

# 2010 年度北京地区儿童手足口病住院患者病原学分布分析

李洪杰 庞琳 王琦 曾慧慧 何明 张锦前 刘顺爱 李兴旺 成军

**【摘要】 目的** 了解 2010 年北京地区儿童手足口病住院患者的病原体分布情况,为手足口病的诊断、治疗及预防提供依据。**方法** 本研究共采集 337 例手足口病住院患儿的咽拭子标本,采用肠道病毒(EV)通用型、柯萨奇病毒 A16(CA16)型和肠道病毒 71(EV71)型核酸检测试剂盒,应用实时逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法进行检测。**结果** 肠道病毒阳性标本占 63.20%(213/337)。其中, EV71 阳性标本占 40.36%(136/337); CA16 阳性标本占 5.64%(19/337); 其他未分型肠道病毒阳性标本占 17.21%(58/337)。**结论** 2010 年北京地区儿童手足口病住院患者的病原学分布以 EV71 为主,非 CA16 和非 EV71 型肠道病毒感染率已显著高于 CA16 型肠道病毒感染。

**【关键词】** 手足口病; 逆转录聚合酶链反应; 肠道病毒属; 柯萨奇病毒属

**Etiology of hand, foot and mouth disease in Beijing in 2010** LI Hong-jie, PANG Lin, WANG Qi, ZENG Hui-hui, HE Ming, ZHANG Jin-qian, LIU Shun-ai, LI Xing-wang, CHENG Jun. Beijing Ditan Hospital, Peking University Teaching Hospital, Beijing 100015, China

Corresponding author: CHENG Jun, Email: chengjdt@ccmu.edu.cn; LIU Shun-ai, Email: liusa1031@sina.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the pathogen distribution of patients with hand, foot and mouth diseases (HFMD) hospitalized in division of pediatrics, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, in 2010. **Methods** Real-time fluorescence quantitative RT-PCR kits with three reagents: universal enterovirus primer, Coxsackievirus A16 (CA16) primer and enterovirus 71 (EV71) primer were used to detect the samples. **Results** The enterovirus-positive rate was 63.20% (213/337). Among this, the positive rates of enterovirus 71, Coxsackievirus A-16 and other types of enterovirus were 40.36% (136/337), 5.46% (19/337) and 17.21% (58/337), respectively. **Conclusions** In 2010, the etiology of children with hand, foot and mouth disease hospitalized in our hospital was dominated by enterovirus 71 (EV71). The infection rates of enterovirus except enterovirus 71 and Coxsackievirus A16 are main pathogens. Non-CA16, non-EV71 virus infection were significant higher than Coxsackievirus A16 infection.

**【Key words】** Hand, mouth and foot disease; Reverse transcriptase polymerase chain reaction; Enterovirus; Coxsackievirus

手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)是多发于学龄前儿童的常见传染病,主要表现为发热、手、足以及口腔等部位的斑丘疹或疱疹,少数患儿可并发脑膜炎、脑炎、脑脊髓炎、肺水肿与循环障碍等,个别重症患儿病情进展迅速,甚至导致死

亡<sup>[1]</sup>。我国自 1981 年上海首次报道手足口病病例以来,已在多个地区出现过手足口病的局部流行。自 2008 年安徽省阜阳市手足口病大规模暴发流行以来,我国的手足口病呈现高发态势。2009 年全国报告手足口病共 1 155 525 例,死亡 353 例,发病数和死亡数均居丙类传染病的第一位<sup>[2]</sup>。因此,对导致该病在全国各地区流行的病原学分布情况进行监测十分必要,以便采取适当的措施,从而更好地控制该病的流行。

手足口病由肠道病毒引起,肠道病毒属的肠道病毒种类繁多,早期的手足口病以柯萨奇病毒 A 组 16 型(CA16)多见<sup>[3]</sup>,近年来肠道病毒 71 型(EV71)处于活跃状态,已超越 CA16。除 CA16 和 EV71 以

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2012.01.003

基金项目:国家科技部“十一五”专项课题(2009ZX10004-105);北京市科委科技项目(D09050703560908)

作者单位:100015 北京,北京大学北京地坛医院教学医院(李洪杰、成军);首都医科大学附属北京地坛医院感染性疾病诊疗中心(庞琳、曾慧慧、何明、李兴旺),传染病研究所(王琦、张锦前、刘顺爱)

通讯作者:成军,Email:chengjdt@ccmu.edu.cn

刘顺爱,Email:liusa1031@sina.com

外,也有其他型别的肠道病毒可引发手足口病。研究手足口病的主要病原体感染趋势,对手足口病的发病机理研究、早期诊断和治疗以及预后判定等均具有重要意义。本研究采用国家食品药品监督管理局(SFDA)认证的肠道病毒核酸检测系列试剂盒,对 2010 年于本院儿科就诊的手足口病住院患者进行病原学检测,结合患儿的临床和流行病学资料进行分析,以了解 2010 年度北京地区手足口病患儿的病原体感染情况,为手足口病的诊断、治疗及预防提供依据。

## 资料与方法

### 一、研究对象

入组 337 例病例为 2010 年 5 ~ 12 月于本院儿科就诊的手足口病住院患者,临床诊断标准符合我国卫生部发布《手足口病诊疗指南》(2010 年版)<sup>[1]</sup>。337 例患儿中,男 216 例(64.09%),女 121 例(35.91%);患儿年龄 1 月龄 ~ 8 岁,发病年龄主集中在 0 ~ 3 岁(94.96%)。

### 二、研究方法

1. 标本采集:采集手足口病患儿的咽拭子标本。使用专用的无菌采集棉签,适度用力拭抹患儿咽后壁,迅速将棉签放入有外螺旋盖并装有 3 ml 病毒保存液的病毒采样管中,暂时保存于 4℃,24 h 内用无 RNA 酶的冻存管分装, - 80℃ 保存。

2. 肠道病毒检测方法:采用中山大学达安基因股份有限公司的系列肠道病毒核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法),包括肠道病毒通用型核酸检测试剂盒、肠道病毒 71(EV71)型核酸检测试剂盒和柯萨奇病毒 A16(CA16)型核酸检测试剂盒。取 100  $\mu$ l 手足口病患儿的咽拭子标本,用 Trizol 试剂裂解沉淀法提取肠道病毒 RNA,严格按照说明书进行操作。用以上提取的病毒核酸分别与通用型、EV71 型和 CA16 型肠道病毒 RT-PCR 反应液、逆转录酶和 Taq 酶配制各自的反应体系,进行荧光定量 RT-PCR 肠道病毒核酸检测。RT-PCR 循环反应条件为:40℃ 25 min,1 个循环;94℃ 3 min,1 个循环;93℃ 15 s、55℃ 45 s,50 个循环。使用 ABI Prism 7500 荧光定量 PCR 仪。检测样本呈典型 S 型扩增曲线且 Ct 值  $\leq$  39,则判断样本为肠道病毒阳性。

3. 结果判断:手足口病患儿咽拭子标本分别使用肠道病毒通用型、EV71 和 CA16 核酸检测试剂盒检测肠道病毒,其中,肠道病毒通用型试剂盒和 EV71 试剂盒检测阳性标本判为 EV71 型肠道病毒阳性;肠道病毒通用型试剂盒和 CA16 试剂盒阳性标本判为 CA16 型肠道病毒阳性;肠道病毒通用型

试剂盒检测阳性而使用 EV71 或 CA16 型核酸检测试剂盒检测阴性的标本判为其他血清型肠道病毒阳性。

### 三、统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件对计数资料进行  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、不同发病时间和病毒分型手足口病患者数量变化趋势

2010 年 5 月 1 日至 2010 年 12 月 31 日共采集 337 例患者标本,系列肠道病毒核酸检测试剂盒检测结果显示,肠道病毒阳性患者占 63.20% (213/337),其中, EV71 阳性患者最多,占 40.36% (136/337),仅 19 例患儿为 CA16 阳性,占 5.64%,而其他未分型肠道病毒阳性患者达到 58 例,占 17.21%。把所有患者按发病时间进行分析发现,2010 年 5 月至 8 月患者数量最多,其中 6 月份最高,9 月份以后呈逐渐下降趋势,11 月份有轻微反弹。不同发病时间和病毒分型手足口患者数量变化趋势见图 1。

### 二、不同型病毒检出阳性率变化趋势

本研究在进行患者数量变化趋势的分析基础上,又进行不同型病毒检出阳性率的变化趋势分析,以了解病毒变化趋势,见图 2。结果显示,各月份 EV71 阳性率最高、未分型肠道病毒阳性率次之、CA16 阳性率最低,提示 2010 年度手足口病仍以 EV71 为主,CA16 和非 CA16 非 EV71 肠道病毒为辅。不同月份肠道病毒阳性率变化趋势结果显示,总的肠道病毒阳性率变化趋势图和患者数量变化趋势图表现类似,但不同分型肠道病毒表现形式略显不同:EV71 阳性率以 5 月份最高,之后阳性率的下降趋势明显,9 月和 11 月份阳性率出现反弹;CA16 阳性率以 7 月份最高,9 月份以后未能检出阳性;其他未分型肠道病毒阳性率 8 月份最高,虽病毒检出率呈下降趋势,但比较平稳。

### 三、不同年龄组患者肠道病毒检测结果

不同年龄调查对象的病原检测情况见表 1,不同年龄组的病原体感染率差异有统计学意义( $\chi^2 = 15.115, P = 0.002$ ),其中 1 ~ 2 岁组患者感染率最高(69.27%), > 3 岁组感染率最低(29.17%)。各组别患儿中, EV71 感染所占比例均显著高于 CA16 和其他肠道病毒,1 ~ 2 岁组 EV71 的阳性率最高,为 46.37%, > 3 岁组阳性率最低为 20.83%,三组 EV71 感染率比较差异具有统计学意义( $\chi^2 = 7.979, P = 0.046$ ),可认为不同年龄组 EV71 感染率

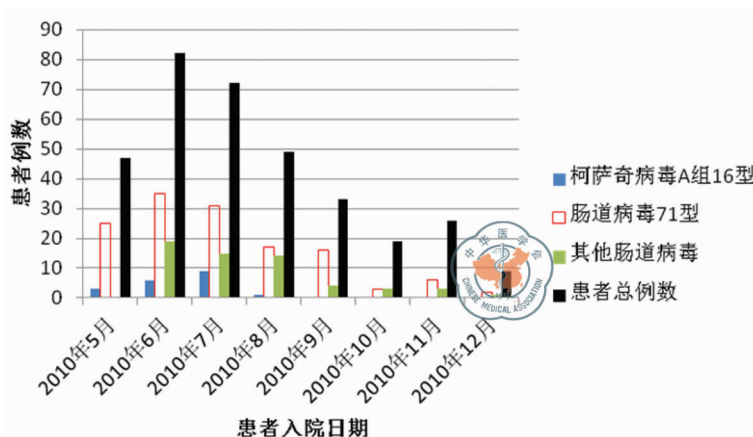


图 1 不同月份手足口病患者数量变化趋势

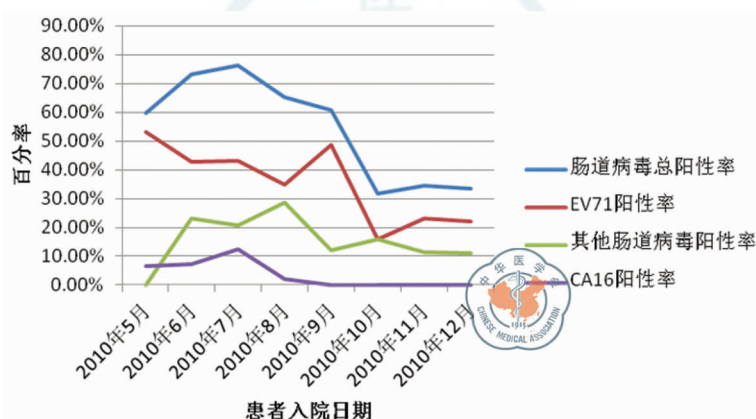


图 2 不同月份手足口病患者肠道病毒阳性率变化趋势

表 1 不同年龄组患者肠道病毒检测 [例( % )]

组别	例数	肠道病毒阴性率	肠道病毒可疑阳性率	EV71 阳性率	CA16 阳性率	其他肠道病毒阳性率	肠道病毒总阳性率
0 ~ 1 岁	52	20/52 (38.46)	1/52 (1.92)	17/52 (32.69)	3/52 (5.77)	11/52 (21.54)	31/52 (59.62)
1 ~ 2 岁	179	53/179 (29.61)	2/179 (1.12)	83/179 (46.37)	14/179 (7.82)	27/179 (15.08)	124/179 (69.27)
2 ~ 3 岁	82	30/82 (36.59)	1/82 (1.22)	31/82 (37.80)	1/82 (1.22)	19/82 (23.17)	51/82 (62.20)
> 3 岁	24	17/24 (70.83)	0/24 (0.00)	5/24 (20.83)	1/24 (4.17)	1/24 (4.17)	7/24 (29.17)

存在统计学差异。 $>3$  岁组的其他肠道病毒阳性率最低,为 4.17%,1~2 岁组阳性率最高,为 23.17%,其他肠道病毒在不同年龄段的检出率差异无统计学意义( $\chi^2 = 6.046, P = 0.109$ )。

#### 四、肠道病毒阳性率的比较

本研究与 2008 年及 2009 年北京市疾病预防控制中心的研究结果<sup>[3]</sup>相比较(图 3),病原体感染率差异具有统计学意义( $\chi^2 = 385.70, P < 0.001$ )。2010 年本院住院手足口病患者的病原体感染率与西安市<sup>[4]</sup>、湖南省<sup>[5]</sup>相比较(图 4),差异具有统计学意义( $\chi^2 = 14.08, P = 0.007$ )。与北京市疾病预防控制中心

控制中心的研究结果<sup>[3]</sup>相比较(图 5),差异存在显著统计学意义( $\chi^2 = 53.58, P < 0.001$ )。

#### 讨 论

1957 年新西兰首次报道手足口病,1958 年分离出该病的致病病原体——柯萨奇病毒 A 组 16 型。Schmidt 等<sup>[11]</sup>对 1969~1974 年美国加利福尼亚地区 20 例脑膜炎或脑炎的患者进行病原学检测,在 1 例患中枢神经系统感染的婴儿粪便中首次分离出肠道病毒 71 型。迄今为止,CA16 和 EV71 这两种病原体是导致手足口病大规模流行的主要元凶,其引起的



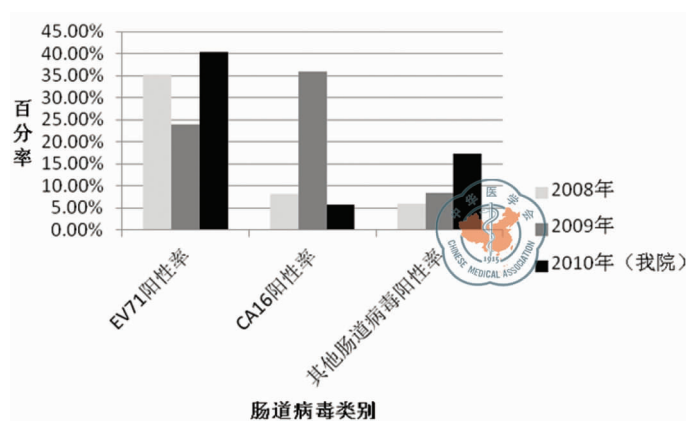


图 3 不同时段手足口病患者病原体感染率的比较

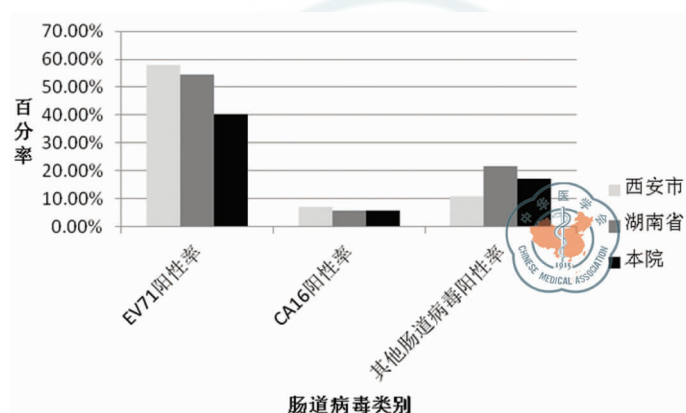


图 4 不同地区手足口病患者病原体感染率的比较

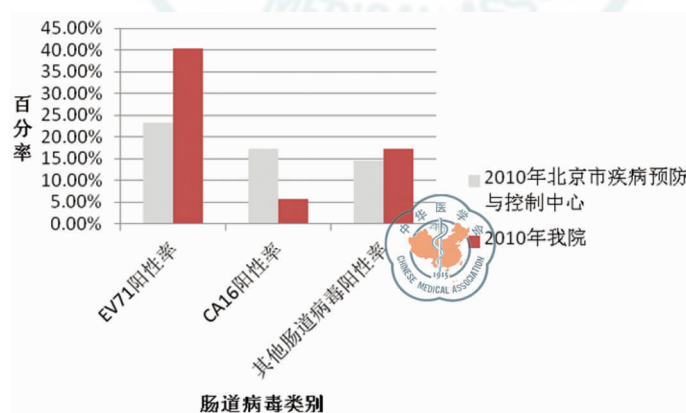


图 5 不同研究手足口病患者病原体感染率的比较

手足口病已在世界范围内很多地区暴发流行,且有大量致死病例报道。肠道病毒属的柯萨奇病毒(Coxsackievirus) A 组 2、4、5、8、10 和 16 型, B 组 3、7 型和肠道病毒 71 型等均能引起 HFMD<sup>[6-7]</sup>; 2007 年及以前, 中国手足口病的病原主要以 CA16 为主<sup>[8-9]</sup>, 2007 年, 山东省临沂市手足口病局部流行, 发现 EV71 为手足口病的主要病原; 2008 年安徽省阜阳市手足口病大规模暴发流行以来, 全国各地相

继出现了手足口病的流行; CA16 和 EV71 共循环引起手足口病暴发, EV71 在大部分省市为优势毒株。根据以上资料可知, 把握不同时期、不同地区手足口病病原体流行特征和分布情况, 对预测手足口病病原体流行趋势的变化具有重要的价值; 而且手足口病的严重程度与其病原体密切相关<sup>[10]</sup>, 故监测手足口病病原体变化对于手足口病预防工作的开展、手足口病的治疗以及预后的判断均具有重要的价值。

以往研究中多采用提取病毒 RNA 及普通 RT-PCR 的方法对肠道病毒进行分型,本研究采用达安公司的肠道病毒检测试剂盒,使用荧光定量 RT-PCR 的方法进行肠道病毒分型检测,方法快捷,其准确率已得到多项研究的证实<sup>[12-13]</sup>。

本研究收集的 337 例手足口病患儿咽拭子标本中, EV71 阳性标本 136 例, CA16 阳性标本 19 例, 其他肠道病毒阳性标本 58 例, 提示本院 2010 年 5 月~12 月手足口病住院患者的主要病原体为 EV71, 另有 58 例非 CA16 和非 EV71 的 EV 阳性病例, 提示存在其他血清型的肠道病毒感染, 有待于进一步确认。此结果与李锡太等<sup>[3]</sup> 2008 年北京市手足口病病原体分型实验报道 EV71 占 35.30%、CA16 占 8.17% 和其他肠道病毒 5.84%, 2009 年 EV71 占 23.86%、CA16 占 35.84%, 其他肠道病毒, 占 8.48%, 2010 年 EV71 占 23.34%、CA16 占 17.24% 以及其他肠道病毒占 14.49% 相比较, 2009 与 2010 年主要病原体不同, 2008 和 2010 年均以 EV71 感染为主, 2009 年以 CA16 为主, 其他肠道病毒的感染率呈逐渐上升的趋势。与 2010 年邓慧玲等<sup>[4]</sup> 报道的西安市及黄威等<sup>[5]</sup> 报道的湖南省手足口病患者病原体研究结果相比较, 本院 EV71 感染率较低。但与近几年结果均存在相同的差异——非 CA16 和非 EV71 的肠道病毒阳性率显著增高, 参考世界和我国手足口病病原病学 CA16 和 EV71 的变化, 可以考虑给临床工作者以下提示: 手足口病病原有可能会向以非 CA16 和非 EV71 为主的方向发展。这对于手足口病的防治具有重大的意义, 需要进一步的研究。

本研究对手足口病住院患者病例的调查分析发现, 手足口病病例的病原谱出现了新的变化, 目前发现手足口病病原体以 EV71 为主, 但其感染率明显下降, 非 CA16 和非 EV71 的肠道病毒感染显著升高, 已经远远超过传统的 CA16 型肠道病毒感染者, 因此需要加强对手足口病的实验室检测, 为手足口病的预防及临床治疗提供参考。

李洪杰, 庞琳, 王琦, 等. 2010 年度北京地区儿童手足口病住院患者病原学分布分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2012, 6(1): 10-14.

## 参 考 文 献

- 1 中华人民共和国卫生部. 手足口病诊疗指南(2010 年版). [2010-04-21]
- 2 中华人民共和国卫生部. 卫生部公布 2010 年 1 月及 2009 年度全国法定传染病疫情. [2010-02-10]
- 3 李锡太, 王全意, 黄芳, 等. 北京市 2007-2010 年手足口病流行特征分析. 国际病毒学杂志, 2010, 18(1): 5-10.
- 4 邓慧玲, 马超锋, 王小燕, 等. 西安地区 2010 年手足口病病原血清型及流行特征分析. 医学临床研究, 2011, 28(5): 857-859.
- 5 黄威, 周帅锋, 张帆, 等. 2008-2010 年湖南省哨点医院手足口病病原学检测结果及基因特征分析. 实用预防医学, 2011, 18(5): 779-784.
- 6 Li LL, He YQ, Yang H, et al. Genetic characteristics of human enterovirus 71 and Coxsackievirus A16 circulating from 1999 to 2004 in Shenzhen, People's Republic of China. J Clin Microbiol, 2005, 43(8): 3835-3839.
- 7 Zhang Y, Tan XJ, Wang HY, et al. An outbreak of hand, foot and mouth disease associated with subgenotype C4 of human enterovirus 71 in Shandong, China. J Clin Virol, 2009, 44(4): 262-267.
- 8 杨智宏, 朱启镨, 李秀珠, 等. 2002 年上海儿童手足 121 病病例中肠道病毒 71 型和柯萨奇病毒 A 组 16 型的调查. 中华儿科杂志, 2005, 43(9): 648-652.
- 9 赵惠欣, 张艳玲, 张奕, 等. 2007 年北京儿童中流行的手足口病病原学及临床特点. 临床儿科杂志, 2008, 26(6): 467-469.
- 10 AbuBakar S, Chee HY, Al-Kobaisi MF, et al. Identification of enterovirus 71 isolates from an outbreak of hand, foot and mouth disease (HFMD) with fatal cases of encephalomyelitis in Malaysia. Virus Res, 1999, 61(1): 1-9.
- 11 Schmidt NJ, Lennette EH, Ho HH. An apparently new enterovirus isolated from patients with disease of the central nervous system. J Infect Dis, 1974, 129(3): 304-309.
- 12 常瑞霞, 王勇鸣, 李燕, 等. 应用实时荧光 PCR 技术检测 783 例手足口病病原体的探讨. 中国现代药物应用, 2010, 4(8): 114.
- 13 吴亦栋, 尚世强, 陈志敏, 等. 手足口病病原体流行特征分析及临床意义. 中华儿科杂志, 2010, 48(7): 535-539.

(收稿日期: 2011-09-10)

(本文编辑: 孙荣华)