

深圳市社区人群 EV71 和 CoxA16 隐性感染的流行病学分析

张东晓¹, 杨帆¹, 王冰¹, 岳丽杰², 何颜霞², 宋平², 张仁利^{1*}

摘要:目的 为了解肠道病毒 71 型(EV71)和柯萨奇病毒 A16 型(CoxA16)在深圳市健康人群中的隐性感染情况,进一步探讨隐性感染在儿童手足口病(HFMD)中的传播特征及危害性。方法 实验采用酶联免疫(ELISA)法检测不同年龄层(0~59 岁之间)的健康人群血清中抗肠道病毒 71 型(EV71)和柯萨奇病毒 A16 型(CoxA16)的 IgM 和 IgG 抗体水平,并采用荧光定量 PCR 检测 IgM 阳性的样本中病毒核酸的阳性率。结果 抗 EV71 和 CoxA16 IgG 抗体的阳性率都随着年龄段的增加呈下降趋势,0~5 岁儿童组的 IgG 抗体阳性率最高,其中抗 EV71 的 IgG 抗体阳性率为 79.7%,抗 CoxA16 的 IgG 抗体阳性率为 91.93%。30 岁以下者,两种病毒的抗体阳性率在 70%以上,显著高于 30 岁以上人群, $P<0.01$ 。5 岁以下儿童抗 EV71 抗 IgM 抗体阳性率达 15.9%。49 份抗 EV71 IgM 阳性样本中有 42 份 EV71 的核酸阳性,阳性率为 85.7%;31 份抗 CoxA16 IgM 阳性样本中有 25 份 CoxA16 核酸阳性样本,阳性率为 80.6%。结论 人群对 EV71 和 CoxA16 普遍容易感染,健康人群中存在较高的隐性感染,隐性感染率与人群的年龄分布存在相关性,因此隐性感染人群也是病原体传播的传染源之一。

关键词:手足口病;隐性感染;血清学分析

中图分类号:R181.2*2 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-9727(2011)11-1332-02

Subclinical infection of hand-foot-mouth disease in Shenzhen City. ZHANG Dong-xiao, YANG Fan, WANG Bing, et al. (1.Shenzhen Municipal Centre for Diseases Control and Prevention, Shenzhen, Guangdong, P. R. China; corresponding author: ZHANG Ren-li, E-mail: renlizhang@tom.com)

Abstract: Objective To investigate subclinical infection of enterovirus 71 (EV71) and Coxsackievirus A16 (CoxA16) in health population in Shenzhen and analyze the prevalent features and harmfulness of hand-foot-mouth disease (HFMD). **Methods** ELISA was used to detect the antibody against enterovirus 71 (EV71), Coxsackievirus A16 (CoxA16) in healthy person aged from 0~59 years. **Results** The positive rate of IgG antibody against EV71 and CoxA16 decreased with the age growth, and the highest positive rate were in 0~5 year old group in which the IgG antibody against EV71 was 79.7% and the IgG antibody against CoxA16 was 91.93%. The positive rates of antibody to both viruses were above 70% in the adult below the age of 30 years, showing significant difference compared with that above age of 30 years ($P<0.01$). The highest positive rate were in 0~5 year old group with IgM antibody against EV71 was 15.9%. Through real-time RT-PCR, 42 out of 49 samples the IgM positive sera positive against IgM antibody were also positive for nucleic acid of EV71 with positive rate of 85.7% and 25 out of 31 positive sera positive against CoxA16 were also positive for nucleic acid of CoxA16 with the positive rate of 80.6%. **Conclusion** People are generally susceptible to EV71 and CoxA16 and there were subclinical infection with HFMD in healthy population. Subclinical infection of HFMD play very important role in transmission of HFMD.

Key words: Hand-foot-mouth disease (HFMD); Subclinical infection; Sera analysis.

手足口病 (Hand-foot-mouth-disease, HFMD) 是由肠道病毒引起的传染病,多发生于 5 岁以下的婴幼儿,可引起发热和手、足、口腔等部位的皮疹、溃疡,个别患者可引起心肌炎、肺水肿、无菌性脑膜脑炎等并发症。引发手足口病的肠病毒有二十多种型,其中最主要的病原体是肠道病毒 71 型 (Enterovirus 71, EV71) 和柯萨奇 A16 型 (Coxsackievirus 16, CoxA16)。2008 年以来,我国某些地方出现了 HFMD 的爆发流行,仅 2009 年全国通过传染病网络直报系统报告的 HFMD 病例 115 618 例,其中重症 773 例^[1]。

HFMD 是严重影响深圳儿童健康的一个重大的公共卫生

问题,发病人数逐年增长,仅 2010 年 1~7 月累计发病人数为 13 783 例,但大多数病例同样表现出散发的流行特征,在发病病例中仅 3.4% (478/13 783) 为聚集性病例,由于散发病例的流行特征给追溯传染源和传播途径带来了很大的困难,因此,开展对健康人群 HFMD 隐性感染特别是带病毒群体进行调查对于控制隐性传播途径,有效控制儿童 HFMD 的传播是很有意义也是很有必要的^[2]。本研究通过不同年龄层的健康人群抗 EV71 和 CoxA16 的 IgM 和 IgG 抗体水平调查,并对 IgM 阳性者样本病毒核酸的检测来阐明深圳市圆岭社区 HFMD 隐性感染和隐性传播对儿童 HFMD 危害。

作者单位:1.深圳市疾病预防控制中心,广东 深圳 518020; 2.深圳市儿童医院,广东 深圳 518020

作者简介:张东晓,硕士研究生,主要从事传染病免疫诊断

* 通讯作者: E-mail: renlizhang@tom.com

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料 本实验所用血清采集于深圳圆岭社区健康人群,并对所采的血清按年龄层进行分为 6 组,其中 0~5 岁 207 份,10~20 岁、21~30 岁、31~40 岁、41~50 岁、51~59 岁各 35 份。

1.1.2 ELISA 测定血清中的 IgG 和 IgM 的抗体 ELISA 法分别测定 6 组血清中抗 EV71 和 CoxA16 的 IgG 和 IgM 抗体,试剂盒购置北京贝尔生物科技有限公司,按照试剂盒说明的步骤进行抗体测定,实验设 2 个阴性对照,1 个阳性对照和 1 个空白对照,酶标仪读取的数值 ≥ 0.16 时结果判定为阳性。

1.2 方法

1.2.1 病毒核酸提取 利用 QIAGEN 的 Viral RNA Mini kit 对抗 EV71 或 CoxA16 的 IgM 抗体阳性的血清进行病毒核酸提取,提取步骤按试剂盒说明书,得到的 RNA 保存在 -80°C 备用。

1.2.2 病毒核酸检测 用柯萨奇病毒 A16 型核酸检测试剂盒和肠道病毒 71 型核酸检测试剂盒(达安基因,PCR-荧光探针法)对步骤 1.3 提取的核酸进行 RT-PCR 检测。检测步骤及反应条件按试剂盒说明进行。

1.3 资料分析 采用 SAS 统计分析软件进行资料分析。

2 结果

2.1 人群抗 EV71 和抗 CoxA16 的 IgG 抗体水平测定 ELISA 方法分别检测了 0~59 岁之间 6 个年龄层的抗 EV71 和 CoxA16 的 IgG,结果见表 1。从表 1 结果可看出,随着年龄层的不断增长,两组病毒的 IgG 抗体阳性率不断下降,其中 0~5 岁儿童的 EV71 和 CoxA16 的 IgG 抗体阳性率最高。40 岁以上的成人组 IgG 抗体阳性率明显下降。

表 1 健康人群抗 EV71 和 CoxA16 IgG 抗体阳性率(%)

Tab.1 Positive rate of IgG antibody of anti-EV71 and anti-CoxA16 in healthy population(%)

项目	0~5岁	10岁~	21岁~	31岁~	41岁~	51岁~
EV71	165/207 (79.7%)	28/35 (80%)	25/35 (71.34%)	14/35 (40%)	12/35 (34.3%)	13/35 (37.1%)
CoxA16	189/207 (91.3%)	21/35 (60%)	24/35 (68.6%)	19/35 (54.3%)	11/35 (31.4%)	18/35 (51.4%)

2.2 人群抗 EV71 和抗 CoxA16 的 IgM 抗体水平测定 抗 EV71 的 IgM 抗体在 0~5 岁儿童中的阳性率为 15.9%,而抗 CoxA16 的 IgM 抗体仅有 5.3%。抗 EV71 的 IgM 抗体阳性率在 10~40 岁这个年龄段的比其它年龄段低,而抗 CoxA16 的 IgM 抗体阳性率在 10~40 岁这个年龄段比其它年龄段高。见表 2。

表 2 健康人群抗 EV71 和 CoxA16 IgM 抗体阳性率(%)

Tab.2 Positive rate of IgM antibody of anti-EV71 and anti-CoxA16 in healthy population(%)

项目	0~5岁	10岁~	21岁~	31岁~	41岁~	51岁~
EV71	33/207 (15.9%)	3/35 (8.6%)	3/35 (8.6%)	1/35 (2.9%)	5/35 (14.3%)	4/35 (11%)
CoxA16	11/207 (5.3%)	6/35 (17.1%)	4/35 (11.4%)	5/35 (14.3%)	2/35 (5.7%)	3/35 (8.6%)

2.3 病毒核酸检测 利用荧光定量 RT-PCR 法对抗 EV71 的 IgM 阳性样本 49 份和抗 CoxA16 的 IgM 阳性样本 31 份分别进行 EV71 和 CoxA16 的病毒核酸检测,结果 49 份抗 EV71 的 IgM 阳性样本中有 42 份 EV71 核酸阳性的样本,阳性率为 85.7%;31 份抗 CoxA16 的 IgM 阳性样本有 25 份 CoxA16 核酸阳性样本,阳性率为 80.6%。

3 讨论

肠道病毒 EV71 和 CoxA16 对人群普遍易感,显性感染和隐性感染后均可获得特异性免疫力,但持续的时间还不明确。各个年龄组的人群都可感染发病,但是重症及死亡病例多数发生在 3 岁以下的儿童中。手足口病的流行病学特性为散发性,随地区、人群和时间的分布也具有显著差异^[3]。

本研究调查了深圳市圆岭社区 6 个年龄层健康人群抗 EV71 和 CoxA16 的 IgG 和 IgM 的抗体情况,随着年龄的增大,人群中两种病毒 IgG 的阳性率不断下降,大部分儿童从既往感染中获得了抗体。抗 EV71 和 CoxA16 的 IgG 抗体阳性率在 30 岁以后的成人中大幅下降,这与周世力等人^[4]在 2007 年对深圳地区的抗体报道相符合。

30 岁以下人群中,抗 EV71 和 CoxA16 IgG 的抗体阳性率在 70% 以上,显示两种病毒在该地区具有高流行率。病毒通过隐性感染传播可能是引起疫情爆发的原因之一。

IgM 抗体的阳性率能代表人群现症感染的情况,从本研究数据可知,0~5 岁儿童抗 EV71 的 IgM 抗体显著高于 CoxA16。结果中没找到同时拥有抗 EV71 和 CoxA16 的 IgM 抗体的血清,且病毒核酸检测时也没出现两病毒核酸双阳性的结果,表明检测人群中无 EV71 和 CoxA16 同时感染的情况。同时本实验检测了抗 EV71 和 CoxA16 的 IgM 阳性样本中两病毒的核酸阳性率,结果在 80% 左右,可能与病毒核酸对健康人群的感染时间不长相关,但健康人群携带的病毒在人群中也可能存在传播的可能。最后,在制定手足口病的防控手段时,应加强 30 岁以下人群的流行病学监测,对不同年龄段的隐性感染者采取相应的有效措施。

参考文献:

- [1] Mao LX, Wu B, Bao WX, et al. Epidemiology of hand, foot, and mouth disease and genotype characterization of Enterovirus 71 in Jiangsu[J]. China. J Clin Virol, 2010, 20(38):5-11.
- [2] Huang F, Li WH, Tan XJ. Genetic analysis of VP1 sequences of enterovirus 71 isolated from patients of hand, foot and mouth disease in Beijing, 2008 [J]. Zhongguo Ji Hua Mian Yi, 2009, 15 (6):527-30. Chinese.
- [3] 郭汝宁, 张正敏. 广东省手足口病流行特征和危险因素研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(5):530-531.
- [4] 周世力, 李琳琳, 何雅青. 深圳市肠道病毒 71 型血清流行病学初步调查 [J]. 热带医学杂志, 2007, 7(1):66-68.