

· 临床论著 ·

2012 年度 211 例手足口病住院患儿 病原学检测及分析

孟一星 梁金秋 庞琳 李洪杰 曹金凤 王琦 张锦前 刘顺爱 成军

【摘要】 目的 掌握2012年度北京大学北京地坛医院教学医院手足口病住院患儿的病原体分布情况与变化趋势,为手足口病的防治提供科学依据。**方法** 本研究收集北京大学北京地坛医院教学医院儿科2012年度211例手足口病住院患儿的咽拭子标本,提取病毒RNA,采用实时荧光聚合酶链反应(RT-PCR)法,进行肠道病毒(EV)通用型、肠道病毒71(EV71)型和柯萨奇A16(CoxA16)型肠道病毒核酸检测。EV(+)标本判为EV阳性,EV(+)EV71(+)标本判为EV71阳性,EV(+)CoxA16(+)标本判为CoxA16阳性,EV(+)且EV71(-)CoxA16(-)标本判为非EV71非CoxA16型肠道病毒阳性。**结果** 2012年度211例本院手足口病住院患儿中EV阳性标本共118例,占55.92%。病毒分型结果显示,非EV71非CoxA16型肠道病毒阳性标本共46例,占22.81%;EV71阳性标本共45例,占21.32%;CoxA16阳性标本共27例,占12.80%。病原学分布分析结果显示,5~7月份为发病高峰期;不同年龄、性别组患儿之间病原体构成无显著差异;患儿入院前3 d肠道病毒检出率较3 d后高;不同型别肠道病毒感染患儿之间平均住院天数差异无统计学意义。**结论** 2012年度本院手足口病住院患儿不同型别EV感染率由高到低依次为:非EV71非CoxA16型肠道病毒、EV71、CoxA16,非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率较往年具有升高趋势,尚待进一步研究。

【关键词】 手足口病;病原学;非EV71非CoxA16型肠道病毒;核酸检测

Etiology detection and analysis of 211 cases with hand, foot and mouth disease in 2012 MENG Yixing*,
LIANG Jinqiu, PANG Lin, LI Hongjie, CAO Jinfeng, WANG Qi, ZHANG Jinqian, LIU Shunai, CHENG Jun.

*Beijing Ditan Hospital, Peking University Teaching Hospital, Beijing 100015, China

Corresponding author: LIU Shunai, Email: liusa1031@sina.com; CHENG Jun, Email: jun.cheng.ditan@gmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the distribution and variation of pathogens among pediatric patients with hand, foot and mouth diseases (HFMD) in Beijing Ditan Hospital, Peking University Teaching Hospital, in 2012, and to provide scientific basis for the prevention and treatment of HFMD. **Methods** Throat swabs of 211 cases hospitalized in Division of Pediatrics, Beijing Ditan Hospital, Peking University Teaching Hospital, in 2012 were collected. Real-time fluorescence quantitative (RT-PCR) kits with universal enterovirus (EV) primers, Coxsackievirus A16 (CoxA16)-specific primers and enterovirus 71 (EV71)-specific primers were used to detect the samples after RNA extraction. The samples were identified as EV-positive, EV71-positive, CoxA16-positive, if they could be detected with EV primers, EV primers and EV71-specific primers, EV primers and CoxA16-specific primers, correspondingly. Non-EV71, non-CoxA16 enteroviruses referred to those which could be detected by EV primers, but not by EV71-specific primers or CoxA16-specific primers. **Results** There were 118 enterovirus positive cases among the 211 patients, accounting for 55.92%. Among them, the positive rates of non-EV71, non-CoxA16 enteroviruses, EV71 and CoxA16 were

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.02.011

基金项目:北京市科委科技项目(No. D09050703560908)

作者单位:100015 北京,北京大学北京地坛医院教学医院(孟一星、梁金秋、成军);首都医科大学附属北京地坛医院儿科(庞琳);首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所(李洪杰、曹金凤、王琦、张锦前、刘顺爱);新发突发传染病研究北京市重点实验室(孟一星、梁金秋、李洪杰、曹金凤、王琦、张锦前、刘顺爱、成军)

通讯作者:刘顺爱, Email: liusa1031@sina.com; 成军, Email: jun.cheng.ditan@gmail.com

22.81% (46/211), 21.32% (45/211) and 12.80% (27/211), respectively. The peak incidence time of HFMD was from May to July. There were no significant differences between patients grouped by ages or genders in pathogen distribution. The detection positive rate of specimens collected within 3 days after admission was higher than 3 days later. There were no significant differences in the number of hospitalisation days between patients infected by different EVs. **Conclusions** In 2012, the positive rate of non-EV71 non-CoxA16 enteroviruses was higher than EV71, which was higher than CoxA16 in our study. There was an increasing trend of the positive rate of non-EV71 non-CoxA16 enteroviruses, which deserve future study.

【Key words】 Hand, foot and mouth disease (HFMD); Etiology; Non-EV71, non-CoxA16 enteroviruses; Nucleic acid amplification test

手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)是由人肠道病毒感染引起的急性传染病,以发热和手、足、口腔等部位的斑丘疹或疱疹等为主要临床表现,常见于5岁以下儿童。2008年5月2日我国将该病纳入《中华人民共和国传染病防治法》规定报告的丙类传染病^[1]。据国家卫计委发布的数据,自2009年以来,我国手足口病的发病数和死亡数,一直居于丙类传染病的首位,2012年手足口病发病2 168 737例,死亡567例^[2]。

引起手足口病的肠道病毒有很多种,其中最常见的是柯萨奇病毒A组16型(Coxsackievirus A 16, CoxA16)和肠道病毒71型(enteroviruses 71, EV71)^[3-5]。近年来,非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率升高,具有超过EV71^[6]或CoxA16^[7-8]的趋势。本研究采用国家食品药品监督管理局认证的肠道病毒核酸检测系列试剂盒,采用《手足口病预防控制指南》推荐的技术,对2012年在北京大学北京地坛医院教学医院儿科住院的手足口病患者咽拭子标本进行病原学检测分析,以了解导致手足口病的病原体分布情况,掌握变化趋势,对手足口病的诊疗、疫情的防控有积极作用。

资料及方法

一、研究对象

本研究入组211例病例为2012年1月1日~12月31日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的《手足口病诊疗指南》(2010年版)。211例患者中,男139例,女72例;患者年龄2月龄~8岁,发病年龄集中在0~3岁(95.73%)。

二、研究方法

标本采集、RNA提取、real-time PCR核酸检测以及结果判定方法采用本实验室常规操作程序^[7,9],分别在手足口病患儿入院后第1、2、3、5和7天采集其咽拭子标本,提取RNA,应用中山大学达安

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)进行荧光定量肠道病毒核酸检测, EV通用型、EV71型试剂盒检测阳性标本判为EV71阳性; EV通用型、CoxA16型试剂盒检测阳性标本判为CoxA16阳性; EV通用型阳性而EV71和CoxA16型均阴性的标本判为非EV71非CoxA16型肠道病毒阳性。

三、统计学处理

采用SPSS 19.0软件对资料进行统计学分析,计数资料采用 χ^2 检验,个别资料采用Fisher精确检验;计量资料采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义,以 $P < 0.001$ 为差异具有极显著统计学意义。

结 果

一、不同月份手足口病病原学变化

2012年1月1日~2012年12月31日共采集211例患者咽拭子标本,肠道病毒核酸检测结果显示, EV阳性患者共118例,占55.92%。与往年有所不同,其中非EV71非CoxA16型肠道病毒阳性患者数量最多,为46例,占22.81%; EV71阳性患者仅次其后,占总标本数的21.32% (45/211); CoxA16阳性患者共27例,占12.80% (27/211)。

2012年度不同月份手足口病病例变化趋势分析发现, 5~7月份患者总数最多, 占全年的58.3% (123/211), 为该病发病高峰期, 7月份数量达到最高后逐渐下降, 10~11月份又出现轻微反弹。 EV阳性患者数量变化趋势与总病例数变化趋势基本一致。非EV71非CoxA16型肠道病毒阳性患者数量在发病高峰期高于EV71和CoxA16阳性患者数量,而非高峰期低于EV71阳性者。以上结果显示, 2012年手足口病患者非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率高于EV71和CoxA16感染率,这一点在发病高峰期尤为明显,见图1。

二、手足口病病原学分布与患者年龄、性别的关系

不同年龄组、性别组手足口病病原学分布结果见表1。结果显示,各年龄组之间肠道病毒感染率($\chi^2 = 1.239$, $P = 0.744$)、EV71 阳性率($\chi^2 = 0.751$, $P = 0.861$)、CoxA16 阳性率(Fisher 检验 $P = 0.486$)和非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染率($\chi^2 = 0.236$, $P = 0.972$)差异均无统计学意义。男性儿童发病人数高于女性儿童(1.81 : 1),而不同性别组病原学构成统计学分析结果显示, EV 阳性率($\chi^2 = 0.075$, $P = 0.785$)、EV71 阳性率($\chi^2 = 0.001$, $P = 0.999$)、CoxA16 阳性率($\chi^2 = 1.070$, $P = 0.301$)及非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染率($\chi^2 = 1.362$, $P = 0.243$),提示不同性别组病原学构成差异无统计学意义。

三、手足口病病原学检出情况与采样时间的关系

211 例患者中 13 例患者因标本不全而分析了 198 例手足口病患者的病原学检出情况与采样时间的关系。选取其中 EV 阳性病例,检测入院后 1、2、3、5 和 7 天标本 EV 阳性情况,见表 2。从入院后不同天次的肠道病毒检出率来看,入院后第 1 天肠道病毒检测阳性例数最多,为 74 例,之后随采样时间距入院时间间隔越长则检出肠道病毒阳性例数明显下降。入院前 3 天的肠道病毒检出率远高于 > 3 d 的肠道病毒检出率,差异具有极显著统计学意义($\chi^2 = 112.508$, $P < 0.001$)。入院 3 d 后仍能检出病毒的 7 例患者中,非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒阳性 5 例, EV71 阳性 1 例、CoxA16 阳性 1 例,此 7 例临床表现与病毒学相关性需进行进一步研究。

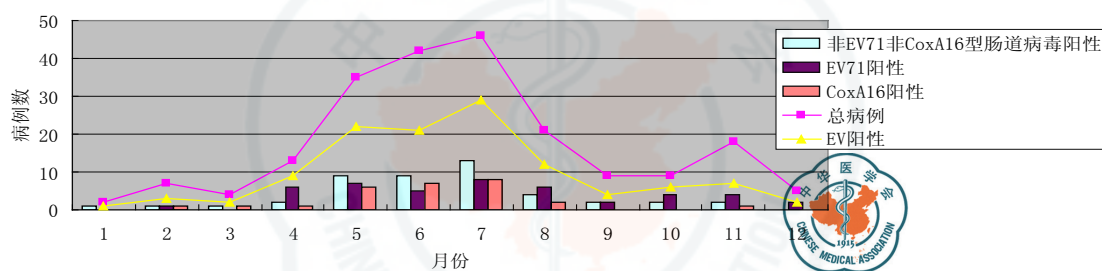


图 1 2012 年 1 ~ 12 月份不同病毒型手足口病病例数的变化趋势

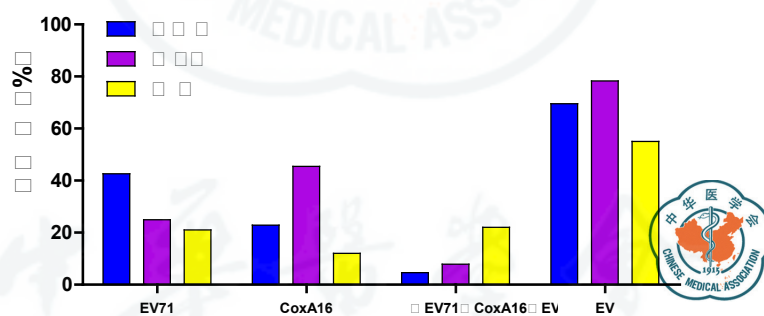


图 2 2012 年不同地区 HFMD 患者不同型别病原体感染率的比较

表 1 不同年龄、性别组手足口病患儿童肠道病毒检测情况 [例 (%)]

组别	例数	EV 阳性	EV71 阳性	CoxA16 阳性	非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒阳性	EV 阴性
0 ~ 1 岁	33	21/33 (63.64)	8/33 (24.24)	6/33 (18.18)	7/33 (21.21)	12/33 (36.36)
1 ~ 2 岁	106	56/106 (52.83)	22/106 (20.75)	12/106 (11.32)	22/106 (20.75)	50/106 (47.17)
2 ~ 3 岁	37	21/37 (56.76)	9/37 (24.32)	3/37 (8.11)	9/37 (24.32)	16/37 (43.24)
≥ 3 岁	35	20/35 (57.14)	6/35 (17.14)	6/35 (17.14)	8/35 (22.86)	15/35 (42.86)
男	136	77/136 (56.62)	29/136 (21.32)	15/136 (11.02)	33/136 (24.26)	59/136 (43.38)
女	75	41/75 (54.67)	16/75 (21.33)	12/75 (16.00)	13/75 (17.33)	34/75 (45.33)

表 2 不同采样时间手足口病病原检测阳性结果 [份 (%)]

	入院前 3 天			> 3 d	
	0 ~ 1 d	1 ~ 2 d	2 ~ 3 d	3 ~ 5 d	5 ~ 7 d
EV 阳性	74/198 (37.37)	66/198 (33.33)	34/198 (17.17)	7/198 (3.54)	3/198 (1.52)
合计 EV 阳性		174/594 (29.29) ^a		10/396 (2.53)	

注: ^a 为入院前 3 d 的肠道病毒检出率显著高于 > 3 d 的肠道病毒检出率, $P < 0.001$

四、病原体感染类型与患儿住院天数的关系

统计 211 例患儿的住院天数, 根据病原体检测结果分为 EV71 阳性组、CoxA16 阳性组、非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染组、肠道病毒阴性组共 4 组, 对各组平均住院天数进行方差分析, 结果显示 4 组患儿平均住院天数差异无统计学意义 ($F = 1.000$, $P = 0.394$)。

五、不同地区肠道病毒阳性率的比较

本研究与 2012 年杭州市^[10]、长春市^[11]的研究结果相比较 (图 2), EV71 感染率显著低于杭州市 ($\chi^2 = 43.872$, $P < 0.001$), 而与长春市相比差异无统计学意义; 本院 CoxA16 感染率显著低于上述两市 ($\chi^2 = 14.702$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 70.805$, $P < 0.001$); 而非 EV71 非 CoxA16 肠道病毒感染率显著高于两市 ($\chi^2 = 39.625$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 29.136$, $P < 0.001$)。本院的总 EV 阳性率低于以上两市, 差异均具有统计学意义 ($\chi^2 = 37.814$, $P < 0.001$; $\chi^2 = 38.598$, $P < 0.001$)。

讨 论

近年来, 非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒引起的手足口病在明显增加, 其中 CoxA10 和 CoxA6 曾引起了世界上出现的多次散发或暴发的手足口病流行^[12-14]。本课题组 2010 年度统计结果亦显示本院手足口病住院患儿 CoxA10 的阳性率已高于 CoxA16 的阳性率 (未发表数据)。

本研究收集 2012 年度本院收治的 211 例手足口病住院患儿的咽拭子标本。检测分析结果提示 2012 年度本院非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染率最高, 其次为 EV71 型和 CoxA16 型, 尤其在手足口病的发病高峰期, 非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染率最高。比较本课题组 2010 年、2011 年数据, 结果发现非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染率有逐年升高的趋势。另外, 北京市数据显示 2007 至 2010 年非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染人数逐年递增^[15]。故对于非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒应该给予高度重视。目前, 本课题组正在对非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒进行具体分型及个别型别肠道病毒全序列的测定, 这对于 HFMD 疫情的预测和防控具有重要意义。从年龄分布来看, 手足口病发病年龄集中在 0~3 岁。其中 1~2 岁组手足口病患儿最多, 占 50.23% (106/211)。与该年龄组的儿童免疫力低下, 来自母体的抗体逐渐消失, 而自身的免疫机制尚未发育完善有关。从患儿性别

来看, 男性患儿发病人数多于女性, 但不同性别人群不同型别的肠道病毒感染率并无显著性差异。

从肠道病毒阳性患者标本的动态监测情况来看, 采样与入院的时间间隔与肠道病毒阳性检出率总体呈负相关关系, 入院当天采集标本检出阳性例数最高, 入院前 3 天的肠道病毒检出率远高于 3 d 后的检出率。故有必要在入院后及早进行病原检测, 以增加病毒检出率, 提高诊治效率。入院 3 d 后仍能检出肠道病毒的 7 例患儿中, 有 5 例为非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒, 非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒阳性患者临床表现与病毒学相关性需要进行进一步研究。已有许多文献报道 HFMD 危重症多由 EV71 感染所致, 本研究结果提示, 临床上亦应重视非 EV71 非 CA16 型肠道病毒阳性病例的临床转归。

与杭州市^[10]和长春市^[11]研究结果相比较, 本研究中 EV 阳性率、CoxA16 阳性率显著低于以上两市, 而非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染率显著高于两市。说明不同地区肠道病毒的病原学分布情况不同, 北京地区非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染率较高, 应给予足够的重视。

手足口病病原体种类多, 且常轮流交替流行, 流行态势较为复杂。本研究对 2012 年本院手足口病住院患者病原体检测分析发现, 手足口病的病原谱有新的变化, 尤其是非 EV71 非 CoxA16 型肠道病毒感染率升高。今后亦应及时监测掌握病原流行变化趋势, 为手足口病的诊治和防控提供科学依据。

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国卫生部. 卫生部关于将手足口病纳入法定传染病管理的通知[J]. 首都公共卫生, 2008, 2(4): 145.
- 2 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 2012 年度全国法定传染病疫情概况[EB/OL]. [2013-03-15]. <http://www.nhfp.gov.cn/jkj/s3578/201304/b540269c8e5141e6bb2d00ca539bb9f7.shtml>
- 3 McMinn PC. An overview of the evolution of enterovirus 71 and its clinical and public health significance[J]. FEMS Microbiol Rev, 2002, 26(1): 91-107.
- 4 Hagiwara A, Tagaya I, Yoneyama T. Epidemic of hand, foot and mouth disease associated with enterovirus 71 infection[J]. Intervirology, 1978, 9(1): 60-63.
- 5 Iwai M, Masaki A, Hasegawa S, et al. Genetic changes of Coxsackievirus A16 and enterovirus 71 isolated from hand, foot, and mouth disease patients in Toyama, Japan between 1981 and 2007[J]. Jpn J Infect Dis, 2009, 62(4): 254-259.
- 6 Mirand A, Henquell C, Archimbaud C, et al. Outbreak of hand, foot and mouth disease/herpangina associated with Coxsackievirus A6 and A10 infections in 2010, France: a large citywide, prospective observational study[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(5): E110-E118.

- 7 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.
 - 8 Puenpa J, Chieochansin T, Linsuwanon P, et al. Hand, foot, and mouth disease caused by Coxsackievirus A6, Thailand, 2012[J]. Emerg Infect Dis,2013,19(4):641-643.
 - 9 梁金秋, 庞琳, 李洪杰, 等. 2011年度288例儿童手足口病住院患者的病原学分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2013,7(6):825-829.
 - 10 林先耀, 赵仕勇, 潘红英. 2012年杭州地区手足口病病原体流行特征分析及临床意义[J]. 浙江临床医学,2013,15(5):606-608.
 - 11 崔薇, 刘红, 初秋, 等. 长春市 2012 年手足口病病原学监测结果及分析[J]. 中国实验诊断学,2013,17(9):1721-1723.
 - 12 Davia J L, Bel P H, Ninet V Z, et al. Onychomadesis outbreak in Valencia, Spain associated with hand, foot, and mouth disease caused by enteroviruses[J]. Pediatr Dermatol,2011,28(1):1-5.
 - 13 Fujimoto T, Iizuka S, Enomoto M, et al. Hand, foot, and mouth disease caused by Coxsackievirus A6, Japan, 2011[J]. Emerg Infect Dis,2012,18(2):337-339.
 - 14 Wei SH, Huang YP, Liu MC, et al. An outbreak of Coxsackievirus A6 hand, foot, and mouth disease associated with onychomadesis in Taiwan, 2010[J]. BMC Infect Dis,2011,11(1):346-351.
 - 15 李锡太, 王全意, 黄芳. 北京市 2007-2010 年手足口病流行特征分析[J]. 国际病毒学杂志,2011,18(1):5-10.
- (收稿日期: 2014-03-11)
(本文编辑: 孙荣华)

孟一星, 梁金秋, 庞琳, 等. 2012年度211例手足口病住院患儿病原学检测及分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8 (2): 203-207.

