DNA和RNA,置-80℃冻存备用。根据生物信息学分析结果并结合文献报道,确定各种病原体检测的特异性靶基因。采用荧光定量PCR法<sup>[5]</sup>检测甲型流感病毒H1N1和H5N1、乙型流感病毒、传染性非典型肺炎(severe acute respiratory syndromes, SARS)冠状病毒、人冠状病毒、风疹病毒、腮腺炎病毒、呼吸道合胞病毒、麻疹病毒、腺病毒、肺炎支原体、肺炎衣原体、肺炎军团菌、肺炎链球菌和猪链球菌核酸。采用Primer Express 3.0软件(ABI公司)和Primer3 Input 4.0软件设计引物探针,并在美国国家生物技术信息中心(national center for biotechnology information, NCBI)数据库中进行同源性比对。对上述提取的病原体基因组DNA或RNA进行扩增,扩增产物克隆到PMD19T载体中,转化到DH-5α感受态细胞。采用蓝白斑和PCR筛选阳性克隆,采用质粒提取试剂盒(碱性SDS法, TIANGEN公司, 中国)提取质粒,并对阳性质粒进行测序,检验插入片段序列是否正确。采用紫外分光光度计测定质粒浓度并计算其拷贝数,已知浓度的质粒用双蒸水(double-distilled water, ddH<sub>2</sub>O)按10倍系列稀释,作为各病原体的标准品,用于评价检测引物探针的敏感性、特异性和最低检出限,并构建标准曲线。

**1.3 血清学检测** 抗嗜肺军团菌抗体采用间接免疫荧光法(德国EUROIMMUN公司,4型血清型)检测;血清抗MP-IgM和IgG采用ELISA法(赛润试剂盒,德国Virion-Serion公司)检测;抗流感病毒抗体采用ELISA法检测。发热时血清IgM抗体阳性或恢复期血清IgG抗体滴度与发病时相比升高4倍者被认为是阳性,IgM阴性、IgG阳性者视为曾经感染。

**1.4 统计分析** 采用SPSS 13.0软件对数据进行统计分析。率的比较行 $\chi^2$ 检验,检验标准 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 咽拭子病原体核酸检测** 经实时荧光定量PCR检测,3组研究对象检出病原体情况见表1。老兵组甲、乙型流感病毒、肺炎支原体和肺炎链球菌携带率高于新兵组,差异有统计学意义,说明大多来自于农村的新入伍人员常见病原体的携带率较低。在40例患有急性呼吸道疾病的新兵中,感染的主要病因为流感病毒感染。共检出含有两种病原体者8例,其中乙型流感病毒与肺炎支原体同时阳性者7例(87.5%),嗜肺军团菌与肺炎支原体同时阳性者1例(12.5%);而腺病毒、麻疹病毒、SARS相关冠状病毒、人冠状病毒、流行性腮腺炎病毒、呼吸道合胞病毒、甲型流感病毒H5N1、风疹病毒、猪链球菌和肺炎衣原体等均为阴性。

表1 3组人群咽拭子检测病原体核酸阳性率比较[n(%)]  
Table 1 The positive rates of pathogens detected in throat swab in three groups of individuals[n(%)]

人群	例数	甲型流感病毒	乙型流感病毒	肺炎支原体	肺炎链球菌	嗜肺军团
老兵	40	5(12.5) <sup>a</sup>	8(20.0) <sup>a</sup>	10(25.0)	6(15.0) <sup>a</sup>	7(17.5)
新兵	204	2(1.0)	3(1.5)	5(2.5)	6(2.9)	15(7.4)
患呼吸道疾病新兵	40	2(5.0)	22(55.0) <sup>b</sup>	8(20.0) <sup>c</sup>	3(7.5)	6(15.0)

注:<sup>a</sup>与新兵组比, $P<0.01$ ;<sup>b</sup>与另两组比, $P<0.01$ ;<sup>c</sup>与老兵组比, $P>0.05$ 。

**2.2 血清抗体的变化** 在接受军训的2个月中,散在发生急性呼吸道疾病的新兵40例(占19.6%)。经急性期和恢复期双份血清检测,发现感染的病因主要为乙型流感病毒感染,占65.0%(26/40),少部分人为甲型流感病毒感染(5.0%),无甲型流感病毒H5N1等感染病例发生,见表2。30%感染的病因不清,但这些患者的临床症状均较轻,多在1周内恢复。

表2 四种呼吸道病原体血清抗体阳性率的比较[n(%)]  
Table 2 The positive rates of serum antibodies in three groups of individuals[n(%)]

人群	例数	时间	抗甲型流感病毒抗体		抗乙型流感病毒抗体		抗肺炎支原体抗体	抗嗜肺军团菌抗体
			IgM	IgG	IgM	IgG		
老兵	40	—	0(0.0)	4(10.0)	0(0.0)	3(7.5)	3(7.5)	2(5.0)
新兵	164	入营时	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(1.8)	2(1.2)	2(1.2)
		2月后	0(0.0)	1(0.6)	0(0.0)	4(2.4)	4(2.4)	2(1.2)
患呼吸道疾病新兵	40	发热时	2(5.0)	1(2.5)	26(65.0) <sup>a</sup>	15(37.5) <sup>a</sup>	1(2.5)	0(0.0)
		恢复期	0(0.0)	2(5.0)	3(7.5)	28(70.0) <sup>a</sup>	1(2.5)	1(2.5)

注:<sup>a</sup>与另两组相比, $P<0.01$ 。

## 3 讨论

由于新兵训练营特殊环境和人群体质的原因,

急性呼吸道疾病的发生率一直较高。腺病毒、肺炎链球菌和流感病毒感染占发病原因的 50% 左右, 而另一半的发病原因仍不明<sup>9</sup>。鼻病毒、腺病毒、肺炎链球菌、嗜血流感病毒和奈瑟脑膜炎球菌在新兵中广泛存在, 而仅腺病毒可能与发病有关。腺病毒 4 和肠病毒 68 的集聚可造成训练营内的传播<sup>6,7</sup>。1999 年美国放弃了给新兵接种腺病毒疫苗计划, 结果新兵营 98% 的患者诊断病例为腺病毒 4 感染<sup>7</sup>。Rakhmanov 等<sup>[8]</sup>报道, 在春夏季节, 这些人群抗肺炎支原体、抗肺炎衣原体和抗肺炎链球菌抗体分别为 25%、2.5% 和 7%, 而在秋冬季节抗肺炎支原体和抗肺炎链球菌抗体分别为 30% 和 50%。在新兵训练营曾发生肺炎支原体感染的暴发流行<sup>[4,9]</sup>。新兵患流感样疾病的概率是非入伍年青人的 2~16 倍<sup>[10]</sup>。本研究显示入伍新兵在集训期间呼吸道感染的常见病因主要是流感病毒感染。训练营干部、老兵和职工呼吸道常见病原体的携带率明显高于新入伍人员。新入伍人员自然免疫力较低、大运动量训练后容易着凉、居住密度高和缺乏必要的预防措施等可能是感染发生率高的原因。需要指出的是, 在感染个体, 会混杂有肺炎支原体和嗜肺军团菌的检出, 其病因学意义还有待确定。流感病毒表面的植物血凝素 (haemagglutinin, HA) 和神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 抗原性改变被定义为抗原漂移 (antigenic drift), 是引起流感暴发流行的主要原因。一个新的变异株可能在下一个季节里成为流行的主要病毒株。在芬兰 1992/1993 年度分离的 H3N2 亚型与 1991/1992 年度分离的 Beijing/353/89 分离株明显不同, 而在抗原和基因水平上与 1993/1994 年度流感暴发流行病毒株密切相关<sup>[3]</sup>。因此, 有必要对病毒表面的抗原系统进行流行病学监测。国外有应用流感病毒如减毒流感活疫苗 (live attenuated influenza vaccine, LAIV) 或流感灭活疫苗 (inactivated influenza vaccine, TIV)、腺病毒和支原体疫苗, 免疫增强剂和其他紧急预防措施对特殊人群针对性地预防呼吸道感染。美国也在 2008 年又恢复了给军事人员接种腺病毒疫苗<sup>[11]</sup>, 效果明显, 这些经验也值得借鉴。

加强流感病毒表面抗原漂移研究, 适时制备新型疫苗, 给高危人群进行必要的预防接种<sup>[11]</sup>, 对预防突发疫情的暴发, 减少非战斗性减员, 提高部队战斗力, 都有积极的现实意义。

### 【参考文献】

- [ 1 ] Metzgar D, Osuna M, Kajon AE, et al. Abrupt emergence of diverse species Adenoviruses at US military recruit training centers [ J ]. *J Infect Dis*, 2007, 196( 10 ): 1465-1473.
- [ 2 ] Amundson DE, Weiss PJ. Pneumonia in military recruits [ J ]. *Mil Med*, 1994, 159( 10 ): 629-631.
- [ 3 ] Pyhala R, Visakorpi R, Ikonen N, et al. Influence of antigenic drift on the intensity of influenza outbreaks: upper respiratory tract infections of military conscripts in Finland [ J ]. *J Med Virol*, 2004, 72( 2 ): 275-280.
- [ 4 ] 方健, 宋海燕, 陈从新, 等. 一起肺炎支原体感染暴发的报告 [ J ]. *中华疾病控制杂志*, 2008, 12( 4 ): 347-349.
- [ 5 ] 方健, 王静宇, 宋海燕, 等. 15 种呼吸道病原体的实时荧光定量 PCR 检测方法的建立及应用 [ J ]. *解放军医学杂志*, 2010, 35( 10 ): 1254-1257.
- [ 6 ] Wang Z, Malanoski AP, Lin B, et al. Broad spectrum respiratory pathogen analysis of throat swabs from military recruits reveals interference between rhinoviruses and adenoviruses [ J ]. *Microb Ecol*, 2010, 59( 4 ): 623-634.
- [ 7 ] Kajon AE, Moseley JM, Metzgar D, et al. Molecular epidemiology of adenovirus type 4 infections in US military recruits in the postvaccination era ( 1997-2003 ) [ J ]. *J Infect Dis*, 2007, 196( 1 ): 67-75.
- [ 8 ] Rakhmanov RS, Sgibnev DV, Basalyga VN. Combined method of community-acquired pneumonia prevention in military staff [ J ]. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*, 2007, 2: 94-97.
- [ 9 ] Klement E, Talkington DF, Wasserzug O, et al. Identification of risk factors for infection in an outbreak of *Mycoplasma pneumoniae* respiratory tract disease [ J ]. *Clin Infect Dis*, 2006, 43( 10 ): 1239-1245.
- [ 10 ] Eick AA, Wang Z, Hughes H, et al. Comparison of the trivalent live attenuated vs. inactivated influenza vaccines among U. S. military service members [ J ]. *Vaccine*, 2009, 27( 27 ): 3568-3575.
- [ 11 ] Russell KL, Hawksworth AW, Ryan MA, et al. Vaccine-preventable adenoviral respiratory illness in US military recruits, 1999-2004 [ J ]. *Vaccine*, 2006, 24( 15 ): 2835-2842.

(收稿日期: 2011-03-23)

(修回日期: 2011-06-17)

(周末校)