

• 调查报告 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.14.027

2012 年贵阳地区住院患儿手足口病的病原学研究*

杨兴林¹, 梁跃东¹, 洪章萍¹, 熊金凤¹, 王云芬¹, 姚骏¹, 黄海²

(1. 贵州省贵阳市第五人民医院检验科 550004; 2. 贵阳医学院检验系, 贵阳 550004)

[摘要] **目的** 了解 2012 年贵阳地区儿童手足口病住院患者的病原体分布情况, 为手足口病的诊断、治疗及预防提供依据。**方法** 收集 3 179 例手足口病患儿资料, 用荧光定量 PCR 法进行肠道病毒通用型、肠道病毒 71 型 (EV71) 和柯萨奇病毒 A 组 16 型 (CA16) 定量分型。**结果** 共检测手足口病病例标本 3 179 份, CA16 阳性 151 份, 占 4.75%; EV71 型 331 份, 占 10.41%; CA16 和 EV71 混合感染 7 份, 占 0.22%; 其他型肠道病毒 897 份, 占 28.22%。全年有 2 个发病高峰, 分别为 4~7 月及 10~11 月, 发病年龄主要集中在 5 岁以下儿童, 其中 0~3 岁发病最高; 男性患儿多于女性。**结论** 2012 年贵阳地区儿童手足口病住院患者的病原学分布以其他型肠道病毒和 EV71 型为主。

[关键词] 手足口病; 肠道病毒; 肠道病毒 A 型, 人; 柯萨奇病毒

[中图分类号] R725.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)14-1946-03

Etiology of hand foot and mouth disease in Guiyang area during 2012*

Yang Xinglin¹, Liang Yuedong¹, Hong Zhangping¹, Xiong Jinfeng¹, Wang Yunfen¹, Yao Jun¹, Huang Hai²

(1. Department of Clinical Laboratory, Guiyang Municipal Fifth People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550004, China.

2. Department of Medical Test, Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou 550004, China)

[Abstract] **Objective** To understand the pathogen distribution situation among the children inpatients with hand, foot and mouth diseases (HFMD) in Guiyang area during 2012 to provide the basis for the diagnosis, treatment and prevention. **Methods** The data in 3 179 cases of HFMD were collected. The fluorescence quantitative RT-PCR was adopted to perform the genotyping on universal enterovirus, enterovirus 71 (EV71) and Coxsackie virus A16 (CA16). **Results** A total 3 179 samples of HFMD were collected, among them, 151 cases (4.75%) were CA16 positive, 331 cases (10.41%) were EV71 positive, 7 cases (0.22%) were CA16 and EV71 co-infection, and 897 cases (28.22%) were the other enterovirus. The whole year had 2 peaks of onset, which were April to July and October to November. The onset age focused on the children aged under 5 years old (96.16%), among them, 0-3 years old had the highest onset, moreover male children were more than female. **Conclusion** The etiology distribution of children HFMD in Guiyang area during 2012 was dominated by the other genotypes of enterovirus and EV71.

[Key words] hand foot and mouth disease; enterovirus; enterovirus A, human; Coxsackievirus

手足口病 (hand foot and mouth disease, HFMD) 是由多种人肠道病毒引起的一种儿童常见传染病, 以发热和手、足、口腔等部位的皮疹或疱疹为主要症状。少数患者出现无菌性脑膜炎、脑炎、急性弛缓性麻痹、神经源性肺水肿和心肌炎等, 个别重症患儿病情进展快, 可导致死亡。能引起 HFMD 的病毒很多, 主要为小 RNA 病毒科肠道病毒属的柯萨奇病毒、埃可病毒和新肠道病毒。其中, 肠道病毒 71 型 (EV71) 和柯萨奇病毒 A 组 16 型 (CA16) 为目前引发 HFMD 的两大主要病原体。其中 EV71 感染约占实验室检测的 61.43%, 重症病例的 88.00%, 死亡病例的 95.00% 以上^[1]。因此, 对引起 HFMD 病原进行迅速鉴别诊断显得尤为重要。为了解贵阳地区 HFMD 的病原体构成, 本研究运用荧光定量 PCR 方法对 2012 年 1~12 月, 到贵州省贵阳市第五人民医院住院疑似 HFMD 患儿的肛拭子标本检测肠道病毒通用型、EV71 和 CA16, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1~12 月, 在贵阳市第五人民医院

(贵阳市 HFMD 定点医院) 住院治疗的 HFMD 患儿 3 179 例, 年龄 1 个月至 35 岁, 男 1 724 例, 女 1 455 例。诊断标准参照均符合《诸福棠实用儿科学》HFMD 诊断标准及《手足口病诊疗指南》(2010 年版) HFMD 的诊断标准。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂和仪器 采用获国家注册证上海之江生物科技有限公司生产的 EV71、CA16 荧光定量 PCR 试剂和肠道病毒通用型荧光定量 PCR 试剂。检测仪器为罗氏 Cobas z 480 荧光定量 PCR 仪。

1.2.2 标本采集 在患儿住院当天用专用采样棉签, 从患儿肛门轻轻插入, 适度用力弧形左右擦拭数下, 拔出后, 迅速将棉签放入病毒采样管 (北京友康基业生物科技有限公司) 中, 采样管外表贴上带有惟一识别号码的标签。于 2 h 内送检, -80 °C 低温保存。

1.2.3 肠道病毒核酸 PCR 荧光检测 病毒 RNA 的提取, 采用磁珠柱提取法, 按照上海之江生物科技有限公司 RNA 抽提

* 基金项目: 贵阳市科技局项目 (筑科合 [2013]103 号); 贵阳市高层次创新型青年卫生人才项目 (筑卫合 [2013] 创 2 号)。作者简介: 杨兴林 (1976-), 本科, 主管检验技师, 主要从事分子生物学研究。

试剂盒说明书操作。扩增反应体系和条件按照说明书操作和设置,在罗氏 Cobas z 480 荧光定量 PCR 仪上进行检测。荧光通道检测选用 FAM 通道。结果判断:按照说明书,检测 Ct ≤ 38,检测结果报告为阳性,如果检测 Ct 值 38~40,重复检测 1 次,如果重复检测 Ct 值仍在 38~40,则判为阴性。试验结果解释见表 1。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,对 3 179 例住院 HFMD 患儿运用描述性流行病学方法进行分析,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 试验结果解释

待检标本核酸 PCR 结果	鉴定结果
HEV(-),EV71(-),CVA16(-)	非肠道病毒(NEV)
HEV(+),EV71(-),CVA16(-)	非 EV71,CVA16 的其他肠道病毒
HEV(+),EV71(+),CVA16(-)	EV71
HEV(+),EV71(-),CVA16(+)	CA16

+:阳性;-:阴性。

2 结 果

2.1 一般情况 3 179 例 HFMD 感染者中,男女比例为 1.18 : 1.00,男童患病率高于女童($P < 0.05$);EV71、CA16 和其他 EV 感染分别占 10.41% (331/3 179)、4.75% (151/3 179)、28.22% (897/3 179),EV71 + CA16 阳性 7 例占 0.22%。男、女的 EV71、其他型 EV 及 EV71 + CA16 检出率比较差异无统计学意义($P > 0.05$),CA16 检出率比较男性高于女性,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同性别组患者肠道病毒检测[n(%)]

性别	总人数	EV71 (+)	CA16 (+)	其他型肠道病毒(+)	EV71+CA16(+)
男	1 724	182(10.56)	108(6.26)	487(28.25)	5(0.29)
女	1 455	149(10.24)	43(2.96)	410(28.18)	2(0.14)
合计	3 179	331(10.41)	151(4.75)	897(28.22)	7(0.22)

+:阳性。

表 3 不同年龄组患者肠道病毒检测[n(%)]

年龄组(岁)	n	EV71(+)	CA16(+)	其他型肠道病毒(+)	EV71 和 CA16(+)
0~1	1 309	125(9.55)	61(4.66)	406(31.01)	3(0.23)
>1~2	899	93(10.34)	43(4.78)	257(28.59)	2(0.22)
>2~3	512	70(13.67)	30(5.86)	130(25.39)	1(0.20)
>3~4	233	24(10.30)	10(4.29)	53(22.75)	1(0.43)
>4~5	104	12(11.54)	5(4.81)	32(30.77)	0
>5	122	7(5.74)	2(1.64)	19(15.58)	0
合计	3 179	331(10.41)	151(4.75)	897(28.22)	7(0.22)

+:阳性。

3 讨 论

HFMD 是由多种肠道病毒引起的常见传染病之一,引起 HFMD 的病毒属于小 RNA 病毒科肠道病毒属。其中以 EV71 及 CVA16 型较为常见。我国自 1981 年上海始见本病后,北

2.2 不同月份 HFMD 病例及病原检测情况 3 179 例 HFMD 病例按照月份统计分析,HFMD 全年均有发病,但有明显的季节性,随季节变换,呈单峰分布状态,在 4~7 月为发病高峰,10~11 月出现一个次高峰。从 4 月份开始上升,5 月份达到高峰,6 月份以后呈逐渐下降趋势;10 月份有轻微上升,11 月份有一个小高峰。3 179 例 HFMD 不同型病毒检出阳性率的变化趋势情况分析,全年各月份主要以其他型肠道病毒阳性率最高,其次为 EV71、CA16。其变化趋势在 2 月份其他型肠道病毒、EV71、CA16 形成一个交叉点,随着发病例数的增加,其他型肠道病毒检出阳性率逐渐增加,在 5 月份高峰后逐渐将低,在 11 月份小高峰时阳性率又达到最高。而 EV71 与 CA16 检测阳性率在 1~5 月变化不大,交替进行,6 月以后 EV71 检测率逐渐升高,12 月份检出率最高。其不同病毒型别变化趋势见图 1。

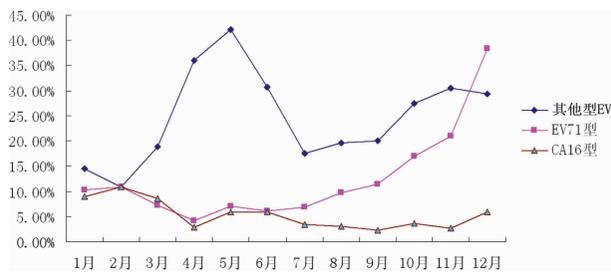


图 1 2012 年 3 179 例 HFMD 患者不同月份肠道病毒阳性率变化趋势

2.3 不同年龄段儿童病毒感染情况 本地区手足口病发病 0~3 岁患儿 2 720 例,占 85.56%;>3~5 岁患儿 337 例,占 10.6%;>5 岁患儿 122 例,占 3.8%。主要以小于或等于 3 岁为高发年龄。不同年龄组的病原构成差异有统计学意义($P < 0.05$),各年龄组患儿中,其他型肠道病毒感染所占比例均显著高于 EV71 和 CA16。其他型肠道病毒 0~1 岁组感染阳性率最高 31.01%,>5 岁组感染阳性率最低为 15.58%,不同年龄组其他型 EV 感染率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。而 CA16 与 EV71 在不同年龄段的检出率变化不大,其在不同年龄组比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。见表 3。

京、福建、吉林等地陆续有相关报道。掌握不同时期及地域 HFMD 病原体流行特征和分布情况,对预测 HFMD 病原体流行趋势的变化具有重要的价值;故监测 HFMD 病原体变化对于 HFMD 预防、治疗以及预后的判断均具有重要意义。

本研究采用了经国家 FDA 注册批准的肠道病毒核酸检测系列试剂盒作为检测 HFMD 病原体的实验室核酸检测标准,以保证检测结果的准确性,运用一步法荧光定量 PCR 法原理对肠道病毒通用型、EV71 型和 CA16 型进行检测。本研究共采集的贵阳地区 3 179 例 HFMD 患者肛拭子标本,检出 EV71 共 331 例(10.41%),CA16 共 151 例(4.75%),其他肠道病毒共 879 例(28.22%),EV71+CA16 阳性 7 例(0.22%)。证实贵阳地区 2012 年手足口病流行的主要病原体是非 EV71、非 CA16 的其他型肠道病毒感染,其次是 EV71、CA16。其检测结果与作者之前的报道比较:2010 年手足口病例共 312 例, EV71、CA16、其他肠道病毒的检出百分率分别为 13.46%、6.73%、48.07%^[2];2011 年检测的 1 379 份手足口 EV71 为 5.80%及 CA16 为 2.18%,其他型肠道病毒检出率为 39.10%^[3]。李家伟等^[4]报道的 2009 年贵阳市重症患者 EV71 阳性的检出率为 16.30%,其他肠道病毒的阳性率为 26.08%。通过近几年贵阳地区手足口病原检测结果分析其主要病原体还是以其他型肠道病毒为主,其次是 EV71、CA16。而 2012 年的其他型肠道病毒的检出率有所降低, EV71 与 CA16 检出率较 2011 年有所上升。本研究报道在主要病原体上与国内其他地区报道存在差异,林先耀等^[5]报道杭州 2012 年 449 例 HFMD 临床诊断病例中,其中 EV71 占 42.6%,CA16 占 22.9%,其他肠道病毒占 4.6%。葛艳玲等^[6]报道上海地区 1 544 例患儿病原学检测, EV71 阳性 908 例(58.81%),CA16 阳性 143 例(9.26%)。李洪杰等^[7]报道北京 2010 年 EV71 阳性标本占 40.3%;CA16 阳性标本占 5.64%;其他未分型肠道病毒阳性标本占 17.2%。常昭瑞等^[8]对我国 2008~2009 年 HFMD 报告病例流行病学特征分析,表明 EV71 和 CA16 为主要病原,不同地区其病原构成不尽相同,不同纬度地区流行强度不同,季节分布存在差异。对于贵阳地区的手足口病其主要病原是其他血清型的肠道病毒感染,而在其他肠道病毒感染中有其优势型,其相关型别的鉴别工作正在进一步确认。

从本地区发病人群来看,本研究结果显示在各年龄段人群中均可发病,以 5 岁以下儿童为主,其中 3 岁及以下年龄组发病率最高,男童的发病率高于女童。其报道与国内相关报道相一致^[9]。各年龄组患儿中,其他型肠道病毒感染所占比例均显著高于 EV71 和 CA16。不同年龄组其他型肠道病毒感染率比较差异有统计学意义($P < 0.05$),而 CA16 与 EV71 在不同年龄段的检出率差异无统计学意义($P > 0.05$)。从本统计结果来看本地区发病年龄集中在 2 岁以下, Lu 等^[10]认为机体缺乏保护性抗体可能是低年龄组儿童高发及高病死率的主要原因。人对肠道病毒普遍易感, HFMD 传播途径容易实现,不仅经粪-口传播,也可经空气或接触等传染途径传播,卫生条件、人口密集程度等因素影响发病^[11],因此,家长在照顾其小孩时需要注意卫生。流行季节分布显示,3 月病例开始增多,4~7 月为发病高峰,10~11 月出现一个次高峰,与我国台湾、香港和

新加坡等地报道的流行季节发病高峰(5~7 月)相比提前了 1 个月^[12]。在 4~7 月病原构成主要以其他型肠道病毒为主,10~11 月 EV71 逐渐升高。本地区流行高峰持续时间长,可能与低纬度地区存在适宜病毒存活和传播的地理气候条件有关^[13]。

参考文献

- [1] 钱素云. 手足口病在中国大陆的流行现状及诊治进展[J]. 中国小儿急救医学, 2011, 18(1): 1-3.
- [2] 杨兴林, 熊金凤, 李丽, 等. 贵阳地区 2010 年手足口病病原体检测分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(11): 2734-2736.
- [3] 杨兴林, 熊金凤, 李丽, 等. 2011 年贵阳地区手足口病病原学检测结果分析[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(12): 2080-2082.
- [4] 李家伟, 舒莎, 袁茂阳, 等. 2009 年贵阳市重症手足口病流行病学[J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(24): 3826-3829.
- [5] 林先耀, 赵仕勇, 潘红英. 2012 年杭州地区手足口病病原体流行特征分析及临床意义[J]. 浙江临床医学, 2013, 15(5): 606-608.
- [6] 葛艳玲, 夏爱梅, 姚玮蕾, 等. 2010~2011 年上海地区儿童手足口病肠道病毒 71 感染的流行病学[J]. 中华传染病杂志, 2012, 30(4): 200-203.
- [7] 李洪杰, 庞琳, 王琦, 等. 2010 年度北京地区儿童手足口病住院患者病原学分布分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2010, 6(1): 10-14.
- [8] 常昭瑞, 张静, 孙军玲, 等. 中国 2008~2009 年手足口病报告病例流行病学特征分析[J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(7): 676-680.
- [9] 孙军玲, 张静. 手足口病流行病学研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(9): 973-976.
- [10] Lu CY, Lee CY, Kao CL, et al. Incidence and case-fatality rates resulting from the 1998 enterovirus 71 outbreak in Taiwan [J]. J Med Virol, 2002, 67: 217-223.
- [11] 徐文体, 高璐, 张颖, 等. 天津市手足口病患儿危险因素病例对照研究[J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(1): 100-101.
- [12] Chen KT, Chang HL, Wang ST, et al. Epidemiologic features of hand-foot-mouth disease and herpangina caused by enterovirus 71 in Taiwan, 1998~2005[J]. Pediatrics, 2007, 120: 244-252.
- [13] 吕华坤, 缪梓萍, 蔡剑, 等. 浙江省手足口病流行状况分析[J]. 浙江预防医学, 2011, 23(1): 29-30.