论著·临床研究

肠道病毒 71 型重症手足口病患儿病毒载量及并发症的分析

黄　蕊[1],庞　军[1],王　媛[1],蒲　琴[2]
(四川绵阳四〇四医院:1. 儿童传染病科;2. 检验科,四川绵阳 621000)

摘　要:目的　分析肠道病毒 71 型(EV71)重症手足口病(HFMD)患儿病毒载量及并发症的分析。**方法**　回顾性分析 2013 年 1 月至 2016 年 12 月收治的 EV71 重症 HFMD 患儿 320 例的临床资料,采用荧光定量聚合酶链反应(Q-PCR)检测 EV71 重症 HFMD 患儿病毒载量,分析其与并发症的关系。**结果**　EV71 危重型 HFMD 患儿的病毒载量显著高于 EV71 重型 HFMD 患儿,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 EV71 重型 HFMD 患儿比较,EV71 危重型 HFMD 患儿神经系统损害、呼吸衰竭、循环衰竭及心肌损害的发生率显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与无菌性脑膜炎患儿相比,脑干脑炎、急性迟缓性麻痹患儿 EV71 病毒载量明显增加,且急性迟缓性麻痹患儿 EV71 病毒载量明显高于脑干脑炎患儿,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论**　EV71 重症 HFMD 患儿病毒载量与病情、并发症严重程度相关,病毒载量的检测有助于病情监测、指导临床诊疗。

关键词:手足口病;　肠道病毒 71 型;　病毒载量;　并发症
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.02.018　　**中图法分类号:**R725.1
文章编号:1673-4130(2018)02-0187-03　　**文献标识码:**A

Analysis of viral load and complications in children patients with severe hand-foot-mouth disease caused by enterovirus type 71

HUANG Rui[1],*PANG Jun*[1],*WANG Yuan*[1],*PU Qin*[2]
(1. *Department of Child Infectious Diseases*;2. *Department of Clinical Laboratory*, *Mianyang* 404 *Hospital of Sichuan*,*Mianyang*,*Sichuan* 621000,*China*)

Abstract: Objective　To analyze the viral load and complications in children patients with severe hand-foot-mouth disease(HFMD) caused by enterovirus type 71(EV71). **Methods**　The clinical data in 320 children patients with severe HFMD caused by EV71 treated in this hospital from January 2013 to December 2016 were retrospectively analyzed. The viral load in children patients with severe EV71 caused HFMD was detected by adopting the fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Q-PCR),and its correlation with the complications was analyzed. **Results**　The viral load in the children patients with critical type HFMD was significantly higher than that in the children patient with severe type HFMD,the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with severe HFMD,the incidence rate of nervous system damage,respiratory failure, circulatory failure and myocardial damage in critical type HFMD were significantly increased,the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with the EV71 viral load in the children patients with aseptic meningitis,the EV71 viral load in the children patients with brainstem encephalitis and acute flaccid paralysis were increased significantly,moreover the EV71 viral load in the children patients with acute flaccid paralysis was significantly higher than that in the children patients with brainstem encephalitis,the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion**　The viral load in children patients with severe HFMD caused by EV71 is correlated with severity of disease condition and complications,and the viral load detection is conducive to disease condition monitoring and guidance of clinical treatment.

Key words:hand-foot-mouth disease;　enterovirus type 71;　viral load;　complication

手足口病(HFMD)是由多种肠道病毒引发的常见传染病,病情相对温和、病程短,具有自限性[1]。肠道病毒 71 型(EV71)是最主要的病原体,5 岁以下婴幼儿为 EV71 感染高发人群,由于其伴有嗜神经性,部分患儿可表现出中枢神经、呼吸及循环系统并发症,具有较高的致残率和病死率,少数病情进展快的重症患儿可导致死亡[2-3]。早期识别、早期治疗 EV71 重症 HFMD 患儿对改善预后具有重要的临床意义。

作者简介:黄蕊,女,主治医师,主要从事儿童传染病研究。

本文引用格式:黄蕊,庞军,王媛,等. 肠道病毒 71 型重症手足口病患儿病毒载量及并发症的分析[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(2):187-189.

目前病毒定量分析鲜有报道。本研究对本院近 4 年收治的 EV71 重症 HFMD 患儿采用实时荧光定量聚合酶链反应(Q-PCR)检测病毒载量,分析其与并发症的关系,现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　回顾性分析 2013 年 1 月至 2016 年 12 月四川绵阳四〇四医院收治的 320 例 EV71 重症 HFMD 患儿,其中男 177 例,女 143 例,年龄 8 个月至 7 岁,平均(2.8±1.3)岁;病程 1～8 d,平均(4.3±1.2)d。EV71 重症 HFMD 患儿根据病情严重程度分为 EV71 重型 HFMD 患儿 271 例和 EV71 危重型 HFMD 患儿 49 例。EV71 重症 HFMD 神经系统并发症主要为脑干脑炎、无菌性脑膜炎、急性迟缓性麻痹。纳入标准:均符合《手足口病诊疗指南(2010 年版)》的诊断标准,并经咽拭子 EV71 病毒核酸检测证实[5]。排除标准:神经系统、呼吸系统疾病,1 个月内发生过感染性疾病,家长不配合随访。

1.2　诊断标准

1.2.1　EV71 重型、危重型 HFMD　EV71 重型 HFMD 诊断标准:出现中枢神经系统受累表现,如精神差、嗜睡、易惊、谵妄;头痛、呕吐;肢体抖动、肌阵挛、眼球震颤、共济失调;无力或急性迟缓性麻痹;惊厥。体征可见脑膜刺激征,腱反射减弱或消失等脑膜炎、脑炎、脊髓灰质炎样综合征、脑脊髓炎体征。脑脊液检查为无菌性脑膜炎改变。脑脊髓 CT 扫描可无阳性发现,核磁共振成像检查可见异常。出现下列症状之一者可诊断为 EV71 危重型 HFMD:(1)频繁抽搐、昏迷、脑疝;(2)呼吸困难、紫绀、血性泡沫痰、肺部啰音等;(3)休克等循环功能不全表现。

1.2.2　EV71 重症 HFMD 神经系统并发症　无菌性脑膜炎:(1)儿童及青壮年患者急性起病;(2)临床表现为发热、头痛和脑膜刺激征等;(3)脑脊液细胞轻度或中度增多,而脑脊液中未发现细菌。脑干脑炎:主要根据临床表现及辅助检查进行诊断[6]。(1)多见于儿童及青壮年;(2)多以急性或亚急性起病,起病前有感染症状;(3)多表现为一侧或双侧多组脑神经及长传导束受损的症状与体征;(4)脑脊液检测结果基本正常;(5)头颅核磁共振成像可明确病灶位置;(6)应用糖皮质激素治疗有效;(7)单项病程,无复发,预后较好。(3)～(5)项诊断意义较大。急性迟缓性麻痹:急性起病、肌张力减弱、肌力下降、腱反射减弱或消失。

1.3　方法

1.3.1　标本采集　采用专用棉签采集患儿入院当天的咽拭子标本,在咽后壁及双侧扁桃体位置适度用力拭抹后,将棉签置于含 3～5 mL 生理盐水的采集管中,−20 ℃冰箱保存,并于 24 h 内完成病毒检测。

1.3.2　病毒 RNA 提取　取咽拭子标本上清液 200 μL 置于离心管中,提取 RNA 模板,收集 RNA 提取液 50 μL,−20 ℃保存。

1.3.3　Q-PCR 检测　采用 ABI 7500 型荧光 Q-PCR 仪,EV71 病毒核酸检测试剂盒(达安公司)进行 EV71 病毒载量测定。上游引物:5′-GCA GCC CAA AAG AAC TTC AC-3′,下游引物:5′-ATT TCA GCA GCT TGG AGT GC-3′。Q-PCR 扩增条件:94 ℃预变性 3 min,93 ℃变性 15 s、55 ℃复性 30 s、72 ℃延伸 30 s,共完成 40 个循环。分别以 1×10^7、1×10^6、1×10^5、1×10^4、1×10^3 copies/mL 等 5 个滴度画出标准曲线。病毒载量大于 1×10^3 copies/mL 视为阳性。

1.4　统计学处理　采用 SPSS20.0 软件包进行统计分析,计量资料不符合正态分布,以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,比较采用秩和检验,计数资料以率表示,比较采用 χ^2 检验,$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　EV71 重型、危重型 HFMD 患儿的病毒载量比较　EV71 危重型 HFMD 患儿的病毒载量[5.2×10^4(1.8×10^4,20.6×10^4)copies/mL]显著高于 EV71 重型 HFMD 患儿的病毒载量[3.1×10^4(0.9×10^4,17.2×10^4)copies/mL],差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2　EV71 重型、危重型 HFMD 患儿的并发症比较　与EV71 重型 HFMD 患儿比较,EV71 危重型 HFMD 患儿神经系统损害、呼吸衰竭、循环衰竭及心肌损害的发生率显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1　EV71 重型、危重型 HFMD 患儿的并发症比较[n(%)]

病情程度	n	神经系统损害	呼吸衰竭	循环衰竭	消化道出血	心肌损害
EV71 重型 HFMD	271	194(71.6)	49(18.1)	58(21.4)	20(7.4)	69(25.5)
EV71 危重型 HFMD	49	46(93.9)	22(44.9)	24(49.0)	7(14.3)	30(61.2)
χ^2		11.00	17.29	16.56	2.56	24.84
P		<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

2.3　不同神经系统并发症 EV71 重症 HFMD 患儿病毒载量比较　EV71 通过血脑屏障侵入神经系统,因此可引发不同的神经系统并发症,不同神经系统并发症 EV71 重症 HFMD 患儿病毒载量分析结果显

示,与无菌性脑膜炎患儿 EV71 病毒载量比较[3.3×10^4(1.0×10^4,16.8×10^4)copies/mL],脑干脑炎患儿 EV71 病毒载量[4.9×10^4(2.1×10^4,19.1×10^4)copies/mL]、急性迟缓性麻痹患儿 EV71 病毒载量[5.4×10^4(3.3×10^4,20.9×10^4)copies/mL]明显增加,且急性迟缓性麻痹患儿 EV71 病毒载量明显高于脑干脑炎患儿,差异有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨　论

近年来,EV71 感染所致 HFMD 一直是全球普遍关注的疾病,尽管患儿预后相对较好,但多数患儿可遗留不同程度的神经系统损害后遗症,甚至死亡。中枢神经系统感染早期通常无特异性表现,而 EV71 重型 HFMD 患儿病情变化迅速,往往在 1 d 以内可进展为 EV71 危重型 HFMD,一旦出现呼吸、心率加快,低灌注,高血糖及心肺衰竭症状,病死率明显增加[7]。目前,EV71 感染的病理机制仍未完全阐明。现研究认为,EV71 感染所致 HFMD 多与患儿免疫力降低有关,而病毒毒力、病毒载量是否影响患儿病情的严重程度尚存在争议[8-9]。随着实时荧光 Q-PCR 技术临床应用的不断成熟,EV71 病毒载量已成为该领域研究新的关注点。

本研究中,EV71 危重型 HFMD 患儿的病毒载量显著高于 EV71 重型 HFMD 患儿,差异有统计学意义($P<0.05$),说明 EV71 重症 HFMD 患儿的病毒载量与病情程度存在明显相关性,病毒载量的监测可及时、准确反映患儿的病毒复制情况,与赵仕勇等[10]研究结果一致。既往研究认为,虽然病毒载量与临床特征无明显相关,但其临床表现的复杂性、严重性与所感染病毒的种类及毒力可能存在一定的关联[11-12]。此外,有研究指出,HFMD 患儿的临床表现可能受机体的免疫防御功能及感染病毒的生物学特性影响,而同一肠道病毒感染则可能与其不同基因型有关,故 HFMD 患儿病情的严重程度与基因型的关系有待扩大样本量后进一步深入探讨[13]。

本研究结果显示,随着 EV71 重症 HFMD 患儿病情的加重,神经系统损害、呼吸衰竭、循环衰竭及心肌损害的发生率随之升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。EV71 是一种高度嗜神经病毒,脑干是最易感部位,对中枢神经系统具有极强感染性,可沿神经轴索向心性扩散至脑干、延髓等部位,并通过血脑屏障侵入神经系统,因此可引发不同的神经系统并发症,主要包括脑干脑炎、无菌性脑膜炎、急性迟缓性麻痹,其中急性迟缓性麻痹属于 EV71 引起的严重的多种神经系统综合征,可导致格林-巴利综合征、脊髓灰质炎样前角细胞破坏及横贯性脊髓炎[14]。本研究中,随着神经系统并发症的加重,患儿 EV71 的病毒载量明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$),与 SABANATHAN 等[8]研究结果一致。

综上所述,EV71 重症 HFMD 患儿病毒载量高、并发症多,且病毒载量与病情严重程度相关,加强病毒载量的及时检测对病情监测、指导临床诊疗具有重要意义。

参考文献

[1] XU W,LIU CF,YAN L,et al. Distribution of enteroviruses in hospitalized children with hand,foot and mouth disease and relationship between pathogens and nervous system complications[J]. Virol J,2012,9(12):8.

[2] ZENG M,LI Y F,WANG X H,et al. Epidemiology of hand,foot,and mouth disease in children in Shanghai 2007－2010[J]. Epidemiol Infect,2012,140(6):1122-1130.

[3] WANG Y,FENG Z,YANG Y,et al. Hand,foot,and mouth disease in China: patterns of spread and transmissibility[J]. Epidemiology,2011,22(6):781-792.

[4] 赵仕勇,滕淑,宋闻,等. 肠道病毒 71 型重症手足口病患儿病毒载量与临床特征的相关性研究[J]. 中华急诊医学杂志,2016,25(6):718-721.

[5] 中华人民共和国卫生部. 手足口病诊疗指南(2010 年版)[S]. 北京:中华人民共和国卫生部,2010.

[6] 任慧玲,李燕. 脑干脑炎[J]. 脑与神经疾病杂志,2008,16(4):559-561.

[7] 喻文亮. EV71 所致手足口病,完全征服的路还有多远[J]. 中华急诊医学杂志,2015,24(6):587-591.

[8] SABANATHAN S,TANLE V,THWAITES L,et al. Enterovirus 71 related severe hand,foot and mouth disease outbreaks in South-East Asia:current situation and ongoing challenges[J]. J Epidemiol Com Health,2014,68(6):500-502.

[9] 邓慧玲,张瑜,谢燕,等. 肠道病毒 71 型病毒载量与手足口病严重程度分析[J]. 中华实用儿科临床杂志,2014,29(22):1700-1702.

[10] 赵仕勇,滕淑,宋闻,等. 肠道病毒 71 型重症手足口病患儿病毒载量与临床特征的相关性研究[J]. 中华急诊医学杂志,2016,25(6):718-721.

[11] 高媛媛,杨思达,陶建平,等. 累及神经系统手足口病患儿临床特征及危重症危险因素分析[J]. 中国循证儿科杂志,2010,5(2):135-140.

[12] HUANG Y,ZHOU Y P,LU H,et al. Characterization of severe hand,foot,and mouth disease in Shenzhen,China,2009－2013[J]. J Med Virol,2015,87(9):1471-1479.

[13] 边鹏飞. 重症手足口病病原学与临床特征、机体免疫状态关系的研究[D]. 济南:山东大学,2012.

[14] MOOI H,WONG C,LEWTHWAITE P,et al. Clinical features,diagnosis,and management of enterovirus 71[J]. Lancet Neurol,2010,9(11):1097-1105.

(收稿日期:2017-06-20　修回日期:2017-09-21)