

· 临床论著 ·

2013至2015年度某院手足口病患儿的病原学分析

刘婷^{1,4} 芦红萍^{2,4} 庞琳³ 孟一星^{1,4} 曹金凤^{2,4} 闫永红^{2,4} 韩铭^{2,4} 刘顺爱^{2,4}
成军^{1,4}

【摘要】目的 分析2013至2015年北京大学北京地坛医院教学医院手足口病住院患者的病原体类型及分布特点,为手足口病的诊疗及预防提供关键性的指导。**方法** 收集2015年北京大学北京地坛医院教学医院儿科收治的手足口病住院患者共84例的咽拭子及粪便标本,提取病毒RNA,采用实时荧光聚合酶链反应(real time-PCR)法,进行肠道病毒(EV)通用型、肠道病毒71(EV71)型及柯萨奇A16(CoxA16)型肠道病毒核酸检测,并与2013年和2014年度本院手足口病病原学结果进行对比分析。**结果** 2015年手足口病患者的EV阳性率为86.9%(73/84),其中EV71型肠道病毒占44.05%(37/84),非EV71非CoxA16型肠道病毒占40.48%(34/84),CoxA16型肠道病毒占2.38%(2/84)。与2013年相比,2015年非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率显著下降($\chi^2 = 10.20$ 、 $P = 0.001$),差异具有显著统计学意义,而EV71型感染率显著升高($\chi^2 = 28.38$ 、 $P < 0.001$),差异具有极显著统计学意义;与2014年相比,2015年非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率显著升高($\chi^2 = 15.50$ 、 $P < 0.001$),差异均具有极显著统计学意义;EV71型感染率有所下降,但差异无统计学意义($\chi^2 = 1.89$ 、 $P = 0.019$)。**结论** 2013至2015年手足口病病原学分布变化较大,2013年本院手足口病患者以非EV71非CoxA16型肠道病毒感染为主;2014年以EV71型肠道病毒感染为主;2015年以EV71型和非EV71非CoxA16型肠道病毒感染为主,在未来的手足口病防控中应在重视EV71型肠道病毒感染的同时,重视非EV71非CoxA16型肠道病毒感染。

【关键词】 手足口病;病原学;肠道病毒

Etiology analysis of patients with hand, foot and mouth disease from 2013 to 2015 in a hospital Liu Ting^{1,4}, Lu Hongping^{2,4}, Pang Lin³, Meng Yixing^{1,4}, Cao Jin Feng^{2,4}, Yan Yonghong^{2,4}, Han Ming^{2,4}, Liu Shun'ai^{2,4}, Cheng Jun^{1,4}. ¹Beijing Ditan Hospital, Peking University Teaching Hospital, Beijing 100015, China; ²Institute of Infectious Diseases, ³Division of Pediatrics, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, 100015 Beijing, China; ⁴Beijing Key Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Beijing 100015, China

Corresponding author: Cheng Jun, Email: chengj0817@sina.cn

【Abstract】Objective To investigate the pathogens types and distribution features among pediatric patients with hand, foot and mouth diseases (HFMD) in Beijing Ditan Hospital, Peking University Teaching Hospital, from 2013 to 2015, and to provide crucial guidance for the diagnosis, treatment and prevention of HFMD. **Methods** The throat swabs of 84 cases hospitalized in division of pediatrics in our Hospital in 2015 were collected. Real-time fluorescence quantitative (real time-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 etiology results of HFMD of 2015 were compared with 2013 and 2014 in our hospital, respectively. **Results** In 2015, the positive rate of EV was 86.9% (73/84), the EV71

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2016.06.004

基金项目:北京市科委科技项目(No. D131100005313016)

作者单位:100015 北京,北京大学北京地坛医院教学医院¹;100015 北京,首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所²、儿科³;100015 北京,新发突发传染病研究北京市重点实验室⁴

通讯作者:成军, Email: chengj0817@sina.cn

accounted for 44.05% (37/84) and the non-EV71, non-CoxA16 enteroviruses accounted for 40.48% (34/84), the CoxA16 enteroviruses accounted for 2.38% (2/84). Compared with 2013, the infection rate of non-EV71, non-CoxA16 enteroviruses decreased significantly in 2015 ($\chi^2 = 10.20$, $P = 0.001$); the infection rate of EV71 enteroviruses increased significantly ($\chi^2 = 28.38$, $P < 0.001$). Compared with 2014, the infection rate of non-EV71 and non-CoxA16 enteroviruses increased significantly in 2015, with extremely significant difference ($\chi^2 = 15.50$, $P < 0.001$); the infection rate of EV71 enteroviruses decreased, with significant difference ($\chi^2 = 1.89$, $P = 0.019$). **Conclusions** From 2013 to 2015, the changes of distribution and variation of pathogens of HFMD were significant. In 2013, the etiology of pediatric patients with HFMD in our hospital was dominated by EV71 enteroviruses; but in 2014, the EV71 prevailed again. In 2015, the etiology was dominated by EV71, non-EV71 and non-CoxA16 enteroviruses. In prevention and control of HFMD, the non-EV71 and non-CoxA16 enteroviruses infection and EV71 enteroviruses infection should be considered.

【Key words】 Hand, mouth and foot disease (HFMD); Etiology; Enterovirus

手足口病(hand, foot and mouth disease, HFMD)是一种很常见的传染性疾病,通常累及5岁以下儿童。其临床表现为口腔溃疡和手、足和口腔等部位的皮疹且通常伴有发热,少数患者可出现相应呼吸、循环和神经系统等严重并发症,病情严重者可死亡。但目前尚无针对该疾病较为有效的治愈方法及预防措施。近十多年中,手足口病的流行或暴发相继在世界各地报道,特别是亚太地区。2007年至2008年,我国山东临沂和安徽阜阳相继发生手足口病的大规模暴发流行。此后,我国大部分地区均相继报道手足口病的流行。因此,2008年5月2日我国卫生部将手足口病纳入丙类传染病管理及监测^[1]。据国家卫生和计划生育委员会发布的数据及统计表明,2013至2015年我国手足口病发病6 604 609例,死亡882例^[2]。

肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)和柯萨奇病毒A16型(Coxsackievirus A 16, CoxA16)是引起手足口病的最主要且最常见的病原体类型,且二者均属于肠道病毒A组^[3]。EV71感染的手足口病患者较易并发无菌性脑膜炎、急性迟缓性麻痹、脑干脑炎等多种神经系统并发症^[3]。然而,近些年来CoxA6型肠道病毒与一些国家及地区的手足口病暴发流行紧密相连,如日本、法国和泰国等多地有报道^[4-7]。本研究参照我国卫生和计划生育委员会《手足口病预防控制指南》,对2013年至2015年就诊于北京大学北京地坛医院教学医院儿科的手足口病住院患儿的咽拭标本及粪便标本进行肠道病毒病原学检测及分析,监测2013年至2015年北京地区手足口病住院患者的主要的病原体类型,为北京地区近年来手足口病的主要流行趋势做出判断,为手足口病的诊疗预防做出关

键性的指导,现报道如下。

资料及方法

一、研究对象

本研究共入组2015年1月至2015年12月于就诊于本院儿科的手足口病住院患者84例,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版)。84例手足口病患者中,男61例,女23例,患者年龄13 d~9岁,发病年龄集中在0~5岁(94.50%)。另外,2013年和2014年的病例分别为117例和115例^[8]。

二、研究方法

1. 标本采集:使用病毒采集管采集手足口病患儿入院后第1、2、3天的咽拭子标本,用无RNA酶的冻存管分装,分装前使用涡旋振荡器震荡数次,−80℃保存。于15 ml离心管中,加入10 ml完全PBS液(高压灭菌)及1 ml氯仿,再加入粪便标本约5 g左右,在涡旋振荡器上剧烈震荡20 min,1 500 r/min离心20 min;将离心后上清分装于无RNA酶的冻存管中,−80℃保存。

2. 肠道病毒检测方法:使用QIAamp® Viral RNA Mini Kit试剂盒提取肠道病毒RNA,采用中山大学达安基因股份有限公司的肠道病毒核酸检测试剂盒(包括肠道病毒通用型核酸检测试剂盒、EV71型核酸检测试剂盒和CoxA16型核酸检测试剂盒),使用ABI 7500仪进行real-time PCR反应,对手足口病患者标本进行肠道病毒鉴定,并检测EV71和CoxA16的分型。

3. 结果判定:EV通用型、EV71型试剂盒检测阳性标本判为EV71(+);EV通用型、CoxA16型

试剂盒检测阳性标本判为CoxA16 (+) ; EV通用型阳性, 而EV71型和CoxA16型均为阴性的标本则判为非EV71非CoxA16型肠道病毒 (+) 。

三、统计学处理

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计学分析。患者收集的不同年份、不同性别及年龄分段、不同标本类型、不同地区的肠道病毒感染例数为计数资料, 其组间比较采用 χ^2 检验, 根据年份、标本类型、地区肠道病毒类型分布制作成柱形图; 患者的住院天数为计量资料但不呈正态分布故采用秩和检验进行统计学分析, 根据各型肠道病毒的住院天数制作散点图。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义, 以 $P < 0.01$ 为差异具有显著统计学意义, 以 $P < 0.001$ 为差异具有极显著统计学意义。

结 果

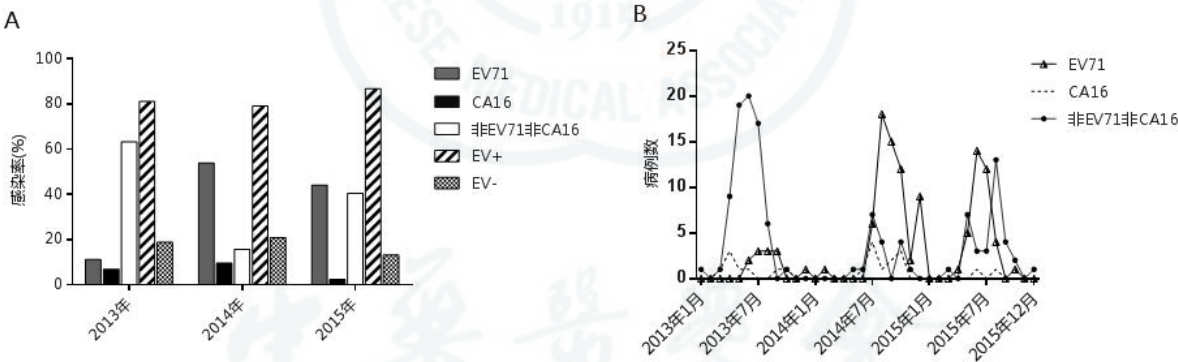
一、手足口病病原学分布随年份的变化

本研究结果显示, 不同年份手足口病主要病原体类型不同, 其中2015年EV71型肠道病毒占

44.05% (37/84), 非EV71非CoxA16型肠道病毒比率略低, 占40.48% (34/84), 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.22$ 、 $P = 0.639$) ; CoxA16型肠道病毒为近3年来最低, 占2.38% (2/84) 。与2013年相比, 2015年非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率显著下降, 差异具有显著统计学意义 ($\chi^2 = 10.20$ 、 $P = 0.001$) , 而EV71型感染率显著升高, 差异具有极显著统计学意义 ($\chi^2 = 28.38$ 、 $P < 0.001$) ; 与2014年相比, 2015年非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率显著升高, 差异均具有极显著统计学意义 ($\chi^2 = 15.50$ 、 $P < 0.001$) ; 而EV71型感染率有所下降, 但差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.89$ 、 $P = 0.019$) , 详见图1。

二、手足口病病原学分布与患者年龄、性别的关系

不同年龄分段和不同性别患者的病原学分布变化结果详见表1。不同年龄组间EV阳性率差异无统计学意义, 0~1岁组EV71 (+) 人数所占比例低于> 1岁组儿童 ($\chi^2 = 6.01$ 、 $P = 0.014$) , 而该组非EV71非CoxA16 (+) 的人数所占比例高于> 1岁



注: EV⁺: 肠道病毒阳性, EV⁻: 肠道病毒阴性
图 1 2013 年至 2015 年 HFMD 病原体类型的变化趋势

表 1 不同年龄、性别组 HFMD 患者病原体的分布 [例 (%)]

组别	例数	EV (+)	EV71 (+)	CoxA16 (+)	非EV71非CoxA16 (+)	EV (-)
年龄 (岁)						
0~1	52	43 (82.69)	11 (21.15) ^a	3 (5.77)	29 (55.77) ^b	9 (17.31)
1~2	123	101 (82.11)	45 (36.59)	10 (8.13)	46 (37.40)	22 (17.89)
2~3	59	50 (84.75)	24 (40.68)	3 (5.08)	23 (38.98)	9 (15.25)
≥ 3	82	65 (79.27)	34 (41.46)	5 (6.10)	28 (34.15)	17 (20.73)
性别						
男	208	170 (81.73)	75 (36.06)	14 (6.73)	81 (38.94)	38 (18.27)
女	108	89 (82.41)	37 (34.26)	7 (6.48)	45 (41.67)	19 (17.59)

注: ^a 为 0~1 岁组 EV71 (+) 人数所占比例显著低于> 1 岁组儿童 ($\chi^2 = 6.01$ 、 $P = 0.014$) ; ^b 为 0~1 岁组非 EV71 非 CoxA16 (+) 人数所占比例高于> 1 岁组儿童 ($\chi^2 = 6.56$ 、 $P = 0.010$)

组儿童 ($\chi^2 = 6.56$ 、 $P = 0.010$)，差异均具有统计学意义。

2013年至2015年共本院收治手足口病患者316例，其中男208例，女108例，男/女为1.93/1，不同性别组间病原体各型别分布差异均无统计学意义。

三、感染病原体类型与患者住院天数的相关性

分析2013年至2015年316例患者中EV71(+)、CoxA16(+)和非EV71非CoxA16(+)的3组平均住院天数，由于该资料不呈正态分布，故采用秩和检验，结果如图2所示：3组患者住院天数的中位数分别为7、6和7 d，EV71(+)组和非EV71非CoxA16(+)组患者的住院天数均显著多于CoxA16(+)组 ($Z = -2.5$ 、 $P = 0.012$ ， $Z = -3.45$ 、 $P = 0.001$)，差异均具有统计学意义；而EV71(+)组住院天数与非EV71非CoxA16(+)组相比，差异无统计学意义 ($Z = -0.18$ 、 $P = 0.86$)。

四、不同标本类型手足口病病原学检出变化比较2014年至2015年收集的患儿入院第1天的

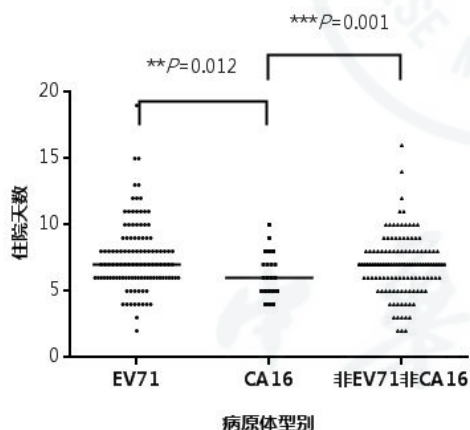
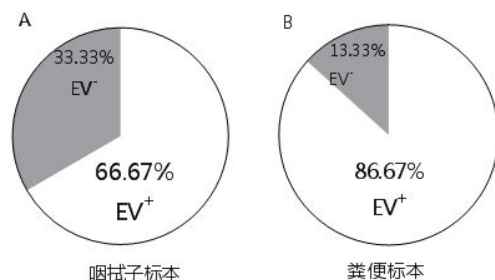


图2 三种不同型别的肠道病毒感染者住院天数分布图



注：EV⁺：肠道病毒阳性，EV⁻：肠道病毒阴性

图3 2014年至2015年不同标本类型肠道病毒检测

咽拭子标本与粪便标本进行肠道病毒检测，共检测咽拭子标本189份，粪便标本90份，其中，咽拭子标本的肠道病毒阳性率为66.67% (126/189)，粪便标本的肠道病毒阳性率为86.67% (78/90)。与咽拭子相比，粪便标本的阳性率显著升高，差异具有显著的统计学意义 ($\chi^2 = 12.41$ 、 $P < 0.001$)，见图3。

五、不同地区手足口病病原学变化

本研究与2015年广西壮族自治区百色市^[9]和内蒙古自治区鄂尔多斯市^[10]研究结果相比较 (图4)，EV71感染率显著高于上述两地，差异均具有极显著的统计学意义 ($\chi^2 = 99.83$ 、 $P < 0.001$ ， $\chi^2 = 102.70$ 、 $P < 0.001$)；CoxA16型感染率均低于上述两市 ($\chi^2 = 9.69$ 、 $P = 0.002$ ， $\chi^2 = 5.76$ 、 $P = 0.016$)；非EV71非CoxA16型感染率高于鄂尔多斯市 ($\chi^2 = 12.63$ 、 $P < 0.001$)，而与百色市相比差异无统计学意义。与百色市和鄂尔多斯市相比较，EV总阳性率显著高于两市 ($\chi^2 = 11.56$ 、 $P = 0.001$ ， $\chi^2 = 21.56$ 、 $P < 0.001$)。

讨 论

手足口病在世界范围内很多地区暴发流行，其主要是由EV71和CoxA16共循环引起^[11]。2008年我国安徽阜阳地区发生由EV71引起的手足口病大爆发以来，随后手足口病在全国范围内暴发^[8]。近年来，其病原体型别由非EV71非CoxA16型肠道病毒逐渐超过EV71和CoxA16，成为主要流行株^[6, 12-14]。手足口病病原体型别处于不断的变化之中，掌握不同时期，不同地区手足口病的病原体特征和分布，对及时预测并把握手足口病流行趋势及变化有重要价值。

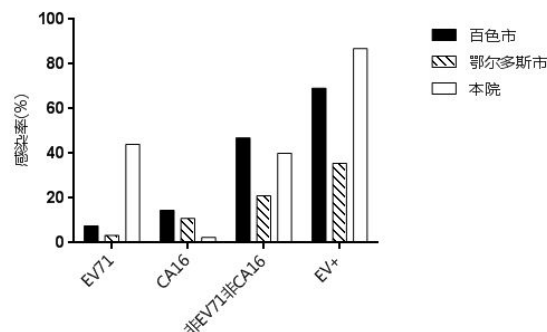


图4 2015年不同地区HFMD患者病原体型别

本研究收集2015年就诊于本院儿科84例手足口病住院患者的咽拭子及粪便标本。肠道病毒病原学检测及分析结果显示:EV71型肠道病毒和非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率基本持平,二者分别依次为本院2015年度手足口病发病高峰期主要病原体型别。比较本课题组2013年至2014年数据发现,2013年本院手足口病主要病原体型别为非EV71非CoxA16型肠道病毒,而2014年与之相反,EV71型肠道病毒再次成为主要病原体型别,比较本课题组2010年至2012年数据,结果发现,2010年至2012年EV71感染率逐年减少,而非EV71非CoxA16型肠道病毒感染率与之相反,呈逐年增高的趋势,尤以CA6和CA10型肠道病毒为主^[15-17]。而近3年,CoxA16型肠道病毒感染率均较低,可见与北京地区引起手足口病的主要流行株不同。2010年至2015年度本课题组统计结果显示,CA6、CA10一直是5年来除EV71、CoxA16外感染率最高的两种EV(未发表数据),故应对非EV71非CoxA16型肠道病毒的检测及具体的分型给予重视,并予以加强实施。同时本课题组也一直对非EV71非CoxA16型肠道病毒进行分型研究。以上结果显示,不同时期肠道病毒型别不同,且相互转变十分迅速。因此,及时掌握手足口病病原体型别的流行特征及变化趋势是有效减少手足口病发病率及病死率必不可少的一项任务。

本此研究发现手足口病发病年龄主要集中在0~3岁儿童,其中0~1岁组病例数最多,占38.92%(123/316),与该年龄组的儿童免疫系统发育不全,而自身的免疫机制尚未发育成熟有关。观察患儿型别分布特点,男性患儿肠道病毒感染率多于女性患儿,这可能与男性患儿往往在生活中不注重个人卫生,且活动频率更广泛,更易与病原体接触有关,但本研究结果认为不同性别人群病原体构成差异并无统计学意义。

分别统计分析EV71、CoxA16及非EV71非CoxA16型肠道病毒感染者的住院天数,发现EV71及非EV71非CoxA16型感染者平均住院天数均较长,可能与二者所引起的临床表现较为严重有关。以往研究表明,EV71型肠道病毒感染者发热热程较长,体温峰值更高,且更易导致严重的并发症,包括神经系统、循环系统和呼吸系统等并发症,是引起重症手足口病的主要病原体。提示EV71型肠道病毒感染较其他类型肠道病毒感染更为严重^[18-19]。

根据文献报道,粪便标本中肠道病毒的检出率较高,故在2014年同时收集患者入院后的粪便标本进行检测。结果显示,粪便标本的肠道病毒检出率高于咽拭子。故在今后研究中,需更加注重粪便标本的留取^[20]。

由于目前国内各地区有关2015年手足口病病原学研究甚少,故本研究与百色市^[9]和鄂尔多斯市^[10]2015年手足口病病原学研究结果相比较,本院EV感染率及EV71感染率均高于上述两市,CoxA16感染率均低于鄂尔多斯市,而非EV71非CoxA16型感染率高于鄂尔多斯市,与百色市差异无统计学意义。提示不同地区手足口病病原体型别分布发生较为明显的变化,应分别给予相应的重视。

本研究对2013年至2015年本院儿科手足口病住院患儿的肠道病毒进行检测以及具体型别的分型及分析发现,同一地区、不同时期引起手足口病病原体不断变化。不同病毒基因型肠道病毒感染的手足口病住院天数不同,临床症状不同(未发表数据),病情严重程度也不尽相同,这不仅有助于临床医生根据肠道病毒类型对患者的病情及时预测评估,更有助于对手足口病患者更有针对性的诊疗,故对于引起较严重病情的病原体型别应更加防治并发病,降低手足口病的病死率。对特定地区、特定时期起到有效的预防疾病的播散及流行,从而减轻我国卫生事业的负担。

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. 2015年度全国法定传染病疫情情况[EB/OL]. [2016-02-18]. <http://www.nhfp.gov.cn/jkj/s3578/201602/b9217ba14e17452aad9e45a5bcce6b65.shtml>
- 3 Xu J, Qian Y, Wang S, et al. EV71: an emerging infectious disease vaccine target in the Far East?[J]. Vaccine,2010,28(20):3516-3521.
- 4 Lo SH, Huang YC, Huang CG, et al. Clinical and epidemiologic features of Cocksackievirus A6 infection in children in northern Taiwan between 2004 and 2009[J]. J Microbiol Immunol Infect,2011,44(4):252-257.
- 5 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.
- 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):E110-118.

- 7 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.
- 8 芦红萍, 孟一星, 庞琳, 等. 2013至2014年度首都医科大学附属北京地坛医院手足口病住院患儿的病原学检测分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志:电子版*, 2015, 9(6):5-8.
- 9 梁少溢, 陆献嵩, 邓积广, 等. 2008-2015年百色市手足口病病原特征分析[J]. *应用预防医学*, 2016, 22(3):210-212.
- 10 徐萌杰, 祁美荣, 蔺权德, 等. 2015年鄂尔多斯市手足口病病原学监测结果分析[J]. *中国卫生检验杂志*, 2016, 26(12):1761-1763.
- 11 Ma E, Fung C, Yip SH, et al. Estimation of the basic reproduction number of enterovirus 71 and coxsackievirus A16 in hand, foot, and mouth disease outbreaks[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2011, 30(8):675-679.
- 12 Li JL, Yuan J, Yang F, et al. Epidemic characteristics of hand, foot, and mouth disease in southern China, 2013: Coxsackievirus A6 has emerged as the predominant causative agent[J]. *J Infect*, 2014, 69(3):299-303.
- 13 Bian L, Wang Y, Yao X, et al. Coxsackievirus A6: a new emerging pathogen causing hand, foot and mouth disease outbreaks worldwide[J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2015, 13(9):1061-1071.
- 14 Mirand A, Vié le Sage FV, Pereira B, et al. Ambulatory pediatric surveillance of hand, foot and mouth disease as signal of an outbreak of Coxsackievirus A6 infections, France, 2014-2015[J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22(11):1884-1893.
- 15 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.
- 16 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, 8(6):825-829.
- 17 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, 9(2):203-207.
- 18 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.
- 19 Wang Z, Nicholls JM, Liu F, et al. Pulmonary and central nervous system pathology in fatal cases of hand foot and mouth disease caused by enterovirus A71 infection[J]. *Pathology*, 2016, 48(3):267-274.
- 20 顾红岩, 詹永婧, 李辉, 等. 2013年北京地区手足口病的流行趋势[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志:电子版*, 2014, 8(6):768-773.
- (收稿日期: 2016-06-27)
(本文编辑: 孙荣华)

刘婷, 芦红萍, 庞琳, 等. 2013至2015年度某院手足口病患儿的病原学分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志:电子版*, 2016, 10(6):663-668.