

# 2014-2015 年武汉地区 4 232 例儿童呼吸道 人类博卡病毒感染流行病学特征

王璐, 丁淑贤, 倪文昌, 鲍星星, 边俊梅

武汉市第三医院光谷院区儿科, 湖北 武汉 430074

**摘要:** 目的 分析武汉地区 4 232 例急性呼吸道感染 (ARTI) 的儿童人类博卡病毒 (HBoV) 感染的临床及流行病学特征。

**方法** 收集 2014 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日期间 4 232 例 7 岁以下儿童经确诊为 ARTI 的鼻咽抽吸物 (NPA), 利用 RT-PCR 法对 HBoV 进行筛查, 同时对流感病毒 A 型 (Inf-A)、流感病毒 B 型 (Inf-B)、呼吸道合胞病毒 (RSV)、腺病毒 (ADV) 及副流感病毒 I 型 (PIV-I)、副流感病毒 II 型 (PIV-II)、副流感病毒 III 型 (PIV-III) 7 种呼吸道病毒进行检测以了解其混合感染情况, 并结合病例临床资料对其流行病学特征进行分析。 **结果** 4 232 例 NPA 标本中, HBoV 检出率为 1.23% (52/4 232)。1~<3 岁儿童 HBoV 阳性检出率最高, 为 2.81% (24/854)。HBoV 在春夏秋冬各季节的检出率分别为 3.05%、0.60%、0.52%、0.24%, 差异均有统计学意义 ( $\chi^2 = 36.784, P = 0.002$ ), 其中以春季检出率最高。HBoV 与其他病毒混合感染率为 69.23% (36/52)。以支气管肺炎患儿 HBoV 阳性检出率 (51.92%) 最高。 **结论** 2014-2015 年 HBoV 为武汉地区儿童发热呼吸道症候群的主要病原之一, 1~<3 岁儿童检出率最高, 与其他病毒有较高的混合感染率, 且春季流行。

**关键词:** 儿童; 急性呼吸道感染; 人类博卡病毒; 聚合酶链反应; 流行病学特征

**中图分类号:** R373.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2018)04-0429-04 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2018.04.012

## Epidemiological characteristics of human bocavirus infection in 4,232 children with respiratory tract infection in Wuhan region, 2014- 2015

WANG Rong, DING Shu-xian, NI Wen-chang, BAO Xing-xing, BIAN Jun-mei

Department of Pediatrics, Wuhan Optics Valley Hospital, Wuhan, Hubei 430074, China

Corresponding author: BIAN Jun-mei, E-mail: 1012449894@qq.com

**Abstract:** **Objective** To analyze the clinical and epidemiological features of human bocavirus (HBoV) infection among 4,232 children with acute respiratory tract infection (ARTI) in Wuhan region. **Methods** Nasopharyngeal aspirate (NPA) samples were collected from 4,232 children aged 7 years and below and confirmed with ARTI from January 1st, 2014 to December 31st, 2015. Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) assay was used to detect the HBoV, and the mixed infection was examined through simultaneously determining the other 7 respiratory viruses (including Inf-A, Inf-B, RSV, ADV, PIV-I, PIV-II and PIV-III). Epidemiological characteristics of HBoV infection were analyzed based on the screening results and clinical information of the corresponding cases. **Results** Among the 4,232 NPA specimens, the positive detection rate of HBoV was 1.23% (52/4,232), and the rate was found to be the highest in children aged 1-<3 years (2.81%, 24/854). The detection rates of HBoV infection in the spring (3.05%), summer (0.60%), fall (0.52%) and winter (0.24%) showed statistically significant differences ( $\chi^2 = 36.784, P = 0.002$ ), of which the rate in the spring was the highest. The co-infection rate of HBoV and other respiratory viruses was 69.23% (36/52). The positive detection rate of HBoV in children with bronchial pneumonia was the highest (51.92%). **Conclusions** HBoV was one of the main pathogens in children with ARTI in Wuhan region during 2014-2015, which was more prevalent in children aged 1-<3 years. The co-infection rate of HBoV and other respiratory viruses was high; moreover, HBoV infection commonly occurred in spring.

**Key words:** children; acute respiratory tract infection; human bocavirus; polymerase chain reaction; epidemiological characteristic

**基金项目:** 武汉市卫生计生委医疗卫生科研项目 (WG15D04)

**作者简介:** 王璐 (1970-), 女, 湖北武汉人, 本科学历, 副主任医师, 研究方向: 儿童呼吸道感染方面的疾病。

**通信作者:** 边俊梅, E-mail: 1012449894@qq.com。

急性呼吸道感染 (acute respiratory tract infection, ARTI) 是世界范围内婴幼儿发病的主要病因。以往的研究已证实人类呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV)、流感病毒 (influenza virus, Inf)、副流感病毒 (parainfluenza virus, PIV)、腺病毒 (adenovirus, ADV) 和肠病毒是 ARTI 的主要致病病原<sup>[1]</sup>。而人类博卡病毒 (human bocavirus, HBoV) 是 2005 年由瑞典研究者 Allander 等在儿童肺炎患儿呼吸道痰标本中提取的一种新的细小病毒<sup>[2]</sup>, 与牛细小病毒 (BPV) 和犬类微小病毒 (MCV) 同源性较高, 而这两类病毒属于细小病毒科, 细小病毒亚科, 属于线性单链 DNA 病毒。目前 HBoV1、HBoV2、HBoV3 三种亚型已被报道<sup>[3]</sup>, 且各型发病的临床表现及流行病学特征各异, 常与其他病毒混合感染<sup>[4]</sup>。由于地理环境、气候条件、社会经济状况、居民生活习惯和人类遗传背景的差异, 武汉地区儿童呼吸道 HBoV 感染的流行病学特征、HBoV 分型及其基因多态性与国外及我国其他省、市有否差异, 尚不明。本研究拟采用 RT-PCR 技术对武汉市 7 岁以下儿童 ARTI 患儿 NPA 标本中 HBoV 和 7 种常见呼吸道病毒 (RSV、Inf-A、Inf-B、PIV-I、PIV-II、PIV-III、ADV) 进行检测, 掌握本地儿童呼吸道 HBoV 感染的临床感染情况及流行病学特征。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 收集武汉市自 2014 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日武汉市第三医院光谷院区儿科就诊的 4 232 名 7 岁以下 ARTI 儿童, ARTI 的诊断标准参考《诸福棠实用儿科学》(第 7 版)<sup>[5]</sup>, 小儿年龄范围为 0.5~7 岁, 平均年龄 (3.57±1.83) 岁, 其中男 2 359 例, 女 1 873 例。研究对象纳入标准: (1) 年龄 6 月~7 岁; (2) 因急性呼吸道感染而就诊; (3) 咽拭子病毒 PCR 检测均阳性; (4) 临床一般资料收集完整, 并取得家属知情同意; (5) 排除小儿先天性心脏病或肺部严重疾病等。

1.2 试剂与仪器 QIAamp MiniElute Virus Spin Kit 购于德国 QIAGEN 公司, Taq DNA 聚合酶和 Mix 购于宝生物工程 (大连) 有限公司, 病毒核酸提取试剂盒 (Viral Nucleic Acid Extraction Kit II) 购于北京 Geneaid 公司, 引物与探针由上海 Invitrogen 公司合成, Real-time PCR 试剂盒 iQ Super MIX 购自美国 BIO-RAD 公司, DYY-8C 型电泳仪购于江苏合创生物有限公司。

### 1.3 实验方法

1.3.1 病毒 DNA 的提取 在呼吸道感染急性期采

集患儿 NPA 标本液 2 ml, 于 -70 °C 冰箱保存备用。应用 QIAamp MiniElute Virus Spin Kit 提取病毒 DNA (包括 HBoV 及其他 7 种常见呼吸道病毒, 包括 RSV、Inf-A、Inf-B、PIV-I、PIV-II、PIV-III、ADV), 提取的病毒 DNA -80 °C 冰箱保存备用。

1.3.2 设计 HBoV 的基因引物 参考 GenBank 中已发表的多株不同 HBoV 的全基因组序列, 设计扩增 HBoV 的基因引物, 基因引物序列: HBoV-F: 5'-TGA-CATTCAACTACCAACAACCTG-3'; HBoV-R: 5'-CA-GATCCTTTTCCTCTCCAATAC-3'; HBoV-Probe: AG-CACCACAAAACACCTCAGGGG-TAMRA。引物由上海生物工程技术服务有限公司合成。

1.3.3 引物验证和分组 在设计的上、下游特异引物的 5' 端各加上一段通用引物, 分别为 TAG-F 和 TAG-R, 组成嵌合引物。用已验证的阳性样本为模板、阴性样本为阴性对照, 用嵌合引物进行单引物单模板 PCR 反应。采用 RT-PCR 进行引物验证, 扩增 7 种常见病毒。

1.4 统计学方法 利用 SPSS 17.0 统计软件进行数据统计分析, 符合正态分布的计量资料采用均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示; 计数资料以例数和百分比 (%) 表示, 组间率的比较采用行×列表的  $\chi^2$  检验、趋势  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义, 多组间率的比较采用  $\chi^2$  分割法 (不同年龄段之间比较, 校正检验水准为 0.003)。

## 2 结果

2.1 呼吸道感染患儿鼻咽分泌物 HBoV-DNA 检测结果 2014 年 1 月 1 日-2015 年 12 月 31 日共采集 7 岁以下儿童急性呼吸道感染病例标本 4 232 份, HBoV 检测阳性 52 份, 阳性总检出率为 1.23% (52/4 232); 其中男性检出率为 1.44% (34/2 359), 女性检出率为 0.96% (18/1 873)。

2.2 HBoV 感染病例年龄分布 根据 7 版儿科学<sup>[6]</sup> 小儿年龄分期定义, 将入组患儿分成 4 组进行各年龄段比较, 不同年龄段组 HBoV 阳性检出率见表 1。经 R×C 例联表  $\chi^2$  检验发现不同年龄段组 HBoV 阳性检出率差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 63.34, P < 0.001$ )。经  $\chi^2$  分割法两两比较发现, HBoV 阳性检出率在 1~<3 岁组最高, 为 2.81%, 6~7 岁组检出率最低, 为 0.52%, 除了 3~<6 岁组和 6~7 岁组之间 HBoV 阳性检出率差异无统计学意义之外 ( $P > 0.007$ ), 其余各年龄段组间差异均有统计学意义 ( $P < 0.007$ ), 见表 1。

表 1 2014 年 1 月-2015 年 12 月武汉地区  
不同年龄组患儿 HBoV 阳性检出率情况

年龄(岁)	标本数(例)	HBoV 阳性数(例)	检出率(%)
0.5~	642	9	1.40
1~	854	24	2.81
3~	1 774	14	0.79
6~7	962	5	0.52
合计	4 232	52	0.12

2.3 HBoV 感染病例时间分布 从月份分布上看,除 2014 年 1 月、2 月、7 月、8 月、10 月、12 月及 2015 年 1 月、2 月、7 月、8 月、9 月 11 个月份 HBoV 未检出,其余月份均检出,其中以 2015 年 5 月份检出率 4.59% 最高,2015 年 6 月份检出率 1.01% 最低,见图 1;从季节分布上看,HBoV 在各季节的检出率比较差异有统计学意义( $\chi^2=36.784, P=0.002$ ),春季检出率最高,为 3.05%。由此可知,HBoV 感染流行季节为 4、5 月份的春季,见表 2。

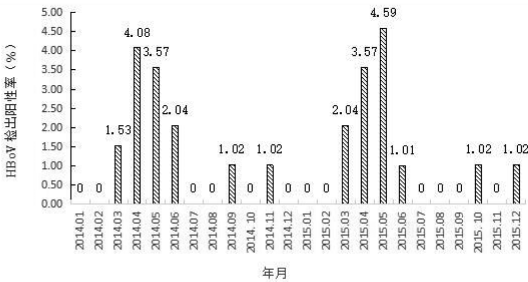


图 1 武汉地区 2014 年 1 月-2015 年 12 月  
不同月份 HBoV 阳性检出率情况

表 2 HBoV 阳性检出率的季节分布

季节	受检样本数	HBoV 阳性数	HBoV 阳性检出率(%)
春季	1 246	38	3.05
夏季	997	6	0.60
秋季	1 165	6	0.52
冬季	824	2	0.24
合计	4 232	52	1.23

注:春季指 3-5 月份,夏季指 6-8 月份,秋季指 9-11 月份,冬季指 12 月份-次年 2 月份。

2.4 HBoV 与其他常见呼吸道病毒的混合感染情况 52 例 HBoV 感染病例中有 36 例为 HBoV 与其他病毒混合感染,混合感染率为 69.23% (36/52),其中男 26 例,女 10 例。12 例为 HBoV 与 RSV 病毒混合阳性,8 例为 HBoV 与 Inf-B 病毒混合阳性,4 例为 HBoV 与 PIV-I 病毒混合阳性,4 例为 HBoV 与 PIV-III 病毒混合阳性,8 例为 HBoV 与 RSV 及 ADV 病毒混合阳性;余 16 例非混合性感染病例可能考虑为 HBoV 单一

感染或 HBoV 与其他病原微生物的混合感染。  
2.5 不同呼吸道感染疾病中 HBoV 的检出情况 4 232 例 ARTI 病例中临床诊断主要包括支气管肺炎、支原体肺炎、毛细支气管炎、喘息性支气管炎、上呼吸道感染以及临床未确诊的其他呼吸道疾病,经 R×C 例联表  $\chi^2$  检验发现不同疾病组 HBoV 阳性检出率差异有统计学意义( $\chi^2=27.81, P<0.001$ ),见表 3。

表 3 HBoV 阳性检出率中不同呼吸道感染  
疾病分布情况 (n=52)

呼吸道感染疾病	HBoV 阳性数(例)	占 HBoV 总阳性的检出率(%)
支气管肺炎	27	51.92
毛细支气管炎	9	17.31
支原体肺炎	6	11.54
喘息性支气管炎	5	9.62
上呼吸道感染	3	5.77
其他呼吸道疾病	2	3.84
$\chi^2$ 值		27.81
P 值		0.000 8

3 讨 论

2005 年瑞典研究者 Allander 等<sup>[1]</sup>首次对儿童肺炎患儿痰标本中检出 HBoV 后,目前国内外对其报道屡见不鲜。2006 年 Duan 等<sup>[7]</sup>首次在国内报道了在 ARTI 患儿的 NPA 提取 HBoV。此后,我国部分地区如北京、浙江、四川等相继检出 HBoV 的感染。2008 年我国正式确立 HBoV 为呼吸道感染病毒的必检项目之一。本研究显示,武汉地区 2014-2015 年 HBoV 阳性检出率 1.23%。而郑田利等<sup>[8]</sup>在成都地区报道 HBoV 阳性总检出率为 6.84%。近年来国内外关于 HBoV 检出率多数在 0%~10.7% 之间<sup>[9]</sup>。造成本研究 HBoV 阳性检出率结果不同于其他地区的原因可能有:(1)本研究主要收集武汉地区 ARTI 儿童,该地区冬春季气候较北京、广州及其他地区相对适宜,儿童所患呼吸道疾病几率较低。(2)婴幼儿免疫系统发育尚未达到成人水平,故易致 ARTI,而本研究中收集的 0.5~1 岁组儿童比率最低,仅占样本量的 15.17%,该年龄组含量明显偏少导致本研究 HBoV 阳性检出率结果可能偏低;(3)不同地区社会经济状况、居民生活习惯和人类遗传背景存在差异;(4)所使用的检测技术手段、仪器精确度等亦存在差异。

目前多项研究证实,HBoV 呈全球分布,冬春季流行,5 岁以下儿童(尤其足 6 个月~2 岁)HBoV 感染率较高<sup>[10]</sup>。而本研究表明 7 岁以下 ARTI 儿童的 HBoV 阳性检出病例主要集中在 1~3 岁之间,其检出率为

2.81%, 明显高于其他年龄段 ( $P < 0.05$ ), 吴占国等<sup>[11]</sup>对北京地区 6 岁以下儿童 ARTI 病例的 HBoV 阳性检出病例在 4 月龄与 3 岁患儿之间。可知与本研究结果相符, 分析原因可能为 3 岁以下小儿免疫力低下, 抵抗力差, 易受外界病原微生物侵袭感染<sup>[12]</sup>。另外本研究所入组的 1~3 岁小儿占样本含量的 20.18%, 含量较其他年龄组明显偏高, 不排除为导致本项结果中 1~3 岁小儿 HBoV 阳性检出率偏高的原因之一。本研究还发现 HBoV 感染流行季节为 4、5 月份的春季, 而有关报道欧美地区 HBoV 感染主要在冬春季节流行, 韩国报道多于晚春季节流行<sup>[13]</sup>。分析原因主要是春季为武汉市等多数地区呼吸道疾病的流行季节。但国内一项研究表明重庆地区 HBoV 感染流行季节为夏季<sup>[14]</sup>, 另外曹长青等<sup>[15]</sup>表明兰州地区 HBoV 感染 5~8 月及 11~12 月有流行高峰, 可知 HBoV 感染流行季节仍存在差异, 故需连续收集数年小儿 ARTI 病例用于观察季节气候变化对 HBoV 感染流行特征。

本研究 52 例 HBoV 感染病例中有 36 例为 HBoV 与其他病毒混合感染, 混合感染率为 69.23%。其中 12 例为 HBoV 与 RSV 病毒混合阳性, 8 例为 HBoV 与 Inf-B 病毒混合阳性, 4 例为 HBoV 与 PIV-I 病毒混合阳性, 4 例为 HBoV 与 PIV-III 病毒混合阳性, 8 例为 HBoV 与 RSV 及 ADV 病毒混合阳性。可知 HBoV 的混合感染率较高, 故在致病机制中遭受质疑。Maggi 等<sup>[16]</sup>亦表明, HBoV 的致病严重程度是与其他病毒叠加所致。另外本研究中 16 例为其他病原微生物与 HBoV 的混合感染, 可能由于本试验中仪器设备的不够精确或人为因素而导致未检出或漏检等。

本研究结果显示, 支气管肺炎中 HBoV 阳性占总阳性率的 51.92%, 在其他呼吸道感染中所占比率最高, 故不排除 HBoV 感染可能是作为诱发支气管肺炎的病毒之一。王维等<sup>[17]</sup>通过对天津地区 1 259 例 ARTI 患儿的检测情况和基因遗传进化特征的研究中发现支气管肺炎中 HBoV 检出率明显较其他呼吸道疾病高, 与本研究结果相符。但杨晶艳等<sup>[18]</sup>对四川地区呼吸道感染的儿童研究发现毛细支气管炎中 HBoV 的检出率为 17.24%, 而支气管肺炎中仅为 8.71%。故 HBoV 作为诱发肺炎较其他呼吸道疾病几率较高这一结论尚待进一步研究商榷。

综上所述, 本研究报道在武汉地区 4 232 例 ARTI 患儿中可检测到 HBoV, 另外结合患儿的临床资料进行统计分析及归纳, 首次获得在本地区呼吸道 HBoV 感染儿童的临床及流行病学特征, 这对武汉市儿童 ARTI 病原谱做了重要补充, 但今后在研究中应增加患

儿详细临床信息、实验室检查指标、患儿预后情况等方面更深一步研究, 以期更客观地评价 HBoV 的病原学作用。

#### 参考文献

- [1] 李梨平, 仇君, 舒孝文, 等. 2013 年湖南省儿童医院住院患儿急性下呼吸道感染病原体分析 [J]. 实用预防医学, 2016, 23 (10): 1264-1268.
- [2] Allander T, Tammi MT, Eriksson M, et al. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102 (36): 12891-12896.
- [3] Santos N, Peret TCT, Humphrey CD, et al. Human bocavirus species 2 and 3 in Brazil [J]. J Clin Virol, 2010, 48 (2): 127-130.
- [4] 余光清, 荏静, 雷蕾, 等. 2011-2013 年深圳市某医院急性上呼吸道感染门诊患者中腺病毒的检测分析 [J]. 实用预防医学, 2015, 22 (2): 236-238.
- [5] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学 [M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 635.
- [6] 沈晓明, 王卫平. 儿科学 [M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 3-4.
- [7] Qu XW, Qi ZY, Duan ZJ, et al. Human bocavirus infection among the hospitalized children with acute respiratory tract disease in China [J]. Chin J Virology, 2006, 22 (2): 79-82.
- [8] 郑田利, 董泽丰, 周玲旭, 等. 成都地区 2009-2013 年儿童人博卡病毒感染分析 [J]. 中国公共卫生, 2016, 32 (1): 42-44.
- [9] 李忠, 刘炯, 张圣祥, 等. 济南地区儿童急性呼吸道感染病原谱分析 [J]. 中国公共卫生, 2014, 30 (2): 142-145.
- [10] 张云宏, 孙宇, 贾云霞, 等. 太原地区急性呼吸道人偏肺病毒和人博卡病毒感染患儿临床特征分析 [J]. 临床儿科杂志, 2016, 34 (2): 93-96.
- [11] 吴占国, 李爱华, 张铁钢, 等. 北京地区 6 岁以下儿童急性呼吸道感染病例人博卡病毒流行状况分析 [J]. 疾病监测, 2016, 31 (1): 24-28.
- [12] 李权恒, 高文杰, 李金英, 等. 5 150 例急性下呼吸道感染儿童呼吸道病毒检测结果分析 [J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18 (1): 51-54.
- [13] Weissbrich B, Neske F, Schubert J, et al. Frequent detection of bocavirus DNA in German children with respiratory tract infections [J]. BMC Infect Dis, 2006, 6: 109.
- [14] Zhou LL, Zheng SY, Xiao QY, et al. Single detection of human bocavirus 1 with a high viral load in severe respiratory tract infections in previously healthy children [J]. BMC Infect Dis, 2014, 14 (1): 424-432.
- [15] Cao CQ, Li YN, Jin Y, et al. Detection and clinical characteristics analysis of human bocavirus 1-3 in children for acute respiratory infection in Lanzhou area [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2011, 25 (1): 5-7.
- [16] Maggi F, Andreoli E, Pifferi M, et al. Human bocavirus in Italian patients with respiratory diseases [J]. J Clin Virol, 2007, 38 (4): 321-325.
- [17] 王维, 林书祥, 李胜英, 等. 住院呼吸道感染患儿博卡病毒检测分析 [J]. 中国当代儿科杂志, 2016, 18 (1): 39-43.
- [18] 杨晶艳, 胡鹏威, 陈蕊, 等. 四川地区儿童呼吸道感染人博卡病毒的流行特征与基因变异分析 [J]. 四川大学学报 (医学版), 2014, 45 (1): 57-61.

收稿日期: 2017-03-04