

幼儿园手足口病聚集性疫情调查及荧光定量 PCR 在肠道病毒型别鉴定中的应用

王 宁 蒋立立

桂林疾病预防控制中心 广西桂林 541001

〔摘要〕目的 探讨幼儿园手足口病聚集性疫情调查及荧光定量 PCR 在肠道病毒型别鉴定中的应用。方法 选我中心采样的手足口病患儿共 380 例, 采用 PCR 法进行肠道病毒检测。结果 EV71 的检出率最高, CA16 次之, 其他肠道病毒检出率最低 ($P < 0.05$), EV71 与 CA16 病原体引起的手足口病患儿在体温、手足部皮疹率、等方面无明显差异 ($P > 0.05$)。结论 幼儿园是发生聚集性手足口病疫情的关键场所, 加强防控与病原学监测是避免疫情暴发流行的关键。

〔关键词〕幼儿园手足口病; 聚集性疫情; 荧光定量 PCR

〔中图分类号〕R440 〔文献标识码〕A 〔文章编号〕2095-7165 (2020) 05-070-02

手足口病是一种常见的传染病, 在婴幼儿中发病率最高, 患儿的手足、口腔等部位会出现疱疹或皮疹, 并伴随着发热症状^[1]。大部分患儿症状轻微, 少部分患儿可能会伤及呼吸系统和神经系统造成损害, 继而导致心肌炎、无菌性脑炎等严重病症^[2]。因此, 采取有效措施预防该病的发生并在患病后及时治疗是关键, 本研究着重采用 PCR 对肠道病毒进行鉴定, 详细如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取于我中心采样的手足口病患儿共 380 例, 时间: 2015 年 10 月至 2017 年 10 月, 其中男 202 例, 女 178 例, 年龄 1~5 岁, 平均年龄 (3.1 ± 0.8) 岁, 患病至住院时间 1~7d, 平均时间 (4.2 ± 1.3) d。患儿家长均知情同意, 通过医院伦理委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 对入院患儿的病例进行分析, 做好详细记录。

1.2.2 进行肠道病毒的检测: 选用 Bio-Rad (美国伯乐公司) 生产的 CFX96 Touch 荧光定量 PCR 仪, 荧光 PCR 试剂盒、EV71、柯萨奇病毒 A 组 16 型 (CA16) 及提取病毒样本的 RNA 以及进行逆转录 RNA 扩增的试剂盒均由北京金赛制药股份有限公司提供。取已裂解的病毒冲洗液进行离心操作, 离心速度保持在 10000r/min, 在裂解过程中, 将 0.2ml 的氯仿加入到经 TRIzol 试剂裂解的每 1ml 样品中, 选用 RNA 冲洗液在 4℃ 冰上进行洗涤操作, 以 10000r/min 的速度进行离心操作, 离心为 5min, 得到 RNA。

QIAamp 柱上吸入 630 μ l 混合液, 并将 QIAamp 柱套在收集管上, 以 8000r/min 速度离心, 时间 1min, 最后丢掉收集管。重复进行上述操作步骤, 更换新的收集管。在混合液中加入 500 μ l 的 AW1 缓冲液, 以 8000r/min 的速度进行离心, 时间为 1min, 将收集管和其中的液体丢弃, 改换新收集管, 450 μ l 的 AW2 缓冲液操作同 AW1 缓冲液相同。将 QIAamp 柱放于 1.5ml 离心管中, 在 QIAamp 柱中吸入 450 μ l 的 AVE 缓冲液, 在室温下放置 5min, 之后以 8000r/min 的速度再次离心 1min, 改换新的收集管加入 55 μ l 的洗脱液并 8000r/min 离心 1min, 便可得到核酸溶液。

1.3 实验结果判定标准

当 CA16、EV71 具有明显的扩增曲线且经 FAM 通道检测 ct 值 ≤ 35.86 时, 为阳性, 若 ct 值大于 38.46 为阴性^[3]; 当 FAM 检测结果位于区间内, 则要再次进行复检, 若仍位于区间内, 则判定为阴性。

1.4 统计学方法

SPSS18.0 软件分析, 计数资料用 χ^2 检验, 计量资料用 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 实时荧光定量 PCR 技术测定的 EV71、CA16 以及其他肠道病毒结果对比

PCR 结果显示, EV71 的检出率最高, CA16 次之, 其他肠道病毒检出率最低, 三者比较有明显差异 ($P < 0.05$), 详情请见下表 1。

表 1: 实时荧光定量 PCR 技术测定的 EV71、CA16 以及其他肠道病毒结果对比 (例, %)

范围	样本数	检出数	CA16 病毒	EV71 病毒	其他肠道病毒
本中心	285	180 (52.6)	40 (22.2)	92 (51.1)	48 (26.7)
幼儿园	260	162 (62.3)	38 (23.4)	80 (49.4)	44 (27.2)
χ^2	/	7.524	3.986	6.355	5.483
P	/	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

2.2 EV71 与 CA16 病毒引起的手足口病患儿的临床特点比较
EV71 病毒与 CA16 病毒引起的手足口病患儿的在体温、手足部

皮疹率、WBC、住院时间、AST 等方面无明显差异 ($P > 0.05$), 具体见表 2。

表 2: EV71 与 CA16 病毒引起的手足口病患儿的临床特点比较 ($\bar{x} \pm s$)

观察指标	EV71 (+) (n=92)	CA16 (+) (n=40)	T	P
体温 [$(\bar{x} \pm s)$, °C]	39.1 $\pm$ 0.4	38.7 $\pm$ 0.5	14.643	< 0.05
手足部皮疹率 [例 (%)]				< 0.05
WBC ($\times 10^9/L$)	13.5 $\pm$ 2.8	12.6 $\pm$ 2.5	17.285	< 0.05
住院时间 [$(\bar{x} \pm s)$, d]	6.2 $\pm$ 2.3	5.9 $\pm$ 1.8	11.268	< 0.05
AST [$(\bar{x} \pm s)$, U/L]	35.6 $\pm$ 10.3	34.2 $\pm$ 9.8	18.562	< 0.05

3 讨论

本次研究对荧光定量 PCR 技术的应用进行了深入探讨, 了解

了其在手足口病早期诊断中具有重要的应用价值。本次 PCR 结果显示, EV71 的检出率最高, CA16 次之, 其他肠道病毒检出率最低,

三者比较有明显差异 ($P < 0.05$)。如果能够准确的将 CA16 和 EV17 进行鉴别,则对手足口病的早期诊断提供更为有效的依据,并且能够将病毒外壳和病毒含有的 DNA 进行利用,制造出更有效的抗病毒药物,造福患儿^[3]。研究结果显示,患儿的手足部皮疹率、体温、住院时间等方面均无显著性差异 ($P > 0.05$),分析其原因可能是由于 CA16 与 EV71 病毒感染患儿的呼吸循环系统功能的非特异性十分强,补体激活会造成腺体损伤,病毒辅助会导致毒血症,两者的作用功能十分相似,因而不能有效加以区分^[4-5]。同时,对肝肾功能进行检查也无法准确对 CA16 与 EV17 进行鉴别。通过本次研究,我们还可以发现,荧光定量 PCR 技术特异性较强,能有效提高对手足口病的诊断水平,然而对于该项技术的灵敏度方面并未进行过多的研究,并且由于对 CA16 病毒进行检测时,阳性率较低,因此需要进一步对其出现原因进行分析。

综上所述,手足口病可由多种病原体引起,且患儿的临床表

现并未表现出明显的特异性,我们应该加强对手足口病的防控工作,并利用荧光定量 PCR 技术对手足口病进行早期鉴别诊断。

[参考文献]

- [1] 李妮.西安市某幼儿园一起手足口病聚集性病例的分析[J].安徽医药,2015,19(10):1941-1943.
- [2] 王联君,高洪,汪静.27起手足口病聚集性疫情的流行病学分析[J].现代预防医学,2015,40(9):241-245.
- [3] 王桂侠,付士武,赵颖,等.荧光 PCR 检测手足口病病毒结果分析[J].中国卫生检验杂志,2016,4(24):3582-3583.
- [4] 杨燕,邵耀明,朱旭明.两种肠道病毒与四种临床检验指标在小儿手足口病的关系[J].中国实验诊断学,2017,21(3):441-444.
- [5] 徐江燕,颜云盈.不同肠道病毒感染所致重型手足口病患儿的临床特征及相关实验室指标分析[J].广西医科大学学报,2017,034(007):989-992.

(上接第 66 页)

- [3] 周浙江,吴君兰.CT 诊断卵巢肿瘤与子宫肌瘤的应用价值分析[J].中国医疗器械信息,2018,24(23):48-49.
- [4] 刘燕飞,周斌,夏学文.CT 检查在子宫肌瘤及卵巢肿瘤中的应用价值分析[J].临床医学工程,2019,26(4):457-458.
- [5] 苗杰,孟颖,李彪,等.卵巢肿瘤与子宫肌瘤的 CT 诊断及临床意义分析[J].贵州医药,2018,42(2):228-229.
- [6] 吴桂英.分析子宫肌瘤与卵巢肿瘤的 CT 诊断价值[J].中国医药指南,2017,15(31):51.

(上接第 67 页)

[参考文献]

- [1] 吕楠,彭珍,刘茹,等.心脏超声造影在心脏肥厚型心肌病诊断中的应用[J].医学影像学杂志,2019,29(1):50-53.
- [2] 谷长芹,刘爱荣.心电图、MRI 及心脏超声在诊断心脏肥厚型心肌病中的应用[J].中国 CT 和 MRI 杂志,2018,16(5):81-83.
- [3] 张婷婷,周微微,曹剑峰,等.超声心动图联合心电图

- [7] 柴海洋,马卫卫,刘涛.CT 诊断子宫肌瘤和卵巢肿瘤的临床分析[J].影像研究与医学应用,2017,1(8):111-112.
- [8] 吕庆飞.CT 诊断子宫肌瘤和卵巢肿瘤的临床效果分析[J].实用妇科内分泌电子杂志,2017,4(24):44-45.
- [9] 徐飞,纪艺璇.CT 在子宫肌瘤与卵巢肿瘤诊断中的应用[J].医疗装备,2017,30(15):32-33.
- [10] 何中虎,吴军平,邓启伟.子宫肌瘤与卵巢肿瘤的 CT 诊断价值[J].实用医技杂志,2017,24(3):254-256.

对心尖肥厚型心肌病诊断应用价值[J].临床军医杂志,2019,47(5):505-507.

- [4] 赵文莉,严继萍,王瑞丽.左心室造影对老年心尖肥厚型心肌病患者的诊断价值分析[J].中华老年医学杂志,2018,37(7):772-775.
- [5] 刘圆,孟浩宇,杜颖强,等.心尖肥厚型心肌病的临床特征和预后及左室造影的诊断价值[J].南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(2):225-229.

(上接第 68 页)

发生率,应注意以下事项:(1)通过电视、宣传栏、移动屏幕等媒体形式积极开展新生儿疾病筛查宣传教育工作,期间要不断了解育龄期人群的认知漏洞及对优生优育知识的认知水平、护理需求,总结及制作相应的宣传单及宣传内容,便于大家相互传阅,增强疾病认知水平。(2)实验室筛查技术人员要严格遵守工作规范。新生儿筛查的疾病一般是影响终生的疾病类型,若能早期筛查出则可及时采取措施进行干预,避免对其智力、体格发育产生影响而造成严重后果。因此技术人员在疾病筛查中要严格遵守工作规范,准备检测及报告结果,及时召回阳性患儿。接生的医院要在 10 天之内将血片送至检验单位,对于无法确诊的新生儿要及时检测 T4 或 FT4。(3)确诊后要及时通知新生儿父母。确诊后及时联系新生儿父母,让双方共同鉴定检验报告单,让其了解甲低疾病知识及治疗的重要意义。对于不能及时到访的家长,疾病筛查

室要及时打电话催促其按时,若新生儿家庭偏远、交通不便,可让家长学会给孩子采血或到附近医疗机构采血,定期向筛查中心寄血片。

[参考文献]

- [1] 张春丽,张宁.广西客家人新生儿苯丙酮尿症和先天性甲状腺功能低下症筛查分析.中国优生与遗传杂志.2016.24(06):75+71.
- [2] Luo CW, Zhao DH, Liang G, et al. [Association of related maternal factors with susceptibility to congenital hypothyroidism: a case-control study]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. 2020. 22(1): 37-41.
- [3] 夏奇彩.妊娠早期母亲亚临床甲状腺功能减退症对其后代脑发育影响的前瞻性研究[J].临床医药文献电子杂志,2016,12(55):33.

(上接第 69 页)

鼠工作,强化环境的清洁,确保生活起居卫生^[5]。

总之,粪便检验可提高腹泻患儿致病病原菌准确检出率,临床价值显著。

[参考文献]

- [1] 杨巧莲.腹泻患者粪便常规临床检验结果分析[J].心理医生,2017,23(22):67-68.
- [2] 王杰,卢莹莹,钱景荣,等.67例住院腹泻患者艰难梭菌

感染情况分析[J].国际检验医学杂志,2019,40(24):3028-3032.

- [3] 张顺,刘江鸿.腹泻患者粪便常规临床检验结果分析探讨[J].世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊),2019,19(31):160,165.
- [4] 熊瑞.腹泻患者粪便常规临床检验结果分析[J].大家健康(上旬版),2017,11(9):82-83.
- [5] 王红侠,张红梅.腹泻患者粪便常规临床检验结果分析[J].临床医学研究与实践,2018,3(16):111-112.