

咸阳市 2012 年手足口病病原学监测结果分析^{*}

张俊君, 成 翔, 秦 龙, 魏战峰(陕西省咸阳市疾病预防控制中心 712000)

【摘要】 目的 分析咸阳市手足口病病原体构成特征的变迁,为手足口病防控提供科学依据。**方法** 对 2012 年咸阳市手足口病病例资料及咽拭子标本检测结果进行分析。**结果** 共送检手足口病病例咽拭子标本 549 份,检出肠道病毒(EV)阳性标本 126 份,阳性检出率为 22.95%,其中 EV71 阳性 77 份(占 61.11%)、柯萨奇病毒 A 组(CoxA)16 型(CoxA16)阳性 10 份(占 7.94%)、CoxA10 阳性 9 份(占 7.14%)、其他未分型 EV 阳性 30 份(占 23.81%),未检出 CoxA6 阳性标本。不同病情病例 EV71 阳性检出率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。发病高峰期及非高峰期送检标本阳性检出率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。不同试剂阳性检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 咸阳市 2012 年手足口病病原体以 EV71 型为主,首次检出 CoxA10。重症病例 EV71 阳性检出率高于普通病例。在手足口病发病高峰期采样,可以提高 EV 阳性检出率。

【关键词】 手足口病; 肠道病毒; 实时荧光逆转录聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.17.004 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)17-2352-02

Etiologic characteristics of hand-foot-mouth disease in 2012 of Xianyang* ZHANG Jun-jun, CHENG Xiang, QIN Long, WEI Zhan-feng (Center for Disease Control and Prevention of Xianyang, Xianyang, Shaanxi 712000, China)

【Abstract】 Objective To analyze the etiologic characteristics of hand-foot-mouth (HFMD) in 2012 of Xianyang. **Methods** Data of cases with HFMD and detection results of throat swab specimens in 2012 of Xianyang were analyzed. **Results** In 549 throat swab specimens underwent detection, 126 (22.95%) cases were enterovirus (EV) positive, and the positive rate of EV71, Coxsackie virus A group (CoxA) 16 type (CoxA16), CoxA10 and the other EV were 61.11%, 7.94%, 7.14% and 23.81%, and CoxA6 was not found. In cases with different condition of disease, the positive rates of EV71 were statistically different ($P<0.05$). The positive rates of samples detected in different seasons were significantly different ($P<0.05$). The positive rates of different reagents were not significantly different ($P>0.05$). **Conclusion** The main pathogen causing HFMD in Xianyang could be EV71, and CoxA10 was found for the first time in 2012. The detection rate of EV17 in severe cases might be higher than normal cases. Detection in the peak season of HFMD could increase the positive rate.

【Key words】 hand-foot-mouth disease; enterovirus; real-time reverse transcription polymerase chain reaction

手足口病(HFMD)好发于 5 岁以下儿童,可由多种病原体感染所致,包括柯萨奇病毒 A 组(CoxA)的 16、4、5、7、9、10 型, B 组(CoxB)的 3、7 型,以及埃可病毒和肠道病毒(EV)71 型(EV71)等,其中以 CoxA16 和 EV71 最为常见^[1]。近年来, HFMD 病原体虽然仍以 CoxA16 和 EV71 为主,但其他 EV 型别的检出率有所上升。多数 HFMD 患者症状轻微,以发热和手、足、口腔等部位的皮疹或疱疹为主要。少数患者可出现无菌性脑膜炎、脑炎、急性弛缓性麻痹、神经源性肺水肿和心肌炎等。个别重症患者则病情进展快,最终死亡。目前, HFMD 尚无特异性治疗方法,也缺乏特异性的疫苗^[2]。陕西省咸阳市自 2011 年在陕西省 HFMD 防治项目专项资金的支持下,开展了 HFMD 病原学监测工作,以了解 HFMD 病原体的分布变化以及影响病原学检测结果的因素。现将咸阳市 2012 年 HFMD 病原学监测结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料 以县为单位,由县级疾病预防控制中心采集

咽拭子标本,包括常规监测标本、重症病例标本、聚集性疫情标本、重症密切接触者标本和死亡病例标本。

1.2 仪器与试剂 四通道实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)扩增仪(西安天隆科技有限公司);掌式离心机(珠海黑马医学仪器有限公司);微量振荡器(常州市华普达教学仪器有限公司);自动核酸提取仪及配套 MagMAX-96 病毒核酸抽提试剂盒(美国 ABI 公司);实时荧光逆转录 PCR(RT-PCR)试剂盒(江苏硕世生物科技有限公司、上海之江生物科技有限公司);cDNA 合成试剂盒(美国 Promega 公司)

1.3 方法

1.3.1 核酸提取 所有标本采集后浸入装有 3.5 mL 病毒保存液的采样管中,冷藏送至咸阳市疾控中心综合实验室检测。取 50 μ L 标本,使用自动核酸提取仪及配套核酸抽提试剂盒提取病毒核酸。同时提取试剂盒阴性对照品和阳性对照品核酸。

1.3.2 EV 通用型、CoxA16 和 EV71 型核酸检测 按照 HFMD 预防控制指南(2009 年版)附件 1 的要求,采用 EV 通

* 基金项目:陕西省卫生厅手足口病防治项目专项资金资助项目[陕财社办(2012)233 号]。

作者简介:张俊君,男,主管技师,硕士,主要从事微生物检验及细胞生物学研究。

用型、CoxA16 和 EV71 型病毒基因特异性引物和 Taqman 探针,以及实时荧光 RT-PCR 试剂盒进行检测,操作步骤严格按照说明书^[2]。

1.3.3 其他型别病毒核酸检测 取 4 μ L 病毒核酸提取液,使用 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA,选用 CoxA6 和 CoxA10 特异性引物和 VP1 区通用引物,参照文献^[3-6]的方法,通过 RT-PCR 扩增、核酸序列分析进行病毒分型。PCR 反应条件:50 $^{\circ}$ C 30 min;94 $^{\circ}$ C 3 min;94 $^{\circ}$ C 30 s,51 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,循环 30 次;72 $^{\circ}$ C 8 min。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2003 软件进行数据整理,采用 SPSS12.0 软件进行数据统计学分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用卡方检验。 $P<0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 疫情概况 2012 年咸阳市 13 个县、市、区共报告 HFMD 病例 8 762 例,发病率约为 179.03/10 万,重症 278 例,死亡 13 例,死亡率约为 0.27/10 万。患者以散居儿童(6 936 例)和幼

托儿童(1 462 例)为主,占病例总数的 95.85%。散居儿童占 79.16%。8 762 例报告病例中,7 467 例为 0~5 岁儿童,占病例总数的 85.22%。所有病例中,男 5 460 例、女 3 302 例,男女性别比例为 1.65:1。

2.2 总体检测结果 2012 年咸阳市疾病预防控制中心共计检测临床确诊 HFMD 病例咽拭子标本 549 份,EV 阳性 126 份,阳性检出率 22.95%,其中 EV71 阳性 77 份(占 61.11%)、CoxA16 阳性 10 份(占 7.94%)、CoxA10 阳性 9 份(占 7.14%)、其他未分型 EV 阳性 30 份(占 23.81%),未检出 CoxA6 阳性标本。

2.3 不同年龄组病毒检出情况 在所有送检咽拭子标本的病例中,年龄小于或等于 3 岁者 EV 阳性检出率为 25.41%,年龄大于 3 岁者阳性检出率为 19.92%,阳性检出率组间比较差异无统计学意义($\chi^2=2.317, P>0.05$)。两个年龄组间不同病毒阳性构成比比较差异无统计学意义($\chi^2=1.70, P>0.05$),见表 1。

表 1 不同年龄组 HMFD 病原体阳性构成比

年龄组 (岁)	送检数 (n)	阳性 (n)	阳性检出率 (%)	EV71 阳性比 [n(%)]	CoxA16 阳性比 [n(%)]	CoxA6 阳性比 [n(%)]	CoxA10 阳性比 [n(%)]	其他型别 EV 阳性比[n(%)]
0~3	303	77	25.41	46(59.74)	5(6.49)	0(0.00)	5(6.49)	21(27.27)
>3	246	49	19.92	31(63.27)	5(10.20)	0(0.00)	4(8.16)	9(18.37)
合计	549	126	22.95	77(61.11)	10(7.94)	0(0.00)	9(7.14)	30(23.81)

2.4 不同时期标本检测结果 2012 年咸阳市 HFMD 发病出现 2 个高峰,分别在 5~7 月和 9~10 月。按照咽拭子标本送检时间,将 549 份标本分成高峰期组 452 份与非高峰期组 97 份,高峰期组检出 EV 阳性标本 112 份,阳性检出率 24.78%,非高峰期组检出 EV 阳性标本 14 例,阳性检出率 14.43%,阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2=4.834, P<0.05$)。

2.5 不同病情病例病原体检出情况 普通病例和重症病例 EV71 阳性检出率分别为 9.30%和 21.16%,比较差异有统计学意义($\chi^2=14.953, P<0.05$)。不同病情病例 EV 检测结果见表 2。

表 2 不同病情病例 EV 检测结果

病情类型	送检数 (n)	阴性 [n(%)]	阳性 [n(%)]	EV71 阳性 [n(%)]	非 EV71 阳性[n(%)]
普通病例	355	290(81.69)	65(18.31)	33(9.30)	32(9.01)
重症病例	189	133(70.37)	56(29.63)	40(21.16)	16(8.47)
死亡病例	5	0(0.00)	5(100.00)	4(80.00)	1(20.00)
合计	549	423(77.04)	126(22.95)	77(14.03)	49(8.93)

2.6 不同试剂检测结果 2012 年,共采用 2 个厂家的试剂进行检测,不同试剂阳性检出率比较差异无统计学意义($\chi^2=2.499, P>0.05$),见表 3。

表 3 不同试剂阳性检出率[n 或 n(%)]

试剂种类	检测标本数	阳性	阴性
试剂 1	369	92(24.93)	277(75.07)
试剂 2	180	34(18.89)	146(81.11)
合计	549	126(22.95)	423(77.05)

3 讨 论

自 2008 年起,卫生部将 HFMD 列入法定报告管理的丙类传染病。咸阳市自 2011 年起,开展了 HFMD 的病原学监测,为疫情监测和报告提供了及时的实验室数据,疫情信息更加准确。

咸阳市 2012 年 HFMD 疫情监测结果显示, HFMD 病例以 0~5 岁为主。在送检咽拭子标本的 549 例病例中,年龄小于或等于 3 岁组与年龄大于 3 岁组 EV 阳性检出率比较差异无统计学意义,且不同年龄组间不同病毒的阳性构成比比较差异也无统计学意义($P>0.05$)。所有报告病例中,男性所占比例高于女性,与类似研究报道一致^[7]。2012 年咸阳市 HFMD 病原体构成情况显示, EV71 阳性构成比高于 CoxA16、Cox-A10 和其他型别 EV,但与 2009~2011 年咸阳市 HFMD 流行特征相比^[8],其他 EV 阳性构成比有所升高,并且在 2012 年首次检出 CoxA10,说明将 CoxA6 和 CoxA10 纳入 2013 年 HFMD 监测范围十分必要。重症病例 EV71 阳性检出率高于普通病例($P<0.05$),与深圳等地重症病例的病原体检测结果一致^[9-10]。5 例死亡病例中,4 例为 EV71 阳性。由此可见, EV71 阳性 HFMD 病例更易发展至重症病例或者死亡。这可能是因为 EV71 神经毒力强及存在高变异性,更易导致神经系统症状或肺水肿、肺出血,进而导致病情加重甚至死亡。对 549 份 HFMD 临床确诊病例咽拭子标本 EV 阳性检出率为 22.95%,比类似研究报道的阳性检出率偏低^[11]。这可能与采用的检测方法、检测试剂及标本类型等存在差异有关^[12]。本文的分析结果表明:在使用同一类型标本、相同检测方法和仪器时,试剂种类对检测结果无影响。本文的分析结果也表明:是否在发病高峰期采样对检测结果有影响,发病高峰期采样标本阳性检出率高于非高峰期采样标本($P<$ (下转第 2356 页))

MMP-11 蛋白阳性表达率为 72%,且 MMP-11 蛋白表达水平与肿瘤生长方式、患者性别有关,但与患者年龄、Dukes 分期和分化程度无关。由此可见,消化系统肿瘤中普遍存在 MMP-11 蛋白异常表达,说明 MMP-11 蛋白在肿瘤发生、发展过程中起着较为重要的作用,与癌组织的浸润、转移及患者的预后密切相关。

本研究结果显示,ESCC 癌旁组织和正常食管 MMP-11 蛋白表达水平低于 ESCC 癌组织,且其表达水平与 ESCC 临床分期、TNM 分期、淋巴转移有关,随着分期的增高,表达水平升高,有淋巴转移的患者表达水平高于无淋巴转移的患者,提示 MMP-11 蛋白表达水平越高,肿瘤组织侵袭能力越强,患者预后越差。因此,可以通过检测 ESCC 癌组织 MMP-11 蛋白水平判断患者的预后。

综上所述,MMP-11 蛋白参与了 ESCC 的发生、发展,与肿瘤浸润转移有关;检测其在 ESCC 癌组织中的表达水平有助于判断疾病恶性程度,也可临床诊治提供一定的理论依据。至于 MMP-11 蛋白参与肿瘤浸润转移的机制尚有待进一步研究。

参考文献

- [1] Pennathur A, Gibson MK, Jobe BA, et al. Oesophageal carcinoma[J]. Lancet, 2013, 381(9864): 400-412.
- [2] Matziari M, Dive V, Yiotakis A. Matrix metalloproteinase 11(MMP-11;stromelysin-3) and synthetic inhibitors[J]. Med Res Rev, 2007, 27(4): 528-552.
- [3] Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior[J]. Ann Rev Cell Develop Biol, 2001, 17(3): 463-467.

- [4] Sobin LH, Wittekind C. TNM classification of malignant tumors[M]. 6th ed. New York, USA: Wiley, 2002.
- [5] Yoshikawa R, Nakano Y, Tao L, et al. Hedgehog signal activation in esophageal cancer patients undergoing neo-adjuvant chemoradiotherapy[J]. Brit J Cancer, 2008, 98(10): 1670-1674.
- [6] Sharma R, Chattopadhyay TK, Mathur M, et al. Prognostic significance of stromelysin-3 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 in esophageal cancer[J]. Oncology, 2004, 67(3/4): 300-309.
- [7] Yamashita K, Tanaka Y, Mimori K, et al. Differential expression of MMP and uPA systems and prognostic relevance of their expression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Inter J Cancer, 2004, 110(2): 201-207.
- [8] Zhao ZS, Chu YQ, Ye ZY, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase 11 in human gastric carcinoma and its clinicopathologic significance[J]. Hum Pathol, 2010, 41(5): 686-696.
- [9] Jones LE, Humphreys MJ, Campbell F, et al. Comprehensive analysis of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor expression in pancreatic cancer increased expression of matrix metalloproteinase-7 predicts poor survival[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(8): 2832-2845.
- [10] Skoglund J, Emterling A, Arbmán G, et al. Clinicopathological significance of stromelysin-3 expression in colorectal cancer[J]. Oncology, 2004, 67(1): 67-72.

(收稿日期: 2014-02-02 修回日期: 2014-04-20)

(上接第 2353 页)

0.05)。有文献报道,粪便标本与咽拭子标本阳性检出率比较差异有统计学意义^[13]。因此,在条件允许时,应尽可能采集粪便或肛拭子标本,以提高阳性检出率,尽早明确 HFMD 病原体类型,为制订针对性的防控措施提供依据。

参考文献

- [1] 金奇. 医学分子病毒学[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 606-613.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 手足口病预防控制指南(2009 年版)[M]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2009.
- [3] Inge T, Elie M, Philippe L, et al. Analysis of the serotype and genotype correlation of VP1 and the 5'-noncoding region in an epidemiological survey of the human enterovirus B species [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(3): 963-971.
- [4] Elisabet W, Gustavo P, Ondrej C, et al. High prevalence of human enterovirus A infections in natural circulation of human enteroviruses[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(11): 4095-4100.
- [5] Steven OB, Kaija M, David R, et al. Typing of human enteroviruses by partial sequencing of VP1[J]. J Clin Microbiol, 1999, 37(5): 1288-1293.
- [6] Wang C, Li L, Wu M, et al. Fatal coxsackievirus A16 in-

- fection[J]. Pediatr Infect Dis J, 2004, 23(2): 275-276.
- [7] 周帅锋, 张帆, 黄威, 等. 2009 年湖南省哨点医院手足口病病原学检测与分析[J]. 南华大学学报: 医学版, 2010, 38(4): 479-483.
- [8] 张军胜. 2009-2011 年咸阳市手足口病流行特征分析[J]. 包头医学院学报, 2012, 28(5): 34-36.
- [9] 操德智, 付丹, 何颜霞, 等. 2008 年深圳市 80 例手足口病重症病例的临床特征分析[J]. 中国小儿急救医学, 2009, 16(2): 145-148.
- [10] 韩剑锋, 安康, 刘洪, 等. 河南新乡 2008 年手足口病病原分离鉴定及病毒基因组特征[J]. 军事医学科学院院刊, 2008, 32(6): 523-526.
- [11] 秦玉君, 牟广臻, 刘靖宇, 等. 2007-2008 年山东省烟台市手足口病流行病学特征分析及主要病原鉴定[J]. 疾病监测, 2010, 25(1): 12-14.
- [12] 周帅锋, 张帆, 黄威, 等. 2009 年湖南省哨点医院手足口病病原学检测与分析[J]. 南华大学学报: 医学版, 2010, 38(4): 479-483.
- [13] 于秋丽, 申悦霞, 韩彩芝, 等. 河北省 2009 年手足口病病原学研究[J]. 现代预防医学, 2012, 39(8): 2026-2031.

(收稿日期: 2014-01-02 修回日期: 2014-04-08)