

浙江省宁波市 2008—2011 年手足口病流行病学及病原学特征分析

许国章 倪红霞 易波 贺天锋 董红军 方挺 顾文珍 谢蕾

【摘要】 目的 分析 2008—2011 年宁波市手足口病流行特征。方法 从疾病监测信息报告管理系统获取宁波市 2008—2011 年手足口病资料,运用描述流行病学方法进行分析。对粪便标本采用 RT-PCR 扩增基因序列测定,并利用生物学软件分析。结果 2008—2011 年宁波市共报告手足口病病例 37 524 例,其中重症 196 例,死亡 12 例,年均发病率为 145.26/10 万,病死率为 0.03%。<5 岁儿童占报告病例的 95.89%,散居儿童占 64.10%;各地区发病均处于较高水平,其中宁海、象山县为发病率最高的地区,发病高峰在 4—7 月,男性多于女性。实验室确诊 2394 例,肠道病毒(EV)71 型是主要的病毒株,进化树分析表明宁波市手足口病 EV71 分离株属于 C4a 进化分支,其流行和传播存在多个传播链。Cox A16 株同时包含 B1a 和 B1b 两条进化分支共同流行。健康儿童 EV71 中和抗体阳性率为 53.48%,GMT 为 11.23(8.33~14.98);Cox A16 中和抗体阳性率为 63.18%,GMT 为 12.61(6.70~16.52)。结论 宁波市手足口病疫情处于高流行态势,<5 岁散居儿童是主要发病人群,EV71 为优势株;EV71 毒株为 C4a 亚群,Cox A16 毒株为 B1 基因亚型,与中国大陆优势株流行趋势一致。

【关键词】 手足口病;流行特征;肠道病毒 71 型;柯萨奇病毒 A16 型

Epidemiological and etiological characteristics of hand-foot-mouth disease in Ningbo, Zhejiang province, 2008–2011 XU Guo-zhang, NI Hong-xia, YI Bo, HE Tian-feng, DONG Hong-jun, FANG Ting, GU Wen-zhen, XIE Lie. Ningbo Center for Disease Control and Prevention, Ningbo 315010, China
Corresponding author: XU Guo-zhang, Email: xugz@nbcdc.org.cn

This work was supported by grants from the Research Medical and Health Program of Zhejiang (No. 2009A190) and the Foundation of Ningbo Science and Technology Bureau (No. 2009C50008).

【Abstract】 Objective To analyze the epidemiological characteristics of hand foot and mouth disease(HFMD) in Ningbo. **Methods** A descriptive analysis was conducted through the surveillance data of HFMD in Ningbo, Zhejiang province, from 2008 to 2011. Genes on EV71 and Cox A16 were amplified with RT-PCT from the stool samples of HFMD patients. Sequences were analyzed by bioinformatics software. **Results** 37 524 cases of HFMD were reported from 2008 to 2011, including 196 severe cases and 12 deaths. The reported incidence was 145.26 per 100 000 and the case fatality was 0.03%. Cases in children aged 5 or younger accounted for 95.89%, and the scattered cases accounted for 64.10%. Xiangshan and Ninghai counties had the highest incidence rates in Ningbo. The peak of incidence was from April to July. The number of male patients was obviously higher than females. 2394 cases of HFMD were laboratory confirmed and EV71 with the predominant epidemic strain. Data from phylogenetic analysis revealed that EV71 isolated from HFMD patients in Ningbo belonged to C4a evolution branch of C4 sub-genotype, with several transmission chains. Cox A16 belonged to B1 evolution branch. 53.48% of the healthy children in Ningbo showed EV71 antibody positive. The geometric mean of the antibody titer (GMT) was 11.23 (8.33–14.98) in healthy children. Cox A16 antibody was detected at 63.18% of the healthy children in Ningbo. GMT in healthy children was 12.61 (6.70–16.52). **Conclusion** HFMD was highly endemic in Ningbo, with children under 5 years old were at high-risk. The major etiologic agent was EV71 which belonged to C4a in the C4 sub-genotypes. Cox A16 belonged to the B1 evolution branch, which were in line with the predominant virus circulating in the mainland of China.

【Key words】 Hand-foot-mouth disease; Epidemiological characteristics; Enterovirus 71; Coxsackievirus A16

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.04.012

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2009A190);宁波市科技计划项目(2009C50008)

作者单位:315010 浙江省宁波市疾病预防控制中心

通信作者:许国章, Email: xugz@nbcdc.org.cn

手足口病近年来在我国呈高发态势,因重症及死亡病例日益增多,已成为影响公众健康的重大公共卫生问题。宁波市是浙江省的手足口病高发地区之一^[1],为了解宁波市近年来手足口病的流行特征,探讨其防控策略和措施,现将宁波市 2008—2011 年手足口病的发病情况分析如下。

资料与方法

1. 资料来源:2008—2011 年宁波市手足口病发病资料均来源于中国疾病预防控制中心信息系统,人口数据来源于宁波市统计局。

2. 实验室检测:

(1)病毒测序:将手足口病患者粪便标本用含 10% 氯仿的 PBS 液处理,振荡、离心后,取上清液 200 μ l 直接提取 RNA;采用 QIAGEN Reansy Mini Kit 试剂盒(Cat No. 74104)提取核酸。病原分型均采用 RT-PCR 方法,肠道病毒(EV)通用、EV71、Cox A16 分型引物探针由浙江省肠道病毒网络实验室下发,宁波市疾病预防控制中心实验室及其网络实验室完成标本检测工作。VP1 序列测定选择不同年份的临床病例标本,参照文献报道的方法扩增 EV71 和 Cox A16 病毒的 VP1 区,扩增产物送上海 Invitrogen 生物公司测序。

(2)中和抗体检测:2011 年 4—5 月按设定的年龄组和样本数从宁波市健康社区人群中采集外周血标本,共采集到健康儿童和成人合格血清 258 份。同时采用统一调查表调查每名对象的一般情况(姓名、性别、年龄等)、手足口病史、脊髓灰质炎疫苗接种史。采用固定病毒稀释血清法测定血清中 EV71 和 Cox A16 中和抗体。中和用病毒按其滴度稀释至 100 CC ID₅₀/0.05 ml,攻毒毒株(EV71 V-090803, C4 亚型;Cox A16 V-20101221, A 型)由北京科兴生物制品有限公司提供。所有血清样品均经 56 $^{\circ}$ C 水浴灭活 30 min,用细胞维持液 1:8 进行 2 倍系列稀释至适宜稀释度。50 μ l 不同稀释度血清分别与等体积 100 CC ID₅₀/0.05 ml 病毒液混匀后,置 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱中孵育 2 h。每孔加入 RD 细胞悬液(细胞浓度 1×10^5 cell/ml) 100 μ l,置 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱中培养 7 d。同时设立阴性血清对照、阳性参考血清对照、样品血清对照及正常细胞对照。培养 7 d 后观察细胞病变,根据病变观察结果确定待测血清样品的中和抗体滴度。以不产生细胞病变的血清最高稀释度的倒数为终点效价,抗体效价 $\geq 1:8$ 判为阳性。

3. 统计学分析:疫情资料分析采用描述性流行病学方法。数据分析采用 Microsoft Office Excel、Mapinfo 及 SPSS 13.0 软件,亲缘进化树分析采用 Mega 4.0.2 软件。

结 果

1. 发病概况:2008—2011 年宁波市累计报告手足口病病例 37 524 例,年发病率为 145.26/10 万,发病人数呈增长趋势。其中重症病例报告 196 例,占报告总病例数的 0.52%,死亡病例报告 12 例,病死率为 0.03%,重症病例报告数显著增加(表 1)。

表 1 2008—2011 年宁波市手足口病疫情概况

年份	例数	性别比 (男:女)	全人群年 发病率 (/10 万)	重症 例数	死亡 例数	散居儿童例数 (构成比,%)
2008	4 517	1.60	-	3	0	2 896(64.11)
2009	6 007	1.79	80.21	5	1	4 129(68.74)
2010	13 824	1.59	182.67	47	5	8 832(63.89)
2011	13 176	1.51	172.91	141	6	8 135(61.74)
合计	37 524	1.59	145.26	196	12	24 055(64.10)

2. 流行特征:一年四季均有发病,但有明显的季节性,3 月开始上升,发病高峰出现在 4—7 月,呈单峰分布,7 月后疫情明显下降。全市 11 县(市)发病均处于较高水平,年均发病率 42.97/10 万至 257.64/10 万,除余姚、慈溪及奉化市外,其他地区年均发病率均 $>100/10$ 万,地区间发病水平差异明显,以宁海、象山县为代表的南部农村沿海地区发病最高,其次为以鄞州区为代表的中部城区,而慈溪、余姚、奉化市及镇海区发病率较低(图 1)。发病人群分布为男性多于女性(性别比为 1.59),病例以散居儿童和幼托儿童为主,分别占总病例数的 64.10% 和 33.51%。 <5 岁儿童病例占报告总病例的 95.89%,其中 1~3 岁年龄组发病最高(表 2)。

表 2 2008—2011 年宁波市手足口病年龄构成

年龄组 (岁)	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	合计
0~	628(13.90)	900(14.98)	1584(11.46)	1170(8.88)	4 282(11.41)
1~	1433(31.72)	1910(31.80)	4118(29.79)	3729(28.30)	11 190(29.82)
2~	997(22.07)	1516(25.24)	3239(23.43)	3242(24.61)	8 994(23.97)
3~	706(15.63)	961(16.00)	2452(17.74)	2608(19.79)	6 727(17.93)
4~	363(8.04)	401(6.68)	1207(8.73)	1274(8.67)	3 245(8.65)
5~	190(4.21)	142(2.36)	626(4.53)	584(4.43)	1 542(4.11)
6~	76(1.68)	72(1.20)	263(1.90)	259(1.97)	670(1.79)
7~	45(1.00)	24(0.40)	107(0.77)	101(0.77)	277(0.74)
8~	19(0.42)	21(0.35)	73(0.53)	56(0.43)	169(0.45)
9~	60(1.33)	60(1.00)	155(1.12)	153(1.16)	428(1.14)

注:括号外数据为例数,括号内数据为构成比(%)

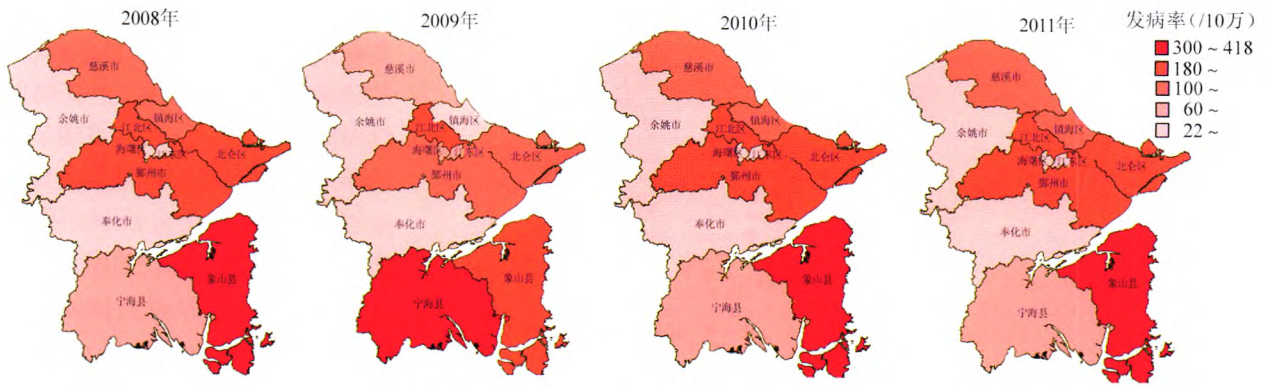


图1 2008—2011年宁波市手足口病地区分布

3. 重症及死亡病例分析:重症病例共报告 196 例。其中男性 123 例,女性 73 例;散居儿童 160 例, 幼托儿童 35 例,其他职业 1 例;1~3 岁年龄组重症 病例较多(表 3)。病原学检测显示 EV71 阳性 154 例(包括 11 例死亡病例),Cox A16 阳性 14 例,其他 EV 阳性 28 例(包括 1 例死亡病例)。死亡病例共报告 12 例,其中男性 8 例,女性 4 例;散居儿童 9 例,幼 托儿童 3 例;年龄均 <5 岁,其中 1~2 岁年龄组 4 例;病原学检测显示 11 例为 EV71 阳性,1 例为其他 EV 阳性。

表3 2008—2011年宁波市手足口病重症病例年龄构成

年龄组(岁)	2008年	2009年	2010年	2011年	合计
0~	1(25.00)	0(0.00)	5(10.64)	28(19.86)	34(17.26)
1~	0(0.00)	3(60.00)	23(48.94)	48(34.04)	74(37.56)
2~	0(0.00)	1(40.00)	9(19.15)	35(24.82)	46(23.35)
3~	2(50.00)	0(0.00)	5(10.64)	21(14.89)	28(14.21)
4~	1(25.00)	0(0.00)	4(8.51)	9(6.38)	14(7.11)
5~	0(0.00)	0(0.00)	1(2.13)	0(0.00)	1(1.53)

注:同表2

4. 病原学检测:2008—2011年宁波市实验室诊 断病例 2394 例,其中 EV71 阳性 1510 例(63.07%), Cox A16 阳性 586 例(24.48%),其他 EV 阳性 298 例 (12.45%)。不同年份 EV71、Cox A16 和其他 EV 阳 性构成比的差异有统计学意义($\chi^2=180.26, P< 0.05$);不同病例类型、不同年龄组及不同检测月份 EV 阳性率的差异也有统计学意义($P<0.05$),而不同性别间 EV 阳性率的差异无统计学意义($\chi^2=3.35, P>0.05$),见表 4。

5. 基因遗传进化分析:对 2009—2011 年重症及 死亡病例分离的 40 株 EV71(均为 EV71 核酸检测阳 性的重症病例)进行全基因组测序,并进行 VP1 区亲 缘进化分析,结果显示 40 株 EV71 与近年中国大陆 流行的 C4a 基因亚型比较接近。进化树分析 40 株 EV71 均与 C4a 基因亚型的代表株聚成一簇,但分别

位于进化树的不同分支,提示宁波市 EV71 流行和传 播存在多个传播链(图 2)。对 25 株 Cox A16(包含 Cox A16 核酸检测阳性的 14 份重症病例和 11 份轻 症病例)进行全基因组测序,并进行 VP1 区亲缘进化 分析显示,Cox A16 毒株的主要基因型为 B1 亚型, 同时包含 B1a 和 B1b 两条进化分支共同流行(图 3)。

表4 2008—2011年宁波市手足口病实验室诊断 病例病原学检测

变量	例数	EV71	Cox A16	其他 EV
年份				
2008	440	348(79.09)	48(10.91)	44(10.00)
2009	135	70(51.85)	43(31.85)	22(16.30)
2010	1008	590(58.53)	348(34.52)	70(6.95)
2011	811	502(61.90)	147(18.13)	162(19.97)
病例类型				
门诊	1603	964(60.14)	444(27.70)	195(12.16)
住院	594	391(65.82)	128(21.55)	75(12.63)
重症、死亡	197	155(78.68)	14(7.11)	28(14.21)
年龄组(岁)				
0~	216	127(58.80)	43(19.90)	46(21.30)
1~	712	453(63.62)	163(22.89)	96(13.48)
2~	556	344(61.87)	137(24.64)	75(13.49)
3~	490	304(62.04)	135(27.55)	51(10.41)
4~	227	153(67.40)	58(25.55)	16(7.05)
5~	193	129(66.84)	50(25.91)	14(7.25)
性别				
男	1483	956(64.64)	347(23.40)	180(12.14)
女	911	554(60.81)	239(26.23)	118(12.95)
检测月份				
3—5	1032	650(62.98)	251(24.32)	131(12.69)
6—8	1108	725(65.43)	255(23.01)	128(11.55)
9—11	199	108(54.27)	64(32.16)	27(13.57)
12—2	55	27(49.09)	16(29.09)	12(21.82)

注:同表2

6. 不同年龄组 EV71 和 Cox A16 中和抗体检测: 258 例 ≥1 岁健康人群 EV71 抗体总阳性率为 53.48%,平均 GMT 为 1:11.23;Cox A16 中和抗体总 阳性率为 63.18%,平均 GMT 为 1:12.61。1 岁组的 EV71 中和抗体阳性率最低,仅为 13.51%,随年龄组每

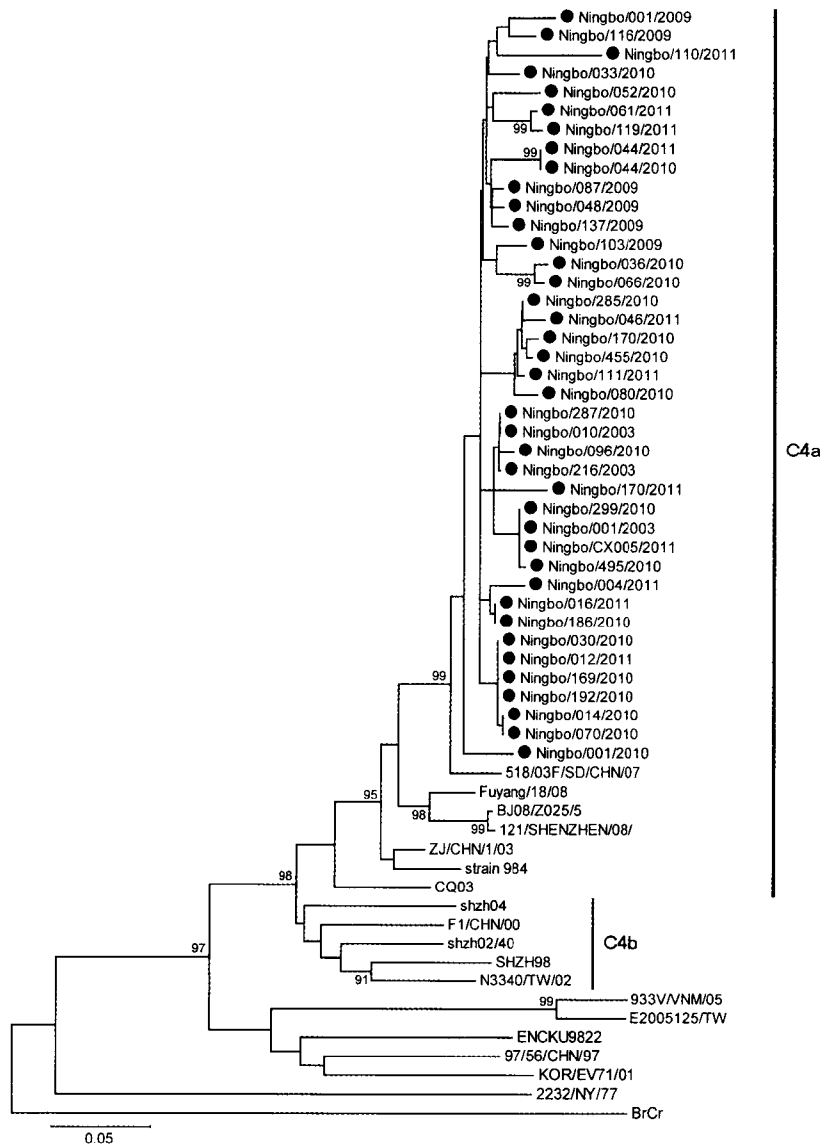


图 2 宁波市 EV71 分离株与其他 EV71 代表株 VP1 区亲缘进化分析

水平及浙江省平均发病水平^[1-3]。发病高峰出现在 4—7 月,与其他相关报道基本一致,但高峰的持续时间推迟约 1 个月^[4],疫情呈明显的单峰分布。散居儿童是主要的发病群体,特别是重症病例中散居儿童的比例更高,其原因首先为散居儿童年龄较小,本研究抗体检测也表明,该年龄段儿童抗体水平较低,易感染手足口病;其次散居儿童多由老年人看管,缺乏防病知识;此外与幼托儿童相比,散居儿童缺乏晨检、校医等有效的疾病发现途径,易造成疾病的传播。提示散居儿童是手足口病防控重点人群,而加强其监护人的健康宣教是重要手段^[5]。2008—2011 年宁波市手足口病疫情地区分布广、地区间发病差异较大,疫情迁移变化特点为起始于东南部沿海农村地区,逐步向中部城区扩散,因此农村儿童患手足口病的风险要高于城市;中部城区的鄞州区是流动人口的聚集地,而流动人口的生活习惯及卫生条件较差,成为引起手足口病高发的主要原因。<5 岁儿童是主要的发病群体,特别是 1~3 岁组儿童发病水平更高,与相关研究结果一致^[2]。本研究血清学抗体检测表明,儿童血清 EV71 及 Cox A16 中和抗体水平

及阳性率与年龄的关系较为密切,1~3 岁年龄段 EV71 及 Cox A16 中和抗体水平最低,而成人中抗体阳性率及抗体水平均较高,提示低年龄组人群因抗体水平较低而易感,大龄组个体对手足口病发病具有足够的抵抗力^[6]。

增加 1 岁,抗体阳性率逐年增加 10%~15%,至 5~10 岁, EV71 抗体阳性率达到 67.57%, >10 岁的 EV71 抗体维持在 80% 以上。Cox A16 中和抗体阳性率和 GMT 同样是 1 岁组最低,人群抗体阳性率为 43.24%, GMT 为 1:5.24, 当 4 岁时, 抗体阳性率已达到 70.27%, 此后均维持在较高水平(表 5)。

讨 论

2009 年宁波市手足口病防控进入常态化管理,病例监测系统日趋稳定,能真实的反映疫情变化规律及发病趋势。本文分析表明,宁波市手足口病疫情水平依然较高。

2008—2011 年全市平均报告发病率达到 145.26/10 万,高于全国发病

表 5 宁波市健康人群不同年龄组儿童 EV71 和 Cox A16 中和抗体分布

年龄(岁)	调查人数	EV71 中和抗体			Cox A16 中和抗体		
		阳性例数	阳性率 (%)	GMT(95%CI) (1:)	阳性例数	阳性率 (%)	GMT(95%CI) (1:)
1~	37	5	13.51	1.91(1.12~3.43)	16	43.24	5.24(2.55~10.72)
2~	36	8	22.22	2.43(1.30~4.54)	16	44.44	6.32(2.91~13.63)
3~	37	14	37.84	5.14(2.42~10.68)	22	59.46	10.82(5.11~22.74)
4~	37	23	62.16	20.23(8.71~46.77)	26	70.27	23.54(10.92~50.42)
5~	37	25	67.57	28.82(12.63~65.92)	25	67.57	18.27(8.53~38.74)
10~	37	32	86.49	44.07(24.71~78.18)	29	78.38	20.56(11.16~37.82)
20~	37	31	83.78	34.32(18.23~64.82)	29	78.38	16.42(9.32~29.14)
合计	258	138	53.48	11.23(8.33~14.98)	163	63.18	12.61(6.70~16.52)

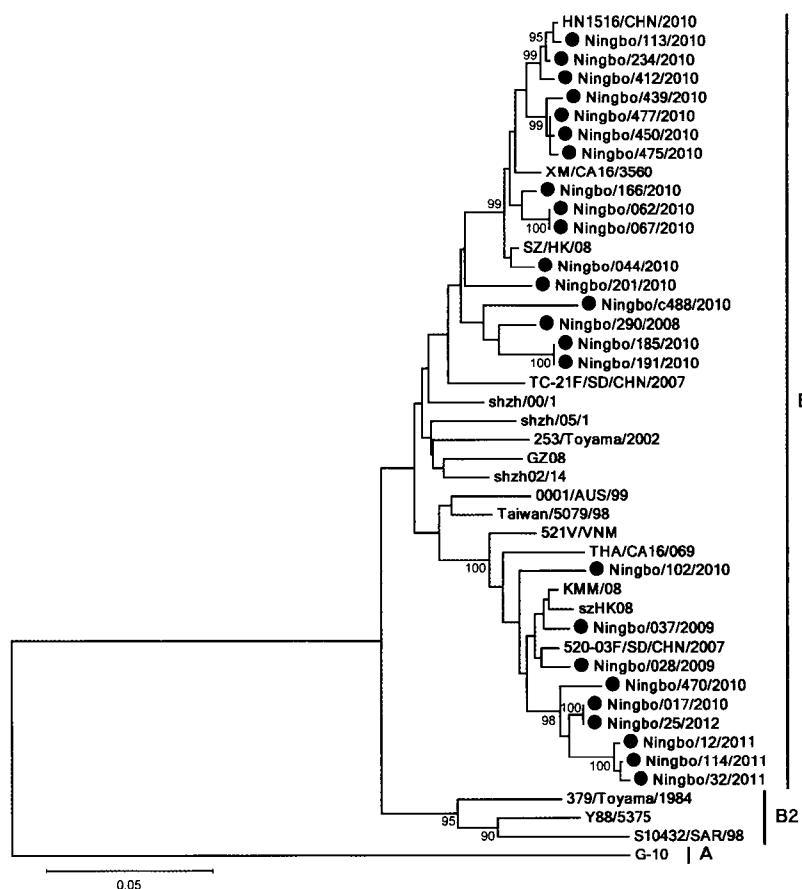


图3 宁波市 Cox A16 分离株与其他 Cox A16 代表株 VP1 区亲缘进化分析

本研究病原学分析表明, EV71 是 2008—2011 年宁波市手足口病的主要流行型别, 并导致重症病例的出现^[7-9], 增加疫情的严重程度。研究中发现 2009—2011 年 EV71 病毒株基因序列较为接近, 均聚集在 C4a 基因亚型一簇, 且存在多个传播链, 宁波分离株与 2008 年阜阳株和 2009 年上海株亲缘关系很近, 说明 C4a 基因亚型在我国有着广泛的分布和流行, 也符合 2004 年后大陆流行优势株为 C4a 亚群的结论^[10,11]。2000 年后, B1 亚型成为 Cox A16 毒株的主要基因型, B1 又分为 B1a 和 B1b 亚型。本研究进化树分析表明, 宁波市 Cox A16 毒株属于 B1 基因亚型, 同时包含 B1a 和 B1b 两条进化分支共同流行, 虽然目前我国对 Cox A16 分离株的进化研究资料有限, 但本研究结果与宁夏、河南地区的研究结果一致^[12,13]。

(感谢慈溪、余姚市和鄞州区疾病预防控制中心的支持和帮助)

参 考 文 献

[1] Miao ZP, Lv HK, Qin SW, et al. Epidemiology of hand, foot and month disease in Zhejiang, 2010–2011. *Dis Surveil*, 2012, 27 (7): 530–534. (in Chinese)
 缪梓萍, 吕华坤, 秦淑文, 等. 2010—2011 年浙江省手足口病流行特征分析. *疾病监测*, 2012, 27(7): 530–534.
 [2] Chang ZR, Zhang J, Sun JL, et al. Epidemiological features of hand, foot and month disease in China, 2008–2009. *Chin J Epidemiol*, 2011, 32(7): 676–680. (in Chinese)

常昭瑞, 张静, 孙军玲, 等. 中国 2008—2009 年手足口病报告病例流行病学特征分析. *中华流行病学杂志*, 2011, 32(7): 676–680.
 [3] Guo Q, Zhang CX, Wang XF, et al. Epidemiology of hand foot and mouth disease in mainland of China 2008–2009. *Dis Surveil*, 2011, 26(11): 852–856. (in Chinese)
 郭青, 张春曦, 王晓凤, 等. 2008–2009 年中国大陆手足口病流行特征分析. *疾病监测*, 2011, 26(11): 852–856.
 [4] Liu WD, Wu Y, Liang Q, et al. Epidemiological characteristics and temporal-spatial clustering analysis on hand-foot-mouth disease in Jiangsu province, 2009–2011. *Chin J Epidemiol*, 2012, 33(8): 813–817. (in Chinese)
 刘文东, 吴莹, 梁祁, 等. 江苏省 2009—2011 年手足口病流行特征及时空聚集性分析. *中华流行病学杂志*, 2012, 33(8): 813–817.
 [5] Qin SW, Lv HK, Miao ZP, et al. Risk factors of hand-foot-mouth disease (HFMD) in scattered children in Zhejiang province. *Chin Prev Med*, 2010, 11 (9): 871–874. (in Chinese)
 秦淑文, 吕华坤, 缪梓萍, 等. 浙江省社区散居儿童手足口病危险因素调查. *中国预防医学杂志*, 2010, 11(9): 871–874.
 [6] Zhou SL, Li LL, He YQ, et al. Serological epidemiology investigation of enterovirus type 71 infection in Shenzhen. *J Trop Med*, 2007, 7(1): 66–67. (in Chinese)
 周世力, 李琳琳, 何雅青, 等. 深圳市倡导病毒 71 型血清流行病学初步调查. *热带医学杂志*, 2007, 7(1): 66–67.
 [7] Yang TC, Xu GZ, Dong HJ, et al. A case-control study of risk factors for severe hand-foot-mouth disease among children in Ningbo, China, 2010–2011. *Eur J Pediatr*, 2012, 171(9): 1359–1364.

[8] Ho M, Chen ER, Hsu KH, et al. An epidemic of enterovirus 71 infection in Taiwan. *N Engl J Med*, 1999, 341(13): 929–935.
 [9] Solomon T, Lewthwaite P, Perera D, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of enterovirus 71. *Lancet Infect Dis*, 2010, 10(11): 778–790.
 [10] Guo HC, Lei L, Yan JL, et al. Sequence analysis of six enterovirus 71 strains with different virulences in humans. *Virus Res*, 2010, 151(1): 66–73.
 [11] Zhao SC, Jiang SY, Liu GX, et al. Human enterovirus 71 that firstly isolated in Qinghai province and their genetic features of VP1 region. *Chin J Exp Clin Virol*, 2010, 24 (6): 436–438. (in Chinese)
 赵生仓, 姜双应, 刘桂香, 等. 青海省分离到肠道病毒 71 型及其 VP1 区基因特征分析. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2010, 24 (6): 436–438.
 [12] Xu YL, Wei HY, Mu YJ, et al. VP1 gene diversity of coxsackievirus A16 strains isolated in Henan, 2010. *J Viral Dis*, 2011, 1(3): 200–203. (in Chinese)
 许玉玲, 卫海燕, 穆玉姣, 等. 河南省 2010 年柯萨奇病毒 A 组 16 型 VP1 区基因特征分析. *中国病毒病杂志*, 2011, 1(3): 200–203.
 [13] Wang DY, Chen H, Yan DM, et al. Genetic characterization of Cox A16 isolated in Ningxia Hui Municipality in 2008. *Chin J Epidemiol*, 2010, 31(8): 904–908. (in Chinese)
 王东艳, 陈慧, 严冬梅, 等. 宁夏地区 2008 年柯萨奇病毒 A 组 16 型 VP1 区基因特征分析. *中华流行病学杂志*, 2010, 31(8): 904–908.

(收稿日期: 2012-09-13)
 (本文编辑: 张林东)