

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.20.1099

·论著·

遵义地区 2013 年手足口病病毒亚型鉴定结果分析

马晶晶, 夏世敏, 陈德林, 王凤学

(遵义市第一人民医院检验科, 贵州 遵义 563002)

【摘要】 目的 鉴定遵义地区手足口病病毒亚型, 观察其感染病毒类型特征。方法 收集 2013 年 1~12 月期间于遵义市第一人民医院就诊的疑似手足口病例样本, 采用细胞分离结合逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测柯萨奇病毒 A16 型(CA16)、肠道病毒 71 型(EV71)及肠道病毒通用型(EV)的阳性率, 并对所测结果进行统计分析。结果 ①在 2013 年度所有疑似 4 680 例手足口病患者的样本检测中阳性者 1747 例, 占 37.3%。②在 1747 例阳性检测标本中年龄小于 2 岁者 895 例, 占所有阳性患者的 51.23%; 2~4 岁者 659 例, 占 37.72%; 4~6 岁者 187 例, 占 10.70%; 大于 6 岁者 6 例, 占 0.34%。③所有手足口病病毒阳性检出患者中 CA16 型阳性者 38 例, 占 2.17%; EV71 型阳性者 203 例, 占 11.62%; EV 型阳性者 1726 例, 占 98.80%。结论 2013 年度遵义地区手足口病主要易感人群为 4 岁以下儿童, 病毒流行亚型以肠道病毒 EV 型感染为主。

【关键词】 手足口病; 肠道病毒; 亚型; 遵义地区**【中图分类号】** R725.9 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2015)20—3021—03

Analysis on virus subtypes and epidemiological characteristics of hand-foot-mouth disease in Zunyi in 2013.

MA Jing-jing, XIA Shi-min, CHEN De-lin, WANG Feng-xue. Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Zunyi, Zunyi 563002, Guizhou, CHINA

[Abstract] **Objective** To investigate the virus subtypes of hand-foot-mouth disease (HFMD) in Zunyi, as well as to analyze the epidemiological features in this area. **Methods** Samples of suspected HFMD cases in the First People's Hospital of Zunyi from January to December in 2013 were collected. Cell separation combined with reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the positive rate of coxsackie virus A16 (CA16), enterovirus 71 (EV71) and enterovirus (EV). The results was statistically analyzed. **Results** (1) Among the 4 680 cases suspected of HFMD in 2013, there were 1 747 positive infectious cases, which accounted for 37.3%. (2) Among the 1 747 positive cases, there were 895 cases of less-than-two-year-old children (accounting for 51.23%), 659 cases of 2~4-year-old children (37.72%), 187 cases of 4~6-year-old children (10.70%), and only 6 cases of more-than-6-year-old children (0.34%). (3) Among the 1 747 positive cases, there were 38 cases of CA16 subtype (accounting for 2.17%), 203 cases of EV71 subtype (11.62%), and 1 726 cases of Enterovirus (EV) subtype (98.80%). **Conclusion** The susceptible population of HFMD in Zunyi in 2013 was the children under the age of 4. The virus subtype was mainly EV.

[Key words] Hand-foot-mouth disease; Enterovirus (EV); Subtype; Zunyi

肠道病毒包括脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒和埃可病毒几大类, 其感染部位是包括口腔在内的整个消化道, 通过污染的食物、饮料、水果等经口腔进入体内, 并在肠道增殖引起相应的临床症状。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 岁以下的儿童, 可引起手、足、口腔等部位的疱疹, 少数患儿可引起肺水肿、心肌炎、无菌性脑膜脑炎等并发症。个别重症患儿病情发展快, 可导致死亡, 是未成年儿童常见的多发性流行病^[1]。引发 HFMD 的肠道病毒有 20 多种(型), 柯萨奇病毒 A 组的 16、4、5、9、10 型, B 组的 2、5 型, 以及肠道病毒 71 型, 均为 HFMD 较常见的病原体, 其中以柯萨奇病毒 A16 型(Cox A16)和肠道病毒 71 型(EV 71)最为常见^[2]。贵州省疾控中心自 2008 以来年起, 开始对省内 HFMD 的发病流行情况进行实时有效监测。但由于个体遗传易感性、地域

和季节差异的原因, 每年在各地区之间流行的病毒很可能各不相同, 即使是同一地区, 在年龄段患者所感染的病毒亚型也可能不尽相同。因此, 本文通过回顾性分析 2013 年就诊于我院的 HFMD 患者的病毒感染情况, 以便了解遵义地区 HFMD 患者在过去一年里的感染亚型和流行趋势, 为更好地掌握该地区 HFMD 的发病情况、做好有关防控措施提供一定的数据资料。

1 资料与方法

1.1 样本收集 收集 2013 年 1~12 月期间于遵义市第一人民医院就诊的疑似 HFMD 的门诊及住院患者咽拭子样本共计 4 680 份, 样本采集人员需经过专业培训, 采集后样本 2℃~8℃ 条件下保存, 24 h 内检测分析。

1.2 试剂和仪器 柯萨奇病毒 CA16 型、肠道病毒 71 型及肠道病毒通用型核酸检测试剂盒、核酸提

取试剂盒均来自中山大学达安基因股份有限公司,Ligcycler480II型荧光定量PCR仪为上海罗氏制药有限公司产品,Biosafe12生物安全柜购自Heal Force公司,微量移液器购自Eppendorf公司。

1.3 病毒核酸提取

1.3.1 样本的处理 将所取咽拭子样本在生理盐水中充分搅动洗下拭子上粘附的细胞,取1.5 ml洗涤后的生理盐水于1.5 ml离心管中,12 000×g离心3 min去除上清,沉淀充分振荡混匀。

1.3.2 样本核酸的提取 取200 μl样品加入50 μl的蛋白酶K,再加入200 μl的裂解液,充分震荡以去除杂蛋白,再向样本中加入250 μl乙醇作用15 s。将混合液转移至离心柱,12 000×g离心1 min。取出离心柱装至新收集管,加入500 μl的抑制物去除液加入离心柱,室温下12 000×g离心1 min,将离心柱装至新的收集管,经反复洗涤去除无机盐离子和有机杂质,得到核酸样品。

1.4 荧光定量PCR扩增 具体方法按试剂操作说明书进行,总反应体系25 μl,其中PCR反应液15 μl,Taq酶3 μl,逆转录酶2 μl,模板RNA 5 μl。反应条件:45℃ 15 min,95℃ 2 min,95℃ 5 s,55℃ 45 s,共40个循环。PCR仪实时检测检测荧光信号,仪器软件系统自动绘制出实时扩增曲线,根据C_p值实现对未知样本的定性检测。

1.5 统计学方法 将所有样本中病毒阳检患者分成0~2岁,>2岁且≤4岁,>4岁且≤6岁及>6岁以上四个年龄组,采用SPSS13.0软件分别统计各年龄组患者阳性感染检出率及各亚型病毒的阳性检出率,观察比较不同病毒亚型在各年龄段患者中的差异,组间比较采用χ²检验,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 受检样本的整体情况 所检测的4 680例疑似患者样本中有1 747例患者呈感染阳性,占37.3%;其中男性1 056例,女性691例。

2.2 各年龄段患者的阳性率比较 1 747例阳性样本中年龄<2岁的感染者895例,占51.23%,2~4岁者659例,占37.72%,而4~6岁和>6岁的感染者分别为187例和6例,分别占所有感染者的10.70%和0.34%。

2.3 阳性感染患者的病毒亚型分布比较 在1 747例阳性感染者中检测出EV型病毒阳性的有1 506例,占所有感染者的86.21%;另有11.62%(203例)为EV71型病毒感染;而CA16阳性感染的患者仅有38例,占2.17%。

3 讨 论

HFMD是一种全球性传染病,世界上大部分地区均有相关的流行报道,其主要临床表现是以发热、手、足、口腔发生水疱疹为特征。近年来,马来西亚、中国

台湾、新加坡、澳大利亚和中国香港等地区不断有手足口病暴发流行。引发HFMD的肠道病毒有多种,其中又以柯萨奇病毒A16型、肠道病毒71型和肠道病毒通用EV型最为常见,而EV71型肠道病毒感染易出现严重并发症甚至死亡^[3~4]。HFMD的潜伏期为2~7 d,传播途径较多,可以经粪-口、呼吸道传播,或因接触患者皮肤、黏膜疱疹液而感染^[5]。在本文中,我们通过收集2013年全年来我院就诊的疑似HFMD患者的样本进行检测分析,结果显示,病毒检测确诊为阳性感染患者多为学龄前儿童,其中以0~2岁最为多见(51.23%),2~4岁儿童检出率为37.72%,两个年龄段的总发病率占88.95%,这与国内其他地区所得出的流行病学结果基本一致^[6~7],提示我们在HFMD的防控措施方面应该始终重点关注相应年龄段的易感人群。至于HFMD发病率向4岁以下儿童人群倾斜的具体原因,可能与此年龄段儿童免疫功能尚未完全发育成熟有关。小儿免疫功能不全,容易感染发病。而成人的免疫功能比较完善,即使感染也一般不发病,但是成人感染后可能会间接传染给小孩^[8]。同时,分析结果还显示,HFMD最常见的亚型为EV型,其次为EV71和CA16型,但作为临床症状最为严重的EV71型病毒阳性患者占11.62%,这与临幊上观察到的该型患者病情严重程度相契合,故在临幊实践中一旦病毒学检测结果发现此型阳性,应给予相应患儿足够的重视。再者,有研究提示手足口病毒感染后只能获得感染亚型病毒的免疫力,对于其他病毒亚型没有交叉免疫,所以还得始终预防HFMD某一亚型痊愈后再次感染其他病毒亚型而引起二次发病的情况^[9]。

我们的结果还显示,在临幊疑似HFMD病例的患者中,有相当比例的患者病原检测为阴性结合临幊表现发现这部分患者临幊症状与HFMD阳性感染者非常相似,说明在诊断HFMD感染过程中需要特别谨慎,应与具有相似症状的其他感染性疾病如扁桃体炎、疱疹性口腔炎、水痘等疾病相鉴别,应尽早做到病毒学识别,把握最佳的治疗时期,这是改善患者预后的关键。

参 考 文 献

- [1] Lin TY, Twu SJ, Ho MS, et al. Enterovirus 71 outbreaks, Taiwan: occurrence and recognition [J]. Emerg Infect Dis, 2003, 9(3): 291~293.
- [2] 卫生部.手足口病预防控制指南(2009版)[J].全科医学临床与教育,2010,8(2): 125~127.
- [3] 赵志青,杨海峰. EV71所致重症手足口病78例临床分析[J].西部医学,2014,26(1): 65~66.
- [4] 王晓明,宋红娥,施荣富,等. 肠道病毒71型感染致重症手足口病35例[J]. 实用儿科临床杂志,2011,26(22): 1736~1737.
- [5] 赵文莉,姚红,刘华平. 手足口病893例流行病学及临床特征分析[J]. 现代医药卫生,2013,29(2): 201~202.
- [6] 史永林,吴家兵,胡万富,等. 安徽省2008~2012年手足口病流行病学及病原学特征分析[J]. 中华疾病控制杂志,2014,18(6): 497~500.

doi:10.3969/j.issn.1003-6350.2015.20.1100

·论著·

组织 CDH1 基因异常甲基化和血清 HE4 检测 对卵巢癌和卵巢内异症囊肿的鉴别价值

孙 蓓¹, 张 熊²(1.陕西中医药大学第二附属医院妇二科,陕西 咸阳 712000;
2.咸阳市第一人民医院检验科,陕西 咸阳 712000)

【摘要】目的 探讨组织上皮-钙粘连素(CDH1)基因异常甲基化和血清人附睾分泌蛋白4(HE4)检测对卵巢癌和卵巢内异症囊肿的鉴别价值。**方法** 选取卵巢癌患者(卵巢癌组)38例、卵巢内异症囊肿患者(内异症组)41例,另选取子宫或卵巢良性病变患者42例(对照组),采用甲基化聚合酶联反应技术检测CDH1基因启动子区甲基化状态,采用酶联免疫吸附试验检测血清HE4水平。比较以上指标的变化。**结果** CDH1 DNA在内异症组、卵巢癌组及对照组中的甲基化表达率分别为4.8%(2/41)、39.4%(15/38)、2.3%(1/42)。内异症组的CDH1 DNA甲基化表达率与对照组比较差异无统计学意义($\chi^2=0.37, P=0.542$),卵巢癌组的CDH1基因甲基化表达率与对照组比较差异有统计学意义($\chi^2=11.24, P=0.001$),卵巢癌组的CDH1基因甲基化表达率与内异症组比较差异有统计学意义($\chi^2=13.79, P=0.000$)。血清HE4在内异症组、卵巢癌组及对照组水平分别为52.7 pmol/L、537.2 pmol/L、50.3 pmol/L,内异症组血清HE4水平与对照组比较差异无统计学意义($t=0.63, P=0.532$),卵巢癌组的血清HE4水平与对照组比较显著增高,差异有统计学意义($t=54.27, P=0.000$),卵巢癌组与内异症组比较显著增高,差异有统计学意义($t=55.33, P=0.000$)。卵巢癌组CDH1基因甲基化DNA表达量与血清HE4水平具有相关性($r=0.527, P<0.01$),卵巢癌组CDH1甲基化DNA表达量、血清HE4水平分别与CA125水平具有相关性($r=0.539, 0.520, P<0.01$)。内异症组血清HE4水平与CA125水平无明显相关性($r=0.127, P>0.05$)。**结论** 联合检测组织CDH1 DNA甲基化的发生和血清HE4水平可应用于卵巢内异症囊肿和卵巢癌的鉴别诊断,提高两种疾病的诊断率。

【关键词】 卵巢癌;卵巢内异症囊肿;CDH1基因;甲基化;HE4**【中图分类号】** R737.31 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2015)20—3023—03

Value of abnormal methylation of CDH1 gene and the detection of serum HE4 in the identification of ovarian cancer and ovarian endometriosis cyst. SUN Bei¹, ZHANG Xiong². 1. The Second Department of Gynaecology, the Second Affiliated Hospital of Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi, CHINA; 2 Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Xianyang City, Xianyang 712000, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the abnormal methylation of CDH1 gene and the detection of serum human epididymis protein 4 (HE4) in the identification of ovarian cancer and ovarian endometriosis cyst. **Methods** Thirty-eight patients with ovarian cancer (group A), 41 patients with ovarian ectopic cyst (group B) and 42 patients with benign uterine or ovarian lesion (the control group) were enrolled in the study. The methylation status of CDH1 gene promoter region was detected by methylation-specific polymerase chain reaction, and the levels of serum HE4 were detected with enzyme-linked immunosorbent assay. The changes of the above indicators were compared. **Results** The expression rates of CDH1 DNA methylation in group B, group A, control group were 4.8% (2/41), 39.4% (15/38), 2.3% (1/42), respectively, with no statistically significant difference between group B and the control group ($\chi^2=0.37, P=0.542$), but statistically significant difference between group A and the control group ($\chi^2=11.24, P=0.001$), as well as between group A and group B ($\chi^2=13.79, P=0.000$). The levels of serum HE4 in group B, group A and control group were 52.7 pmol/L, 537.2 pmol/L, 50.3 pmol/L, respectively, with no statistically significant difference between group B and the control group ($t=0.63, P=0.532$), but statistically significant difference between group A and the control group ($t=54.27, P=0.000$), as well as between group A and group B ($t=55.33, P=0.000$). In group A, the DNA expression quantity of CDH1 gene methylation and levels of serum HE4 are correlated ($r=0.527, P<0.01$), which are respec-

通讯作者:孙 蓓。E-mail:liyaping0080@126.com

- [7] 范雪松,于蕾,潘立阳,等.大连市2008-2012年手足口病流行特征及主要病原学分析[J].中国卫生统计,2014,31(2): 206-208.
- [8] 钱素云.手足口病在中国大陆的流行现状及诊治进展[J].中国小兒急救医学,2011,18(1): 1-3.
- [9] 徐胜平,喻同琦,彭公德,等.湖北麻城市2008-2012年手足口病重复感染流行病学特征分析[J].公共卫生与预防医学,2013,24(4): 94-95.

(收稿日期:2014-09-13)