

毒灭活,是目前惟一获准用于临床的光化学血浆病毒灭活技术^[5]。还有研究显示,随光照时间的延长,病毒核酸浓度逐渐下降,照射 30 min 后,乙型肝炎病毒 DNA 浓度下降为零^[6],在国内目前只是部分血站在应用,还没有达到在全国血站中推广应用。关于亚甲基蓝光化学法的研究报告很多,均已证明该法对血浆中正常成分的活性破坏不大^[7],而亚甲基蓝本身是临床上治疗氰化物和亚硝酸盐中毒的解毒剂,药典上的使用剂量比血浆消毒的剂量要大数百倍,因此在毒理学方面是很安全的。血浆中主要成分的生化指标无显著变化,凝血因子Ⅲ促凝活性在经该法处理后仍大于 80%,血浆的抗原性也无特殊变化,各种酶活性未发生明显改变^[8-9]。

亚甲基蓝光化学法的灭活过程大致分 2 步,一步是亚甲基蓝光照灭活,还有一步是灭活后的过滤(去除亚甲基蓝)。本实验过程中,选取了 4 种常见的细菌(2 种革兰阳性菌、2 种革兰阴性菌),一组标本经亚甲基蓝光照处理后再经过滤器过滤(正常灭活过程),还有一组不经亚甲基蓝光照处理只是经过滤器过滤。有研究显示,灭活的血浆白细胞含量降低 100 倍左右^[10]。通过观察发现,虽然过滤器可以一定程度过滤白细胞,但是对已知细菌却没有过滤作用,而经正常灭活过程处理的一组标本在室温放置 5 d 后检测结果还是阴性,这一结果说明亚甲基蓝光化学法除了可以用来灭活血浆中的病毒,它还对血浆中的细菌有一定的灭活作用。下一步研究准备通过更多的实验来证明该法对细菌灭活作用的普遍性,同时笔者也希望通过这一研究来提高同行对血浆细菌灭活的关注。

参考文献

[1] de Korte D, Marcelis JH, Verhoeven AJ, et al. Diversion of first

• 检验技术与方法 •

手足口病血清 EV71 抗体检测分析*

季 云¹, 李 坤¹, 史伟峰^{1△}, 石 旦¹, 徐晓怡², 丁翠君³

(1. 苏州大学附属第三医院检验科, 江苏常州 213003; 2. 江苏省常州市疾病预防控制中心 213000;

3. 江苏省常州市儿童医院 213003)

摘要:目的 对手足口病患者血清 EV71 抗体进行检测分析,以了解常州市手足口病患者肠道病毒 EV71 的感染情况。方法 采集 272 例手足口病(其中 10 例重症病例)患者急性期的血清标本,用 ELISA 法检测其 EV71-IgM 抗体。结果 272 例血清标本中 125 例检出 EV71-IgM 抗体阳性,检出率为 46.0%,10 例重症病例均为 EV71-IgM 抗体阳性。1 岁组和 2 岁组阳性检出率高于其他年龄组($P < 0.05$);患儿男、女性之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 EV71 病毒是常州地区儿童手足口病的主要病原体,建立完善的 EV71 流行监测系统是当前预防与控制手足口病的重要环节。

关键词:手足口病; 肠道病毒 A 型; 人; 免疫球蛋白 M; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)14-1607-02

手足口病(HFMD)常见于儿童,由柯萨奇病毒 A4、A5、A8、A10、A16、B3、B7 和肠道病毒 71 型(EV71)等病毒引起,其中以柯萨奇 A16(CoxA16)和肠道病毒 EV71 为主要病原体。近年来 EV71 在亚洲地区的流行呈上升趋势,中国广东、福建及台湾等地区都有与 EV71 相关的病例报道^[1-2]。为了解常州市肠道病毒 EV71 的感染情况,现对 2009 年诊断为手足口病的 272 例血清标本,进行 EV71-IgM 抗体检测,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 对 2009 年常州市儿童医院收治的临床诊断

blood volume results in a reduction of bacterial contamination for whole-blood collections[J]. Vox Sang, 2002, 83(1):13-16.

[2] de Korte D, Marcelis JH, Soeterboek AM. Determination of the degree of bacterial contamination of whole-blood collections using an automated microbe-detection system[J]. Transfusion, 2001, 41(6):815-818.

[3] 车嘉琳,何子毅,刘赴平,等. PGD 血小板细菌污染检测系统效果的评价[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(7):517-519.

[4] 肖泽斌. 亚甲基蓝光化学病毒灭活法对血浆质量指标的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4):390-391.

[5] Solheim BG. Pathogen reduction of blood components[J]. Transfus Apher Sci, 2008, 39(1):75-82.

[6] 黄华,李小捷,徐传彬,等. 运用 FQ-PCR 技术监测亚甲基蓝光化学法对血浆乙型肝炎病毒的灭活效果[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(1):1-3.

[7] 张文福,袁庆霞,王密霞. 亚甲基蓝敏法对血浆中病毒的灭活研究[J]. 中国消毒学杂志, 1999, 16(2):65-68.

[8] 张文福,钟儒波. 亚甲基蓝光化学法对临床单袋人血浆的消毒研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2002, 12(1):20-22.

[9] 黄文杰,范恩勇,孙海英,等. 亚甲基蓝光化学法病毒灭活剂对凝血因子的影响[J]. 实用医学杂志, 2006, 22(18):2193-2194.

[10] 王飞,路志浩,古醒辉,等. 亚甲基蓝光化学法血浆病毒灭活前后血浆成分的变化[J]. 临床输血与检验, 2010, 12(2):97-99.

(收稿日期:2011-02-21)

* 基金项目:常州市卫生局重大课题资助项目(ZD200912)。 △ 通讯作者, E-mail:swf67113@163.com。

IgM(抗 μ 链)可与样品中的 IgM 抗体结合,洗板后加入抗原试剂与酶标试剂进行二次孵育。当样品中存在 EV71-IgM 抗体时,将形成抗 μ 链-IgM 抗体-抗原-酶标抗体复合物。复合物上连接的 HRP 催化显色剂反应生成蓝色产物,终止反应后变为黄色。若样品中无 EV71-IgM 抗体时,不显色。该法检测 EV71 病毒抗体灵敏度为 93%,特异度为 95%。

1.3.2 判断标准 临界值(cutoff)计算:临界值=0.10+阴性对照孔吸光度均值(阴性对照孔低于 0.05 按 0.05 计算),样品吸光度值小于临界值为 EV71-IgM 抗体阴性;样品吸光度值大于或等于临界值为 EV71-IgM 抗体阳性。

1.4 统计学处理 计数资料用百分率表示,各组间率的比较使用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 EV71 抗体检测情况 272 例患儿标本中共检出 125 例 EV71-IgM 抗体阳性,阳性率为 46.0%,其中 10 例重症患儿 EV71-IgM 抗体均为阳性,阳性率 100.0%,其余 147 例均为阴性。

2.2 不同年龄、性别的儿童感染情况 感染者中年龄最小 8 个月,最大 9 岁,10 例重症患儿主要集中在 3 岁以下,4 岁以下儿童检出率达 88.0%(110/125)。1 岁组和 2 岁组阳性检出率最高,分别为 70.0%和 77.1%,与其他年龄组比较差异有统计学意义($P<0.05$);不同性别患儿检出率分别为 47.9%(男)和 43.9%(女),不同性别患儿间 EV71 抗体的检出率差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨 论

HFMD 自 1957 年首次报道以来,曾在多个国家和地区多次流行;中国自 1981 年上海首次报道本病后,国内多个地方均出现了病例报道,2008 年 4 月,安徽阜阳报道了 HFMD 流行,造成 22 例患者死亡,引起国内外的高度关注^[3]。引起 HFMD 的病毒有 20 多种(型),柯萨奇病毒 A 组的 16、4、5、9、10 型, B 组的 2、5 型,以及 EV71 均为手足口病较常见的病原体,其中以 CoxA16 和 EV71 最为常见。在 1985 年前 Cox A16 被认为是中国 HFMD 的主要病原体。近年来 EV71 在亚洲地区的流行呈上升趋势,人们逐渐认识到 EV71 也是 HFMD 的主要病原体之一^[4-5],而且 EV71 较 CoxA16 所致 HFMD 有更多发生无菌性脑膜炎的概率。目前已知人类是 EV71 病毒惟一的天然宿主,主要侵袭 5 岁以下儿童。EV71 的流行一年四季均可出现,常见于夏秋季,托幼机构是 EV71 流行、暴发的主要场所。EV71 可引起多种临床表现,除导致 HFMD 外,还可以导致中枢神经系统的并发症。

病毒分离、核酸扩增和血清学实验是检测 EV71 感染的主要方法^[6-7]。近年来,国内外利用 ELISA 法检测血清 EV71 抗体的报道陆续增多^[9-10]。本研究采用检测 EV71-IgM 抗体的 ELISA 试剂盒检测了 272 例手足口病血清标本,其中 125 例标本检出 EV71-IgM 抗体,检出率 46.0%,其中 10 例重症患儿均为 EV71-IgM 抗体阳性。还有 147 例肠道病毒 EV71-IgM

抗体阴性的可能为柯萨奇病毒 A 组的 16、4、5、9、10 型和 B 组的 2、5 型感染引起,有待于进一步的研究检测。

本文结果表明 4 岁以下儿童是该市 EV71 感染的高危人群,占有 EV71-IgM 阳性儿童的 88.0%(110/125),其中尤以 1 岁组和 2 岁组最多,阳性例数分别为 46 例和 37 例,重症患儿也集中在这一年龄段,这与国内外的报道基本一致^[10]。从性别分布来看,男、女性检出率分别为 47.9%和 43.9%,男孩略高于女孩,这可能与卫生习惯、生活作息规律等有关。目前由于尚无特异、高效的抗病毒治疗药物,主要是对症治疗。因此,有必要在流行高峰期采取必要的隔离措施防止病原体扩散,对学龄前儿童加强健康宣传教育尤为重要。

EV71 在 HFMD 中的致病作用及其严重并发症在近些年以来比例大大增加,因此加强早期诊断显得尤为重要。通过本研究初步掌握了常州市 HFMD 血清 EV71 抗体人群分布、流行规律等流行病学特点,为今后制定一整套 HFMD 预防与控制的策略,建立完善的 EV71 流行监测系统提供了帮助。

参考文献

- [1] 姚英民,谢健屏,赖桂香,等.广州地区儿童肠道病毒 71 型分离与鉴定[J].南方医科大学学报,2008,28(10):1823-1824.
- [2] Lee MS, Lin TY, Chiang PS, et al. An investigation of epidemic enterovirus 71 infection in taiwan, 2008; clinical, virologic, and serologic features[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2010, 11(10): 268-269.
- [3] 万俊峰,朱理业,刘红,等.阜阳市手足口病(EV71 感染)疫情流行病学分析[J].安徽医学,2008,29(4):344-345.
- [4] Oberste MS, Maher K, Flemister MR, et al. Comparison of classic and molecular approaches for the identification untypeable enteroviruses[J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38(3): 1170-1174.
- [5] 林思恩,章青,谢华萍,等.我国广东、福建地区 2000~2001 年手足口病肠道病毒 71 型分离株的种系进化分析[J].中华实验和临床病毒学杂志,2004,18(3):227-229.
- [6] Tan EL, Chow VT, Quak SH, et al. Development of multiplex real-time hybridization probe reverse transcriptase polymerase chain reaction for specific detection and differentiation of Enterovirus 71 and Coxsackievirus A16[J]. *Diag Microbiol Infect Dis*, 2008, 61(3): 294-301.
- [7] 肖性龙,何雅青,余以刚,等.内标多重荧光 RT-PCR 同时检测肠道病毒 71 型和柯萨奇病毒 A16 型[J].微生物学报,2009,49(1): 98-104.
- [8] Tsao KC, Chan EC, Chang LY, et al. Responses of IgM for enterovirus 71 infection[J]. *J Med Virol*, 2002, 68(4): 574-80.
- [9] Xu F, Yan Q, Wang H, et al. Performance of detecting IgM antibodies against enterovirus 71 for early diagnosis[J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11388.
- [10] 吴新伟,蒋力云,伍业健,等.广州地区 2008 年手足口病病原体检测分析[J].广东医学,2009,30(5):788-790.

(收稿日期:2010-08-18)