

• 临床检验研究 •

# 某地区 2010 年手足口病患者肠道病毒 RNA 实时 荧光逆转录 PCR 检测结果分析

朱晓洁, 刘 露

(广东省惠州市中心人民医院检验中心 516001)

**摘要:**目的 用实时荧光定量 RT-PCR 技术检测惠州市 2010 年手足口病患者肠道病毒 RNA, 了解手足口病病例肠道病毒的感染情况, 为制定预防和控制肠道病毒感染策略提供依据。**方法** 采集 2010 年 1~12 月本院送检的 1 712 例手足口病患者的粪便、肛拭子、咽拭子和脑脊液等标本 5 849 份, 应用荧光 RT-PCR 技术检测样本中的肠道病毒(EV)、肠道病毒 71 型(EV71)、柯萨奇病毒 A 组 16 型(CA16)。**结果** 男性及女性 EV、EV71 和 CA16 感染率分别为 68.15%、43.61%、5.56% 和 61.23%、37.03%、5.70%; 共检出 1 123 份 EV 阳性标本, 705 份 EV71 阳性标本, 96 份 CA16 阳性标本, 阳性率分别为 60.28%、33.35% 和 5.13%; 4~6 月和 7~9 月是手足口病发病高峰期, 感染肠道病毒 EV、EV71 型、CA16 型人数分别占所有肠道病毒 EV、EV71、CA16 型感染者的 36.33%、49.50%、42.70% 和 42.56%、38.72%、40.63%; 0~4 岁的儿童是手足口病的高发人群, 占所有患者的 85.46%。**结论** 惠州市 2010 年手足口病的病原以肠道病毒 71 型为主, 夏秋季节是手足口病发病高峰期, 0~4 岁儿童是感染肠道病毒的高危人群。

**关键词:** 手足口病; 聚合酶链反应; 肠道病毒属; 肠道病毒 A 型, 人; 柯萨奇病毒感染

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.13.008

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)13-1421-02

## Detection enterovirus RNA of patients with hand-foot-mouth disease in 2010 in certain area by real time fluorescent quantitative PCR method

Zhu Xiaojie, Liu Lu

(Department of Laboratory Center, Huizhou Municipal Central Hospital, Guangdong 516001, China)

**Abstract:** **Objective** To detect enterovirus RNA of hand-foot-mouth disease (HFMD) of the patients in Huizhou city in 2010 by real time fluorescent quantitative PCR method and understand the genotype of enterovirus of HFMD so as to provide a scientific basis for preventing and controlling HFMD. **Methods** A total of 5 849 samples including feces, anal swab, throat swabs, Herpes fluid and other types from 1 712 patients were collected from January to December in 2010. Nucleic acids of three types of viruses of enterovirus(EV), enter virus 71 (EV71) and Coxsackie virus A16 (CA16) were detected by real time fluorescent quantitative PCR method. **Results** The infectious rate of EV, EV71 and CA16 in boy and girl were 68.15%, 43.61%, 5.56% and 61.23%, 37.03%, 5.70% respectively. In 5 849 samples from the patients, 1 123 were EV positive, 705 were EV71 positive and 96 were CA16 positive; The positive rates of EV, EV71 and CA16 were 60.28%, 33.35% and 5.13% respectively. The infant case from 0-4 years old was the highest one, which accounted for 85.46%. The outbreak smostly happened during April to June and July to September. Its infectious rates of EV, EV71 and CA16 were 36.33%, 49.50%, 42.70% and 42.56%, 38.72%, 40.63% respectively. **Conclusion** EV71 is the primary pathogen of HFMD in Huizhou city in 2010. Its outbreaks mostly happened in summer and autumn. HFMD tends to occur in younger children from 0-4 years old.

**Key words:** hand, foot and mouth disease; polymerase chain reaction; enterovirus; enterovirus A, human; coxsackievirus infections

手足口病(Hand-foot-mouth disease, HFMD)的主要病原为小 RNA 病毒科、肠道病毒属的柯萨奇病毒 A 组 4、5、7、9、10、16 型及 B 组 2、5 型, 埃可病毒和肠道病毒 71 型(EV71), 其中以 EV71 及柯萨奇病毒 A 组 16 型(CA16)最为常见<sup>[1]</sup>。近年来, EV71 病毒的流行在亚太地区呈上升趋势。2008 年 4 月, 安徽省阜阳市暴发 HFMD 的流行<sup>[2]</sup>, 之后在中国大陆地区广泛传播。为了解 2010 年 HFMD 疫情的病原学情况, 本研究采集了 2010 年 1~12 月间本院收治的 1 712 例 HFMD 患者的粪便、肛拭子、咽拭子和脑脊液等标本 5 849 份, 应用实时荧光逆转录 PCR 技术检测样本中的 EV、EV71、CA16, 现将结果报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2010 年 1~12 月本院住院确诊的 HFMD 患者 1 712 例, 诊断符合卫生部《手足口病诊疗指南(2008 年版)》, 其中男 1 080 例、女 632 例; 年龄最小 1 个月, 最大 45 岁,

平均 3.8 岁; 共采集肛拭子、咽拭子、粪便、脑脊液等各类标本 5 849 份, -80℃ 冻存待检或立即检测。

**1.2 病毒 RNA 的提取** 采用达安基因公司试剂盒, 根据试剂盒说明书操作。提取 RNA 后立即进行实时荧光逆转录 PCR 或 -80℃ 保存备用。

**1.3 实时荧光逆转录 PCR** 采用达安基因公司一步法实时荧光逆转录 PCR 试剂盒, 根据试剂盒说明书检测。

### 2 结果

**2.1 不同性别患者感染情况** 不同性别患者检出情况见表 1。

**2.2 肠道病毒检出情况** 肠道病毒检出情况见表 2。

表 1 不同性别患者检出情况[n(%)]

性别	n	EV 阳性	EV71 阳性	CA16 阳性
男	1 080	736(68.15)	471(43.61)	60(5.56)
女	632	387(61.23)	234(37.03)	36(5.70)

表 2 肠道病毒检出情况

肠道病毒类型	检测标本数(n)	阳性标本数(n)	阳性率(%)
EV	1 863	1 123	60.28
EV71	2 114	705	33.35
CA16	1 872	96	5.13

2.3 不同月份肠道病毒检出情况 不同月份肠道病毒检出情况见表 3。

表 3 不同月份肠道病毒检出情况[n 或 n(%)]

月份	n	EV 阳性	EV71 阳性	CA16 阳性
1~3	39	15(38.46)	18(46.15)	2(5.13)
4	216	84(38.89)	87(40.28)	10(4.63)
5	288	138(47.92)	130(45.14)	18(6.25)
6	255	186(72.94)	132(51.75)	13(5.10)
7	271	210(77.49)	131(48.34)	18(6.64)
8	212	157(74.06)	94(44.34)	11(5.19)
9	129	111(86.45)	48(37.21)	10(7.75)
10	169	131(77.51)	36(21.30)	5(2.96)
11~12	133	91(69.47)	29(21.80)	9(6.77)
合计	1 712	1 123(65.60)	705(41.18)	96(5.61)

2.4 不同年龄患者肠道病毒检出情况 不同年龄患者肠道病毒检出情况见表 4。

表 4 不同年龄患者肠道病毒检出情况[n 或 n(%)]

年龄组	n	EV 阳性	EV71 阳性	CA16 阳性
0~<1	296	208(70.27)	95(34.09)	17(5.74)
1~<2	503	446(88.67)	261(51.89)	43(8.55)
2~<3	398	259(65.08)	187(46.98)	26(6.53)
3~<4	266	129(48.50)	78(29.32)	8(3.01)
4~<5	147	50(34.01)	50(34.01)	2(1.36)
5~<6	42	13(30.95)	12(28.57)	0(0.00)
6~<7	20	6(30.00)	7(35.00)	0(0.00)
≥7	40	12(30.00)	15(37.50)	0(0.00)
合计	1 712	1 123(65.60)	705(41.18)	96(5.61)

3 讨 论

HFMD 是由肠道病毒引起的传染病,多发于婴幼儿,可引起手、足和口腔等部位疱疹,严重时导致其他脏器并发症。引发 HFMD 的肠道病毒有 20 多种(型),其中以 CA16 和 EV71 型最常见。最早发现的 HFMD 的病原体为 CA16。1969 年 EV71 在美国被首次确认,此后 EV71 与 CA16 感染交替出现,成为 HFMD 的主要病原体<sup>[3]</sup>。中国 1981 年在上海发现该病,此后北京、河北、天津、福建、吉林、山东、湖北、西宁和广东等十几个省市均有报道<sup>[4]</sup>。本研究 1 712 例 HFMD 患者的各类标

本中, EV 阳性率是 60.28%(1 123/1 863), EV71 阳性率是 33.35%(705/2 114); CA16 阳性率是 5.13%(96/1 872),提示 2010 年惠州市 HFMD 流行的病原体以 EV71 为优势病毒株,并同时存在 CA16 和其他肠道病毒流行。

本研究结果显示, HFMD 男性 HFMD 患者多于女性,男女比例约是 1.71 : 1; 男性患者 EV、EV71 感染率也比女性高,可能是由于男性更喜欢到户外活动,从而导致感染肠道病毒的可能性更高。

本研究的结果显示, 2010 年 1~3 月及 10~12 月 EV、EV71、CA16 感染者分别占 EV、EV71、CA16 感染者的 1.33%(15/1 123)、2.55%(18/705)、2.08%(2/96) 和 19.77%(222/1 123)、9.20%(65/705)、14.58%(14/96), 而 4~6 月及 7~9 月分别为 36.33%(408/1 123)、49.50%(349/705)、42.70%(41/96) 和 42.56%(478/1 123)、38.72%(243/705)、40.63%(39/96), 这表明 EV 的感染虽然全年均可发生, 但具有较为明显的季节性。HFMD 疫情好发于夏秋季节, 春季和冬季较少, 提示在夏秋季节要特别注意 HFMD 的预防和控制工作, 避免其暴发和大流行。

本研究结果显示, 0~4 岁的儿童是 HFMD 的高发人群, 患者人数占有所有患者的 85.46%(1 462/1 712); 同时 0~4 岁儿童也是感染肠道病毒和 EV71 型的高危人群, 分别占有所有肠道病毒和 EV71 型感染者的 92.79%(1 042/1 123) 和 88.08%(621/705)。这可能与 0~4 岁的儿童免疫力相对低下有关, 提示对 0~4 岁的儿童要特别注意预防 HFMD。

HFMD 是一种良性病, 预后较好。1 712 例 HFMD 患者中只有 4 例死亡病例, 仅占 0.23%。因此, HFMD 要重视、加大相关预防知识的宣传, 只要及早发现及早治疗, 大多患者都能治愈。

对肠道病毒的检测, 经典方法有病毒分离、中和抗体检测和免疫组织化学法<sup>[5]</sup>。病毒分离检测时间长, 操作繁琐; ELISA 法检测抗体经济快速, 但由于从病毒感染到抗体出现需要一定时间, 用于疾病早期诊断灵敏度不高。分子生物学的飞速发展提供了快速、准确的检测手段。用实时荧光逆转录 PCR 法检测 EV、EV71、CA16, 灵敏度高、特异性强、结果快速准确, 整个检测时间只需 4~5 h, 而且反应和分析完全在闭管的条件下完成, 可防止标本交叉及环境污染, 适合用于 HFMD 的常规检测。

参考文献

- [1] 杨洪, 姚相杰, 何雅青, 等. 2008 年深圳市 36 起手足口病疫情的病原学检测[J]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(10): 2328-2341.
- [2] 安徽省卫生厅. 我省阜阳积极防治肠道病毒感染疾病[EB/OL]. [2008-06-20]. <http://www.ahwst.gov.cn>.
- [3] Schmidt NJ, Lennette H, Ho HH. An apparently new enterovirus is isolated from patients with disease of the central nervous system[J]. J Infect Dis, 1974, 129(3): 304-309.
- [4] 文萍. 肠道病毒 71 型感染的研究概况[J]. 中国当代医药, 2010, 17(4): 127-128.
- [5] 龚黎明, 葛琼, 严菊英, 等. 浙江省肠道病毒 71 型的分离与 VP1 区域序列分析[J]. 中华流行病学杂志, 2005, 26(12): 971-974.