

2011-2016 年昆明市手足口病病原学特征分析

李文龙, 刘艳艳, 简千棋, 马丽波, 刘如锦, 侯敏, 李旭

昆明市疾病预防控制中心, 云南 昆明 650228

摘要: **目的** 阐明 2011-2016 年昆明市手足口病病原学特征, 为手足口病防控提供参考依据。 **方法** 收集 2011 年 1 月-2016 年 12 月昆明市手足口病临床诊断病例标本, 使用实时定量荧光 PCR (real-time PCR) 方法检测手足口病病毒核酸。用 SPSS 20.0 软件分析计数结果。 **结果** 2011-2016 年检测粪便、肛拭子及咽拭子等标本共计 6 373 份, 其中人肠道病毒通用型 (human enterovirus universal, EV-U) 阳性 4 679 份, 阳性率 73.42%。昆明市手足口病病原由肠道病毒 71 型 (enterovirus A71, EV-A71)、柯萨奇 A 组 16 型 (coxsackievirus A16, CV-A16) 及其他肠道病毒组成, 其优势病原不断变化, 2011-2016 年优势病原依次为 EV-A71 型、CV-A16 型、其他肠道病毒、CV-A16 型、其他肠道病毒、CV-A16 型; 病原构成差异有统计学意义 ($\chi^2 = 967.591, P < 0.001$)。粪便标本阳性率 (81.84%) 较肛拭子 (60.65%) 及咽拭子 (32.40%) 高 ($\chi^2 = 836.895, P < 0.001$), 重症手足口病标本的 EV-A71 型检出最多, 占重症阳性标本的 50.53% (431/853)。发病高峰在 4-7 月, 占病例标本总数的 53.68% (3 421/6 373), 由单峰分布演变为双峰变化。主城区的官渡、西山、五华、盘龙病例较多, 不同地区手足口病病例标本的阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 1 090.546, P < 0.001$)。发病年龄集中在 6 岁以下, 其中 1-3 岁年龄段的病例最多; 男、女发病比例为 1.46 : 1, 男女病原构成比差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.367, P = 0.186$)。 **结论** 昆明市手足口病呈现明显季节性、年龄特征及一定的地区分布规律; 病原以 EV-A71 型和 CV-A16 型为主, 其他肠道病毒的构成比逐渐上升; EV-A71 型是引起重症病例的主要病原, 应重点防控。

关键词: 手足口病; Real-time PCR; 肠道病毒; 病原学监测

中图分类号: R512.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1006-3110(2019)07-0850-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.07.021

手足口病 (hand-foot-mouth disease, HFMD) 是由多种人肠道病毒引起的一种儿童常见传染病, 是我国法定报告管理的丙类传染病^[1]。有 20 多种 (型) 肠道病毒可引起手足口病, 其中 CV-A16 型和 EV-A71 型最常见。1957 年新西兰首次报道了手足口病, 该病已在世界多个地区暴发和流行。在过去的十年中, 手足口病在亚太地区占主导地位, 成为全球公共卫生面临的紧迫问题。为了解昆明市手足口病病原学特征, 并对昆明市手足口病的防控提供依据, 现对昆明市 2011-2016 年手足口病的监测数据进行分析。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2011 年 1 月-2016 年 12 月, 对昆明市辖区 14 县 (市、区) 疾病预防控制中心采集的临床诊断为手足口病病例的粪便、肛拭子、咽拭子标本, 每个县 (市、区) 每月采集 5 份轻症病例标本; 重症病例、死亡病例全部采集; 暴发疫情少于 10 例全部采集, 大余 10 例采集 10 例。共计采集 6 373 份标本进行病原

学检测。手足口病诊断标准符合《手足口病诊疗指南》(2010 年版)。

1.2 主要试剂与仪器 2011-2014 年标本核酸纯化采用德国 QIAGEN 公司 Rneasy Mini Kit (50) 试剂盒, 2015-2016 年采用 QIAGEN 公司的 QIAcube HT 全自动核酸提取仪及配套试剂 (cador Pathogen 96 QIAcube HT Kit)。核酸检测试剂使用上海辉睿生物科技有限公司生产的手足口肠道病毒 CoxA6/EV71/EV-U 三重 RNA 检测试剂盒 (荧光 PCR 法); 主要仪器为 ABI 7500 Real Time PCR 仪

1.3 方法 (1) 病毒 RNA 的纯化按照试剂盒说明书进行, 纯化的 RNA 立即进行检测或 -20℃ 冻存。(2) Real-time PCR 检测: 按照试剂说明书配制 PCR 反应体系, 同时检测人肠道病毒通用型 (human enterovirus universal, EV-U)、肠道病毒 71 型 (enterovirus A71, EV-A71) 及柯萨奇 A 组 16 型 (coxsackievirus A16, CV-A16)。FAM 通道检测 CV-A16 型, VIC 通道检测 EV-A71 型, ROX 通道检测 EV-U。EV-U 阳性且 EV-A71 型和 CV-A16 型均为阴性的标本判读为其他肠道病毒阳性。(3) 质量控制: 阴性对照无典型 S 型扩增曲线显示; 阳性对照呈典型 S 型扩增曲线且 Ct 值 < 30。否则此次实验视为无效。阳性: 待测样品有 S 型扩增曲线且 Ct 值 ≤ 35 为阳性结果; 可疑: 待测样品

基金项目: 昆明市卫生科技人才培养“十百千”工程 (sw 后备-92)

作者简介: 李文龙 (1985-), 男, 本科学历, 检验技师, 主要从事传染病的预防控制工作。

通信作者: 李旭 (1966-), E-mail: 2362458051@qq.com。

35≤Ct 值<38 为检测灰区,需重复检测;阴性:待测样品 Ct 值≥38 或未检出,判断为阴性结果。

1.4 统计学分析 使用 Excel 2010 录入和整理数据;使用 SPSS 20.0 统计,对计数资料进行 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 病原学检测结果 2011-2016 年,对昆明市临床

诊断为手足口病的病例标本共计 6 373 份进行了病毒核酸检测。结果显示见表 1,确定为 EV-U 阳性的标本 4 679 份,总阳性率为 73.42%。其中 EV-A71 型阳性 1 617 份,占 EV-U 阳性的 34.56%;CV-A16 型阳性 1 716 份,占 EV-U 阳性的 36.67%;其他肠道病毒 1 346 份,占 EV-U 阳性的 28.77%。2011-2016 年各年手足口病各病毒阳性率差异有统计学意义 ($P<0.001$)。

表 1 昆明市 2011-2016 年手足口病病原学检测结果

年份	标本数	EV-U		EV-A71 型		CV-A16 型		其他肠道病毒	
		阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)
2011	717	354	49.37	240	33.47	58	8.09	56	7.81
2012	1 044	861	82.47	284	27.20	517	49.52	60	5.75
2013	937	707	75.45	313	33.40	72	7.68	322	34.36
2014	1 446	1 003	69.36	337	23.30	402	27.80	264	18.26
2015	1 252	946	75.56	234	18.69	241	19.25	471	37.62
2016	977	808	82.70	209	21.39	426	43.60	173	17.71
合计	6 373	4 679	73.42	1 617	25.37	1 716	26.93	1 346	21.12
χ^2 值			316.536		99.582		752.668		541.554
P 值			<0.001		<0.001		<0.001		<0.001

2011-2016 年昆明市手足口病优势病原不断变化。总体来看,以 EV-A71 型和 CV-A16 型为主,其他肠道病毒的构成比逐步上升。其中,2011-2014 年手足口病病原为 EV-A71 型和 CV-A16 型交替主导的情况,2011 年及 2013 以 EV-A71 型为主(2013 年略低于其他肠道病毒);2012 年及 2014 以 CV-A16 为主;2015 年 EV-A71 型和 CV-A16 型减少,2016 年 CV-A16 型迅速成为优势病原。2011-2016 年其他肠道病毒呈下降-上升交替出现,整体呈上升趋势,并在 2013 年、2015 年成为昆明市手足口病主要病原。各年病原构成比差异有统计学意义($\chi^2=967.591,P<0.01$),见表 1、图 1。

2.2 不同标本类型、临床诊断手足口病病原检出情况

2011-2016 年昆明市手足口病的标本类型包括粪便、肛拭子、咽拭子三种类型,其肠道病毒通用型(EV-U)的阳性率依次为 81.84%、60.65%、32.40%,见表 2。

不同标本的 EV-U 阳性率差异有统计学意义 ($P<0.001$)。不同标本的病原构成比差异有统计学意义($\chi^2=132.746,P<0.001$)。临床诊断为轻症病例的 EV-U 的阳性率为 80.72%,高于重症病例的 52.24%,二者差异有统计学意义 ($P<0.001$)。轻症病例中 CV-A16 型检出最多,占轻症病例阳性的 41.74%;重症病例中 EV-A71 型检出最多,占重症阳性病例的 50.53%。不同临床诊断的病原构成比差异有统计学意义 ($\chi^2=240.398,P<0.001$)。见表 3。

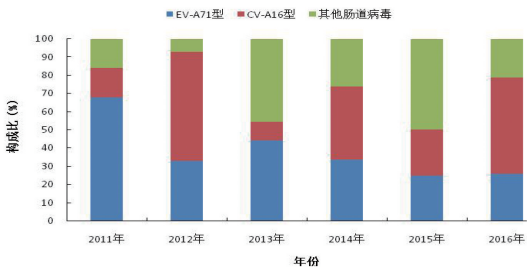


图 1 2010-2016 年昆明市手足口病病原构成比变化趋势

表 2 2011-2016 年昆明市不同标本类型手足口病病原检出情况

标本类型	标本数	EV-U		EV-A71 型			CV-A16 型			其他肠道病毒		
		阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	构成比(%)	阳性数	阳性率(%)	构成比(%)	阳性数	阳性率(%)	构成比(%)
粪便	4 746	3 884	81.84	1 230	25.92	31.67	1 550	31.82	39.91	1 104	23.26	28.42
肛拭子	948	575	60.65	260	27.43	45.22	128	13.50	22.26	187	19.73	32.52
咽拭子	679	220	32.40	127	18.70	57.73	38	5.60	17.27	55	8.10	25.00
合计	6 373	4 679	73.42	1 617	25.37	34.56	1 716	26.93	36.67	1 346	21.12	28.77
χ^2 值			836.895		18.800			323.102			83.263	
P 值			<0.001		<0.001			<0.001			<0.001	

表 3 2011–2016 年昆明市不同临床诊断手足口病主要病原检出情况

临床诊断	标本数	EV-U		EV-A71 型			CV-A16 型			其他肠道病毒		
		阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	构成比 (%)	阳性数	阳性率 (%)	构成比 (%)	阳性数	阳性率 (%)	构成比 (%)
轻症	4 740	3 826	80.72	1 186	25.02	31.00	1 597	33.69	41.74	1 043	22.00	27.26
重症	1 633	853	52.24	431	26.39	50.53	119	7.29	13.95	303	18.55	35.52
合计	6 373	4 679	73.42	1 617	25.37	34.56	1 716	26.93	36.67	1 346	21.12	28.77
χ^2 值		504.879		1.208			430.378			8.675		
P 值		<0.001		0.272			<0.001			0.003		

2.3 实验室检测病例分布特征

2.3.1 时间分布 2011–2016 年, 每年均全年有手足口病病例, 发病时间具有明显的季节特点, 在 4–7 月出现一个高峰, 共 3 421 例占病例总数的 53.68% (3 421/6 373)。其中, 1–12 月均有手足口病 EV-A71 型、CV-A16 型及其他肠道病毒阳性病例标本检出; 在 4–7 月, 手足口病 EV-A71 型、CV-A16 型 (2011 年、2013 年除外) 及其他肠道病毒 (2016 年除外) 阳性病例标本均出现高峰, 与 EV-U 阳性一致, 具有季节特点。2011–2013 年昆明市手足口病发病呈明显的单峰分布; 从 2014–2016 年, 4–7 月高峰后 10–11 月又出现一个次高峰, 呈双峰变化的特点。其中, 2014 年的 5 月的高峰和 10 月的次高峰分别为 6 年中高峰和次高峰的最高点。见图 2。

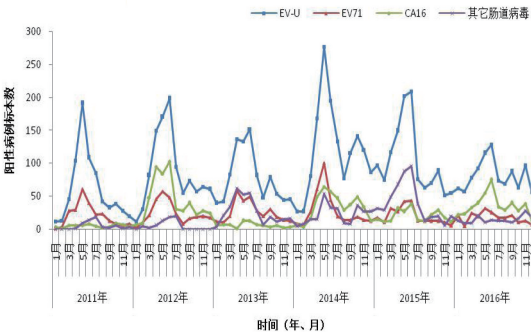


图 2 2011–2016 年昆明市手足口病阳性病例时间分布

2.3.2 地区分布 昆明市所辖 14 个县 (市、区) 在 2011–2016 年均有病例分布。主城区的官渡、西山、五华、盘龙病例数最多; 远离城区的禄劝、寻甸较少。14 个县 (市、区) 均检出 EV-A71 型、CV-A16 型及其他肠道病毒。其中官渡、西山以 EV-A71 型为主; 五华、盘龙、禄劝检出的其他肠道病毒较多; 呈贡、晋宁、东川、安宁、富民、嵩明、宜良、石林、寻甸则主要为 CV-A16 型。不同地区手足口病病例标本的阳性率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 1\,090.546, P < 0.001$); 不同地区病原构成比差异有统计学意义 ($\chi^2 = 294.695, P < 0.001$), 见图 3。

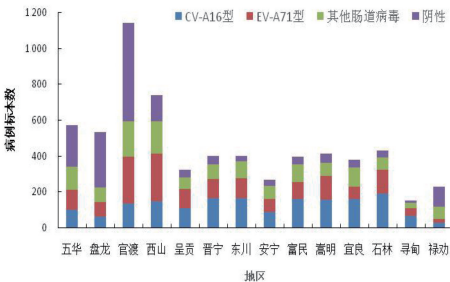


图 3 2011–2016 年昆明市手足口病病原型别地区分布

2.3.3 人群特征 见表 3。2011–2016 年昆明市手足口病病例多为 6 岁以下儿童, 共 5 616 例, 占全部病例的 88.12%。1~、2~、3~ 岁年龄段的病例最多, 分别占病例总数的 21.92%、19.31%、20.15%。不同年龄组阳性检出率差异有统计学意义 ($\chi^2 = 62.364, P < 0.001$); 不同年龄组病原构成比差异有统计学意义 ($\chi^2 = 335.663, P < 0.001$)。

表 4 昆明市 2011–2016 年手足口病发病年龄分布

年龄 (岁)	标本数	构成比 (%)	EV-A71 型		CV-A16 型		其他肠道病毒	
			阳性数	构成比 (%)	阳性数	构成比 (%)	阳性数	构成比 (%)
0~	169	2.65	18	10.65	21	12.43	73	43.19
1~	1 397	21.92	308	22.05	244	17.47	411	29.42
2~	1 231	19.31	326	26.48	248	20.15	295	23.96
3~	1 284	20.15	330	25.70	367	28.58	242	18.85
4~	692	10.85	225	32.51	290	41.91	151	21.82
5~	506	7.94	150	29.64	189	37.35	69	13.64
6~	337	5.29	95	28.19	139	41.25	36	10.68
>6~	757	11.88	165	21.80	218	28.80	69	9.11
合计	6 373	100.00	1 617	25.37	1 716	26.93	1 346	21.12

2011–2016 年, 6 373 手足口病病例中, 男、女病例分别为 3 782 例、2 591 例, 比例为 1.46 : 1。男性阳性率 74.64% 高于女性阳性率 71.63%。男女病原构成比差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.367, P = 0.186$)。见表 5。

表5 2011-2016年昆明市手足口病病例性别分布

性别	标本数	EV-U		EV-A71 型			CV-A16 型			其他肠道病毒		
		阳性数	阳性率(%)	阳性数	阳性率(%)	构成比(%)	阳性数	阳性率(%)	构成比(%)	阳性数	阳性率(%)	构成比(%)
男	3 782	2 823	74. 64	984	26. 02	34. 86	1 007	26. 63	35. 67	832	22. 00	29. 47
女	2 591	1 856	71. 63	633	24. 43	34. 11	709	27. 36	38. 20	514	19. 84	27. 69
合计	6 373	4 679	73. 42	1 617	25. 37	34. 56	1 716	26. 93	36. 67	1 346	21. 12	28. 77
χ ² 值			7. 141		2. 046			0. 425			4. 310	
P 值			0. 008		0. 153			0. 514			0. 038	

3 讨 论

昆明于1985年冬季首次发生手足口病小流行^[2]。随着2008年安徽阜阳手足口病的暴发蔓延,昆明成为云南省手足口病报告发病率较高的中心城市^[3]。昆明市2010年开始手足口病病原学监测,分析本地区手足口病病原学特征,对昆明市科学防控手足口病具有重要意义。

病原学监测结果显示,昆明市手足口病病原以EV-A71型和CV-A16型为主,其他肠道病毒的构成比逐渐上升,优势病原不断变化。这与我国手足口病病原谱变化规律一致^[4]。针对其他肠道病毒构成比上升趋势,2014年开始,我们拓展了监测项目,对其他肠道病毒进行分型,发现2014-2016年其他肠道病毒的优势病原主要为CV-A6型及CV-A10型。

从6年的监测数据来看,粪便标本的阳性率高达81.84%,肛拭子次之为60.65%,而咽拭子阳性率仅为32.40%。因此建议采集手足口病病例标本(尤其是重症病例标本)时,优先采集粪便标本,可提高实验室诊断的阳性率和准确性;采集不到粪便标本时,也可选择肛拭子;咽拭子采集简单,但质量难以保证^[5]。昆明市重症病例以EV-A71型为主,这与全国的情况一致^[6-8]。接种EV-A71疫苗是目前最有效的预防重症手足口病发生的措施,目前已有三个厂家的灭活EV-A71疫苗获批上市^[9]。

从发病时间看,昆明市手足口病发病时间具有明显的季节特点,4-7月为发病高峰,与相关报道一致^[6,10]。流行方式从2011-2013年的单峰分布演变为2014-2016双峰模式,这提示我们加强秋冬季节的监测。从地区分布来看,昆明市辖区6年间均有病例分布且呈现明显的地区差异,主城区的官渡、西山、五华、盘龙病例数最多。一方面,这可能与主城区人口量多,城乡结合部较多有关;另外一方面,主城区医疗资源集中,为病例的发现诊断提供了条件。从人群特征来看,

昆明市手足口病病例多为6岁以下儿童。1~3岁年龄段的病例最多,为手足口病的高危人群,与龙海艺、刘雅琼^[11-12]等报道一致。男女病原构成比差异无统计学意义,说明不同类型肠道病毒对不同性别人群的侵袭力均无差异,与薛娜等研究相符^[13]。但男女比例为1.46:1,男性高于女性,究其原因,可能与我国近年来出生人口性别比男性高于女性有关^[14]。

参考文献

[1] Zhuang ZC, Kou ZQ, Bai YJ, et al. Epidemiological research on hand, foot, and mouth disease in mainland China[J]. Viruses, 2015, 7(12): 6400-6411.

[2] 冒长峙,秦非,阮光洪. 昆明地区首次流行手足口病31例报告[J]. 皮肤病与性病, 1990, 12(3): 1-3.

[3] 王荣华,李琼芬,林燕,等. 2008-2013年云南省手足口病流行特征和空间分布特点分析[J]. 疾病监测, 2014, 29(11): 857-861.

[4] 赵奇,朱俊萍. 中国手足口病的流行状况及病原谱变化分析[J]. 病毒学报, 2015, 31(5): 554-558.

[5] 骆玲飞,王小光,刘继倩,等. 疑似重症手足口病病原学检测及流行病学分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(4): 971-972.

[6] 寸建萍,尹洁,姜黎黎,等. 2008-2014年云南省手足口病流行特征分析[J]. 昆明医科大学学报, 2015, 36(11): 47-50.

[7] 陈国平,史永林,张进,等. 2008-2014年安徽省手足口病流行特征分析[J]. 现代预防医学, 2016, 43(4): 588-590.

[8] 李梨平,叶志纯,陈梦施,等. 湖南省儿童医院手足口病住院病例病原学检测结果分析[J]. 实用预防医学, 2017, 24(12): 1529-1531.

[9] 李洁,张勇,许文波. EV-A71感染导致的重症手足口病的机制及防控研究进展[J]. 病毒学报, 2018, 34(2): 277-284.

[10] 顾新蕊,赵华,冀天娇,等. 2014-2015年重庆市手足口病的流行病学及病原学特征[J]. 病毒学报, 2016, 32(6): 707-712.

[11] 龙海艺,庞秀然,黄飞,等. 2010-2015年防城港市手足口病病原学监测结果分析[J]. 实用预防医学, 2018, 25(3): 321-324.

[12] 刘雅琼,袁伟,吕强. 2009-2016年四川省手足口病流行病学和病原学特征分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2017, 21(10): 1052-1056.

[13] 薛娜,樊旭成,韩志国,等. 乌鲁木齐市手足口病的病原学特征分析[J]. 现代预防医学, 2017, 44(23): 4358-4360.

[14] 隋美丽,李懿,刘新奎,等. 手足口病流行病学病原学及重症化机制的研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2017, 12(1): 92-96.