

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.03.015

论著 · 临床研究

## 人博卡病毒载量与儿童急性下呼吸道感染 临床特征相关性研究

丁小芳 张兵 钟礼立 谢乐云 肖霓光

(湖南省人民医院儿童医学中心, 湖南长沙 410005)

**[摘要]** **目的** 了解人类博卡病毒(HBoV)在儿童急性下呼吸道感染中的检出情况,并探讨HBoV载量与儿童急性下呼吸道感染临床特征的相关性。**方法** 收集2011年3月至2014年3月因急性下呼吸道感染住院患儿的鼻咽抽吸物(NPAs)1554份,采用实时荧光定量PCR检测12种RNA病毒和ADV、HBoV 2种DNA病毒,并同时检测HBoV阳性患儿的病毒载量。**结果** 1554份标本中1212份(77.99%)检出病毒,275份(17.70%)HBoV检出阳性。HBoV阳性病例中<3岁者占94.9%,男性多于女性。275例HBoV阳性病例中,单一感染45例(16.36%),混合感染230例(83.64%),两者病毒载量的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。有发热症状的HBoV阳性患儿病毒载量高于无发热者,有喘息症状的病毒载量高于无喘息者,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。轻、中、重度急性下呼吸道感染患儿之间的病毒载量差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** HBoV是儿童急性下呼吸道感染重要病原之一。病毒载量高的患儿,临床更易出现发热、喘息等症状,但疾病严重程度及混合感染与病毒载量之间无显著相关性。 [中国当代儿科杂志, 2017, 19(3): 327-330]

**[关键词]** 人博卡病毒;急性下呼吸道感染;病毒载量;儿童

### Relationship between viral load of human bocavirus and clinical characteristics in children with acute lower respiratory tract infection

DING Xiao-Fang, ZHANG Bing, ZHONG Li-Li, XIE Le-Yun, XIAO Ni-Guang. Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410005, China (Zhang B, Email: zhangbing1959@aliyun.com)

**Abstract: Objective** To investigate the prevalence of human bocavirus (HBoV) in children with acute lower respiratory tract infection and to explore the relationship between the viral load of HBoV and the clinical characteristics of acute lower respiratory tract infection in children. **Methods** A total of 1554 nasopharyngeal aspirates from children who were hospitalized due to acute lower respiratory tract infection between March 2011 and March 2014 were collected. Quantitative real-time PCR was used to detect 12 RNA and 2 DNA viruses, adenovirus (ADV) and HBoV, and to measure the viral load of HBoV in HBoV-positive children. A comprehensive analysis was performed with reference to clinical symptoms and indicators. **Results** In the 1554 specimens, 1212 (77.99%) were positive for viruses, and 275 (17.70%) were HBoV-positive. In HBoV-positive cases, 94.9% were aged <3 years, and there were more males than females. In the 275 HBoV-positive cases, 45 (16.36%) had single infection, and 230 (83.64%) had mixed infection. There was no significant difference in viral load between children with single infection and mixed infection ( $P>0.05$ ). The patients with fever had a significantly higher viral load than those without fever ( $P<0.05$ ). The children with wheezing had a significantly higher viral load than those without wheezing ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in viral load between children with mild, moderate, and severe acute lower respiratory tract infection ( $P>0.05$ ). **Conclusions** HBoV is one of the important pathogens of acute lower respiratory tract infection in children. Children with a higher viral load of HBoV are more likely to experience symptoms such as fever and wheezing. However, the severity of disease and mixed infection are not significantly related to viral load.

[Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(3): 327-330]

**Key words:** Human bocavirus; Acute lower respiratory tract infection; Viral load; Child

[收稿日期] 2016-09-12; [接受日期] 2016-12-06

[基金项目] 国家科技重大专项项目(2014ZX10004002-007-004)。

[作者简介] 丁小芳,女,硕士,副主任医师。

[通信作者] 张兵,男,主任医师。

急性下呼吸道感染 (acute low respiratory tract infection, ALRTI) 为儿童常见病、多发病,也是全球5岁以下儿童死亡的最常见原因<sup>[1]</sup>。人类博卡病毒 (human bocavirus, HBoV) 属于细小病毒科博卡病毒属,是瑞典学者 Allander 等<sup>[2]</sup> 2005年在呼吸道感染儿童中首先发现的。到目前为止,已经报道 HBoV 4个型别,命名为 HBoV 1~4。其中 HBoV1 主要存在于呼吸道标本中,引起呼吸道症状,其他3个亚型主要存在于粪便标本中<sup>[3-4]</sup>。因 HBoV1 常与其他呼吸道病毒混合感染<sup>[5-6]</sup>,其致病性一直存在争议。最近有研究表明, HBoV1 可能导致严重呼吸道感染<sup>[7-8]</sup>,病毒载量、混合感染或病毒血症均与呼吸道感染的严重程度相关<sup>[9-10]</sup>。但目前有关 HBoV 在儿童下呼吸道感染中所起的作用,及其病毒载量与临床特征的相关性国内外研究较少。因此,本研究收集湖南省人民医院儿童医学中心 ALRTI 住院患儿的鼻咽抽吸物标本 (nasopharyngeal suction specimens, NPAs), 选用 RT-FQ PCR 检测包括 HBoV 在内的14种病毒,结合疾病严重程度评估,进一步探讨 HBoV 在儿童下呼吸道感染中的作用,以及病毒载量与临床特征的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取2011年4月1日至2014年3月期间 ALRTI 住院患儿为研究对象,包括:肺炎,支气管炎以及毛细支气管炎等疾病,诊断标准参照文献<sup>[11]</sup>;并根据严重程度指数 (IOS) 评估疾病严重程度<sup>[12-13]</sup>,该方法以临床症状、血气分析以及住院时间、是否需要吸氧、是否需要机械通气等指标进行评分,严重性指数得分范围0~7。轻度: IOS 0~2; 中度: IOS 3~5; 重度: IOS 6~7。

### 1.2 标本采集以及临床资料获取

采集患儿入院24h内的NPAs,并加入与NPAs等量的病毒保护液,再予干冰保存转运至中国疾病预防控制中心病毒所-80℃冰箱内保存;标本采集前征得患儿父母的知情同意和医院伦理委员会批准。患儿的一般资料、临床表现、实验室检查和诊断结果均通过病历查阅获取。

### 1.3 实验方法

采用 Qiamp Minelute Virus Spin Kit 双提试剂盒提取 DNA 及 RNA。采用荧光定量 PCR 法检测14种相关病毒,包括 RSV、HRV、IFVA-B、PIV1-4、EV、hMPV、HKU1、NL63 等12种 RNA 病毒和 ADV、HBOV 2种 DNA 病毒。所用引物终浓度为 20 μmol/L,探针终浓度为 10 μmol/L。采用 Taqman Universal Master Mix II with UNG 试剂检测 DNA 病毒。HBoV PCR 引物见参考文献<sup>[14]</sup>,反应体系为 Taqman Universal Master Mix II with UNG 10 μL+RNA-free water 4.8 μL+引物各 0.4 μL+核酸 4 μL。每个循环的第二步结束时采集荧光,标准曲线相关系数 >0.99,扩增效率 90%~110%,计算出 Ct 值并给出定量结果,病毒载量在 1 × 100 copies/μL 以上视为阳性。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 18.0 软件进行数据处理。计量资料以中位数 (四分位数) [ $P_{50}$  ( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ )] 表示,采用 Mann-Whitney *U* 检验、Kruskal-Wallis *H* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

2011年4月1日至2014年3月31日共收集1554份NPAs标本,其中男性患儿991例,女563例,男女比例为1.76:1,年龄为19h至13岁,中位年龄12个月。1554份标本中1212份检出病毒,病毒检出率为77.99%,275(17.70%)份HBoV检出阳性;2011年、2012年、2013年的HBoV检出率分别为16.06%、19.65%、17.58%。HBoV阳性标本的病毒载量为1.02~1.30 × 10<sup>10</sup> copies/μL,其中位病毒载量为5.830 (0.005, 16.721) × 10<sup>6</sup> copies/μL。275例HBoV阳性的ALRTI疾病包括:急性支气管炎7例、肺炎223例、毛细支气管炎45例;其中男性患儿184例、女性91例,男女比例为2.02:1;年龄为10d至8岁,中位年龄11个月,<3岁者94.91%;单一感染45例、混合感染230例,其中混合呼吸道合胞病毒 (respiratory syncytial virus, RSV) 感染最常见,其次为混合人副流感病毒3型 (human parainfluenza virus-3, PIV3)。

## 2.2 临床症状对病毒载量的影响

咳嗽、发热及喘息为 HBoV 呼吸道感染的主要临床症状，其中发热的 189 例 (68.73%)，其 HBoV 病毒载量为  $6.732 (0.003, 25.720) \times 10^7$  copies/L；无发热 86 例 (31.27%)，其 HBoV 病毒载量为  $2.943 (0.002, 11.521) \times 10^5$  copies/ $\mu$ L，病毒载量的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。喘息 125 例 (45.45%)，其 HBoV 病毒载量为  $1.482 (0.007, 35.634) \times 10^8$  copies/ $\mu$ L；无喘息 150 例 (54.55%)，其 HBoV 病毒载量为  $3.760 (0.014, 19.432) \times 10^6$  copies/ $\mu$ L，病毒载量的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 临床症状对 HBoV 病毒载量的影响

[ $P_{50} (P_{25}, P_{75})$ , copies/ $\mu$ L]

临床症状	n	病毒载量	Z 值	P 值
咳嗽				
有	270	$6.442(0.034, 12.582) \times 10^6$	0.648	0.575
无	5	$8.501(0.023, 23.752) \times 10^4$		
发热				
有	189	$6.732(0.003, 25.720) \times 10^7$	5.357	0.025
无	86	$2.943(0.002, 11.521) \times 10^5$		
喘息				
有	125	$1.482(0.007, 35.634) \times 10^8$	11.575	0.002
无	150	$3.760(0.014, 19.432) \times 10^6$		
呼吸困难				
有	74	$8.351(0.052, 45.970) \times 10^6$	0.583	0.438
无	191	$3.507(0.003, 16.852) \times 10^6$		
呕吐				
有	46	$2.582(0.003, 22.671) \times 10^5$	-3.357	0.095
无	229	$6.980(0.022, 43.733) \times 10^6$		
腹泻				
有	52	$4.982(0.023, 19.040) \times 10^5$	-2.750	0.146
无	223	$5.833(0.003, 25.722) \times 10^6$		
卡他症状				
有	13	$5.031(0.006, 13.792) \times 10^4$	-1.658	0.258
无	262	$6.980(0.002, 37.832) \times 10^6$		

## 2.3 单纯或混合 HBoV 感染患儿的病毒载量比较

275 例 HBoV 阳性住院患儿中，混合其他病毒感染的 230 例 (83.6%)。单纯 HBoV 感染患儿的病毒载量为  $0.370 (0.041, 23.722) \times 10^7$  copies/ $\mu$ L，混合其他病毒感染者 HBoV 载量为  $0.582 (0.033, 48.502) \times 10^7$  copies/ $\mu$ L，两者差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

## 2.4 不同疾病严重程度患儿的 HBoV 载量比较

45 例 HBoV 单纯感染患儿，根据 IOS 疾病严重程度评估，分成轻度 (33 例)、中度 (7 例)、重度 (5 例) 3 组，其病毒载量分别为  $2.542 (0.006, 33.750) \times 10^6$  copies/ $\mu$ L， $0.671 (0.003, 24.732) \times 10^6$  copies/ $\mu$ L 和  $3.522 (0.008, 25.350) \times 10^7$  copies/ $\mu$ L，3 组间病毒载量的差异无统计学意义 ( $H=3.59, P > 0.05$ )。230 例 HBoV 混合感染患儿，亦分成轻度 (183 例)、中度 (30 例)、重度 (17 例) 3 组，其病毒载量分别为  $0.531 (0.003, 13.742) \times 10^6$  copies/ $\mu$ L， $3.832 (0.013, 29.501) \times 10^7$  copies/ $\mu$ L， $2.732 (0.004, 18.533) \times 10^7$  copies/ $\mu$ L，3 组间病毒载量的差异无统计学意义 ( $H=5.63, P > 0.05$ )。

## 3 讨论

急性下呼吸道感染是最常见的儿童感染性疾病之一，包括肺炎、支气管炎和毛细支气管炎等。病毒感染是其常见病原，不同年代、不同年龄、不同季节、不同地区存在不同的病毒感染种类。随着 HBoV 逐渐被人类认识，有研究认为 HBoV 也是导致儿童急性呼吸道感染的重要病原之一，甚至导致严重呼吸道感染发生<sup>[15]</sup>。本课题组前期研究证实 HBoV 在儿童急性下呼吸道感染的检出率为 11.4%<sup>[16]</sup>。本研究 HBoV 的检出率为 17.70%，较前上升，进一步证实 HBoV 已成为急性下呼吸道感染的重要病原体。Proenca-Modena 等<sup>[12]</sup>认为高滴度 HBoV 感染更容易引起呼吸道症状。本研究急性下呼吸道感染住院患儿的 HBoV 载量为  $5.830 (0.005, 16.721) \times 10^6$  copies/ $\mu$ L，参考相关文献<sup>[17]</sup>，属于高病毒载量，提示 HBoV 导致呼吸道感染需要一定的病毒载量。

尹芳等<sup>[18]</sup>对儿童急性呼吸道感染临床特征和病毒载量之间的关系进行了分析，发现高病毒载量患儿喘息发作的概率高于低病毒载量者。本研究有喘息症状患儿的 HBoV 病毒载量也高于无喘息患儿。说明 HBoV 载量高的患儿，出现喘息症状的概率更大。

Zhou 等<sup>[19]</sup>发现 HBoV 单纯感染与混合感染之间临床症状或疾病严重程度的差异无统计学意义，

但单纯 HBoV 感染具有更高的病毒载量。Jiang 等<sup>[10]</sup>则认为 HBoV 混合感染者病毒载量更高。而林创兴等<sup>[20]</sup>对儿科重症监护病房呼吸道博卡病毒感染患儿的临床特点进行研究,发现 HBoV 单纯感染和混合感染患儿的危重程度差异无统计学意义。朱利华等<sup>[21]</sup>则认为 HBoV 载量并不能反映临床感染的严重程度。本研究根据疾病严重程度指数 (IOS)<sup>[12-13]</sup>将下呼吸道感染患儿按严重程度分为轻度、中度、重度 3 组,表明无论是 HBoV 混合感染还是单纯感染,3 组间的病毒载量差异均无统计学意义。与 Jiang 等<sup>[10]</sup>、Zhou 等<sup>[19]</sup>报道不一致,提示病毒载量以及是否混合感染与疾病严重程度的关系尚不明确,需要在以后的研究中进一步证实。

综上所述, HBoV 是儿童下呼吸道感染病原之一,但常与其他病原混合感染,引起临床症状需要一定的病毒载量。病毒载量高的患儿出现发热、喘息等症状可能性更大,但疾病严重程度及混合感染与病毒载量之间无显著相关性。

#### [参 考 文 献]

- [1] Johnston SL. Overview of virus-induced airway disease[J]. Proc Am Thorac Soc, 2005, 2(2): 150-156.
- [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 U S A, 2005, 102(36): 12891-12896.
- [3] Arnold JC. Human bocavirus in children[J]. Pediatr Infect Dis J, 2010, 29(6): 557-558.
- [4] Jartti T, Hedman K, Jartti L, et al. Human bocavirus-the first 5 years [J]. Rev Med Virol, 2012, 22(1): 46-64.
- [5] Allander T, Jartti T, Gupta S, et al. Human bocavirus and acute wheezing in children[J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(7): 904-910.
- [6] Arden KE, McErlean P, Nissen MD, et al. Frequent detection of human rhinoviruses, paramyxoviruses, coronaviruses, and bocavirus during acute respiratory tract infections[J]. J Med Virol, 2006, 78(9): 1232-1240.
- [7] Uršič T, Krivec U, Kalan G, et al. Fatal human bocavirus infection in an 18-month-old child with chronic lung disease of prematurity[J]. Pediatr Infect Dis J, 2015, 34(1): 111-112.
- [8] Krakau M, Gerbershagen K, Frost U, et al. Case report: human bocavirus associated pneumonia as cause of acute injury, Cologne, Germany[J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(42): e1587.
- [9] Zhao B, Yu X, Wang C, et al. High human bocavirus viral load is associated with disease severity in children under five years of age[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62318.
- [10] Jiang W, Yin F, Zhou W, et al. Clinical significance of different virus load of human bocavirus in patients with lower respiratory tract infection[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20246.
- [11] 申昆仑, 江载芳. 呼吸系统疾病 [M]// 胡亚美, 江载芳, 诸福棠. 实用儿科学上册. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002, 1171-1214.
- [12] Proenca-Modena JL, Gagliardi TB, Escremde Paula F, et al. Detection of human bocavirus mRNA in respiratory secretions correlates with high viral load and concurrent diarrhea[J]. PLoS One, 2011, 6(6): e21083.
- [13] Walsh EE, McConochie KM, Long CE, et al. Severity of respiratory syncytial virus infection is related to virus strain[J]. J Infect Dis, 1997, 175: 814-820.
- [14] Kantola K, Sadeghi M, Antikainen J, et al. Real-time quantitative PCR detection of four human bocaviruses[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(11): 4044-4050.
- [15] Edner N, Castillo-Rodas P, Falk L, et al. Life-threatening respiratory tract disease with human bocavirus-1 infection in a 4-year-old child[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(2): 531-532.
- [16] 肖霓光, 张兵, 段招军, 等. 长沙地区急性下呼吸道感染住院儿童人博卡病毒感染的初步研究 [J]. 临床儿科杂志, 2011, 29(6): 510-513.
- [17] Kim JS, Lim CS, Kim YK, et al. Human bocavirus in patients with respiratory tract infection[J]. Korean J Lab Med, 2011, 31(3): 179-184.
- [18] 尹芳, 周卫芳, 王美娟, 等. 人类博卡病毒载量与儿童呼吸道感染临床特征的相关性 [J]. 中国传染病杂志, 2014, 32(6): 343-348.
- [19] Zhou L, Zheng S, Xiao Q, 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: 424.
- [20] 林创兴, 陆学东, 林广裕, 等. 儿科重症监护病房患儿博卡病毒感染的临床分析 [J]. 国际儿科学杂志, 2014, 41(4): 424-426.
- [21] 朱利华, 许会卿, 覃世裕, 等. 儿童急性呼吸道博卡病毒感染的病毒载量与临床特征相关性研究 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2011, 25(4): 271-273.

( 本文编辑: 俞燕 )