

• 调查报告 •

2012 年江西地区重症手足口病病原分析*

付晶晶¹, 周红平¹, 刘发娣¹, 彭 军¹, 张 凯¹, 钟艳萍², 柯江维^{1△}

(1. 江西省儿童医院, 江西南昌 330006; 2. 江西省宜春市人民医院, 江西宜春 336000)

摘要:目的 分析 2012 年度江西地区重症手足口病(HFMD)的病原学及流行病学特征, 为重症 HFMD 的诊治及预防提供实验依据。方法 收集江西省儿童医院 2012 年 1~12 月 211 例重症 HFMD 患儿咽拭子和血清, 实时定量 PCR 方法检测咽拭子肠道病毒 71 型(EV71)、柯萨奇病毒 16 型(CA16)及肠道病毒通用型(EVU)核酸, ELISA 捕获法检测血清 EV71-IgM 和 CA16-IgM 抗体。结果 211 例重症 HFMD 患儿中, 男性占 63.0%(135/211), 且 1~2 岁比例最高, 为 31.7%(67/211); 重症 HFMD 除 12 月份外全年均有发生, 5 月份达全年最高峰; 病原体以 EV71 型为主, 阳性率达 70.6%(149/211); CA16 阳性率为 8.1%(17/211); 非 EV71/CA16 型 EVU 阳性率为 8.1%(17/211); EV71、CA16-IgM 抗体检测与核酸检测方法一致程度较好, Kappa 值分别为 0.722 和 0.815($P < 0.01$)。结论 2012 年度江西地区儿童重症 HFMD 以 EV71 感染为主, 2 岁以下男性儿童为重症 HFMD 高发人群; EV71、CA16-IgM 抗体测定与检测方法一致程度较高, 在重症 HFMD 诊断中具有重要意义。

关键词:手足口病; 肠道病毒属; 聚合酶链反应; 酶联免疫吸附试验; 儿童

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.22.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)22-3024-02

A pathogen analysis of severe hand-foot-mouth disease in Jiangxi area in 2012*

Fu Jingjing¹, Zhou Hongping¹, Liu Fadi, Peng Jun¹, Zhang Kai¹, Zhong Yanping², Ke Jiangwei^{1△}

(1. Jiangxi Provincial Children Hospital, Nanchang, Jiangxi 330006, China;

2. People's Hospital of Yichun City in Jiangxi Province, Yichun, Jiangxi 336000, China)

Abstract: Objective To analyze the characteristics of pathogen of severe hand-foot-mouth disease(HFMD) in Jiangxi area, and to provide the experimental evidence for the prevention and treatment of severe HFMD. Methods The throat swab and serum were collected from 221 hospitalized children with severe HFMD in Jiangxi Provincial Children Hospital from January 2012 to December 2012. RNA were extracted from each throat swab sample followed with real-time fluorescence quantitative RT-PCR kits with three reagents: universal enterovirus primer(EVU), Coxsackievirus A 16(CA16) primer and enterovirus 71(EV71) primer. Anti-Cox A16 and anti-EV71 IgM in the serum were detected with ELISA capture method. Results Among 211 cases of severe HFMD, male children accounted for 63.0%(135/211), and 1 to 2-year-old boy with the highest proportion of 31.7%. Severe HFMD has occurred throughout the year except December, the positive rate of severe HFMD was lowest in winter and highest in May. The main pathogen of severe HFMD was EV71 with positive rate of 70.6%(149/211); The positive rate of CA16 and non EV71/CA16 EVU were 8.1%(17/211) and 8.1%(17/211), respectively; The methods of EV71, CA 16 IgM antibody detection and nucleic acid detection have a good consistency, Kappa values were 0.722 and 0.815($P < 0.01$). Conclusion EV71 was the mainly pathogen causing server HFMD in Jiangxi in 2012. Boies below 2 years old were the highest risk people of severe HFMD. EV71, CA16-IgM antibody assays and nucleic acid detection methods had a good consistency and they were important to the diagnosis of HFMD.

Key words: hand-foot-mouth disease; enterovirus; polymerase chain reaction; enzyme-linked immunosorbent assay; children

手足口病(HFMD)是儿童常见感染的法定丙类传染病, 该病通常为自限性, 大多数患者预后良好, 但有少数发展为重症病例, 出现脑膜炎、脑炎、脑脊髓炎、肺水肿、循环障碍等, 极少数病例甚至演变为脑干脑炎及神经源性肺水肿而致死^[1]。重症 HFMD 特别是肠道病毒 71 型(EV71)重症 HFMD 病情进展快速凶险, 尽早明确病原体对临床诊治及预后判断意义重大^[2]。本文通过回顾分析 2012 年 1~12 月江西省儿童医院收治的 211 例重症 HFMD 患儿病原体检测结果, 初步探讨江西地区重症 HFMD 病原学特征, 为重症 HFMD 的临床诊疗及预防提供有效参考, 现将结果总结如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1~12 月间, 于本院临床确诊重症患

儿(含危重症)211 例, 男 134 例, 女 77 例, 患儿年龄最小 3 个月, 最大 5 岁 8 个月, 平均年龄 1.86 岁, 其中好转及治愈出院 203 例, 死亡 8 例。所有病例均符合卫生部制定的《手足口病诊疗指南(2010 年版)》之重型或危重型诊断标准, 按出院诊断将其分为重型组(170 例)、危重型组(33 例)及死亡组(8 例)。

1.2 仪器与试剂 荧光定量 PCR 仪 ABI 7500, 美国应用生物系统公司生产; EV71、柯萨奇病毒 16 型(CA16)核酸检测试剂盒及质控品, 购自广州中山大学达安基因股份有限公司; RNA 提取试剂盒购自德国 QIAGEN 公司; 酶标仪 Thermo-MK3, 美国 Thermo 公司生产; 洗板机 DNX-9620, 北京普朗新技术有限公司生产; EV71 型 IgM 诊断试剂盒和质控品, 购自北京贝尔生物工程有限公司; CA16 型 IgM 抗体诊断试剂盒和

* 基金项目:江西省卫生厅重大公关计划(No. 20104013)。 作者简介:付晶晶, 女, 主管技师, 主要从事儿童疾病的基础及应用基础研究。

△ 通讯作者, E-mail: kjw0791@163.com。

质控品,购自北京万泰生物药业股份有限公司。

1.3 样本采集 当天采集患儿静脉血液标本及咽部拭子。血清 2 mL 分离后-20 ℃保存备用;咽部拭子用专用棉签适度拭抹患儿咽部后,将棉签放入有外螺旋盖并装有 3 mL 病毒保存液的无菌管中,-20 ℃保存备用。

1.4 统计学处理 计算阳性率,四格表资料应用 SPSS11.0 软件进行数据分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 年龄及性别分布[n(%)]

年龄(岁)	重型组			危重型组			死亡组			合计		
	男	女	小计	男	女	小计	男	女	小计	男	女	小计
0~1	14(6.6)	4(1.9)	18(8.5)	5(2.4)	0(0)	5(2.4)	1(0.5)	2(0.9)	3(1.4)	21(10.0)	6(2.8)	27(12.8)
>1~2	50(23.7)	36(17.1)	86(40.8)	15(7.1)	6(2.8)	21(10.0)	2(0.9)	1(0.5)	3(1.4)	67(31.8)	43(20.4)	110(52.1)
>2~3	32(15.2)	14(6.6)	46(21.8)	3(1.4)	3(1.4)	6(2.8)	1(0.5)	0(0.0)	1(0.5)	36(17.1)	17(8.1)	53(25.1)
>3~4	4(1.9)	8(3.8)	12(5.7)	0(0.0)	1(0.5)	1(0.5)	0(0.0)	1(0.5)	1(0.5)	4(1.9)	9(4.3)	13(6.2)
>4~5	6(2.8)	1(0.5)	7(3.3)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	6(2.8)	1(0.5)	7(3.3)
>5~6	1(0.5)	0(0.0)	1(0.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.5)	0(0.0)	1(0.5)
总计	107(50.7)	63(29.9)	170(80.6)	23(10.9)	10(4.7)	33(15.6)	4(1.9)	4(1.9)	8(3.8)	135(64.0)	76(36.0)	211(100.0)

2.2 月份分布情况 季重症 HFMD 发病率较低,12 月份达全年最低为 0 例;天气回暖后重症 HFMD 发病率开始明显上升,4 月份普通重症达 27 例,危重症达 5 例,2 例死亡;5 月份达各组均达全年最高峰,普通重症组 53 例,危重症组 10 例,另有 3 例死亡病例;之后重症 HFMD 发病率逐渐下降,到 9 月份仅有 7 例普通重症和 1 例危重症病例未见死亡病例,见图 1(见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。

2.3 实时定量 PCR 核酸检测和 ELISA 捕获法 IgM 抗体检测结果

2.3.1 核酸检测结果 211 例重症 HFMD 患儿中,EV71 RNA、EV RNA 双(+)的阳性率为 65.9%(139/211);CA16 RNA、EV RNA 双(+)的阳性率为 7.1%;非 EV71/CA16 肠道病毒通用型(EVU)的阳性率为 8.1%,3 项全阴占 19.0%。

2.3.2 IgM 抗体检测结果 211 重症 HFMD 患儿中,EV71-IgM(+)的阳性率为 62.6%;CA16-IgM(+)的阳性率为 6.2%,2 项全阴性占 31.3%。

2.3.3 核酸检测结果与 IgM 抗体结果比较 EV71 核酸检测与 EV71 IgM 抗体结果总符合率为 87.2%,一致性检验 $Kappa=0.722, P<0.01$,说明两方法一致程度较好,见表 2。CA16 核酸检测与 CA16 IgM 抗体结果总符合率为 97.6%,一致性检验 $Kappa=0.815, P<0.01$,说明两方法一致程度较好,见表 3。

表 2 EV71 RNA 检测与 EV71 IgM 抗体结果比较(n)

EV71 RNA 检测结果	EV71 IgM 检测结果		
	阳性	阴性	合计
阳性	122	17	139
阴性	10	62	72
合计	132	79	211

2.4 不同病原体感染情况 综合核酸检测和抗体检测结果,211 例重症 HFMD 患儿中,EV71 感染阳性率为 70.6%;CA16 为 8.1%;非 EV71/CA16 型 EVU 为 8.1%。不同病原体感染月份分布见图 2(见《国际检验医学杂志》网站“论文附件”)。除 12 月份外,全年均有重症 HFMD 发生,且以 EV71 感染为

2 结果

2.1 年龄及性别分布情况 在 211 例重症 HFMD 病例中,男性患儿 135 例占 63.0%,男女比为 1.78:1;年龄以 1~2 岁和 2~3 岁居多,分别为 52.1%和 25.1%;综合年龄和性别考虑,重症病例中 1~2 岁男性患儿所占比例最高,为 31.8%,见表 1。

主。随着气温升高,各组发病率开始攀升,至 5 月份各组感染率均达全年最高峰。

表 3 CA16 RNA 检测与 CA16 IgM 抗体结果比较(n)

CA16 RNA 检测结果	CA16 IgM 检测结果		
	阳性	阴性	合计
阳性	12	3	15
阴性	2	194	196
合计	14	197	211

3 讨论

重症 HFMD 患儿易发生无菌性脑膜炎、脑炎、神经源性肺水肿、肺出血等严重并发症,有较高的致残率和致死率^[3],近年备受医学和社会各界高度关注。2012 年本院收治 HFMD 患儿达 6 353 例,其中重症 HFMD 211 例。本研究结果显示,211 例重症 HFMD 患儿 EV71 感染率高达 70.6%,为本地区 2012 年度重症 HFMD 的主要病原体。这一数据较之 2011 年有大幅度提高^[4],这可能与研究人群有关,亦可能与当年疫情相关。研究证实^[6] EV71 病毒 VP1 基因编码的衣壳蛋白具有较强的嗜神经性,病毒进入易导致中枢神经系统并发症,严重病例甚至并发神经源性肺水肿、肺出血而致死。EV71 型重症 HFMD 病情进展快速,尽早明确病原体对病情诊治及预后判断至关重要。

HFMD 病原学有多种检测方法,其中病毒分离培养是诊断的金标准,但其操作复杂、耗时较长,不适于临床应用^[5]。实时定量 PCR 法核酸检测是 HFMD 的常用诊断方法,但其影响因素较多,实验要求较高,不易普遍开展。ELISA 捕获法检测 EV71、CA16 IgM 抗体是近年发展的 HFMD 检测方法^[6],因为操作简单快速,已在各级检验机构广泛应用。但需注意,IgM 抗体产生具有一定的动力学特性,据报道^[7],HFMD 病发第 1 天,IgM 抗体检出率仅为 53%左右,在病发第 5~7 天检出率才近 100%,故在 HFMD 病情早期阶段仅依靠 IgM 抗体检测可能会造成一定的漏诊,最好联合 PCR 法或过一定时间抽取双份血清检测更妥。本研究结果显示,在重症 HFMD 患儿标本检测中,ELISA 捕获法 IgM 抗体检测与(下转第 3028 页)

异有关。在本研究中,多重感染中双重感染居主要地位,不同年份变化不大,但高危型和低危型混合感染的比例逐年有所上升。

绝大多数女性一生至少感染了一种 HPV,但不同女性感染 HPV 的年龄有所差异,据 de Sanjose 等^[12]的研究显示: HPV 感染高峰在 34 岁之前,35~44 岁的 HPV 感染率随之降低,而对于大于 45 岁组,除亚洲外其他地区的感染率又有所增加。本研究显示:>20~30 岁为 HPV 感染主要年龄阶段,>40 岁的感染率没有增加,并且各年份差异不大,基本支持前人研究结果。

参考文献

[1] Steben M,Duarte-Franco E. Human papillomavirus infection;Epidemiology and pathophysiology[J]. Gynecol Oncol,2007,107(2 Suppl 1):S2-5.

[2] Clifford GM,Gallus S,Herrero R,et al. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys;A pooled analysis[J]. Lancet,2005,366(9490):991-998.

[3] Walboomers JM,Jacobs MV,Manos MM,et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide [J]. J Pathol,1999,189(1):12-19.

[4] Bosch FX,de Sanjose S. Human papillomavirus and cervical cancer-burden and assessment of causality[J]. JNCI Monographs,2003(31):3-13.

[5] Bosch FX,Lorincz A,Muoz N,et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer[J]. J Clin Pathol,2002,

55(4):244-265.

[6] Bosch FX,Manos MM,Muoz N,et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer;a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group[J]. J Natl Cancer Inst,1995,87(11):796-802.

[7] Kasap B,Yetimalar H,Keklik A,et al. Prevalence and risk factors for human papillomavirus DNA in cervical cytology[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol,2011,159(1):168-171.

[8] 罗慧琴,王志刚,李玲,等. 太原地区 HPV 感染基因型分布与不同年龄段的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(21):2602-2605.

[9] Clifford GM,Smith JS,Plummer M,et al. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide;a meta-analysis[J]. Br J Cancer,2003,88(1):63-73.

[10] Smith JS,Lindsay L,Hoots B,et al. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions;a meta-analysis update[J]. Int J Cancer,2007,121(3):621-632.

[11] Bachtiry B,Obermair A,Dreier B,et al. Impact of multiple HPV infection on response to treatment and survival in patients receiving radical radiotherapy for cervical cancer[J]. Int J Cancer,2002,102(3):237-243.

[12] de Sanjose S,Diaz M,Castellsagué X,et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology;a meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis,2007,7(7):453-459.

(收稿日期:2013-05-08)

(上接第 3025 页)

PCR 核酸检测具有较好的一致性,这可能与重症 HFMD 患儿病程较长,抗体产生时间充裕有关。在临床明确诊断但 PCR 核酸检测全阴的重症 HFMD 病例中,有 10 例 EV71 IgM 阳性和 2 例 CA16 IgM 阳性病例,这可能与临床用药干扰病毒复制周期造成 PCR 扩增反应抑制有关^[9]。同时也有 17 例 EV71 核酸阳性和 3 例 CA16 核酸阳性但 IgM 抗体阴性病例,可能与抗体产生的个体差异性有关或与试剂的反应性相关。因此有条件的实验室可以联合 IgM 抗体和 PCR 核酸检测,将更有助于重症 HFMD 的早期诊断。值得注意的是,本研究中有 40 例 EV71、CA16 及 EVU 检测全阴重症 HFMD 病例,分析原因有以下可能:其他类型肠道病毒感染;病毒变异;感染早期的假阴性。确切原因值得进一步研究。

本研究结果显示,211 重症 HFMD 患儿中男性达 63.0%,男女发病比例为 1.78:1,其中又以 1~2 岁男性患儿比例最高,达 31.8%。重症 HFMD 的好发季节为春夏季节,5 月份普通重症、危重症及死亡 HFMD 病例均达全年最高峰,这些流行病学特点与其他报道相同或相似^[8-9]。

综上所述,2012 年江西地区重症 HFMD 主要病原体为 EV71,2 岁以下男性儿童为重症 HFMD 的高危人群。EV71、CA16 IgM 抗体检测具有良好的灵敏度和特异性,在重症 HFMD 诊断中具有重要意义。PCR 核酸联合 EV71、CA16 IgM 抗体检测,更有助于重症 HFMD 的早期诊断。

参考文献

[1] Tu PV, Thao NT,Perera D,et al. Epidemiologic and virologic in-

vestigation of hand,foot,and mouth disease[J]. Emerg Infect Dis,2007,13(11):1733-1741.

[2] 杜曾庆,吴茜,王美芬,等. 重症手足口病 135 例临床治疗及分析[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2010,4(6):15.

[3] 曾枚,王建设. 重视手足口病的病原学及临床研究[J]. 中华传染病杂志,2012,30(4):193-194.

[4] Liu MY,Liu W, Luo J, et al. Characterization of an outbreak of hand,foot, and mouth disease in nanchang, China in 2010[J]. PLoS One,2011,6(9):e25287.

[5] Chang LY,Huang LM,Gau SS,et al. Neurodevelopment and cognition in children after enterovirus 71 infection[J]. N Engl Med,2007,356(12):1226-1234.

[6] 张颖,盖中涛. 手足口病研究进展[J]. 山东医药,2008,48(17):113-114.

[7] Yu N, Guo M,He SJ, et al. Evaluation of human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 specific immunoglobulin M antibodies for diagnosis of hand foot and mouth disease[J]. Virol J,2012,9:12.

[8] 杨晓红,吴茜,温柏平,等. 2010 年昆明地区儿童手足口病的流行特征[J]. 中国当代儿科杂志,2012,14(3):192-194.

[9] 葛艳玲,夏爱梅,姚玮蕾,等. 2010 年至 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.

(收稿日期:2013-06-12)