

· 论 著 ·

内江地区手足口病肠道病毒核酸检测及流行特征分析*

袁 翊, 王娅梅, 万小涛, 黄 波, 钟晓明, 钟方财

(四川省内江市第一人民医院检验科 641000)

摘要:目的 分析内江地区 2014 年 1 月至 2015 年 12 月手足口病的病原学特征, 为手足口病的预防控制提供病原学依据。**方法** 选取 2014 年 1 月至 2015 年 12 月临床疑似手足口病 685 例作为研究对象。采集疑似手足口病患儿发病 1 周内的疱疹液、咽拭子或肛拭子标本, 用实时荧光 RT-PCR 进行肠道病毒通用型(EV)、柯萨奇病毒 A 组 16 型(CoxA16)和肠道病毒 71 型(EV71)核酸扩增, 并分析患儿性别、年龄以及近 2 年流行时间的分布。**结果** 685 例疑似手足口病中, 肠道病毒阳性 599 例, 检出率 87.45%(599/685), 其中 EV71 型、CoxA16 型、肠道病毒其他型分别占肠道病毒感染阳性的 16.53%(99/599)、12.35%(74/599)和 71.12%(426/599)。EV71 与 CoxA16 型手足口病的患儿以 0~<4 岁儿童为主, 性别差异无统计学意义($P>0.05$); 4—7 月与 10—11 月为该地 2 个发病高峰。**结论** 对内江地区类似手足口病症状的儿童进行病原学检测, 及早发现并治疗, 有利于疫情控制及应对突发事件, 是降低手足口病死亡率的关键。

关键词:手足口病; 肠道病毒 EV71 型; 柯萨奇病毒 A 组 16 型

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.12.013 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)12-1717-03

Enterovirus nucleic acid detection and analysis on epidemiologic characteristics of hand-foot-mouth disease in Neijiang area*

YUAN Yi, WANG Yamei, WAN Xiaotao, HUANG Bo, ZHONG Xiaoming, ZHONG Fangcai

(Department of Clinical Laboratory, Neijiang Municipal First People's Hospital, Neijiang, Sichuan 641000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the etiological characteristics of hand-foot-mouth disease(HFMD) in Neijiang area from January 2014 to December 2015 to provide the etiological evidence for the prevention and control of HFMD. **Methods** A total of 685 cases of clinically suspected HFMD in our hospital from January 2014 to December 2015 were selected as the research subjects. The samples of herpes fluid, pharynx swab or anal swab were collected within one week after HFMD onset. The nucleic acid amplification of universal enterovirus, Coxsackievirus group A type 16(CoxA16) and enterovirus type 71(EV71) were performed by RT-PCR, moreover the distribution of children patients' sex, age and epidemic time in the recent two years were analyzed. **Results** Among 685 cases of suspected HFMD, 599 cases were enterovirus positive with the detection rate of 87.45%(599/685), in which EV71, CoxA16 and other enterovirus types respectively accounted for 16.53%(99/599), 12.35%(74/599) and 71.12%(426/599) of enterovirus infection positive. The children patients with EV71 and CoxA16 HFMD were dominated by children aged 0—<4 years old. The gender had no statistical difference($P>0.05$). April to July and October to November were the two peaks of HFMD onset. **Conclusion** Conducting the etiological detection in children patients with suspected HFMD, early discovery and treatment conduce to the epidemic situation control and response to emergency events, which is a key to reduce the HFMD mortality.

Key words: hand-foot-mouth disease; enterovirus type71; Coxsackie virus group A type16

手足口病是一种全球性的常见急性传染病^[1], 在 2008 年被列入我国丙类传染病。近年来, 该病在东南亚地区的爆发加重, 尤其在中国^[2]。手足口病由多种肠道病毒引起, 其中最为常见的是肠道病毒 71 型(EV71)和柯萨奇病毒 A 组 16 型(CoxA16)肠道病毒。手足口病最典型的表现手、足、口腔等部位皮肤黏膜出现皮疹、疱疹和溃疡, 绝大多数感染的患儿可在 1 周内痊愈。其中 EV71 型肠道病毒具有嗜神经性, 不仅引起手足口病, 而且可能引起心肌炎、肺水肿、无菌性脑膜炎等严重并发症^[3]。出现神经系统症状的重症患儿, 发病较快, 病情危重, 可致死亡, 且存活的患儿可留有后遗症。在近年医患关系日益紧张的环境下, 患者年龄小, 手足口病出现的死亡等极易引起医疗纠纷等不良医疗事件。因此, 对前来本院就诊的疑似手足口病患儿进行肠道病毒检测, 分析其性别、年龄和流行时间的分布, 对当地手足口病预防控制、辅助临床诊断以及减

少医疗纠纷的发生具有重要意义。为了辅助临床诊断, 本实验室对疑似手足口病患儿的疱疹液、分泌物和大便等标本中的肠道病毒通用基因片段、EV71、CoxA16 的特异基因使用特异引物, 采用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)进行定性和分型检测, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 1 月至 2015 年 12 月来内江市第一人民医院(内江市主要的综合三甲医院)就诊且临床症状有发热伴手、足、口、臀部皮疹, 部分病例可无发热等, 疑似手足口病的 685 例内江市地区患儿作为研究对象。其中男 414 例、女 271 例, 年龄 0~8 岁。其中 2014 年 360 例, 男 218 例、女 142 例; 2015 年 325 例, 男 196 例、女 129 例。所有研究对象按年龄分为 0~<1 岁、1~<2 岁、2~<3 岁、3~<4 岁、4~<5 岁、5~<6 岁、6~8 岁 7 个组。

* 基金项目: 国际医学研究基金(亚洲区)临床微生物学专项基金(CNSC-J2011-A330-ZB016)。

作者简介: 袁翊, 男, 主管技师, 主要从事临床微生物检验方面的研究。

1.2 试剂与仪器 中山大学达安基因股份有限公司提供实时荧光定量扩增仪 ABI-7500 型、肠道病毒的通用型、EV71 型及 CoxA16 型核酸检测试剂盒 (PCR-荧光探针法)、离心机、恒温仪。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集与保存 符合临床疑似手足口病的患儿,征得患儿及监护人同意,采集患儿发病 1 周内疱疹液、粪便或咽拭子标本,立即送检并做核酸检测。

1.3.2 核酸提取 采用中山大学达安基因股份有限公司提供的肠道病毒通用型、EV71 型及 CoxA16 型核酸检测试剂盒 (PCR-荧光探针法),按照其说明书操作。

1.3.3 扩增及结果判断 采用实时荧光定量 PCR 技术对一份核酸同时用肠道病毒通用型、EV71 型、CoxA16 型核酸测定试剂盒 (荧光 PCR 法) 进行检测,PCR 体系配制按照中山大学达安基因股份有限公司相关试剂说明书进行操作。反应总体系为 25 μ L。使用实时荧光定量扩增仪 ABI-7500 进行荧光 PCR 检测。设置循环条件如下:40 $^{\circ}$ C 25 min,1 个循环;94 $^{\circ}$ C 3 min;95 $^{\circ}$ C 15 s $\rightarrow$ 55 $^{\circ}$ C 45 s,40 个循环;待测标本呈典型 S 型扩增曲线且 Ct 值 $\leq$ 34.9 判断为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行分析。计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 人群分布 2014 年男性肠道病毒阳性 196 例,阳性率为 89.91% (196/218),女性阳性 124 例,阳性率为 87.32% (124/142)。2015 年男性肠道病毒阳性 166 例,阳性率为 84.69% (166/196),女性阳性 113 例,阳性率为 87.60% (113/129)。男女两年间阳性率差异无统计学意义 ($P>0.05$)。EV71 型与 CoxA16 型肠道病毒检出阳性主要在 0~<4 岁阶段,其中 1~<2 岁年龄组为高风险组。见表 1。

表 1 不同年龄组 EV71 型和 CoxA16 型手足口病病毒分布情况[n(%)]

年龄	2014 年阳性	2015 年阳性
0~<1 岁	10(8.93)	2(3.28)
1~<2 岁	48(42.86)	27(44.26)
2~<3 岁	33(29.46)	16(26.23)
3~<4 岁	14(12.50)	7(11.48)
4~<5 岁	3(2.68)	5(8.20)
5~<6 岁	2(1.79)	2(3.28)
6~8 岁	2(1.79)	2(3.28)
合计	112(100.00)	61(100.00)

2.2 季节分布 (EV71 与 CoxA16 型手足口病) 2014 年确诊感染 EV71 型与 CoxA16 型手足口病的患儿共 112 例,3~7 月有一个感染高峰,占全年的 64.28% (72/112);10 月有一个感染次高峰,占全年的 13.39% (15/112)。2015 年确诊感染 EV71 型与 CoxA16 型手足口病的患儿共 62 例,4~7 月有一个感染高峰,占全年的 66.13% (41/62);11 月有一个感染次高峰,占全年的 9.68% (6/62)。见图 1。2014 年与 2015 年 EV71 型与 CoxA16 型手足口病的流行,基本分布在 3~7 月和

10~11 月。

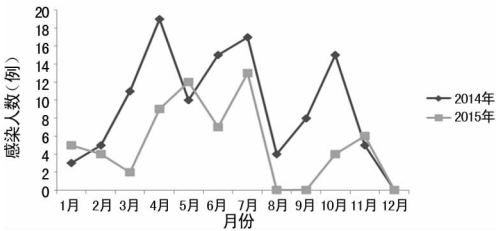


图 1 儿童感染 EV71 型与 CoxA16 型月发病变化图

2.3 EV71 型和 CoxA16 型的构成比 2014 年 EV71 型核酸阳性 49 例,占阳性标本总数的 15.31% (49/320),CoxA16 型核酸阳性 63 例,占阳性标本总数的 19.69% (63/320),无 EV71 型与 CoxA16 型的混合感染病例,肠道病毒其他型 208 例占阳性标本总数的 65.00% (208/320)。2015 年 EV71 型核酸阳性 50 例,占阳性标本总数的 17.92% (50/279),CoxA16 型核酸阳性 11 例,占阳性标本总数的 3.94% (11/279),无 EV71 型与 CoxA16 型的混合感染病例,肠道病毒其他型 218 例占阳性标本总数的 78.14% (218/279)。两年间 EV71 型和 CoxA16 型阳性率差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3 讨 论

手足口病是由肠道病毒引起的一种急性传染病,也是全球性儿童传染病,主要通过密切接触或消化道传播,常见于学龄前儿童。目前手足口病的病原学信息显示,有 20 多种肠道病毒可引起手足口病,其中大部分肠道病毒为小 RNA 病毒,如肠道病毒属 CoxA16 型,B 组 2、5、13 型,埃可病毒及 EV71 型^[4]。EV71 型和 CoxA16 型是其中最为常见的类型,EV71 型的手足口病也最为凶险^[5]。本研究显示 2014 年和 2015 年 EV71 型阳性率分别为 15.31% 和 17.92%,CoxA16 型阳性率分别为 19.69% 和 3.94%。此结果与武汉^[6]、昆明的报道^[7]存在较大差异,而与宁波报道^[8]有相似之处。从这两年来看,其他型肠道病毒才是本院手足口病的主要病原体,可能原因一是地区差异,二是本院的病例代表有限,三是病原构成发生变化。

从性别与病例数来看,2014 年与 2015 年男女感染肠道病毒的病例人群性别差异无统计学意义,与文献^[9-10]报道不符,考虑与地区文化与教育方面的差异有关,研究此类疾病时应考虑地区问题。

在年龄分布上,5 岁以下儿童多见且部分危重,5 岁以上感染少见,大部分不发病或发病较轻。EV71 型与 CoxA16 型肠道病毒核酸阳性检出主要集中在 0~<4 岁,主要原因可能是该年龄阶段的婴幼儿抵抗力低,行为上不卫生,容易感染肠道病毒,且该年龄段一起玩耍时容易引起交叉感染^[11]。年龄增长后,儿童抵抗力逐渐增强,发病率明显降低。

手足口病在四季均可发病,根据分析结果,本院的 EV71 与 CoxA16 型手足口病主要分布在 3~7 月和 10~11 月,以 3~7 月最多,这种情况可考虑地理位置与气候因素等多种变化有关^[12]。值得注意的是,2014 年 CoxA16 型占阳性标本的 19.69%,而在 2015 年降低至 3.94%;而 2014 年 EV71 型占阳性标本的 15.31%,在 2015 年提升到 17.92%,有类似我国山东、上海、北京报道 EV71 型与 CoxA16 型交替流行^[13] 的现象,也有可能 CoxA16 型手足口病在内江地区属于间隔一段时间爆发性的疾病,需继续后续监测。

鉴于以上流行特点,家长应与各级疾病预防控制机构及教

育部门相互配合在 3—7 月和 10—11 月对 0~<4 岁儿童进行手足口病的重点预防、监测^[14]。特别是在手足口病流行期间,家长和临床医生应特别注意易感年龄的孩子一旦出现有诸如高热、咽峡部疱疹、嗜睡、呕吐、抽搐等类似重症手足口病症状^[15],应马上采集标本送检,密切观察患儿病情变化。由于重症手足口病可并发脑炎、脑脊髓炎、肺水肿、循环衰竭等,且一旦出现脑干脑炎则病死率显著上升,目前缺乏有效的治疗方法。因此在当地开展手足口病的快速诊断,及早发现及早治疗,并长期关注当地手足口病疫情的病原体型别及分布特征,有利于疫情控制及应对突发事件,是降低手足口病死亡概率的关键。

参考文献

[1] Xu MH, Su LY, Cao LF, et al. Enterovirus genotypes causing hand foot and mouth disease in Shanghai, China: a molecular epidemiological analysis[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13(1):489-496.

[2] Long L, Gao LD, Hu SX, et al. Risk factors for death in children with severe hand, foot, and mouth disease in Hunan, China[J]. Infect Dis, 2016, 48(10):744-748.

[3] 李俊, 苏翠, 陈晓宁. 2010—2013 年铜川市手足口病实验室检测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(5): 686-688.

[4] 唐丽. 278 例手足口病病原学监测结果分析[J]. 实用预防医学, 2013, 20(7):879-881.

[5] 曹洋, 洪志恒, 金连梅, 等. 2011—2012 年全国手足口病疫情监测分析[J]. 疾病监测, 2013, 28(12):975-980.

[6] 李静, 魏兴家, 余永生. 武汉阳逻地区 2008 至 2012 年手足口病流行特征分析[J]. 中国妇幼健康研究, 2015, 26(2):188-190, 233.

[7] 王明英, 王美芬. 昆明地区儿童手足口病 28 685 例流行病学分析[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2014, 41(2): 113-115.

[8] 贺天锋, 钱旭君, 谢蕾, 等. 浙江省宁波市 2008—2013 年手足口病重症病例流行病学及病原学特征[J]. 上海预防医学, 2015, 27(1):4-6.

[9] 李开春, 程志刚, 王明丽, 等. 六安市手足口病肠道病毒核酸检测及流行病学分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2011, 15(7):582-585.

[10] 徐辉, 陈聪, 姚杏娟, 等. 常州市 2008~2009 年 5 岁以下儿童手足口病流行特征分析[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(2):275-278.

[11] 王杨, 李铮, 曹向红, 等. 2014 年昆明某三甲医院手足口病病原及流行特征分析[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(1):8-10.

[12] 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.

[13] 郑艳丽, 宋海军, 李军伟, 等. 2009 年平顶山市儿童手足口病病原分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(8):1993-1995.

[14] 张红, 李万书, 伍秀敏, 等. 2011—2012 年四川省宜宾市手足口病监测分析[J]. 中国医药导报, 2013, 10(26): 125-126.

[15] Wang Q, Zhang W, Zhang Y, et al. Clinical features of severe cases of hand, foot and mouth disease with EV71 virus infection in China[J]. Arch Med Sci, 2014, 10(3): 510-516.

(收稿日期:2017-02-03 修回日期:2017-04-13)

(上接第 1716 页)

性 T 细胞在麻风病患者皮损中的分布[J]. 皮肤病与性病, 2013, 35(3):125-127.

[3] 张学军. 皮肤性病学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2013: 124-128.

[4] 杨丽文, 李月红, 姚新生, 等. 麻风 T 细胞应答及 TCR CDR3 谱序研究进展[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2015, 31(6):347-350.

[5] Liu G, Ma H, Qiu L, et al. Phenotypic and functional switch of macrophages induced by regulatory CD4⁺ CD25⁺ T cells in mice[J]. Immunol Cell Biol, 2011, 89(1):130-142.

[6] Kumar S, Naqvi RA, Ali R, et al. FoxP3 provides competitive fitness to CD4⁺ CD25⁺ T cells in leprosy patients via transcriptional regulation[J]. Eur J Immunol, 2014, 44(2):431-439.

[7] Parente JN, Talhari C, Schettini AP, et al. T regulatory

cells (TREG) (TCD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺) distribution in the different clinical forms of leprosy and reactional states [J]. An Bras Dermatol, 2015, 90(1):41-47.

[8] Kumar S, Naqvi RA, Ali R, et al. CD4⁺ CD25⁺ T regs with acetylated FoxP3 are associated with immune suppression in humanleprosy[J]. Mol Immunol, 2013, 56(4):513-520.

[9] 李彩霞, 徐元品, 邹子宏, 等. CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞在麻风病中的水平和意义[J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(2):158-160.

[10] 李彩霞, 陆林, 周晓鸿, 等. 麻风病患者外周血 IL-10 与调节性 T 细胞的相关性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2014, 30(8):1105-1107.

[11] 李彩霞, 陆林, 贾曼红, 等. 麻风患者外周血调节性 T 细胞及 IL-2 的相关性分析[J]. 皮肤病与性病, 2015, 37(5): 256-259.

(收稿日期:2017-02-05 修回日期:2017-04-14)