

肠道病毒 71 型临床研究进展

赵红 欧蔚妮 闫杰 谢雯

肠道病毒 71 型(enterovirus 71, EV71)为小 RNA 病毒科肠道病毒属成员。EV71 于 1969 年首次从美国加利福尼亚州一名患有中枢神经系统疾病婴儿的粪便标本中分离出后^[1],其流行范围遍及全球。据报道 EV71 在世界范围内已引起 10 余次大规模的暴发与流行^[2-5],感染后主要引起患者手足口病(hand-foot-mouth disease, HFMD)等,少数患者还可出现肌阵挛、脑炎、急性迟缓性麻痹、心肺衰竭和肺水肿等。本文对其临床研究进展作一综述。

一、小 RNA 病毒科的分属

小 RNA 病毒科包括肠道病毒属、肝病毒属、鼻病毒属等,详见表 1^[6]。

表 1 小 RNA 病毒科分属

科	属	致病病毒代表
小 RNA 病毒	肠道病毒	脊髓灰质炎病毒
		科萨基病毒 A 组及 B 组
		埃可病毒
		新肠道病毒(68-71 型)
	肝病毒	甲型肝炎病毒(肠道病毒 72 型)
	鼻病毒	普通感冒病毒(>115 型)

肠道病毒型别众多,原有 67 型,其中以科萨奇病毒、埃可病毒及脊髓灰质炎病毒与人类关系最为密切。随后又相继发现 5 种新肠道病毒,称为肠道病毒 68 ~ 72 型,均符合肠道病毒的理化特性,分子生物学研究明确了甲型肝炎病毒即肠道病毒 72 型,故实际 68 ~ 71 型为新肠道病毒。除 69 型肠道病毒外,其余 3 种新病毒均与人类疾病相关,68 型主要引起儿童毛细支气管炎及肺炎,其临床表现尚了解较少;新肠道病毒 70 型主要引起急性出血性结膜炎,曾在世界范围内发生多次大流行,传染数百万人,由手、眼科器械、毛巾、昆虫传播,游泳池水被病毒污染后传染性强;近期最引人注意的是肠道病毒 71 型引起的手足口病及中枢神经系统感染^[7]。

二、EV71 病毒结构特征

EV71 的病毒颗粒为二十面体立体对称的球形结构,无包膜和突起,直径约 24 ~ 30 nm。其基因组为由 7408 个核苷酸(BrGr)组成的单股正链 RNA,仅有一个开放阅读框,编码含 2194 个氨基酸的多聚蛋白,其两侧为 5'-和 3'-非编码区,

作者单位:100011 北京市,北京地坛医院
通讯作者:谢雯 Email: xiewen6218@sohu.com

3'-非编码区末端含一个长度可变的多聚腺苷酸尾巴(poly-A)。该病毒的单链RNA具有感染性,如去除3'-末端的多聚腺苷酸尾或基因组出现断裂,其感染性就会消失。多聚蛋白可进一步水解成P1、P2和P3三个前体蛋白,P1前体蛋白可降解成VP1、VP2、VP3和VP4四个病毒外壳蛋白;P2和P3前体蛋白编码7个非结构蛋白,包括2A(特异性蛋白水解酶)、2B、2C、3A、VPg(5'-末端结合蛋白)、3C(特异性蛋白水解酶)和3D(RNA多聚酶组分)。根据病毒衣壳蛋白VP1核苷酸序列的差异,可将EV71分为A、B、C三个基因型,其中B型和C型又进一步分为B1、B2、B3、B4以及C1和C2亚型^[8,9]。

三、流行病学

1. 临床流行病学:自1974年Schmidt等首次报道以来,全世界很多国家和地区先后报道了EV71的感染和流行情况。

20世纪70年代中期,保加利亚、匈牙利相继暴发以中枢神经系统症状为主要临床特征的EV71流行,仅保加利亚就有超过750例发病,呈严重的脊髓灰质炎样临床表现,其中149人致瘫,44人死亡,21%瘫痪患者难以与脊髓灰质炎相区别,5%有脑炎表现并累及脑神经,严重者已侵犯延髓。少数患者同时有多发性神经根炎、心肌炎,也有出现全身斑丘疹者,但未见1例手足口病患者^[10]。1972至1973年、1986年和1999年澳大利亚均发生过EV71流行,重症患者大多伴有中枢神经系统症状,部分患者还有严重的呼吸系统症状^[11]。日本报道的肠道病毒71型感染流行时,大多出现典型手足口病表现,或单独发生或同时伴有无菌性脑膜炎。

20世纪90年代后期,EV71开始在东亚地区流行。1997年以来,EV71感染为主的手足口病在马来西亚、新加坡等地大规模暴发流行,因并发中枢神经系统症状而导致死亡病例增多。1997年马来西亚发生了主要由EV71引起的手足口病流行,4~8月共有2628例发病,仅4~6月就有29例患者死亡,患者中100%均出现发热,62%出现手足皮疹,66%出现口腔溃疡,28%病程发展迅速,17%导致肢体软瘫,17例胸片显示肺水肿^[12]。

我国自1981年上海首次报道手足口病以来,北京、河北、天津、福建、吉林、山东、湖北、西宁、广东等十几个省市先后均有报道。1995年武汉病毒研究所从手足口患者分离出EV71,1998年深圳市卫生防疫站也从手足口病患者中分离出2株EV71。

1998年EV71感染引起我国台湾手足口病和疱疹性咽峡炎大流行,自3月至12月共监测到129106病例,其中5~7月为高峰期。重症患者405例,死亡78例,大多为5岁以下儿童。1998年至2001年台湾手足口病病毒型别及临床表现见表2^[13]。

自1999年以来,我国广东、福建、上海、重庆等地区报告局部流行EV71感染,发现EV71是我国南方地区HFMD的主要病原体之一。此次安徽阜阳等地发生的手足口病流行,截至2008年5月9日全国累计报道手足口病近25000例,34

名患儿死亡,实验室检测表明 EV71 为主要的病原体^[14]。

表 2 1998 年至 2001 年台湾地区手足口病病毒型别及严重病例(例)

病例/肠道病毒型别	1998 年	1999 年	2000 年	2001 年
严重病例	405	35	291	389
死亡病例	78	9	41	55
EV71	34	1	25	26
柯萨奇病毒 B3	0	3	1	0
埃可病毒 4	0	0	0	3
其他肠道病毒	3	4	12	7
阴性	31	1	3	13
样本未得到	10	0	0	6

2. 分子流行病学: EV71 的分子流行病学主要研究内容为 VP1 基因、VP4 基因和 5'-非编码区(5'-UTR)的变异,其中 VP1 基因最具研究价值,这是因为:(1) VP1 蛋白是病毒主要的中和抗原决定簇;(2)VP1 基因具有与病毒血清型完全对应的遗传多样性^[15]; VP1 基因序列不仅可作为肠道病毒属内不同血清型分类的依据,并可作为小 RNA 病毒科内不同属的分类参考。1999 年,美国疾病预防控制中心(CDC)^[16]对来自美国和另外 5 个国家的 113 株 EV71 进行了分子流行病学研究,根据 VP1 序列(891bp)的变异情况,将其分为 A、B 和 C 三个基因型,其中 B 型和 C 型又分成 B1 和 B2 以及 C1 和 C2 两个亚型。

1970 年在加利福尼亚分离的 EV71 原型株(BrCr-Ca-70)属于 A 基因型;1972~1988 年在澳大利亚和美国、1994 年在哥伦比亚、1997 年在马来西亚分离的 EV71 毒株均属于基因 B 型。1988 年后,美国逐步出现主要流行毒株 B 基因型被 C 基因型所取代的趋势;加拿大、澳大利亚以及我国台湾地区 EV71 的主要流行毒株均属于 C 基因型。

McMinn 等^[8]根据 VP1 核苷酸序列,分析了自 1997~2001 年间在亚太地区流行的 66 个分离株,结果从东南亚地区分离到两个 EV71 新亚型,即 B3 和 B4 亚型,其中 B3 亚型在 1997~1999 年间为东南亚地区的主要流行株,但 1999 年后就未曾分离到该亚型。B4 亚型曾在新加坡(1997)、马来西亚(1997~1998)和台湾(1998)小规模流行,但 2000 年在马来西亚和新加坡发生大规模流行并成为流行株;台湾 EV71 流行株为 C2 亚型;澳大利亚西部小规模流行的 EV71 与曾在美国北部的 EV71 流行株同属 C1 亚型;1999 年澳大利亚西部的 EV71 流行株来源于亚洲,其 B3 亚型与 1997 年马来西亚流行的 B3 亚型的同源性高于 99%,C2 亚型与 1998 年台湾流行株的同源性高于 98%。我国南部地区一直存在 EV71 的小规模流行或散发病例,何雅青等^[17]研究表明其基因型以 C 型为主,在种系进化上有较高的同源性,与我国台湾地区大部分分离株亦有 90%~91% 的核苷酸同源性。EV71 不同基因型的流行情况见表 3。

表3 EV71 不同基因型的流行情况

时间	地区	EV71 流行株基因型
1970 年	加利福尼亚	A 型(原型株)
1972 年~1988 年	美国、澳大利亚	B 型
1994 年	哥伦比亚	B 型
1997 年	马来西亚	B 型
1997 年~1999 年	东南亚	B3 亚型
2000 年	新加坡、马来西亚	B4 亚型
1998 年	台湾	C2 亚型
1999 年	澳大利亚西部	B3、C2、C1 亚型

三、EV71 感染的临床表现

1. 主要临床表现:(1)HFMD 及疱疹性咽峡炎:HFMD 患者以 4~5 岁以下小儿多见,成人也可患病,但病情多较轻。感染初期患者表现为低热、流涕、食欲下降、口痛、呕吐、腹泻等。口腔黏膜出现小疱疹,常分布于舌、颊黏膜、硬腭,也可以出现在扁桃体、牙龈及咽部等,疱疹破溃后形成溃疡。在口腔病变同时皮肤可以出现斑丘疹,以手足多见,皮疹主要分布于手背、指间,偶见于躯干、大腿、臀部、上臂等处,呈离心性分布,斑丘疹很快转为小疱疹,直径约 3~7 mm,质地稍硬,自几个至数十个不等,2~3 日可自行吸收,不留疤。多数为良性过程,可自愈,但可复发急性咽峡炎是 EV71 的另一个临床表现,在中国香港地区、日本和中国台湾地区的 EV71 流行均曾有报道。1998 年中国台湾地区 EV71 流行期间急性咽峡炎患者比例较大,达 10% 以上;(2)中枢神经系统症状:EV71 累及中枢神经系统时,可出现血管变态反应、组织炎症病变和神经毒性作用,组织炎症较神经毒性作用更加强烈,中枢神经系统小血管内皮最易受损,而细胞融合、血管炎性变和血栓形成可导致缺血和梗死。在脊髓索、脑干、间脑、大脑和小脑的局部组织,除嗜神经性作用外,还存在广泛的血管周围和实质细胞炎症。EV71 感染的中枢神经系统表现主要为急性无菌性脑膜炎、脑干脑炎、脊髓灰质炎样麻痹、格林-巴利综合征等,多发生于 5 岁以下幼儿,1 岁以下婴儿发病率最高。Huang 等^[18]对 1998 年中国台湾地区 EV71 流行期间的 44 例神经系统感染者进行了分析,根据神经系统受累的程度将脑干脑炎分为 3 级:I 级表现为肌震颤和共济失调,5% 的患儿留下永久性神经系统后遗症;II 级表现为肌震颤和颅神经受累,导致 20% 的患儿留下后遗症;III 级表现为心肺功能迅速衰竭,80% 的患儿死亡,存活者均留下严重后遗症。这种分类标准对临床诊断和及时正确治疗有指导作用;(3)神经源性肺水肿:EV71 感染引起神经源性肺水肿的描述主要来源于亚太地区 EV71 流行的大量病例。1998 年中国台湾地区的暴发流行中,78 例患者死亡,其中 65 例有肺水肿或肺出血(83%)。其症状为起病第 1~3 d 内突然发生心动过速、呼吸困难、紫绀和休克,胸片显示双侧对称性非心源性肺水肿。推测 EV71 可能首先破坏脑干组织特定的具有调节功能的结构,引起植物神经功能紊乱,最终导致肺水肿。另

有研究表明,高血糖、白细胞升高和急性弛缓性瘫痪共同构成了神经源性肺水肿的高危因素^[19],但其机制尚不清楚。

2. 临床诊断^[20]:急性起病,发热,手掌或脚掌部出现斑丘疹和疱疹,臀部或膝盖也可出现皮疹。皮疹周围有炎性红晕,疱内液体较少;口腔黏膜出现散在的疱疹,疼痛明显。部分患儿可伴有咳嗽、流涕、食欲不振、恶心、呕吐和头疼等症状。

重症病例:(1)有手足口病临床表现的患者,同时伴有肌阵挛或脑炎、急性迟缓性麻痹、心肺衰竭、肺水肿等;(2)手足口病流行地区的婴幼儿虽无手足口病典型表现,但有发热伴肌阵挛或脑炎、急性迟缓性麻痹、心肺衰竭、肺水肿等。

3. 临床特点:(1)临床症状的非特异性:多种肠道病毒感染均可出现上述临床症状。最早发现手足口病的病原体是柯萨奇病毒 A16,后来发现柯萨奇病毒 A 组 4 型、5 型、9 型、10 型以及 B 组 2 型和 5 型等肠道病毒也可引起手足口病。自 1969 年首次分离到 EV71 以来,逐渐认识到 EV71 也是手足口病的主要病原体。自 1998 年中国台湾地区手足口病大流行的患者不仅分离到 EV71,还分离到柯萨奇病毒 A、B1、B2、B3、B5,埃可病毒 6、7、11、22、27,脊髓灰质炎病毒等多种肠道病毒。但感染 EV71 患者中,住院治疗的相对危险性高于其他肠道病毒感染者,提示其症状更为严重,96 例出现严重并发症的患者中,78 例为 EV71 感染者,远远高于其他肠道病毒感染者^[21];(2)临床表现的多样性:EV71 感染可以引起手足口等多处皮疹、疱疹性咽峡炎、无菌性脑膜炎、脑干脑炎、弛缓性瘫痪、神经源性肺水肿等多种临床综合征,无特异性。20 世纪 70 年代在欧洲暴发的 EV71 流行,患者主要表现为脑炎和脊髓灰质样麻痹,手足口症状很少见^[13,22]。同期日本于流行的 EV71,主要表现为手足口症状,中枢神经感染的比例较少而且症状较轻^[23, 24]。1998 年中国台湾地区 EV71 大流行中,手足口症状患者占 45.3%,急性咽峡炎症状者占 10%,HFMD 患者中同时出现中枢神经症状的占 70% (37/54)^[25]。另有报道表明,1998 年中国台湾地区 EV71 流行中,中枢神经系统感染者中有 80% 同时患 HFMD^[26],而同期澳大利亚的此比例只有 7%^[8]。因此,EV 感染后并非所有患者均出现手足口皮疹,部分患者仅表现为疱疹性咽峡炎或者无菌性脑膜炎、肝干脑炎,手足口病这个诊断是否确切尚有待商榷,或者根据其症状进行临床分型,对于判断患者病情轻重及预后是否更有意义。

患者的临床症状不同、病情轻重不一是否和 EV71 的基因型有关尚不清楚。McMinn 等^[11]对 1999 年澳大利亚流行 EV71 的 VP1 基因进行了序列分析,发现属于同一亚型(C2)的分离株中,只表现 HFMD 的分离株与具神经毒性的分离株主要区别在于第 170 位氨基酸不同,前者为丙氨酸,而后者是缬氨酸。EV71 的 VP1 蛋白第 170 位氨基酸是非常保守的,可能正是这一个氨基酸的变化改变了 VP1 蛋白的空间结构,导致病毒与受体结合能力下降,从而使其毒力发生根本改变,目前尚缺乏进一步的研究支持其推论。

四、实验室诊断

1. 病毒分离培养:许多细胞系均可支持人肠道病毒生长,建议将怀疑含 EV71 的标本接种至以下两种细胞系:RD 细胞(来源于人横纹肌肉瘤细胞)和 HEp-2 细胞(来源于人喉癌上皮细胞)。RD 细胞支持 EV71 的复制, EV71 能在 RD 细胞中引起特殊的肠道病毒致细胞病变效应,表现为细胞圆缩、分散、胞浆内颗粒增加,最后细胞自管壁脱落。从 HFMD 患儿的脑脊液、血液、疱疹液等临床标本中分离出 EV71 有诊断价值,但单从咽拭子或粪便中分离到该病毒尚不能确诊。从有上述临床症状群患者的咽拭子或粪便中重复分离到同一型病毒,且从周围患同样疾病者中也检出相同病毒,且病毒分离率远高于正常人群,则有诊断的参考价值。

2. 中和抗体滴度检测:比较患者急性期血清与恢复期血清中和抗体滴度,可作为 EV71 感染的血清学诊断方法,最常用的是中和实验,即用微量板法测定抗体滴度,是目前人肠道病毒抗体检测的最常用方法,该法精确且具有型特异性。作为肠道病毒感染的诊断方法之一,可以测定血清(或脑脊液)中肠道病毒中和抗体的滴度,通常用急性期血清与恢复期血清滴度进行比较,抗体滴度呈 4 倍或 4 倍以上增高证明为病毒感染。中和实验的检测原理:病毒感染敏感靶细胞后引起细胞形态学变化,出现致细胞病变效应,特异性中和抗体与病毒结合后,可使病毒颗粒失去感染性,抑制致细胞病变效应的出现。

3. 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR):EV71 的常规诊断方法为病毒分离培养、中和抗体滴度检测以及免疫组织化学法。这些方法费时、费力,无法满足病毒流行期间同时处理大量样本的需要。RT-PCR 技术克服了以上缺点,已成为 EV71 快速诊断的重要手段^[27]。EV71 的 RT-PCR 检测主要基于 VP1^[28]来设计引物。Betty 等^[29]根据 EV71 的 VP1 编码基序(motif)设计了一对诊断性引物,引物设计考虑到 VP1 氨基酸序列的变异性和密码子的简并性,四重密码子简并处设计为脱氧次黄嘌呤核苷。该引物成功扩增了 125 份(来自美国 CDC, 1970 ~ 1998 年)经常规方法确诊的样本,同时设立 32 个对照(包括柯萨奇 A16 和其它肠道病毒),其结果均为阴性。Singh 等^[30]基于 VP1 设计了一对引物,成功地扩增了 44 株 EV71 分离株,对 30 株其它肠道病毒进行了扩增,结果均为阴性。Shih 等^[31]曾用 EV71 的 VP1 基因的原核表达产物作为抗原诊断 EV71 的感染,结果表明原核表达的 VP1 蛋白作为检测抗原,既可检测急性感染期患儿血清中的 IgM,也可检测曾感染 EV71 患者血清中的 IgG,而且与 CA16 抗血清无交叉免疫反应。

五、治疗

EV71 感染患者的治疗主要以对症治疗为主,目前缺乏特异、高效的抗病毒药物。Arya 等^[32]曾尝试用 IFN- α 治疗 EV71 引起的中枢神经系统感染,结果表明早期应用可逆转病毒对神经系统的损伤。另外,静脉注射丙种球蛋白(IVIG)能有效地抑制炎症的发生,对 EV71 引起的中枢神经系统感染有一定的疗效,该法曾在 1998 年中国台湾和 2000 年澳大利亚的 EV71 流行中得到广泛应用。

近期,国外报道一种新药 Pleconaril^[33],其口服吸收好、副作用小,对小 RNA

病毒科的病毒,特别是肠道病毒引起的脑膜炎、急性弛缓性麻痹等有较好的疗效,在美国已进入Ⅲ期临床,其作用机制可能是通过阻止病毒与宿主细胞受体的结合而抑制病毒复制。但 Pleconaril 对 EV71 感染的临床疗效尚待研究。

六、预防^[20]

人是 EV71 的唯一宿主,患者和隐性感染者均为本病的传染源,主要经粪-口和/或呼吸道飞沫传播,亦可经接触患者皮肤、黏膜疱疹液而感染。是否可经水或食物传播尚不明确。发病前数天,感染者咽部与粪便就可检出病毒,通常以发病后一周内传染性最强。患者粪便、疱疹液和呼吸道分泌物及其污染的手、毛巾、手绢、牙杯、玩具、食具、奶具、床上用品、内衣以及医疗器具等均可造成本病传播。人对 EV71 普遍易感,显性感染和隐性感染后均可获得特异性免疫力,持续时间尚不明确。病毒的各型间无交叉免疫。各年龄组均可感染发病,但以 ≤ 3 岁年龄组发病率最高。手足口病传播途径多,婴幼儿和儿童普遍易感。做好儿童个人、家庭和托幼机构的卫生是预防本病感染的关键。

七、EV71 将来的研究重点

根据 EV71 研究已取得的进展,将来的研究重点应集中在以下几个方面:(1)在已获得部分毒株序列的基础上,进一步开展血清和分子流行病学调查,完善对病毒流行规律、流行特点和基因分型的认识,由此阐明 EV71 不同毒株间的进化关系;(2)手足口病现已纳入丙类法定传染病管理,实行网络疫情信息直报,可据此制定一整套 EV71 预防与控制的策略,建立完善的 EV71 流行监测系统;(3)加强病毒和宿主间相互作用的研究,弄清其致病机制,特别是与中枢神经系统感染有关的致病机理;(4)进一步完善 EV71 的诊断方法,尤其是快速、准确、操作简便的诊断方法;(5)研发能有效控制 EV71 流行的疫苗,如基因工程亚单位疫苗、减毒活疫苗、灭活疫苗等,以达到最大限度控制 EV71 感染所致的手足口病流行的问题。

参 考 文 献

- 1 Schmidt NJ, Lennette EH, Ho HH. An apparently new enterovirus isolated from patients with disease of the central nervous system. *J Infect Dis*, 1974, 129:304-309.
- 2 Samuda GM, Chang WK, Yeung CY, et al. Monoplegia caused by Enterovirus 71: an outbreak in Hong Kong. *Pediatr Infect Dis J*, 1987, 6:206-208.
- 3 Ishimaru Y, Nakano S, Yamaoka K, et al. Outbreaks of hand, foot, and mouth disease by enterovirus 71. High incidence of complication disorders of central nervous system. *Arch Dis Child*, 1980, 55:583-588.
- 4 Gilbert GL, Dickson KE, Waters MJ, et al. Outbreak of enterovirus 71 infection in Victoria, Australia, with a high incidence of neurologic involvement. *Pediatr Infect Dis J*, 1988, 7:484-488.
- 5 Kennett ML, Birch CJ, Lewis FA, et al. Enterovirus type 71 infection in Melbourne. *Bull World Health Organ*, 1974, 51:609-615.
- 6 翁心华. RNA 病毒. 见翁心华、潘孝彰、王岱明主编. 现代感染病学. 第一版. 上海:上海医科大学出版社, 1998. 649-659.
- 7 杨绍基. 小 RNA 病毒科病毒性疾病. 见刘克州、陈智主编. 人类病毒性疾病. 第一版. 北京:人民卫生出版社, 2002. 806-844.
- 8 McMinn P, Lindsay K, Perera D, et al. Phylogenetic analysis of enterovirus 71 strains isolated during linked epidemics in Malaysia, Singapore, and Western Australia. *J Virol*, 2001, 75:7732-7738.
- 9 Shih SR, Ho MS, Lin KH, et al. Genetic analysis of enterovirus 71 isolated from fatal and non-fatal cases of hand, foot and

- mouth disease during an epidemic in Taiwan, 1998. *Virus Res*, 2000,68:127-136.
- 10 Melnick JL. Enterovirus type 71 infections: a varied clinical pattern sometimes mimicking paralytic poliomyelitis. *Rev Infect Dis*, 1984,6 Suppl 2:S387-390.
- 11 McMinn P, Stratov I, Nagarajan L, et al. Neurological manifestations of enterovirus 71 infection in children during an outbreak of hand, foot, and mouth disease in Western Australia. *Clin Infect Dis*, 2001,32:236-242.
- 12 Chan LG, Parashar UD, Lye MS, et al. Deaths of children during an outbreak of hand, foot, and mouth disease in sarawak, malaysia: clinical and pathological characteristics of the disease. For the Outbreak Study Group. *Clin Infect Dis*, 2000,31:678-683.
- 13 McMinn PC. An overview of the evolution of enterovirus 71 and its clinical and public health significance. *FEMS Microbiol Rev*, 2002,26:91-107.
- 14 Brown BA, Kilpatrick DR, Oberste MS, et al. Serotype-specific identification of enterovirus 71 by PCR. *J Clin Virol*, 2000,16:107-112.
- 15 Data provided by the Center for Disease Control, Ministry of Health, Taiwan(1998-2001). <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol9no3/02-0285.htm>.
- 16 Brown BA, Oberste MS, Alexander JP Jr, et al. Molecular epidemiology and evolution of enterovirus 71 strains isolated from 1970 to 1998. *J Virol*, 1999,73:9969-9975.
- 17 何雅青, 杨洪, 李琳琳, 等. 深圳地区 2001~2004 年肠道病毒 71 型部分 VP1 区基因分析. *病毒学报*, 2006,22:397-399.
- 18 Huang CC, Liu CC, Chang YC, et al. Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection. *N Engl J Med*, 1999,341:936-942.
- 19 Chang LY, Lin TY, Huang YC, et al. Comparison of enterovirus 71 and coxsackie-virus A16 clinical illnesses during the Taiwan enterovirus epidemic, 1998. *Pediatr Infect Dis J*, 1999,18:1092-1096.
- 20 2008 年 5 月 3 日中华人民共和国卫生部《手足口病预防控制指南》, http://www.5dka.cn/gzdt/2008-05/03/content_960347.htm.
- 21 Ho M, Chen ER, Hsu KH, et al. An epidemic of enterovirus 71 infection in Taiwan. Taiwan Enterovirus Epidemic Working Group. *N Engl J Med*, 1999,341:929-935.
- 22 Nagy G, Takatsy S, Kukan E, et al. Virological diagnosis of enterovirus type 71 infections: experiences gained during an epidemic of acute CNS diseases in Hungary in 1978. *Arch Virol*, 1982,71:217-227.
- 23 Ishimaru Y, Nakano S, Yamaoka K, et al. Outbreaks of hand, foot, and mouth disease by enterovirus 71. High incidence of complication disorders of central nervous system. *Arch Dis Child*, 1980,55:583-588.
- 24 Hagiwara A, Tagaya I, Yoneyama T. Epidemic of hand, foot and mouth disease associated with enterovirus 71 infection. *Intervirology*, 1978,9:60-63.
- 25 Wang SM, Liu CC, Tseng HW, et al. Clinical spectrum of enterovirus 71 infection in children in southern Taiwan, with an emphasis on neurological complications. *Clin Infect Dis*, 1999,29:184-190.
- 26 Liu CC, Tseng HW, Wang SM, et al. An outbreak of enterovirus 71 infection in Taiwan, 1998: epidemiologic and clinical manifestations. *J Clin Virol*, 2000,17:23-30.
- 27 Tan EL, Yong LL, Quak SH, et al. Rapid detection of Enterovirus 71 by real-time TaqMan RT-PCR. *J Clin Virol*, 2008,42:203-206.
- 28 Lum LC, Wong KT, Lam SK, et al. Neurogenic pulmonary oedema and enterovirus 71 encephalomyelitis. *Lancet*, 1998,352:1391.
- 29 Brown BA, Kilpatrick DR, Oberste MS, et al. Serotype-specific identification of enterovirus 71 by PCR. *J Clin Virol*, 2000,16:107-112.
- 30 Wu CN, Lin YC, Fann C, et al. Protection against lethal enterovirus 71 infection in newborn mice by passive immunization with subunit VP1 vaccines and inactivated virus. *Vaccine*, 2001,20:895-904.
- 31 Shih SR, Li YS, Chiou CC, et al. Expression of capsid [correction of caspid] protein VP1 for use as antigen for the diagnosis of enterovirus 71 infection. *J Med Virol*, 2000,61:228-2234.
- 32 Arya SC. Antiviral therapy for neurological manifestations of enterovirus 71 infection. *Clin Infect Dis*, 2000,30:988.
- 33 Rothbart HA, O'Connell JF, McKinlay MA. Treatment of human enterovirus infections. *Antiviral Res*, 1998,38:1-14.

(收稿日期:2008-05-12)

(本文编辑:温少芳)

赵红, 欧蔚妮, 闫杰, 等. 肠道病毒 71 型临床研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2008,2(3):226-233.