

• 论 著 •

肠道病毒核酸与抗体联合检测在手足口病诊断中的应用价值研究

郭慧娟¹, 莫莉², 黄炳坤²

(1. 广东省深圳市龙华区人民医院检验科 518109; 2. 广东省深圳市福田区中医院检验科 518034)

摘要:目的 探讨肠道病毒 71 型(EV71)核酸与抗体联合检测在手足口病诊断中的应用价值。方法 于 2015 年 1—11 月, 将 108 例疑似手足口病患儿随机分为核酸检测组、抗体检测组和联合检测组, 每组各 36 例。疱疹破裂渗出液病毒核酸检测采用逆转录聚合酶链反应法, 血清病毒抗体检测采用酶联免疫吸附法, 分析各组及不同症状患儿检测阳性率。结果 核酸检测组阳性率最高(80.55%), 抗体检测组阳性率最低(47.22%)。不同症状患儿中, 皮疹患儿核酸、抗体及联合检测阳性率最高。结论 EV71 病毒核酸及抗体联合检测可避免核酸单独检测阳性结果和抗体单独检测假阴性结果, 有助于提高手足口病的诊断准确率。

关键词: 肠道病毒; 核酸; 抗体; 手足口病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.11.017

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)11-1488-03

Application value of combined detection of virus nucleic acid and antibody in HFMD

GUO Huijuan¹, MO Li², HUANG Bingkun²

(1. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Longhua New District, Shenzhen, Guangdong 518109, China;

2. Department of Laboratory Medicine, Traditional Chinese Medicine Hospital of Futian District, Shenzhen, Guangdong 518034, China)

Abstract: Objective To investigate the application value of combined detection of enterovirus 71 type(EV71) nucleic acid and antibody in diagnosis of hand-foot-mouth disease(HFMD). **Methods** From Jan. to Nov. 2015, a total of 180 children with suspected HFMD were divided into nucleic acid detection group, antibody detection group and combined detection group, with 36 subjects for each group. Viral nucleic acid was detected by using reverse transcription polymerase chain reaction. Antibody was detected by using enzyme linked immunosorbent assay. All detected results were analyzed. **Results** The positive rate of nucleic acid detection group was the highest(80.55%), while that of antibody detection group was the lowest(47.22%). Among various symptoms, the positive rates of nucleic acid, antibody and combined detection in subjects with skin rash were the highest. **Conclusion** Combined detection of EV71 nucleic acid and antibody could avoid the false positive result of nucleic acid detection and false negative result of antibody detection, thus could be helpful for increasing diagnostic accuracy rate of HFMD.

Key words: Enterovirus; nucleic acid; antibody; hand-foot-mouth disease

手足口病是儿科疾病中发病率较高的感染性疾病之一。20 余种病毒感染可导致手足口病, 以肠道病毒 71 型(EV71)最为常见, 对 5 岁以下儿童的感染损伤较为严重, 主要表现为口腔黏膜疱疹、溃疡, 手足皮疹, 发热及手足抖动等^[1-2]。80% 的手足口病患儿无明显症状或体征, 但可作为传染源播撒病毒^[3]。手足口病可通过粪-口直接或间接接触方式传播^[4]。诊治及时, 手足口病患儿发病 5~7 d 后逐渐康复; 若未进行及时诊治, 患儿可出现多种继发证, 如肺水肿、心肌炎、脑水肿等, 加重了疾病损伤, 严重时可导致患儿死亡^[5]。常用的手足口病诊断方法包括基于症状的经验性诊断、病毒抗体检测等, 早期确诊率不高, 易导致病情延误或误诊^[6]。逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)可用于病毒核酸检测, 但对检测人员素质及实验条件要求较高, 也有出现假阳性结果的风险, 影响了检测结果准确性^[7]。本研究分析了病毒核酸与抗体联合检测在手足口病诊断中的应用价值, 旨在提高疾病确诊率。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2015 年 1—11 月于笔者所在医院诊治的手足口病疑似患儿 108 例, 分为核酸检测组、抗体检测组和联合检测组, 各组患儿疾病情况及临床症状分布见表 1、2。3 组患

儿基本资料及临床症状分布差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 各组别患儿基本资料

组别	n	女性患儿 占比(%)	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	发病时间 (d, $\bar{x} \pm s$)
核酸检测组	36	33.33	5.2 ± 1.78	3.2 ± 0.50
抗体检测组	36	50.00	4.9 ± 1.97	4.0 ± 0.34
联合检测组	36	33.33	5.3 ± 2.11	3.13 ± 0.78

表 2 各组别患儿临床症状分布(%)

组别	发热	皮疹	手足抖动	继发肺水肿或心肌炎
核酸检测组	100.00	88.89	77.78	2.80
抗体检测组	100.00	91.67	80.56	5.56
联合检测组	100.00	91.67	77.78	8.33

1.2 方法 所有患儿均接受血常规分析、X 线胸片及心电图等常规检查, 排查有无继发感染。以无菌棉拭子采集患儿咽部破裂的疱疹液, 3 mL 无菌生理盐水保存, 2 h 内进行病毒核酸检测。首先对棉拭子溶解液进行离心(3 000 r/min 离心 10

min), 弃上清液, 采用 Qiagen 公司 RNA 抽提试剂盒提取沉淀中的 RNA, 采用达安基因股份有限公司荧光定量 PCR 检测试剂盒进行 EV71 病毒核酸 RT-PCR 检测。以真空干燥管采集患儿外周静脉血 3 mL, 待血液完全凝固后, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清标本, 采用北京中杉金桥生物技术有限公司鼠抗人 EV71 抗体和北京万泰公司酶联免疫吸附法 (ELISA) 试剂盒进行 EV71 病毒抗体检测。所有操作均按试剂及仪器说明书进行。病毒核酸和抗体联合检测同时为阳性时, 判为联合检测阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理和分析。计数资料以百分率表示, 组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

表 3 不同症状及继发性患儿 EV71 核酸及抗体检测结果

组别	发热		皮疹		手足抖动		继发肺水肿或心肌炎	
	例数(n)	阳性率(%)	例数(n)	阳性率(%)	例数(n)	阳性率(%)	例数(n)	阳性率(%)
核酸检测组	36	61.11	32	90.63	28	92.00	1	100.00
抗体检测组	36	47.22	33	84.85	29	79.31	2	100.00
联合检测组	36	55.56	33	87.88	28	89.29	3	100.00

3 讨 论

手足口病是儿童常见病, 好发于免疫力低下的婴幼儿, 传播途径包括粪-口传播和空气传播, 患儿皮肤出现疱疹时, 破裂水泡的渗出液可引起接触性传播^[8-9]。目前已发现 20 多种病毒可导致手足口病, 主要为肠道病毒, 其中以 EV71 和科萨奇病毒 16 型最为常见。手足口病患儿主要表现为发热、皮肤疱疹, 以及呼吸道、口腔黏膜水泡, 可出现脑膜炎、神经源性肺水肿等并发症, 严重时危及患儿生命^[9-11]。鉴于手足口病传播范围广, 危害较大, 中国于 2008 年将其列为丙类传染病^[12]。目前尚无可用于预防手足口病的特效疫苗, 切断病毒传播途径、加强消毒是预防疾病传染的主要方法, 早期诊断则有助于降低患儿病死率。手足口病潜伏期较长, 多数患儿缺乏明显症状, 但仍可传播病毒, 因此给疾病预防和隔离治疗带来了很大的困难。与此同时, 不同亚型的手足口病致病病毒之间无交叉免疫性, 更加大了患儿诊治的困难^[13]。

近年来, 为强化手足口病的预防和诊断, 国内要求对幼儿集中地(如幼儿园、小学)进行严格的定期消毒, 并确保儿童保持良好的卫生习惯, 以避免手足口病的传播^[14-15]。手足口病实验室诊断方法以病毒核酸 RT-PCR 检测和抗体检测为主。但是, RT-PCR 检测对试剂和仪器条件要求较高, 病毒分离及 RNA 提取较为困难, 因此在基层医院应用受限。此外, RT-PCR 检测假阳性结果的出现, 则降低了疾病的诊断准确率^[16]。为降低检测成本及提高检测准确率, ELISA 法抗体检测应用范围更广。ELISA 法检测对试剂和仪器的要求较低, 操作更为简便, 适合在基层医院开展。但 ELISA 法检测特异度相对较低, 易出现假阴性结果, 不利于疾病的早期诊治^[17]。

本研究分析了 EV71 病毒核酸与抗体联合检测在手足口病诊断中的应用价值。结果显示, 联合检测不仅可以避免核酸单独检测存在的假阳性结果, 也有助于避免病毒抗体单独检测存在的假阴性结果, 在提高诊断准确率的同时, 有利于实现疾病的早期诊治, 避免病情延误。病毒核酸检测、病毒抗体检测和联合检测阳性率, 以及不同症状患儿检测结果显示, 联合检

2 结 果

2.1 各组别患儿检测阳性率 核酸检测组、抗体检测组和联合检测组检测阳性率分别为 80.55%、47.22%、55.56%, 各組间检测阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 核酸检测组阳性率最高, 抗体检测组阳性率最低, 联合检测组阳性率处于核酸检测组和抗体检测组之间。

2.2 不同症状患儿检测阳性率 不同症状患儿检测阳性率有所差异, 皮疹患儿核酸检测、抗体检测及联合检测阳性率高于发热及手足抖动患儿($P < 0.05$), 发热患儿核酸检测、抗体检测及联合检测阳性率最低。患儿继发肺水肿或心肌炎时, 核酸检测、抗体检测和联合检测阳性率均为 100.00%。不同症状及继发性患儿检测阳性率见表 3。

测结果与患儿病症表现相吻合, 说明联合检测对患儿的诊断较为准确。此外, 手足口病致病病毒核酸与抗体联合检测可有效提高缺乏明显症状的患儿确诊率。

参考文献

- [1] 徐大鹏, 刘建荣, 宋淑娥, 等. 实时荧光 PCR 技术在手足口病病毒核酸检测中的应用[J]. 首都公共卫生, 2010, 4(6): 243-245.
- [2] 戴光跃. 肠道病毒核酸检测在儿童手足口病诊断应用价值[J]. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊), 2015, 15(27): 172-173.
- [3] 杜阳光, 杨晋川, 晏嘉璐, 等. 血清中 EV71 型 IgM 抗体检测对手足口病诊断的意义[J]. 中华全科医学, 2011, 9(10): 1574-1575.
- [4] 商新梅, 商慧, 周安仁, 等. 982 例手足口病患者 EV71-IgM 抗体检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(9): 1169-1171.
- [5] 彭兰芬, 张少丰, 付文金, 等. 肠病毒 EV71-IgM 抗体与核酸检测在手足口病诊断中的价值[J]. 中国热带医学, 2011, 11(3): 274-275.
- [6] 谢靖婧. 肠道病毒 71 型手足口病血清学 ELISA 诊断试剂盒制备和初步评价[D]. 衡阳: 南华大学, 2010.
- [7] 唐彦. 手足口病常见病原体的实验室诊断方法建立和初步临床应用[D]. 北京: 军医进修学院, 2011.
- [8] Sinha DP, Raut CG, Jayaprakash H, et al. Molecular diagnosis of enteroviruses associated with Hand, Foot and Mouth Disease (HFMD) [J]. Indian J Pediatr, 2014, 81(11): 1242-1245.
- [9] Tang JH, Chan TC, Shigematsu M, et al. Latitude-based approach for detecting aberrations of hand, foot, and mouth disease epidemics [J]. BMC Med Inform Decis Mak, 2015, 15(2): 113-117.

反应为主,伴随大量的免疫细胞、抗体及免疫因子的参与^[13]。本研究结果显示,碘过量与碘缺乏孕妇 TPOAb 阳性率高于碘适量孕妇($P < 0.05$),即尿碘增加和减少均可导致 TPOAb 阳性率增高,与类似研究报道一致^[14-15]。另有研究分析了山东沿海地区居民桥本甲状腺炎患病率与尿碘水平的关系,结果显示,尿碘水平越高,AITD 患病率随之增加^[16]。总之,碘营养状态与 AITD 密切相关。温小恒等^[17]研究显示,随着女性人群年龄升高,TPOAb 阳性率亦逐渐升高。本研究显示,25 岁以下及 40 岁以上孕妇,TPOAb 阳性率较高,AITD 发病风险较大。因此,对高龄及低龄孕妇进行 TPOAb 筛查较为重要。

处于不同孕期的孕妇尿碘水平变化各异,且单次尿碘检测存在一定的局限性,不能区分短期和持续性碘缺乏或碘过量。短期碘摄入不足或过量,机体可以代偿,若持续处于碘缺乏或碘过量状态,则可能导致甲状腺功能紊乱,甚至诱发甲状腺疾病。因此,有必要对孕妇进行尿碘水平动态监测,给予甲状腺疾病高风险孕妇合理的早期干预,减少甲状腺疾病的发生,从而保证孕妇及胎儿健康。

参考文献

- [1] WHO/UNICEF/ICCIDD. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination[R]. 3rd ed. Geneva, Switzerland; World Health Organization, 2007.
- [2] 凌文辉. 珠海地区 2013 年孕妇尿碘检测结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(12): 1680-1681.
- [3] Stagnaro-Green A, Abalovich M, Alexander E, et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and postpartum[J]. Thyroid, 2011, 21(16): 1081-1125.
- [4] 高倩倩, 孙丹丹, 赵岩, 等. 妊娠早期孕妇母体碘营养与甲状腺功能异常的初步研究[J]. 中国医科大学学报, 2013, 42(4): 330-333.
- [5] 薛海波, 李元宾, 滕卫平, 等. 妊娠早期母亲亚临床甲状腺功能减退症对其后代脑发育影响的前瞻性研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2010, 26(10): 916-920.
- [6] 滕卫平. 再论碘摄入量增加对甲状腺疾病的影响[J]. 中

华内分泌代谢杂志, 2001, 17(2): 69-70.

- [7] 陈威, 范晨玲, 单忠艳, 等. 慢性碘过量对 Wistar 大鼠甲状腺细胞死亡及细胞周期的影响[J]. 中国医科大学学报, 2009, 38(11): 801-803.
- [8] 刘伟旗, 刘伟玲, 黎志全, 等. 妊娠女性尿碘和超氧化物歧化物与甲状腺激素的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(6): 769-770, 827.
- [9] 李晨嫣, 单忠艳. 妊娠期碘营养与甲状腺功能[J]. 中华地方病学杂志, 2016, 35(3): 161-165.
- [10] Latrofa F, Fiore E, Rago T, et al. Iodine contributes to thyroid autoimmunity in humans by unmasking a cryptic epitope on thyroglobulin[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2013, 16(11): 1768-1774.
- [11] Shi L, Bi M, Yang R, et al. Defective expression of regulatory B cells in iodine induced autoimmune thyroiditis in nonobese diabetic H2(h4) mice[J]. J Endocrinol Invest, 2014, 19(1): 43-50.
- [12] 金迎, 滕卫平, 苑柏, 等. Graves 病多发家系成员甲状腺自身免疫状况及碘摄入量对其发病率的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2001, 17(2): 79-83.
- [13] Stagnaro-Green A. Approach to the patient with postpartum thyroiditis[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2012, 15(2): 334-342.
- [14] 史晓光, 韩成, 李晨嫣, 等. 妊娠早期妇女甲状腺自身抗体分析[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2016, 32(5): 376-379.
- [15] 李玉妹, 赵冬, 单忠艳, 等. 不同碘摄入量地区甲状腺自身抗体的流行病学五年随访研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22(7): 518-522.
- [16] 王颜刚, 阎胜利, 赵世华, 等. 山东沿海居民桥本甲状腺炎与尿碘水平的关系[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(4): 337-338.
- [17] 温小恒, 张彪, 张葵, 等. 健康体检人群甲状腺抗体与甲状腺功能相关性分析[J]. 中国医药导报, 2015, 12(25): 69-72, 77.

(收稿日期: 2016-12-12 修回日期: 2017-02-18)

(上接第 1489 页)

- [10] Chen ZR, Sun HP, Yan YD, et al. Epidemiological profiles of hand, foot, and mouth disease, including meteorological factors, in Suzhou, China[J]. Arch Virol, 2015, 160(1): 315-321.
- [11] Teng S, Wei Y, Zhao SY, et al. Intestinal detoxification time of hand-foot-and-mouth disease in children with EV71 infection and the related factors[J]. World J Pediatr, 2015, 11(4): 380-385.
- [12] Zhang X, Wang H, Ding S, et al. Prevalence of enteroviruses in children with and without hand, foot, and mouth disease in China[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13(7): 606-611.
- [13] 蔡榕, 郭岚峰. EV71 所致重症手足口病患儿的临床分析

及其预防控制措施[J]. 现代预防医学, 2011, 38(22): 4618-4619.

- [14] 杜昆. 不同方法检测肠道病毒 71 型 IgM 抗体在手足口病诊断中的意义[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(3): 328-329.
- [15] 农光民, 刘艳明. 儿童手足口病的临床表现及诊断[J]. 实用儿科临床杂志, 2009, 24(22): 1706-1708.
- [16] 卢冬, 陆小婵, 潘国刚. 联合检测对重症手足口病诊断的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(10): 1693-1695.
- [17] 刘民, 刘闯. 手足口病的流行病学特征及预防[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2010, 24(7): 591-594.

(收稿日期: 2016-11-12 修回日期: 2017-01-18)