

• 论 著 •

2014 年昆明某三甲医院手足口病病原及流行特征分析*

王 杨, 李 铮, 曹向红, 付晓野, 高 辉[△], 赵思涵

(昆明市延安医院检验科, 云南昆明 650051)

摘要:目的 对 2014 年昆明市延安医院就诊的手足口病(HFMD)病例进行回顾性分析总结, 了解其病原分布及流行病学特点。方法 应用实时荧光定量 PCR 对 130 例手足口病临床诊断病例的粪便标本进行病毒核酸检测, 并对其年龄分布特点、季节分布情况进行分析。结果 非重复性的 130 例临床诊断病例中, 病原阳性检出 79 例, 总阳性率为 62.2%, 其中 EV71 占检出病原的 5.1%(4/79), CA16 占检出病原的 17.7%(14/79), 其他型占 77.2%(61/79)。4 个年龄组中, 1~3 岁组和 3~6 岁组高于 0~1 岁、>6 岁组, 4 个年龄组间阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。5~7 月为 HFMD 发病高峰期, 在全年发病例数及全年阳性检出例数的构成比中均为最高, 8 月开始发病例数有减少趋势, 但 12 月又有所增加。结论 手足口病 5~7 月为发病高峰期, 以 6 月为最高; 发病率以幼儿及学龄前儿童(2~6 岁)为最高。

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.1673-4130.2016.01.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)01-0008-03

Analysis on etiology and epidemiological characteristics of hand-foot-mouth disease
in a class 3A hospital in Kunming during 2014*

Wang Yang, Li Zheng, Cao Xianghong, Fu Xiaoye, Gao Hui[△], Zhao Sihan

(Department of Clinical Laboratory, Kunming Yanan Hospital, Kunming, Yunnan 650051, China)

Abstract: **Objective** To retrospectively analyze and summarize the children cases of hand, foot and mouth disease(HFMD) in our hospital during 2014 for understanding its etiological distribution and epidemiological characteristics. **Methods** The stool samples in children cases of clinically diagnosed HFMD were collected and performed the viral nucleic acid detection. The age distribution characteristics, season distribution situation were analyzed. **Results** Among 130 cases of non-repetitively clinically diagnosed HFMD, the pathogen positive detection was in 79 cases with the total positive rate of 62.2%, in which EV71 accounted for 5.1%(4/79) of detected pathogens, CA16 accounted for 17.7%(14/79) and the other types accounted for 77.2%(61/79). In 4 age groups, the positive detection rate in the 1—3 years old group and the 3—6 years old group was higher than that in the 0—1 years old group and the >6 years old group, the positive detection rate had statistical difference among 4 age groups($P < 0.05$). May to July was the peak period of HFMD onset, its constituent ratio to the full year onset cases and full year positive detection cases was highest. The onset cases number of HFMD began to reduce in August, but it increased again in December. **Conclusion** May to July is the peak period of HFMD onset, especially in June. The incidence rate of HFMD is highest in infants and preschool children (2—6 years old).

Key words: hand-foot-mouth disease; enterovirus type 71; Coxsackie virus A16

手足口病(hand-foot-and-mouth disease, HFMD)是由多种肠道病毒(enteroviruses, EV)引起的一种常见传染病,病毒类型有 20 多种,其中肠道病毒 71 型(EV71)和柯萨奇病毒 A16 型(CoxA16)为最主要的病原体^[1]。手足口病严重威胁儿童健康,近年来,其发病例数更是高居丙类传染病之首。本文采用实时荧光定量聚合酶链反应法(real time quantitative PCR, RT-PCR)对送检标本进行病毒核酸分型检测,并将病原构成、年龄分布情况及季节流行特点等资料进行汇总分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 非重复的 HFMD 临床诊断病例 130 例,男 75 例,女 55 例,最小的 5 月龄,最大 11 岁。来源于 2014 年 1 月至 2014 年 12 月期间于昆明市延安医院就诊的门诊及住院

患者。诊断标准参考《手足口病预防控制指南(2010 年版)》。

1.2 仪器与试剂 仪器:ABI StepOne 实时荧光定量 PCR 仪;试剂:中山大学达安基因有限公司提供的肠道病毒通用型(EV)、EV71 型和 CoxA16 型 RT-PCR 检测试剂盒。

1.3 方法

1.3.1 标本采集与保存 采集患者发病 3 日内的粪便样本(5~8 g/份),采集后立即放入无菌采集管内。标本可立即用于测试,也可保存于一 20 ℃待测。

1.3.2 样本处理与 RNA 提取 水样粪便样本混匀后备用;较干粪便样本加入适量生理盐水充分混匀后备用。在 1.5 mL 的无菌离心管内加入 50 μL 的蛋白酶 K;取 200 μL 样品加入离心管中;再加入 200 μL 裂解工作液,盖紧管盖,漩涡振荡 15 s,高速离心 10 s,72 ℃ 10 min,然后加入 250 μL 乙醇,盖紧

* 基金项目:云南省应用基础研究项目(2014FB080) 作者简介:王杨,女,副主任医师,主要从事分子生物学检验研究。 [△] 通讯作者, E-mail: kathy7227@sina.com。

管盖,漩涡振荡 15 s;将混合液全部吸至离心柱,室温下 12 000×g 离心 1 min,将离心柱装至新的收集管;将 500 μL 抑制物去除液加入离心柱,室温下 12 000×g 离心 1 min,将离心柱装至新的收集管;再次将 500 μL 抑制物去除液加入离心柱,室温下 12 000×g 离心 1 min,将离心柱装至新的收集管;将离心柱-收集管于室温下 14 000 g 离心 3 min;将离心柱取出,放置于新 1.5 mL 离心管,打开离心柱盖子,72 ℃ 放置 2 min 以除去残余的乙醇;在离心柱膜的正上方加入 72 ℃ 预热的洗脱液 50 μL,盖紧管盖,室温静置 1 min,14 000×g 离心 1 min,离心管内即为核酸溶液,可用于检测。

1.3.3 PCR 扩增 取 N 个(N=阴性质控品+待测样本+阳性质控品)PCR 反应管,每管分别加入 RT-PCR 反应液 15 μL、逆转录酶系 2 μL、Taq 酶系 3 μL,于上述 PCR 管中分别加入处理后的阴性质控品、待测样本核酸溶液、阳性质控品 5 μL,3 000 r/min 离心 30 s,放入 PCR 扩增仪。热循环参数为 40 ℃ 25 min,1 个循环;94 ℃ 3 min,1 个循环;93 ℃ 15 s,55 ℃ 45 s,40 个循环。

1.3.4 结果判断 每次实验均检测阴性质控品和阳性质控品,质控品结果满足质量控制要求时方进行检测结果的判定。阳性结果判定标准:扩增曲线呈典型 S 型扩增曲线,且 Ct 值小于或等于 34.8。阴性结果判定标准:无典型 S 型扩增曲线或 Ct 值大于 34.8。

1.4 统计学处理 本研究数据用 SPSS 17.0 软件统计,组间阳性率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HFMD 肠道病原及年龄分布情况 2014 年 130 例非重

复性临床诊断病例中,检出 EV 阳性 79 例,其中 EV71 4 例,CA16 14 例,其他型 61 例,阳性率分别为 3.1%、10.8%、46.9%。0~1 岁组阳性率为 41.4%;1~3 岁组、3~6 岁组阳性率分别为 69.1%、67.5%;>6 岁组阳性率为 33.3%。4 个年龄组中,1~3 岁组和 3~6 岁组高于 0~1 岁、>6 岁组,4 个年龄组间阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。各年龄组病原感染阳性率见表 1。

| 表 1 各年龄组病原检测阳性构成情况[n(%)] | | | | | |
|--------------------------|-----|----------|--------|----------|----------|
| 年龄 | n | CA16 | EV71 | 其他型肠道病毒 | 未检出 |
| 0~1 | 29 | 1(3.4) | 1(3.4) | 10(34.4) | 17(58.6) |
| 1~3 | 55 | 6(10.9) | 3(5.5) | 29(52.7) | 17(30.9) |
| 3~6 | 40 | 7(17.5) | 0(0.0) | 20(50.0) | 13(32.5) |
| >6 | 6 | 0(0.0) | 0(0.0) | 2(33.3) | 4(66.7) |
| 合计 | 130 | 14(10.8) | 4(3.1) | 61(46.9) | 51(39.2) |

$\chi^2=8.826,P=0.03$ 。

2.2 HFMD 的流行季节分布特点 2014 年本院非重复性手足口病临床诊断病例 130 例中,5 月、6 月和 7 月发病例数最多,在全年发病例数构成比中分别占 16.9%、26.9%和 20.0%,8 月起发病例数有减少趋势,但 12 月又出现升高。另从 EV 检测的阳性例数来看,5~7 月的阳性例数在全年阳性检出总数中也是最多,分别占 12.7%、32.9%和 20.2%。8 月开始阳性检出例数减少,12 月又有所增加。各月份发病例数及 EV 阳性检出例数在全年中的构成情况见表 2。

| 表 2 各月份发病例数及阳性检出例数的构成情况[n(%)] | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|----------|----------|----------|---------|--------|--------|--------|----------|----------|
| 项目 | 1 月 | 2 月 | 3 月 | 4 月 | 5 月 | 6 月 | 7 月 | 8 月 | 9 月 | 10 月 | 11 月 | 12 月 | 合计 |
| 发病例数 | 1(0.8) | 1(0.8) | 3(2.3) | 3(2.3) | 22(16.9) | 35(26.9) | 26(20.0) | 10(7.7) | 4(3.1) | 5(3.8) | 6(4.6) | 14(10.8) | 130(0.0) |
| EV 阳性 | 0(0) | 1(1.2) | 0(0) | 0(0) | 10(12.7) | 26(32.9) | 16(20.2) | 3(3.8) | 2(2.5) | 4(5.0) | 5(6.3) | 12(15.2) | 79(0.0) |

3 讨 论

HFMD 是由多种肠道病毒感染引起的丙类传染病,其中 EV71 与 CA16 为其主要病原体,不同地区的病原流行情况有一定的差异。山东济南的研究者发现,138 例重症 HFMD 病例中,阳性检出率为 95.65%,其中 EV71 占 86.36%;CA16 占 6.52%,其他型占 6.52%^[2]。武汉阳逻地区研究表明,2008 至 2011 年 EV71 型的比例逐年增加,至 2011 年达高峰^[3]。昆明地区 2010~2012 年研究报告,病原体以 EV71 型(44.0%)和 CA16 型(41.0%)为主^[4]。浙江宁波报道 2008~2013 年 EV71 阳性率呈现下降趋势,其他肠道病毒阳性率呈增长趋势^[5]。

本院于 2014 年收治的 HFMD 临床诊断病例 130 例中,肠道病毒阳性检出 79 例,阳性率为(62.2%),其中 EV71 占检出病原的 5.1%(4/79),CA16 占检出病原的 17.7%(14/79),其他型占 77.2%(61/79)。基于以上病例进行的流行病学调查结果显示,其他型肠道病毒才是 HFMD 的主要病原,而 CA16 及 EV71 所占比例不高。此结果与上述山东、武汉、昆明的报道存在较大差异,而与浙江宁波报道的 HFMD 病原变化趋势

有相似之处。原因可能是以下 3 点:(1)地区差异;(2)本组数据只统计了 2014 年度本院的 HEMD 临床诊断病例及检测情况,标本量较少,代表性有限;(3)或许是近年病原构成发生了变化。为此,将继续跟进研究以验证病原构成情况。

国内同行前期研究成果表明,HFMD 有一定的季节性流行特点,其发病数与温度及湿度呈正相关。如郑州地区 HFMD 流行集中于 3~7 月份,4~5 月份达到高峰^[7]。浙江苍南县发病高峰 3 月份开始,至 7 月份下降^[6]。在北京,高温多雨的夏季是 HFMD 的高发季节^[8]。

但在本研究中却得出了与上述地区有所不同的结果。此次研究显示,5~7 月为 HFMD 的发病高峰期,发病例数及阳性例数在全年构成比中均最高,尤以 6 月份为最。8 月开始病例数有减少趋势,但到 12 月又有所增加,1~3 月发病率降至全年最低。昆明地区的 HFMD 在夏、冬两季出现 2 次流行,这主要是和昆明的地理及气候因素有关。昆明位于云贵高原,海拔近 2 000 米,所处纬度较低,属于典型的亚热带低纬高原山地季风气候。夏季盛行湿润的海洋季风,冬季盛行干燥的大陆季风。夏无酷暑,冬无严寒,气候呈现四季如春的鲜明特色,其

温暖湿润的环境正好适合肠道病毒的生存与传播。

同时, HFMD 有显著的年龄分布特点。北京地区的患者主要集中在 10 岁以下儿童, 其中 5 岁以下发病最多, 其次为 5~9 岁年龄段^[9]。浙江丽水的患者以学龄前为主, 主要集中在 0~5 岁, 以 1 岁组发病最高^[10]。贵州毕节的 HFMD 病例中, 0~6 岁患儿占 92.94%, 而 3 岁及以下的幼儿占 66.37%^[11]。昆明的 HFMD 患者 39.46% 为婴幼儿, 7 岁以下儿童占 97.90%^[12]。

本组资料分析显示, 在该病流行期间, 2~3 岁组及 4~6 岁组的发病例数和阳性检出率都较高, 阳性率分别为 69.1%、67.5%, 反映出幼儿与学龄前儿童更易感染该病。这与本地区手足口病流行病学的相关文献报道相符^[12-13]。造成手足口病易感年龄分布这一特点的原因可能是: 一方面, 幼儿的抵抗力相对较弱; 另一方面, 这两个年龄段的儿童多集中于幼儿园, 容易发生相互交叉传染。

近年来, 手足口病的发病率呈现上升趋势, 应密切监控其病原及流行情况的进展变化。为了儿童的健康, 相关机构要积极开展健康宣传教育与防治, 改善环境卫生状况, 及时发现疫情并隔离; 家长要在 HFMD 流行季节, 尽量避免带幼儿到人群密集、空气不流通的公共场所活动。

参考文献

[1] WHO Regional Office for the Western Pacific. A guide to clinical management and public health response for hand, foot and mouth disease (HFMD)[M]. Geneva: WHO, 2011.

[2] 王春荣, 关恒云, 韩秀云, 等. 2009~2013 年济南地区重症手足口病病原学及流行病学分析[J]. 实用预防医学, 2015, 22(1): 60-62.

(上接第 7 页)

生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南[J]. 中华内科杂志, 2004, 43(7): 551-555.

[2] 杨成民, 李家增, 季阳. 基础输血学[M]. 北京: 中国科学技术出版社出版, 2001: 420.

[3] 蔡贤莉. 输血后丙型肝炎临床分析[J]. 实用医技杂志, 2007, 6(1): 30.

[4] Kolk DP, Dockter J, Linnen J, et al. Significant closure of the human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus presero-conversion detection windows with a transcription-mediated-amplification-driven assay[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(5): 1761-1766.

[5] 中华人民共和国卫生部, 联合国艾滋病中国专题组[J]. 中国艾滋病防治联合评估报告, 2003 年 12 月.

[6] 郑锡文. 我国艾滋病流行形势及预防与控制成就[J]. 中华流行病学杂志, 1999, 20(3): 131-133.

[7] 刘淑贞. 经输血/血制品传播 HIV 的研究进展[J]. 国外医学病毒学分册, 2000, 7(2): 134-136.

[8] 王建华, 储红颖. 既往有无偿献血者四项传染性标志物感染情况分析[J]. 临床输血与检验, 2006, 8(4): 304-305.

[9] Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfection patients[J]. Hepatology, 1999, 30(10): 1054-1058.

[3] 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): 188-233.

[4] 王明英, 王美芬. 昆明地区儿童手足口病 28685 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.

[5] 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.

[6] 朱善冰, 项方吕. 手足口病疫情与气象因素的多重线性回归分析[J]. 浙江预防医学, 2013, 25(1): 37-55.

[7] 冯慧芬, 赵秋民, 段广才, 等. 应用时间序列分析气象因素对手足口病流行的影响[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2015, 50(2): 171-176.

[8] 韦懿芸. 向量自回归模型在手足口病发病与气象因素的动态分析中的应用[J]. 中国卫生统计, 2013, 30(6): 794-797.

[9] 杨珊珊. 北京市广外地区 2006~2013 年手足口病流行特征及季节性分析[J]. 中国处方药, 2008, 13(1): 78-79.

[10] 叶建武, 张德勇, 周永源, 等. 莲都区 2010~2013 年手足口病流行特征分析[J]. 浙江预防医学, 2015, 27(3): 283-288.

[11] 谢榜元. 贵州省毕节市 2008~2013 年手足口病流行病学特征分析[J]. 现代医药卫生, 2015, 31(1): 48-50.

[12] 王明英, 周玲, 黄荣卫, 等. 昆明地区 4508 例儿童手足口病临床流行病学分析[J]. 皮肤病与性病, 2014, 36(2): 83-84.

[13] 吴茜, 温柏平, 杜曾庆, 等. 2009 至 2010 年昆明儿童手足口病病原及流行特点分析[J]. 中国小儿急救医学, 2012, 19(5): 529-530.

(收稿日期: 2015-07-18)

[10] 小池和彦. AIDS/HIV-1 感染和病毒性肝炎[J]. 日本医学介绍, 2006, 27(1): 13-14.

[11] Soriano V, Sulkowski M, Bergin C, et al. Care of patients with chronic hepatitis C and HIV co-infection: recommendation from the HIV-HCV International Panel[J]. AIDS, 2002, 16(8): 813-828.

[12] Pol S, Vallet-Pritchard A, Fontaine H. Hepatitis C and human immune deficiency confection at the era of highly active antiretroviral therapy[J]. Viral Hepatitis, 2002, 9(1): 1-8.

[13] rena Maier, George YW. Hepatitis C and HIV co-infection: a review[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(4): 577-579.

[14] 罗端德. 传染病讲座[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 114-122.

[15] Sherman K, Roustrer S, Chung R, et al. Hepatitis C: prevalence in HIV-infected patients across sectional analysis of the US ACTG[J]. Antiviral Ther, 2000, 5(Suppl 1): 64-65.

[16] Hagan H, Thiede H. Sharing of drug preparation equipment as a risk factor for hepatitis[J]. C Am J Public Health, 2001, 91(1): 42-46.

[17] 张永宏, 陈新月, 吴昊, 等. HIV/HCV 重叠感染患者病情进展的相关因素研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2004, 20(1): 16-18.

(收稿日期: 2015-07-28)