

# 502 例手足口病患儿实验室检测结果的分析

黄文光, 杨生晟, 徐焕新

(江西省九江市第三人民医院 332000)

**摘要:**目的 观察手足口病患儿的实验室检测结果,并探讨其意义。方法 收集 502 例(重症型 104 例,轻症型 398 例)手足口病住院患儿的咽拭子标本,采用实时荧光聚合酶链反应(RT-PCR)法对手足口病患儿肠道病毒通用型(EV)、肠道病毒 71 型(EV71)以及柯萨奇病毒 A 组 16 型(CA16)核酸进行检测。同时检测白细胞(WBC)、直接胆红素(DBIL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)及乳酸脱氢酶(LDH)并进行分析。结果 502 例手足口病患儿中,EV、EV71、CA16 感染阳性分别为 384 例(76.49%)、262 例(52.19%)、39 例(7.76%)。男性患儿多于女性患儿,104 例重症型手足口病患儿中,EV71 阳性率为 92.31%;502 例手足口病患儿中有 402 例<3 岁。104 例重症型患儿有 97 例(93.27%)<3 岁;其中 EV71 阳性率 92.78%(90/97)。重症型与轻症型相比,重症型手足口病患儿 WBC、LDH、CK-MB、DBIL 和 ALT 水平较高( $P<0.05$ )。结论 手足口病患儿以<3 岁为主,感染的肠道病毒主要为 EV,引起重症型的主要病原体为 EV71。

**关键词:**手足口病; 实验室指标; 肠道病毒; 柯萨奇病毒

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.02.025

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)02-0214-03

## Analysis on the laboratory determination results of 502 patients with hand-foot-mouth disease

HUANG Wenguang, YANG Shengsheng, XU Huanxin

(The Third People's Hospital of Jiujiang, Jiujiang, Jiangxi 332000, China)

**Abstract:** Objective To analyze the laboratory determination results of hand-foot-mouth disease(HFMD) and explore its significance. Methods Pharyngeal swab specimens were collected from 502 children with HFMD(severe case;104 cases and mild case; 398 cases). Specific RNA of enterovirus primer(EV), enterovirus71(EV71) and coxsackievirus A16(CA16) were detected by real-time fluorescence polymerase chain reaction(RT-PCR). Simultaneously, white blood cell(WBC), direct bilirubin(DBIL), alanine transaminase(ALT), creatine kinase MB isoenzyme(CK-MB) and lactic dehydrogenase(LDH) were determined, and the results were analyzed. Results Among the 502 children, 384 cases were positive for EV, 262 cases were positive for EV71, and 39 cases were positive for CA16. The positive rates were 76.49%, 52.19% and 7.76%, respectively. In the 104 HFMD severe cases, EV71 positive rate was 92.31%(96/104). There were clearly more boys than girls. The age distribution was mainly in the group under 3-year-old(402 cases, 80.08%). In the group under 3-year-old, there were 97 severe cases(93.27%), and the EV71 positive rate was 92.78%(90/97). Serum levels of WBC, DBIL, ALT, CK-MB and LDH were higher in severe HFMD group than in mild group( $P<0.05$ ). Conclusion The HFMD occurred mostly at the children under 3-year-old. The HFMD appeared is mainly related to the EV infection, and EV71 is the main pathogen causing the severe cases of HFMD.

**Key words:** hand-foot-mouth disease; laboratory index; enterovirus; coxsackievirus

手足口病是由肠道病毒引起的常见儿童急性传染病,以发热和手、足、口腔、臀部等部位的皮疹或疱疹为主要症状。大多数手足口病患儿预后较好,但少数患儿可出现脑膜炎、脑炎、神经源性肺水肿和心肌炎等,个别重症患儿病情进展快,可导致死亡<sup>[1]</sup>。近几年我国多数地方相继报道了手足口病的流行,本研究观察了手足口病患儿血常规、血生化相关指标和病原学检测结果,并对检测结果进行了分析,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2014 年 1 月至 2015 年 12 月本院收治的手足口病患儿 502 例,手足口病轻症、重症患儿诊断符合《手足口病诊疗指南》2010 年版诊断标准<sup>[2]</sup>。其中男 328 例,女 174 例;年龄 6 个月至 7 岁,平均(16.7±0.6)个月,其中普通型患儿 398 例,重症型患儿 104 例;<3 岁 402 例,≥3~<6 岁 91 例,≥6 岁 9 例。2 组患儿一般资料差异无统计学意义。

**1.2 病原学 RNA 检测** 所有患儿入院时采集咽拭子标本。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测,仪器为 ABI7300 定量聚合酶链反应扩增仪(美国 ABI 公司),应用 QIAGEN 公司的

QIAamp Viral RNA Mini Kit 试剂盒提取 RNA 病毒,按照试剂说明书严格进行操作。

**1.3 实验室检查** 所有患儿均于入院第 2 天清晨 7:00—9:00 空腹抽取肘静脉血。白细胞(WBC)检测采用 Sysmax E2100 五分类血细胞分析仪,直接胆红素(DBIL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)及乳酸脱氢酶(LDH)检测采用常规生化方法。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行处理,计量资料使用 *t* 检验;计数资料 2 组率的比较采用  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 肠道病毒 RNA 检测结果** 502 例手足口病患儿中,肠道病毒通用型(EV)、肠道病毒 71 型(EV71)、柯萨奇病毒 A 组 16 型(CA16)阳性患儿分别为 384 例(76.49%)、262 例(52.19%)、39 例(7.76%)。104 例重症型手足口病患儿中,EV71 阳性 96 例(92.31%)。502 例手足口病患儿中有 402 例(80.08%)<3 岁,其中 104 例重症型手足口病患儿中有 97 例

(93.27%) < 3 岁。见表 1、2。

**表 1 不同年龄段轻症型手足口病患儿阳性检测结果**

年龄(岁)	n	EV[n(%)]	EV71[n(%)]	CA16[n(%)]
<3	305	240(78.67)	120(51.76)	25(8.19)
≥3~<6	85	44(51.76)	43(50.59)	8(9.41)
≥6	8	3(37.50)	3(37.50)	2(25.00)
合计	398	287(72.11)	166(41.71)	35(9.02)

**表 2 不同年龄段重症型手足口病患儿阳性检测结果**

年龄(岁)	n	EV[n(%)]	EV71[n(%)]	CA16[n(%)]
<3	97	92(94.84)	90(92.78)	2(2.06)
≥3~<6	6	4(66.67)	5(83.33)	2(33.33)
≥6	1	1(100.00)	1(100.00)	0(0)
合计	104	97(93.27)	96(92.31)	4(3.85)

**2.2 不同性别患儿检测结果** 502 例手足口病患儿中,男 328 例,女 174 例,男:女=1.88:1,男性略高于女性。见表 3、4。

**表 3 不同性别轻症型手足口病患儿阳性检测结果**

性别	n	EV[n(%)]	EV71[n(%)]	CA16[n(%)]
男	258	180(69.77)	115(44.57)	19(7.36)
女	140	106(75.71)	51(36.43)	17(12.14)
合计	398	286(71.86)	166(41.71)	36(9.05)

**表 4 不同性别重症型手足口病患儿阳性检测结果**

性别	n	EV[n(%)]	EV71[n(%)]	CA16[n(%)]
男	70	67(95.71)	64(91.43)	2(2.86)
女	34	31(91.18)	32(94.12)	1(2.94)
合计	104	98(94.23)	96(92.31)	3(2.88)

**2.3 实验室检测结果** 血常规检测中,WBC 水平增高 196 例(39.04%),重症型患儿中 WBC 水平明显高于轻症型( $P < 0.05$ )。见表 5。

**表 5 手足口病患儿实验室检测结果比较分析( $\bar{x} \pm s$ )**

指标	轻症型	重症型
WBC( $\times 10^9/L$ )	8.86 ± 2.64	14.51 ± 5.32*
DBIL( $\mu\text{mol/L}$ )	1.48 ± 0.71	1.93 ± 0.89*
ALT(U/L)	45.28 ± 0.71	68.41 ± 0.32*
CK-MB(U/L)	32.19 ± 10.24	65.68 ± 48.63*
LDH(U/L)	288.42 ± 44.13	379.25 ± 78.47*

注:与轻症型比较,\* $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

手足口病是 1 种多发于婴幼儿及学龄前儿童的常见传染病,主要通过粪-口途径传播。本院为九江市定点收治手足口病的医院,为了解九江市手足口病近期的流行特征及主要病原体,本研究对本院 2014 年 1 月至 2015 年 12 月部分手足口病患儿的实验室检测结果进行分析,为手足口病的防治提供参考。

手足口病为常见急性传染病,由病毒感染引起,主要是小 RNA 病毒科肠道病毒属,包括柯萨奇病毒 A 组的 2、4、5、6、8、9、10、16 型,柯萨奇病毒 B 组的 1、2、3、4、5 型,肠道病毒 71 型,埃可病毒等,其中以 EV71 及 CA16 最为常见<sup>[3]</sup>。国内有研究表明,手足口病主要由 EV71 及 CA16 引起<sup>[4-5]</sup>。目前又有研究发现,柯萨奇病毒 A6 重叠 1 种新发现的病毒叫作疫苗衍生脊髓灰质炎病毒可导致手足口病<sup>[6]</sup>。本资料中 EV 阳性 384 例(76.49%),EV71 阳性 262 例(52.19%),其中 104 例重症型手足口病患儿中 EV71 阳性 96 例(92.31%),提示重症手足口病的主要病原体为 EV71 病毒。有研究表明,EV71 是导致重症手足口病患儿的危险因素之一<sup>[7]</sup>。因此,临床上应高度重视 EV71 感染引起的手足口病患儿。本研究中 CA16 阳性率 7.76%,与有关报道相似,但也有报道,引起手足口病的 CA16、EV71 阳性率之比为 2.37:1<sup>[8-9]</sup>。这说明引起手足口病感染的病原体可能存在一定的时间和地区差异。本研究中男性患儿明显多于女性,我国有研究均表明手足口病男性患儿发病率高于女性患儿,表明手足口病患儿以男性多见<sup>[10-11]</sup>。从患儿发病年龄来看,<3 岁患儿发病率最高(80.08%),且是重症型手足口病患儿的高危年龄段。Wang 等<sup>[11]</sup>研究表明,手足口病患儿<3 岁占绝大多数,达 94.74%。也有研究表明,<3 岁患儿占手足口病患儿的 81.00%,4 例病死患儿均<3 岁,提示<3 岁患儿占重症手足口病的主要部分<sup>[12]</sup>。这可能与免疫力低下、体质弱等因素有关,应加大对该类人群的监测力度,做到早发现、早诊断、早治疗。

从血常规检测结果来看,重症手足口病患儿 WBC 较轻症患儿明显增高。这可能是由于机体处于应激状态,周围 WBC 释放增多,也可能和重症手足口病患儿易并发细菌感染有关。WBC 水平显著升高是重症手足口病患儿预后差的危险因素之一<sup>[12]</sup>。从肝功能检测结果来看,重症手足口病患儿 DBIL 及 ALT 水平较轻症患儿明显升高,提示重症患儿累及到肝脏。手足口病除了可以累及肝脏,还可以造成心肌细胞的损害,甚至增加暴发性心肌炎发生的风险<sup>[13]</sup>。从心肌酶检测结果来看,CK-MB、LDH 在轻症型及重症型手足口病患儿中均有不同程度的增高,提示手足口病患儿可能存在一定的心肌损伤,但重症型手足口病患儿 CK-MB、LDH 水平较轻症型患儿明显增高。这说明重症患儿的肝脏和心脏受到了一定的影响,重症患儿与肝功能和心功能密切相关,与临床常见重症手足口病患儿表现相符。

综上所述,手足口病患儿主要由 EV 感染所致,<3 岁患儿发病率最高。重症手足口病患儿 WBC 水平升高,易合并肝功能和心功能受损。引起重症型患儿的主要病原体为 EV71,<3 岁患儿为高危年龄段。应加强手足口病相关知识的宣传力度,尤其注意<3 岁患儿的监测力度,做好防范措施,减少重症型患儿及病死率的发生。

### 参考文献

- [1] 翁育伟,严延生. 肠道病毒 EV71 型研究进展[J]. 中国人兽共患病学报,2014,30(1):79-84.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 手足口病诊疗指南(2010 版)[J]. 国际呼吸杂志,2010,30(24):1473-1476.
- [3] Blomqvist S, Klemola P, Kaijalainen S, et al. Co-circulation of coxsackieviruses A6 and A10 in hand, foot and mouth disease outbreak in Finland[J]. J Clin Virol,2010,48(1):49-54.

(下转第 218 页)

体系标记,开创了荧光 QD 在生物技术中研究应用的先河<sup>[3-4]</sup>。QD 独特的物理性质、优良的光学特性以及比传统有机染料具有更多的优势,并在分子生物学、细胞生物学、医学诊断、药物筛选等研究中展现出极大的应用前景<sup>[5]</sup>。QD 可与多种分子进行耦联,如蛋白质、抗体、链霉亲和素等,作为荧光探针,检测特定靶分子的分布和功能。Kim 等<sup>[6]</sup>合成 HA-QDs 复合物并注射到淋巴细胞中,观察到淋巴细胞的分布情况。Goldman 等<sup>[7]</sup>把重组蛋白通过静电作用结合到 QD 上,再与抗体结合,成功地对葡萄球菌肠毒素和 2,4,6-硝基甲苯进行了荧光免疫分析。

本选题以新型纳米颗粒,即 QD-605 和 QD-655 标记甲胎蛋白单克隆抗体,用于检测样本中的甲胎蛋白抗原。其基本原理为:QD 与生物素标记的甲胎蛋白单抗耦联,异硫氰酸荧光素和甲胎蛋白抗体耦联,抗异硫氰酸荧光素-磁珠耦联,以甲胎蛋白抗原抗体复合物为核心,进而形成 1 套级联放大免疫反应体系。并在紫外灯照射下观察复合物的荧光成像,通过荧光分光光度计测量复合物的荧光强度及光谱。

本试验首先通过对 QD-605 和 QD-655 的激发光特征的探索,选择 2 种 QD 的最佳激发光。通过对其他背景或干扰作最小化处理,如磁珠对试验结果的干扰影响,最终将两者的最佳激发光波长确定为 350 nm。此时,发射光谱虽不是最佳,但其他干扰已经非常小,可以忽略。

选定试验的激发光波长后,利用 QD-605 和 QD-655 作为标志物,分别用于标记对应的甲胎蛋白单克隆抗体。利用前述亲和素、生物素作为桥联放大抗原抗体反应系统,以提高试验的相应敏感度。最终通过激发光(350 nm)的激发,紫外分光光度计捕捉到两者反应体系中的甲胎蛋白抗原。依此证实,本选题以 QD 作为标志物,用于抗原抗体分析技术有一定的可行性。

试验中应特别注意,各种条件对 QD 检测甲胎蛋白的影响。磁珠使用前应充分摇匀;试验试剂及试验过程需避光操

作;测定荧光强度前宜将样本充分摇匀。

QD 相对传统标记染料具有稳定、准确而不受干扰的优势,将 QD 应用于检测人血清中的特异性肿瘤标志物,可为临床肿瘤的免疫诊断提供 1 种更快捷、有效的新途径。

## 参考文献

- [1] 陈万青,郑荣寿. 2012 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤,2016,25(1):1-8.
  - [2] Baig JA, Alam JM, Mahmood SR, et al. Hepatocellular carcinoma(HCC) and diagnostic significance of A-fetoprotein(AFP)[J]. J Ayub Med Coll Abbottabad,2010,21(1):72-75.
  - [3] Bruchez M, Moronne M, Gin P, et al. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels[J]. Science,1998,281(5385):2013-2016.
  - [4] Chan WCW, Nie SM. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection[J]. Science,1998,281:2016-2018.
  - [5] 何振宇,周培疆. 量子点在生物医学检验中的应用及毒性研究进展[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(12):3016-3018.
  - [6] Kim S, Lim YT, Soltesz EG, et al. Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping[J]. Nat Biotechnol,2004,22(1):93-97.
  - [7] Goldman ER, Balighian ED, Kuno MK, et al. Luminescent quantum dot-adaptor protein-antibody conjugates for use in fluoroimmunoassays[J]. Physica Status Solidi B-Basic Research,2002,229(1):407-414.
- (收稿日期:2016-07-13 修回日期:2016-10-16)
- 
- (上接第 215 页)
- [4] Yang Q, Ding J, Cao J, et al. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot, and mouth disease in Wuhan, China from 2012 to 2013: outbreaks of coxsackieviruses A10[J]. J Med Virol,2015,87(6):954-960.
  - [5] Wu SX, Wu JF, Yang J, et al. Hand-foot-mouth disease pathogen separation and EV71 VP1 gene analysis in Sanmenxia City, Henan Province, China[J]. Bingdu Xuebao,2014,30(6):630-635.
  - [6] Chen C, Xie H, Cui M, et al. An investigation on a case of hand-foot-mouth disease caused by coxsackie-virus A6 associated with a vaccine-derived poliovirus co-infection[J]. Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi,2014,35(1):61-65.
  - [7] Chen SM, Du JW, Jin YM, et al. Risk Factors for Severe Hand-Foot-Mouth Disease in Children in Hainan, China, 2011-2012[J]. Asia Pac J Public Health,2015,27(7):715-722.
  - [8] 孙炳欣,许爽,崔薇,等. 长春市 2013 年手足口病病原学监测结果及分析[J]. Chin J Lab Diagn,2015,19(5):762-764.
  - [9] 伏瑾,张艳玲,孙春荣,等. 实时 RT-PCR 检测 159 例手足口病患儿样本中肠道病毒的结果分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2009,23(6):488-490.
  - [10] Wang J, Cao Z, Zeng DD, et al. Epidemiological analysis, detection, and comparison of space-time patterns of Beijing hand-foot-mouth disease (2008-2012) [J]. PLoS One,2014,9(3):e92745.
  - [11] Wang J, Zhu H, Chen Y, et al. Epidemiological analysis on 589 children with hand-foot-mouth disease from Xianju county of Zhejiang province[J]. Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi,2014,35(6):708-709.
  - [12] Liu RH, Li J, Qu XF, et al. Clinical characteristics and prognostic factors of children with critical hand-foot-mouth disease treated with mechanical ventilation[J]. Zhongguo Dangdai Erke Zazhi,2015,17(3):249-253.
  - [13] Jiang M, Wei D, Ou WL, et al. Autopsy findings in children with hand foot and mouth disease[J]. N Engl J Med,2012,367(1):91-92.
- (收稿日期:2016-09-10 修回日期:2016-10-29)