

2012~2013 年杭州市萧山区手足口病病原谱及临床特征分析^{*}陈 亮,李 仪[△](浙江省杭州市萧山区第一人民医院检验科 311200)

【摘要】 目的 了解杭州市萧山区手足口病(HFMD)病原谱及临床特征。**方法** 采用荧光定量反转录聚合酶链反应,对 2012 年 5 月至 2013 年 7 月就诊的 208 例 HFMD 疑似患儿咽拭子标本(45 份)和粪便标本(208 份)进行病原体检测,结合患儿临床资料分析检测结果。**结果** 208 例患儿中,肠道病毒(EV)检出率为 83.17%,其中 EV71、柯萨奇病毒 A16(CoxA16)和其他 EV 亚型所占比例分别为 55.49%、13.29%和 31.21%;男、女性患儿 EV 检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。5 岁及其以下患儿以 EV71 感染为主,5 岁以上患儿以其他 EV 亚型感染为主。HFMD 患儿临床症状主要为发热伴疱疹,各种类型临床症状患儿均以 EV71 感染为主。粪便标本 EV 检出率高于咽拭子标本($P<0.05$)。**结论** EV71 和其他 EV 亚型是该地区 HFMD 患儿常见病原体,CoxA16 感染流行趋势有所下降。加强 EV、EV71 和 CoxA16 检测有助于 HFMD 的预防和控制。

【关键词】 手足口病; 肠道病毒 71 型; 柯萨奇病毒 A16 型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.24.004 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)24-3401-02

Analysis of pathogens spectrum and clinical characterization of hand, foot and mouth disease in Xiaoshan District of Hangzhou from 2012 to 2013* CHEN Liang, LI Yi[△] (Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Xiaoshan District, Hangzhou, Zhejiang 311200, China)

【Abstract】 Objective To understand the pathogens spectrum and clinical characterization of hand, foot and mouth disease (HFMD) in Xiaoshan District of Hangzhou. **Methods** A total of 253 specimens, including 208 stool specimens and 45 throat swabs, collected from May, 2012 to Jul, 2013 were detected for pathogens of HFMD by using real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction assay. **Results** The positive rate of enterovirus (EV) was 83.17%, and the percentages of EV71, Coxsackie virus A16 (CoxA16) and other EV subtypes were 55.49%, 13.29% and 31.21%, respectively. The positive rates of EV were without significant difference between male and female children ($P>0.05$). EV71 was predominant strain in patients, who were less than 5 years old, and other EV subtypes were predominant strains in patients, who were more than 5 years old. Fever with herpes was the main clinical symptom in HFMD patients, and EV71 was primary pathogen causing fever with herpes, vomiting or neurological and so on. The positive rate of EV in stool specimens was significant higher than that in throat swabs ($P<0.05$). **Conclusion** EV71 and other EV subtypes might be predominant strains of HFMD, and the prevalence of CoxA16 might be with downtrend. Detection of EV, EV71 and CoxA16 could be important for the control and prevention of HFMD.

【Key words】 hand, foot and mouth disease; Enterovirus 71; Coxsackie virus A16

手足口病(HFMD)是由多种肠道病毒(EV)引起的常见传染病,好发于婴幼儿,可引起发热和手、足、口腔等部位的皮疹或疱疹等症状,严重时可导致心肌炎、无菌性脑膜脑炎等并发症^[1]。HFMD 常见病原体包括 EV71 及柯萨奇病毒(Cox)A4、A5、A16、B1、B3 等,其中以 EV71 和 CoxA16 最为常见^[2-3]。EV71 能够引起中枢神经系统病变,在亚太地区的流行呈上升趋势;CoxA16 则极易导致心肌炎、心包炎等疾病^[4-6]。本研究对 208 例 HFMD 疑似患儿实验室指标检测结果和各类临床资料进行了回顾性分析,旨在了解杭州地区 HFMD 病原谱及临床特征。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 5 月至 2013 年 7 月本院就诊的 HFMD 疑似患儿 208 例,男 116 例、女 92 例,年龄 10 个月至 7 岁,平均(2.65±1.56)岁。

1.2 试剂和仪器 Qiagen 公司 QIAamp 病毒 RNA 小量提取试剂盒,江苏默乐生物科技有限公司荧光定量反转录聚合酶链反应法(RT-PCR)EV71、CA16 及通用型 EV 核酸检测试剂盒;美国 ABI 公司 7500 型 PCR 扩增仪。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 208 例患儿共采集标本 253 份,包括咽拭子标本 45 份、粪便标本 208 份。

1.3.2 RNA 提取 按照试剂盒说明书的要求提取标本 RNA。RNA 提取液终体积为 50 μ L, -80 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.3.3 荧光定量 RT-PCR 检测 荧光定量 RT-PCR 反应体系:RT-PCR 缓冲液 12.5 μ L, Taq 酶 0.5 μ L, 反转录酶 0.5 μ L, 引物和探针各 6.5 μ L, RNA 核酸提取液 5 μ L。反应条件:45 $^{\circ}$ C 15 min, 95 $^{\circ}$ C 2 min, 94 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 10 s 循环 40 次。每批临床标本检测的同时检测试剂盒自带质控品,质控品检测结果均在控制范围内。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同性别和年龄患儿病原体检测结果分析 病原体检测结果显示, EV 检出率为 83.17% (173/208), 其中 EV71 所占比例最高[55.49% (96/173)], 其他 EV 亚型及 CoxA16 分别

* 基金项目:“十二五”国家科技重大专项(2012ZX10004-210)。

作者简介:陈亮,男,本科,主管检验师,主要从事临床检验医学研究。 [△] 通讯作者, E-mail: xshcq@126.com。

占 31.21%(54/173)和 13.29%(23/173)。男、女性患儿 EV 检出率分别为 81.03%(94/116)和 85.87%(79/92),EV71 所占比例分别为 58.51%(55/94)和 51.90%(41/79),CoxA16 所占比例分别为 11.70%(11/94)和 15.19%(12/79),其他 EV 亚型所占比例分别为 29.79%(28/94)和 32.91%(26/79);男、女性患儿 EV 检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$),但 CoxA16 在不同性别患儿中的所占比例均最低($P<0.05$)。5 岁及其以下和 5 岁以上患儿 EV 检出率分别为 86.81%(158/182)和 57.69%(15/26),EV71 所占比例分别为 55.70%(88/158)和 33.33%(5/15),其他 EV 亚型所占比例分别为 30.38%(48/158)和 60.00%(9/15),CoxA16 所占比例分别为 13.92%(22/158)和 6.67%(1/15);CoxA16 在不同年龄患儿中的所占比例均最低($P<0.05$)。

2.2 不同临床症状患儿病原体检测结果分析 208 例 EV 阳性患儿中,多数患儿出现发热症状,包括发热伴疱疹 112 例、发热伴呕吐 36 例、发热伴神经系统症状 26 例,其他症状 34 例。不同临床症状患儿 RT-PCR 检测结果见表 1。

表 1 不同临床症状患儿 RT-PCR 检测结果(*n*)

临床症状	<i>n</i>	EV	EV71	CoxA16	其他 EV 亚型
发热伴呕吐	36	30	17	5	8
发热伴疱疹	112	101	59	15	27
发热伴神经系统症状	26	18	13	1	4
其他	34	24	7	2	15
合计	208	173	96	23	54

2.3 不同类型标本病原体检测结果分析 208 份粪便标本中,EV 检出率为 72.12%(150/208),EV71 所占比例最高[54.00%(81/150), $P<0.05$],CoxA16 和其他 EV 亚型所占比例分别为 14.00%(21/150)和 32.00%(48/150)。45 份咽拭子标本中,EV 检出率为 51.11%(23/45),EV71 所占比例最高[65.22%(15/23), $P<0.05$],其他 EV 亚型和 CoxA16 所占比例分别为 26.09%(6/23)和 8.70%(2/23)。粪便标本 EV 检出率高于咽拭子标本($P<0.05$)。

3 讨 论

HFMD 是由多种 EV 引起的小儿常见传染病,常见病原体包括 Cox、EV68~71 型、埃可病毒、脊髓灰质炎病毒等,其中以 EV71 和 CoxA16 最为常见^[2-3,7]。本研究结果显示,208 例 HFMD 疑似患儿以 EV71 感染为主,其他 EV 亚型(即非 EV71 和非 CoxA16)感染所占比例高于 CoxA16,并与国内其他地区的报道基本一致^[8-9],表明 EV71 仍是杭州地区 HFMD 患儿的最主要病原体,其他 EV 亚型感染率则有所升高,值得密切关注。本研究结果还显示,HFMD 疑似患儿以 5 岁及其以下儿童为主;5 岁及其以下患儿 EV71 检出率高于 CoxA16 和其他 EV 亚型,而 5 岁以上患儿其他 EV 亚型检出百分比最高;本研究中其他 EV 亚型检出率高于文献[10]报道,但与文献[11]报道基本一致。

HFMD 的临床诊断主要依赖于疾病的临床症状。本研究结果表明,发热伴疱疹是 HFMD 最为主要的临床症状,而 EV71 是引起发热伴疱疹的主要病原体,CoxA16 相对较少。HFMD 病原体主要通过粪-口和(或)密切接触传播,患者咽拭子和粪便标本中均可检出 EV71、CoxA16 和其他 EV 亚型。Ooi 等^[12]的研究表明,HFMD 患者不同类型临床标本 EV 检出率有着一定的差异。本研究中,HFMD 患儿咽拭子和粪便标本均检出 EV,粪便标本 EV71 检出率高于咽拭子标本,但咽拭子和粪便标本 CoxA16 和其他 EV 亚型检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$),表明杭州地区 HFMD 患儿 EV71 感

率较高,与国内相关报道存在一定差异^[9-11]。不同地区及同一地区不同年份间 HFMD 发病率存在一定的差异,不同年龄 HFMD 患儿、不同类型标本各种 HFMD 相关病原体的检测结果也存在一定的差异。因此,需要根据 HFMD 患儿的病情,采集合适类型的标本类型进行相关病毒的检测 and 分型。

目前尚没有可用于 HFMD 治疗的特效抗病毒药物。因此,加强对 HFMD 病原体的检测和分型,实现疾病的早发现、早诊断、早治疗,对于预防和控制 HFMD 的流行至关重要。

参考文献

[1] Chang LY, Huang LM, Gau SS, et al. Neurodevelopment and cognition in children after Enterovirus 71 infection [J]. N Engl J Med, 2007, 235(12): 1226-1234.

[2] Li W, Teng G, Tong H, et al. Study on risk factors for severe hand, foot and mouth disease in China [J/OL]. PLoS One, 2014-01-29 [2014-11-15], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24489943>.

[3] Tao Z, Wang H, Li Y, et al. Molecular epidemiology of human enterovirus associated with aseptic meningitis in Shandong Province, China, 2006-2012 [J/OL]. PLoS One, 2014-02-21 [2014-11-15], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24587020>.

[4] Ni H, Yi B, Yin J, et al. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot, and mouth disease in Ningbo, China, 2008-2011 [J]. J Clin Virol, 2012, 54(4): 342-348.

[5] Zhu F, Xu W, Xia J, et al. Efficacy, safety, and immunogenicity of an enterovirus 71 vaccine in China [J]. N Engl J Med, 2014, 370(9): 818-28.

[6] Li W, Yi L, Su J, et al. Seroepidemiology of human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 among children in Guangdong province, China [J]. BMC Infect Dis, 2013, 13(1): 322-326.

[7] Wang KF, Chen LL, Huang PN, et al. Neural pathogenesis of enterovirus 71 infection [J]. Microbes Infect, 2010, 12(7): 505-510.

[8] Zhang Y, Zhu Z, Yang WZ, et al. An emerging recombinant human enterovirus 71 responsible for the 2008 outbreak of hand foot and mouth disease in Fuyang city of China [J]. Virol J, 2010, 7(1): 94-102.

[9] 郑书发, 崔大伟, 余斐, 等. 浙江省杭州地区手足口病病原谱分析和肠道病毒 71 型 VP1 基因分析 [J]. 现代预防医学, 2011, 38(2): 305-308.

[10] 吴烨, 徐震, 王家蔚, 等. 浙江省湖州市手足口病临床特征和肠道病毒 EV71 与 CoxA16 型的分子特征分析 [J]. 中华临床感染病杂志, 2011, 4(6): 368-371.

[11] 吴晓芳, 徐顺德, 沈月华, 等. 2008 年杭州市肠道病毒 71 型和 COX A16 型的监测分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(1): 28-29.

[12] Ooi MH, Solomon T, Podin Y, et al. Evaluation of different clinical sample types in diagnosis of human enterovirus 71-associated hand-foot-and-mouth disease [J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(6): 1858-1866.