

人肠道病毒71型和科萨奇病毒A组16型所致手足口病的主要临床表现和预后

谢国锦, 谢芳艺¹, 张国锋¹, 周峰¹, 姚堃^{1*}

(南京医科大学附属南京市儿童医院检验科, 江苏 南京 210008; ¹南京医科大学基础医学院微生物与免疫学系, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的: 人肠道病毒71型(human Enterovirus 71, EV71)和科萨奇病毒A组16型(Coxsackievirus A16, Cox A16)是引起手足口病的主要病毒病原, 本文比较了两种病毒致手足口病的主要临床表现及其预后。方法: 收集2011年1月至6月南京医科大学附属南京市儿童医院手足口病患者共570例的临床资料及咽拭子标本, 采用实时荧光探针PCR法检测患者的咽拭子标本的病毒类型, 比较EV71和CoxA16两种病毒引起的手足口病的主要临床表现及其预后。结果: 350例EV71感染患者平均年龄(2.5 ± 1.7)岁, 220例Cox A16感染患者平均年龄(2.3 ± 1.3)岁。EV71感染患者的住院时间长($P < 0.01$); 发热超过39℃且持续时间长($P < 0.001$); 肌阵挛性反射、口腔溃疡都明显偏高($P < 0.05$); 咳嗽、热性惊厥明显偏低($P < 0.05$); 嗜睡等中枢神经系统感染的临床表现明显偏高($P < 0.05$), 其中EV71感染患儿经治疗后有3.7%留有四肢肌力下降等后遗症, 并有5例死于心肺衰竭; CoxA16感染的患者经过治疗后都治愈且没有留下后遗症。结论: 南京地区2011年1月到6月引起的手足口病病毒以EV71为主。相对于Cox A16, EV71引起的临床表现严重、预后差。

[关键词] EV71; CoxA16; 手足口病; 荧光定量PCR

[中图分类号] R725.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2011)10-1436-04

Comparison of the main clinical manifestations and outcomes of Hand, foot, and mouth disease caused by Enterovirus 71 and Coxsackievirus A16 infection

XIE Guo-jin, XIE Fang-yi¹, ZHANG Guo-fen¹, ZHOU fen¹, YAO kun^{1*}

(Department of Laboratory, Nanjing Children's Hospital Affiliated with NJMU, Nanjing 210008; ¹Department of Microbiology and Immunology, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** Enterovirus 71 (EV71) and Coxsackievirus A16 (Cox A16) are the main pathogens of the Hand, foot, and mouth disease (HFMD). In this study, we compared clinical manifestation and outcome of HFMD induced by EV71 and Cox A16. **Methods:** A total of 570 HFMD patients treated in Nanjing Children's Hospital Affiliated with NJMU were enrolled in this study from January to June in 2011. Throat swabs were collected from these patients for detecting virus by real time PCR. Manifestations, outcomes for these patients were analyzed. **Results:** The average age of 350 patients with EV71 infection was (2.5 ± 1.7) years. The average age of 220 patients with CoxA16 infection was (2.3 ± 1.3) years. Patients with EV71 infection had a significantly longer hospitalization period ($P < 0.001$). The main manifestations were fever with a temperature above 39℃ and lasted longer ($P < 0.01$). EV71-induced myoclonic jerk, oral ulcer were significantly higher ($P < 0.05$). EV71-induced cough, febrile seizure were significantly lower ($P < 0.05$). However, central nervous system complications were significantly higher ($P < 0.05$). About 3.7% of EV71-infected children had neurologic sequela, and five patients with EV71 infection died of encephalitis and cardiopulmonary failure. All the patients with CoxA16 infection showed total recover. **Conclusion:** The main pathogen of HFMD was EV 71 in Nanjing region from January to June in 2011. Compared with those patients infected by Cox A16, the children with EV71 infection had serious clinical manifestations and worse outcomes.

[Key words] Enterovirus 71; Coxsackievirus A16; hand-foot-and mouth disease; real-time PCR

[Acta Univ Med Nanjing, 2011, 31(10): 1436-1439]

[基金项目] 国家科技重大专项课题(2009qzx09103)

*通讯作者, E-mail: yaokun@njmu.edu.cn

肠道病毒 71 型于 1969 年首次从美国加利福尼亚一个患有中枢神经系统疾病的婴儿粪便中分离出来,1970 年国际病毒委员会将其定义为一种新型肠道病毒:人肠道病毒 71 型(EV71)^[1]。EV71 和柯萨奇病毒 A 组 16 型(Cox A16)感染以手、足、口腔等部位发生丘疱疹为主要特征^[2]。EV71 属无包膜的小 RNA 病毒,病毒抵抗力强,耐酸,故不易被胃酸破坏,可以通过胃到达肠道繁殖。EV71 和 Cox A16 感染的传染源主要是患者和带毒者,传播途径以粪-口和口-口为主,通过呼吸道、咽喉和肠道入侵机体,先在局部黏膜和咽、扁桃体等淋巴组织和肠道集合淋巴结中增殖,进入血液引起第一次病毒血症,在带有病毒受体的靶组织中再次增殖后引起第二次病毒血症,导致一系列临床症状,一般预后较好,但严重的患者能引起无菌性脑膜炎、脑干脑炎、脊髓灰质炎、心肌炎、肺水肿,其中如出现肺水肿和肺出血是 EV71 引起死亡的主要原因^[3-7]。本研究主要采集 5 岁以内急性患者咽拭子,采用实时荧光 PCR 法对 570 例门诊和住院婴幼儿患者咽拭子标本进行病毒类型的检测,并对 EV71 和 Cox A16 引起手足口病的主要临床表现和预后进行比较。

1 资料和方法

1.1 病例资料

收集 2011 年 1 月至 6 月期间临床确诊的 570 例手足口病患者的临床病例资料,统计患者的年龄、性别、住院时间,是否发热、体温最高值、口腔黏膜及皮肤的皮疹、咳嗽、呕吐、腹泻、肌肉阵挛性反射、惊跳、四肢肌力减弱、嗜睡、意识改变等临床表现。患儿入院实验室检查包括白细胞、C-反应蛋白,脑脊液细胞学检查结果。病例的诊断主要根据患儿的临床表现、实验室检查、病毒核酸的分型,诊断标准为卫生部制订的《手足口病预防控制指南(2008 年版)》^[8]。

1.2 病毒鉴定

1.2.1 RNA 的提取

收集南京市儿童医院手足口病患儿的咽拭子,样本采集后及时检测,部分标本-70℃保存后检测。用 Roche 公司的 RNA 提取试剂盒提取病毒 RNA,按试剂盒说明书操作。

1.2.2 荧光探针 PCR

荧光探针 PCR 试剂购自上海硕世生物科技有限公司,试剂盒包括 1 对病毒特异性引物(肠道病毒通用引物 EV71 引物或者 CoxA16 引物)和 1 条

特异性荧光探针、逆转录酶 PCR 反应液,Taq 酶等。加样如下:Reaction Buffer 15 μL,Enzyme Mix 10 μL, EV-U 反应液或 CoxA16/EV71 双重反应液 8 μL, RNase Free H₂O 7 μL,待测的 RNA 10 μL,总体积为 50 μL。然后在 ABI7500 仪器上按 50℃ 30 min; 95℃,5 min;95℃,10 s→55℃ 40 s,40 个循环,运行扩增程序,根据 Ct 值和扩增曲线判断检测结果。

1.3 统计学处理

统计数据采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 SPSS 16.0 统计软件对两组间发生率的比较采用卡方检验、计量资料采用 *t* 检验进行统计分析,*P* < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 荧光探针 PCR

部分检测样品的荧光探针法扩增曲线如图 1,如果检测样品的扩增曲线无对数增长期或 Ct 值 > 35,判定样品为人肠道病毒(EV71 或者 CoxA16)阴性;如检测样品 Ct 值 ≤ 35,且曲线有明显的对数增长期,可判定样品为人肠道病毒(EV71 或者 CoxA16)病毒阳性。

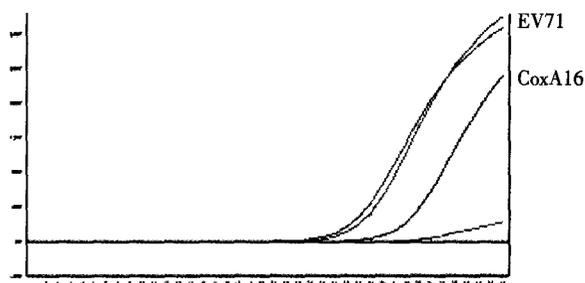


图 1 荧光探针法扩增曲线图

Fig 1 Fluorescence probe amplification curve

2.2 发病情况

2011 年 1 月到 6 月南京市儿童医院临床确诊的手足口患儿有 690 例,通过荧光定量 PCR 法检测,患儿主要以 EV71 和 CoxA16 感染为主,共 570 例,其中 EV71 350 人,CoxA16 220 人,EV71 和 CoxA16 同时阳性有 65 例。两组数据中绝大部分患儿的年龄都小于 3 岁,年龄差异无统计学意义。两组患儿的性别比例:EV71 感染男性为 224 例(64%);CoxA16 感染男性为 139 例(63%)差异也无显著性。此外 EV71 感染的患者住院时间为(18.0 ± 1.3)天明显长于 CoxA16(10.0 ± 2)天(*P* < 0.01,表 1)。

2.3 临床表现和实验室检查

EV71 感染患者的临床表现主要是发热超过 3 d 或发热高于 39℃、嗜睡、肌阵挛性反射、口腔溃疡、

表1 EV71和COXA16感染两组患者发病情况的对比

Tab 1 Comparison of demographics between patients with EV71 and CoxA16

名称	EV71(n = 350)	CoxA16(n = 220)	P
年龄(岁)	2.5 ± 1.7	2.3 ± 1.3	0.070
年龄<3岁者(n)	225(64)	152(69)	0.257
男性[(n)%]	224(64)	139(63)	0.629
住院时间(d)	18.0 ± 1.3	10.0 ± 2.0	< 0.01

皮疹;CoxA16感染患者的临床表现主要是发热或发热超过39℃、咳嗽、热性惊厥。在两组数据中,呕吐腹泻的患者数是相近的;此外共济失调、四肢肌力下降仅出现在EV71感染的患者中。CoxA16感染的患者的白细胞水平高于EV71,两组的患者CRP水平差异无统计学意义,在脑脊液细胞学检查中, EV71感染的患者细胞数高于CoxA16(表2)。

表2 EV71和CoxA16感染两组病人临床表现和实验室检查对比

Tab 2 Comparison of clinical manifestations and laboratory data between patients with EV71 and CoxA16

临床症状	EV71(n = 350)	CoxA16(n = 220)	[n(%)]	P
发热	333(95)	215(97.7)		0.175
≥3 d	245(70)	88(40.0)		< 0.01
≥39℃	210(60)	162(73.6)		0.010
≥3 d并且≥39℃	140(40)	55(25.0)		< 0.01
咳嗽	80(22.8)	84(38.0)		< 0.01
呕吐	110(31.0)	86(39.0)		0.290
腹泻	25(7.1)	22(10.0)		0.273
肌阵挛性反射	174(49.7)	77(35.0)		0.001
口腔溃疡	340(97.1)	198(90.0)		0.001
皮疹	280(80.0)	41(18.6)		< 0.01
热性惊厥	42(12.0)	55(25.0)		< 0.01
嗜睡	70(20.0)	24(10.9)		0.005
四肢肌力下降	24(6.8)	0		< 0.01
共济失调	17(4.8)	0		< 0.01
意识改变	25(7.0)	5(2.2)		0.012
血WBC计数(×10 ⁹ 个/L)	11.2 ± 2.1	14.2 ± 1.7		0.037
血CRP(mg/L)	8.0 ± 1.0	11.0 ± 1.2		0.240
脑脊液WBC(个/μL)	220 ± 15	60 ± 10		0.012

WBC=White blood cell;CRP=C-reactive protein。

2.4 预后和转归

EV71感染的350例患者中有332例完全治愈占94.8%,有13例患者留有后遗症,其中8例是下

肢肌力下降,5例上、下肢的肌力下降,还有5例因肺水肿抢救无效死亡,CoxA16感染的220例患者经过住院治疗完全治愈并且没有留下后遗症(表3)。

表3 EV71和COXA16感染的预后对比

Tab 3 Comparison of outcomes between patients with EV71 and CoxA16

预后	EV71(n = 350)	CoxA16(n = 220)	P ₁	P ₂
完全治愈	332(94.9)	220(100)	< 0.01	0.0001
后遗症	13(3.7)	0(0.00)	0.002	
死亡	5(1.4)	0(0.00)	0.162	

P₁为卡方检验统计量,P₂为秩和检验统计量。

3 讨论

手足口病是一组由肠道病毒感染引起的传染病,病原包括EV71、EV69、CoxA16、CoxA2等病毒^[9]。病毒感染后表现复杂,尤其易合并中枢神经系统感染。EV71和CoxA16感染引起手足口病最常见的合并症是中枢神经系统受累,可表现为无菌性脑膜

炎、脑炎、脊髓灰质炎样麻痹^[10-13]。中枢神经系统受累如果不及时治疗,患儿易出现神经源性肺水肿^[14-17],甚至是难以逆转的心肺功能衰竭而危及生命。通过比较发现在EV71和CoxA16两组肠道病毒感染所导致的手足口病的患者临床表现和预后明显差异。分析病例发现EV71感染主要临床表现是发热超过39℃和(或)超过3天,出现肌阵挛性反射、口腔溃

痒、皮疹、嗜睡、肌力下降、共济失调、意识改变。CoxA16 感染主要临床表现是咳嗽、热性惊厥,同时很少有神经系统的症状。两种病毒感染都存在呕吐、腹泻症状。通过治疗后 EV71 感染的 350 例患者有 13 例留下后遗症(上肢或下肢或四肢肌无力),有 5 例因病情进展迅速出现心肺功能衰竭而导致死亡,可见 EV71 感染预后比 CoxA16 严重。

检测病毒核酸采用的荧光 PCR 法,是在 PCR 方法的基础上进行改良的,在 PCR 反应体系中加入荧光探针,利用荧光信号积累实时监测整个 PCR 过程,该法的敏感性、特异性均有文献报导^[18],得出的结论是可信的。本研究从 2011 年 1 月至 6 月半年中 570 例确诊为手足口病的南京地区门诊和住院患者中取咽拭子标本,采用荧光 PCR 法快速、准确检出手足口病的病毒病原(EV71 占 61%,CoxA16 占 39%),因此认为南京地区手足口病感染以 EV71 为主。在不同病毒及同一病毒不同亚型或同一亚型在不同时间,不同个体表现出的临床症状也不完全相同,这是值得关注的,本结果为临床早期实验室诊断提供一定参考。

[参考文献]

[1] Schmidt NJ. An apparently new calterovrus isolated from patients with disease of the central nervous system [J]. *J Infect Dis*, 1974, 129(3): 304-309

[2] Ho M, Chen ER, Hsu KH, et al. An epidemic of enterovirus 71 infection in Taiwan. Taiwan Enterovirus Epidemic Working Group [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(13): 929-935

[3] Mong HO, See CW, Penny L, et al. Clinical features, diagnosis, and management of enterovirus 71 [J]. *Lancet Neurolog*, 2010, 9(11): 1097-1105

[4] Chang LY, Huang YC, Lin TY. Fulminant neurogenic pulmonary oedema with hand, foot, and mouth disease [J]. *Lancet*, 1998, 352(9125): 367-368

[5] Solomn T, Lewthwaite P, Perera D, et al. Virölogy, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71 [J]. *Lance Infect Dis*, 2010, 10(11): 778-790

[6] Bible JM, Pantelidis P, Chan PK, et al. Genetic evolution of enterovirus 71: epidemiological and pathological impli-

cations [J]. *Rev Med Virol*, 2007, (6): 371-379

[7] XL Xiao, He YQ, YG Yu, et al. Simultaneous detection of human enterovirus 71 and coxsackievirus A16 in clinical specimens by multiplex real-time PCR with an internal amplification control [J]. *Arch Virol*, 2009, 154(1): 121-125

[8] 卫生部. 手足口病预防控制指南 (2008 年版) <http://www.chinacdc.net.cn/n272422/n272530/n275462/n275477/n292888/n23509.html>

[9] 吴 疆. 我国手足口病与重症肠道病毒感染的流行病学研究现状 [J]. *中国小儿急救医学*, 2008, 15(2): 100-102

[10] 吴沪生. 病毒感染与急性迟缓性瘫痪 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2007, 22(7): 484-485

[11] Chen SC, Chang HL, Yan TR, et al. An eight-year study of epidemiologic features of enterovirus 71 infection in Taiwan [J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2007, 77(1): 188-191

[12] Chang LY, Huang LM, Gau SF, et al. Neurodevelopment and cognition in children after enterovirus 71 infection [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(12): 1226-34

[13] Tsou YA, Cheng YK, Chung HK, et al. Upperaerodigestive tract sequelae in severe enterovirus 71 infection: Predictors and outcome [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2008, 72(1): 41-47

[14] Wang JN, Yao CT, Yeh CN, et al. Critical management in patients with severe enterovirus 71 infection [J]. *Pediatr Int*, 2006, 48(3): 250-256

[15] 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

[16] 陆国平, 李兴旺, 吕 勇, 等. 危重症手足口病 (EV71 感染) 诊治体会 [J]. *中国小儿急救医学*, 2008, 15(3): 217-220

[17] Fujimoto T, Chikahira M, Yoshida S, et al. Outbreak of central nervous system disease associated with hand, foot, and mouth disease in Japan during the summer of 2000: Detection and molecular epidemiology of enterovirus 71 [J]. *Microbiol Immunol*, 2002, 46(9): 621-627

[18] 王雅静, 肖 红, 王冰姝, 等. 手足口病肠道病毒核酸检测的比较研究 [J]. *中国热带医学*, 2009, 2(2): 199-200

[收稿日期] 2011-08-22