

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2017.07.007

论著·临床研究

天津地区 KI 和 WU 多瘤病毒在儿童急性 呼吸道感染中的分子流行病学研究

林书祥¹ 王维¹ 郭伟² 杨洪江³ 马百成¹ 方玉莲¹ 徐永胜²

(1. 天津市儿童医院 / 天津市儿科研究所, 天津 300134; 2. 天津市儿童医院呼吸科, 天津 300134;
3. 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

【摘要】目的 了解 KI 和 WU 多瘤病毒 (KIPyV 和 WUPyV) 与天津地区儿童急性呼吸道感染的关系。**方法** 采用 PCR 扩增方法对 2011 年 1 月至 2013 年 12 月收集的 3730 份来自天津地区的急性呼吸道感染患儿鼻咽分泌物标本进行 KIPyV 和 WUPyV 基因检测, 同时所有标本均用直接免疫荧光法检测 7 种常见呼吸道病毒。选取部分 KIPyV 和 WUPyV PCR 阳性产物进行测序, 利用测序序列与已知序列比对并绘制进化树。再从中选取两株 KIPyV VP1 基因克隆到 T 载体上, 进行序列测定和分析, 并将核苷酸序列提交 GenBank。**结果** 3730 份标本中, KIPyV 阳性检出 453 份 (12.14%), WUPyV 阳性检出 63 份 (1.69%)。KIPyV 平均感染率在 6~7 月明显偏高, WUPyV 平均感染率在 2~3 月达到一个小高峰。两种多瘤病毒感染的阳性患儿年龄主要集中在 3 岁以内。KIPyV 和 WUPyV 与其他 7 种呼吸道病毒存在混合感染, 混合感染率为 2.31% (86/3730); WUPyV 和 KIPyV 混合感染 9 份。选取的 35 份 KIPyV 阳性 PCR 产物序列与 GenBank 已公布的 KIPyV 序列的同源性在 94%~100% 之间; 选取的 12 份 WUPyV 阳性 PCR 产物序列与 GenBank 已公布的 WUPyV 序列的同源性在 95%~100% 之间。两株 KIPyV VP1 基因序列已被 GenBank 收录, 登录号为 KY465925 和 KY465926。**结论** 天津地区部分儿童的急性呼吸道感染可能与 WUPyV 和 KIPyV 感染相关。KIPyV 感染多发于夏季, WUPyV 感染多发于春季。KIPyV 和 WUPyV 与国内外流行株间差异较小, 基因组相对稳定。 [中国当代儿科杂志, 2017, 19 (7): 763-769]

【关键词】 KI 多瘤病毒; WU 多瘤病毒; 急性呼吸道感染; 基因同源性; 儿童

A molecular epidemiological study of KI polyomavirus and WU polyomavirus in children with acute respiratory infection in Tianjin, China

LIN Shu-Xiang, WANG Wei, GUO Wei, YANG Hong-Jiang, MA Bai-Cheng, FANG Yu-Lian, XU Yong-Sheng. Pediatric Research Institute, Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300134, China (Email: ljund@sina.com)

Abstract: Objective To investigate the relationship of KI polyomavirus (KIPyV) and WU polyomavirus (WUPyV) with acute respiratory infection in children in Tianjin, China. **Methods** A total of 3730 nasopharyngeal secretions were collected from hospitalized children with acute respiratory infection in Tianjin Children's Hospital from January 2011 to December 2013. Viral nucleic acid was extracted, and virus infection (KIPyV and WUPyV) was determined by PCR. Some KIPyV-positive and WUPyV-positive PCR products were subjected to sequencing. Sequencing results were aligned with the known gene sequences of KIPyV and WUPyV to construct a phylogenetic tree. Amplified VP1 fragments of KIPyV were inserted into the cloning vector (PUCm-T) transformed into *E. coli* competent cells. Positive clones were identified by PCR and sequencing. The nucleotide sequences were submitted to GenBank. In addition, another seven common respiratory viruses in all samples were detected by direct immunofluorescence assay. **Results** In the 3730 specimens, the KIPyV-positive rate was 12.14% (453/3730) and the WUPyV-positive rate was 1.69% (63/3730). The mean infection rate of KIPyV was significantly higher in June and July, while the mean infection rate of WUPyV peaked in February and March. Most of the KIPyV-positive or WUPyV-positive children were <3 years. The co-infections with KIPyV, WUPyV, and other respiratory viruses were observed in the children. The co-infection rate was 2.31% (86/3730) and there were nine cases of co-infections with WUPyV and KIPyV. Thirty-five

[收稿日期] 2017-02-17; [接受日期] 2017-04-27

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (31370205); 天津市卫生局科技基金 (2011KZ33)。

[作者简介] 林书祥, 男, 本科, 副主任技师。

KIPyV-positive and twelve WUPyV-positive PCR products were sequenced and the alignment analysis showed that they had high homology with the known sequences (94%-100% vs 95%-100%). The VP1 gene sequences obtained from two KIPyV strains in this study were recorded in GenBank with the accession numbers of KY465925 and KY465926.

Conclusions For some children with acute respiratory infection in Tianjin, China, the acute respiratory infection may be associated with KIPyV and WUPyV infections. KIPyV infection is common in summer, and WUPyV infection in spring. The epidemic strains in Tianjin have a high homology with those in other regions.

[Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(7): 763-769]

Key words: KI polyomavirus; WU polyomavirus; Acute respiratory infection; Gene homology; Child

在世界范围内,病毒感染是导致儿童呼吸道感染发病和死亡的重要原因之一^[1]。目前为止,即使使用最先进的诊断技术,仍然只有50%的呼吸道病原可以被确定^[2]。多瘤病毒属病毒含有双链DNA基因组,可以感染多种生物体,如禽类、啮齿动物和一些灵长类动物^[3]。2007年之前,只有两种多瘤病毒,即BKV^[4]和JCV^[5],被证实可以导致人类疾病。2007年,美国华盛顿大学医学院的Gaynor等^[3]在对2135名儿童下呼吸道感染患者进行治疗时,发现其中的43名儿童体内存在一种新病毒,命名为“WU多瘤病毒(WUPyV)”,是最近从小儿下呼吸道感染分泌物中分离到的一种新的人多瘤病毒。同年,瑞典斯德哥尔摩卡罗琳斯卡学院的科学家Allander等^[6]从637份小儿下呼吸道感染分泌物和192份粪便中鉴定出另一种新人多瘤病毒,命名为“KI多瘤病毒(KIPyV)”。尽管两种病毒紧密关联,但从氨基酸构成和系统进化分析显示,其本质是不同的^[2]。通过对人群血清学调查表明,至成年后,KIPyV及WUPyV抗体阳性率可达70%~80%,证明人群可广泛感染这两种病毒^[7]。研究显示,KIPyV及WUPyV与儿童急性呼吸道感染相关,且与其他多种呼吸道病毒及细菌存在较高的合并感染率^[7-9],同时有学者报道免疫缺陷患儿更容易感染KIPyV及WUPyV^[10]。虽然,KIPyV及WUPyV和BKV、JCV一样可以感染人类,但其致病机制及导致的临床症状尚不明确^[11]。

本研究收集天津地区3年共3730例急性呼吸道感染住院患儿鼻咽分泌物标本,进行KIPyV及WUPyV的分子生物学检测,分析病毒感染与季节、年龄、性别的关系、混合感染情况及外壳蛋白编码基因的进化特征,以对该地区KIPyV及WUPyV分子流行病学做初步研究,探讨KIPyV及WUPyV是否为天津地区儿童病毒病原谱的重要组成,并研究其与儿童急性呼吸道感染的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集2011年1月至2013年12月天津市儿童医院急性呼吸道感染住院患儿3730例,其中男2536例,女1194例。年龄9h至14岁。主要入院诊断为支气管炎、喘息性支气管炎、支气管肺炎、肺炎、喉炎,主要症状为咳嗽、喘息、发热、抽搐、腹泻。

1.2 标本采集

采用一次性吸痰管吸取患儿鼻咽分泌物1~2 mL,置于含6~8 mL磷酸盐缓冲液(PBS)的离心管中充分混合。样本悬液于2000 rpm离心10 min,收集细胞沉淀,取部分细胞做涂片,用于直接免疫荧光测定,剩余细胞立即于-80℃保存。采用直接免疫荧光测定法检测7种常见呼吸道病毒:流感病毒A、B型、副流感病毒1、2、3型、合胞病毒、腺病毒。试剂盒为D3 Ultra DFA Respiratory Virus Screening & ID Kit(美国Diagnostic Hybrids公司),操作按说明书进行。剩余标本立即冻于-80℃保存,用于KIPyV和WUPyV检测。

1.3 KIPyV及WUPyV PCR检测

标本室温解冻后,采用TIANGEN DNA/RNA共提取试剂盒(天根生化科技有限公司)提取病毒核酸。采用巢式引物POLVP1-39F(AAGGCCAAGAAGTCAAGTTC)/POLVP1-363R(ACACTCACTAACTTGATTTGG)、POLVP1-118F(GTACCACTGTCAGAAGAAAC)/POLVP1-324R(TTCTGCCAGGCTGTAACATAC)扩增KIPyV的VP1基因^[6]。反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性1 min,54℃退火1 min,72℃延伸2 min,35个循环;最后72℃继续延伸10 min。目的片段为207 bp。

初始检测WU病毒的PCR引物^[3]为AG0044

(TGTTACAAATAGCTGCAGGTCAA) 和 AG0045 (GCTGCATAATGGGGAGT ACC)。反应条件: 94℃变性 30 s, 56℃退火 30 s, 72℃延伸 60 s, 运行 40 个循环。目的片段为 250 bp。第 2 种确认引物为 AG0048 (TGTTTTTCAAGTATGTTGCATCC) 和 AG0049 (CACCCAAAAGACACTTAAAAGAA)。反应条件: 94℃变性 30 s, 53℃退火 40 s, 72℃延伸 60 s, 运行 50 个循环。目的片段为 244 bp。

PCR 扩增试剂采用 TIANGEN 2×Taq PCR Master Mix。反应体系为: 2×Master Mix 12.5 μL, 上游引物和下游引物各 0.5 μL (10 μmol/L), DNA 模板 2 μL (第 2 次 PCR 反应模板为第 1 次 PCR 产物), 余 ddH₂O 补足至 25 μL。PCR 产物用 2% 的琼脂糖凝胶 (内含 0.5 g/mL 的溴化乙锭) 电泳鉴定, 以 100 bp DNA 标准带作为核酸片段长度参照标准。选取部分阳性 PCR 产物送上海生工生物工程技术服务有限公司测序。

1.4 PCR 产物的纯化、克隆与鉴定

回收 PCR 产物 (琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒, 天根生化科技有限公司) 后, 与 PUCm-T 载体连接, 转化 *E. coli* DH5α 感受态细胞。涂板后挑取筛选阳性菌落, 提取质粒 (质粒小提试剂盒, 天根生化科技有限公司) 并进行 PCR 和测序鉴定。

1.5 序列分析

所测得的序列通过 BLAST 与 GenBank 中的 KIPyV 和 WUPyV 参考序列比对, 利用 MEGA5.0 软件通过邻接法 (neighbor-joining method, NJ 法) 绘制进化树, Bootstrap 值基于 1000 次重复。将克隆成功的基因进行序列测定和分析, 并将核苷酸

序列提交 GenBank。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计学软件对数据进行统计学分析。计数资料以百分率 (%) 表示, 不同月份检出率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KIPyV 筛查情况

3730 例住院患儿中共有 453 例 KIPyV PCR 结果为阳性, 总阳性率为 12.14%。阳性产物的凝胶成像均在 207 bp 处出现单一条带。其中, 男女患儿的阳性率分别为 12.30% (312/2536) 和 11.81% (141/1194), 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.19$, $P = 0.67$)。2011 年 KIPyV 阳性率为 6.67% (85/1274), 其中男女患儿的阳性率分别为 7.15% (60/839) 和 5.75% (25/435); 2012 年阳性率为 17.06% (222/1301), 其中男女患儿的阳性率分别为 17.23% (157/911) 和 16.67% (65/390); 2013 年阳性率为 12.64% (146/1155), 其中男女患儿的阳性率分别为 12.09% (95/786) 和 13.82% (51/369)。

2011 年 1 月至 2013 年 12 月, KIPyV 阳性检出率最高的月份为 2013 年 6 月 (33.33%, 32/96), 其次是 2012 年 4 月 (32.14%, 32/112) 和 2012 年 9 月 (30.61%, 30/98), 见图 1。根据图 1 中月份的平均感染率可以看出, 6~7 月阳性率明显偏高, 这说明 KIPyV 感染多发于夏季。不同月份 KIPyV 阳性率总体上差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 21.600$, $P < 0.01$)。

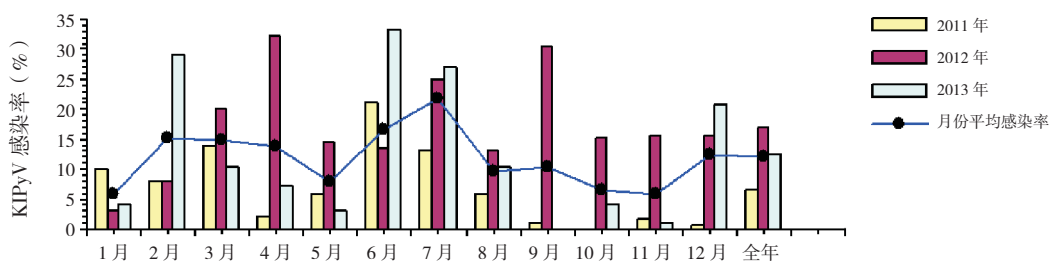


图1 2011~2013年各月份 KIPyV 阳性检出率

2011~2013 年 453 例 KIPyV 阳性患儿中位年龄为 6 个月, 2011~2013 年阳性患儿中位年龄分别为 6.5、6、7 个月。453 例 KIPyV 阳性患儿中, 年

龄最大 14 岁, 最小 40 h。其中, 96.03% (435/453) 的阳性患儿年龄小于 3 岁, 以 6 个月~年龄组的阳性检出率最高 (12.60%, 116/921)。不同年

龄组患儿 KIPyV 的检出率比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.64$, $P=0.96$)。见表 1。

表 1 不同年龄组患儿鼻咽分泌物 KIPyV 检出情况 [n (%)]

年龄组	2011 年		2012 年		2013 年		合计	
	例数	阳性检出	例数	阳性检出	例数	阳性检出	例数	阳性检出
<6 个月	563	35(6.22)	647	110(17.00)	540	64(11.85)	1750	209(11.94)
6 个月 ~	329	27(8.21)	335	57(17.01)	257	32(12.45)	921	116(12.60)
12 个月 ~	324	22(6.79)	198	53(26.77)	269	35(13.01)	891	110(12.34)
3 岁 ~	56	1(1.78)	21	2(9.52)	66	12(18.18)	143	15(10.49)
6~14 岁	2	0(0)	0	0(0)	23	3(13.04)	25	3(12.00)
合计	1274	85(6.67)	1301	222(17.06)	1155	146(12.64)	3730	453(12.14)

2.2 WUPyV 筛查情况

3730 例住院患儿中共有 63 例 WUPyV PCR 结果为阳性, 总阳性率为 1.69%。其中男女患儿的阳性率分别为 1.81% (46/2536) 和 1.42% (17/1194), 差异无统计学意义 ($\chi^2=0.74$, $P=0.39$)。2011 年 WUPyV 阳性率为 2.20% (28/1274), 其中男女患儿的阳性率分别为 2.26% (19/839) 和 2.07% (9/435); 2012 年阳性率为 2.61% (34/1301), 其中男女患儿的阳性率分别为 2.85% (26/911) 和 2.05% (8/390); 2013 年仅检出 1 例男性患儿,

阳性率为 0.09% (1/1155)。

2011 年 1 月至 2013 年 12 月, WUPyV 阳性检出率最高的月份为 2012 年 3 月 (12.00%, 12/100), 其次是 2012 年 2 月 (7.35%, 10/136) 和 2011 年 1 月 (6.00%, 6/100), 而 2013 年除 8 月外, 其余月份的阳性率均为 0, 见图 2。由图 2 可以看出不同年份 WUPyV 阳性率具有较大变化, 从平均感染率可以看出 2~3 月份阳性率明显偏高, 这说明 WUPyV 感染多发于春季。

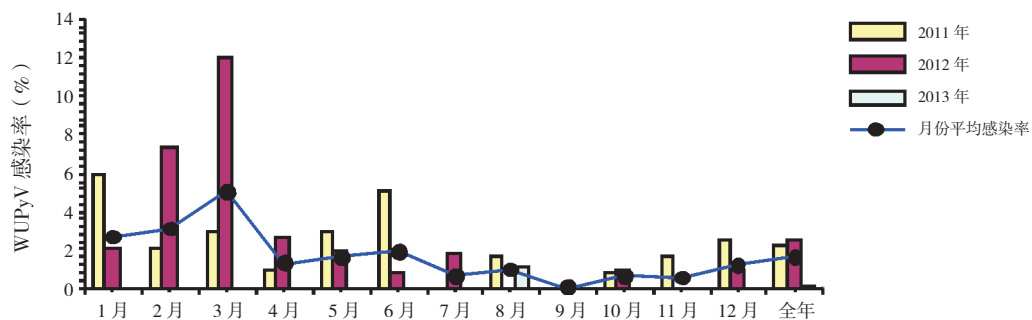


图 2 2011~2013 年各月份 WUPyV 阳性检出率

2011~2013 年 WUPyV 阳性患儿中位年龄为 7.5 个月 (范围 26 d 至 5 岁), 其中 2011~2012 年阳性患儿中位年龄分别为 7 个月、8 个月, 2013 年仅检出 1 例阳性, 患儿 1 岁。63 例 WUPyV 阳性患儿中, 62 例 (98.41%) 的阳性患儿年龄小于 3 岁, 以 6 个月 ~ 年龄组的阳性检出率最高 (2.28%, 21/921), 但不同年龄组患儿 WUPyV 的检出率比较差异无统计学意义 ($\chi^2=5.28$, $P=0.26$) (表 2)。

2.3 其他病毒筛查及混合感染情况

常见的 7 种呼吸道病毒在 3730 份标本中的阳

性率为 15.52% (579/3730)。以合胞病毒检出率最高; 其次是副流感病毒 3 和副流感病毒 1 (表 3)。

同时, 7 种常见呼吸道病毒和 KIPyV 与 WUPyV 检测结果表明, KIPyV 和 WUPyV 之间及与其他 7 种呼吸道病毒存在混合感染的情况, 混合感染率为 2.31% (86/3730), 其中 2011 年 1.33% (17/1274), 2012 年 3.23% (42/1301), 2013 年 2.34% (27/1155)。KIPyV 和 WUPyV 混合感染共 9 例, 其中 2011 年 3 例, 2012 年 6 例 (表 4)。

表 2 不同年龄组患儿鼻咽分泌物 WUPyV 检出情况 [n (%)]

年龄组	2011 年		2012 年		2013 年		合计	
	例数	阳性检出	例数	阳性检出	例数	阳性检出	例数	阳性检出
<6 个月	563	12(2.13)	647	11(1.70)	540	0(0)	1 750	23(1.31)
6 个月 ~	329	9(2.74)	335	12(3.58)	257	0(0)	921	21(2.28)
12 个月 ~	324	6(1.85)	198	11(5.56)	269	1(0.37)	891	18(2.02)
3 岁 ~	56	1(1.79)	21	0(0)	66	0(0)	143	1(0.70)
6~14 岁	2	0(0)	0	0(0)	23	0(0)	25	0(0)
合计	1 274	28(2.20)	1 301	34(2.61)	1 155	1(0.10)	3 730	63(1.69)

表 3 常见的 7 种呼吸道感染病毒感染情况 [n (%)]

病毒	2011 年 (n=1 274)	2012 年 (n=1 301)	2013 年 (n=1 155)	合计 (n=3 730)
流感病毒 A	1(0.08)	4(0.31)	3(0.26)	8(0.21)
流感病毒 B	5(0.39)	3(0.23)	0(0)	8(0.21)
副流感病毒 1	17(1.33)	3(0.23)	12(1.04)	32(0.86)
副流感病毒 2	2(0.16)	2(0.15)	0(0)	4(0.11)
副流感病毒 3	50(3.92)	61(4.69)	42(3.64)	153(4.10)
合胞病毒	124(9.73)	136(10.45)	105(9.09)	365(9.79)
腺病毒	1(0.08)	2(0.15)	6(0.52)	9(0.24)

表 4 KIPyV 和 WUPyV 间及与其他 7 种常见病毒间的混合感染情况 (例)

病毒	2011 年		2012 年		2013 年	
	KIPyV	WUPyV	KIPyV	WUPyV	KIPyV	WUPyV
副流感病毒 1	2	-	1	-	1	-
副流感病毒 2	-	-	-	-	-	-
副流感病毒 3	5	1	11	-	4	-
流感病毒 A	-	-	-	-	-	-
流感病毒 B	2	-	-	-	-	-
合胞病毒	2	2	19	4	21	-
腺病毒	-	-	1	-	1	-
KIPyV	-	3	-	6	-	-
WUPyV	3	-	6	-	-	-
合计	14	6	38	10	26	0

注:“-”表示不存在混合感染。[KIPyV] KI 多瘤病毒; [WUPyV] WU 多瘤病毒。

2.4 序列比对及进化分析

选取 35 份 KIPyV 阳性 PCR 产物 (分别编号为 TJK1-TJK35) 进行测序, 将所得序列提交 NCBI 与已知的 KIPyV 序列进行比对, 结果显示其同源率为 94%~100%, 证明所获得的序列确为 KIPyV 基因片段。选取 12 份 WUPyV 阳性 PCR 产物 (分别编号为 TJW1-TJW12) 进行测序, 将所得序列提

交 NCBI 与已知的 WUPyV 序列进行比对, 结果显示其同源率为 95%~100%, 也证明所获得的序列确为 WUPyV 基因片段。

测序结果与已知序列利用 MEGA5.0 软件通过 NJ 法绘制进化树, Bootstrap 值基于 1 000 次重复。结果显示, 其中 34 份 KIPyV 阳性标本与澳大利亚 Brisbane001 (GenBank 序列号: EF520287)、德国 Wuerzburg/07 (GenBank 序列号: FJ647575)、法国 Mpt1 (GenBank 序列号: AM849808)、泰国 CU-258 (GenBank 序列号: EU358767)、意大利 Rome (GenBank 序列号: EU807841)、浙江温岭 CLF-KI-F (GenBank 序列号: EU433556)、兰州 Lz386 (GenBank 序列号: EU678901)、北京 BCH-151A (GenBank 序列号: EU754875)、韩国 KR-M-3209 (GenBank 序列号: EF639289) 在同一基因进化簇主分支中, 另一阳性标本 TJK16 在同一侧枝上, 而与瑞典 Stockholm 60 (GenBank 序列号: EF127906)、德国 KIV-FR688217 (GenBank 序列号: JN874415) 稍远。

9 份 WUPyV 阳性标本与北京 WU BCH-GL5 (GenBank 序列号: EU684312)、韩国 KR-M-2468 (GenBank 序列号: EF655822)、美国 BO (GenBank 序列号: EF444555)、浙江 CLFF (GenBank 序列号: EU277015) 在同一基因进化簇主分支中。另外 3 份阳性标本与美国 WU Polymavirus (GenBank 序列号: NC009539)、法国 WU Mpt1 (GenBank 序列号: AM778536) 在同一基因进化簇主分支中。

3 讨论

自 2007 年 KIPyV 及 WUPyV 被发现以来, 许多国家都报道了呼吸道感染儿童中 KIPyV 及 WUPyV 的感染情况, 但检出率及季节分布各地报

道不一。已报道的 KIPyV 及 WUPyV 的阳性率分别为 0.2%~5.3%^[12-21] 及 1.1%~16.4%^[3,8,10,13-20,22-23]。本研究结果显示 KIPyV 的阳性率为 12.14%，明显高于其他国家和地区，但相关报道显示，天津地区常见呼吸道病毒的检出率低于其他地区^[24]，这也许是因为此类新型病毒的出现和传播干扰了其他传统病毒的流行规律，但需要进一步证实^[25]。本组病例 WUPyV 的阳性率为 1.69%，与意大利（1.4%）^[8]、广东（1.95%）^[7]、法国（2.4%）^[10]、北京（2.4%）^[26] 的研究结果相似，但高于德国的检出率（0.4%）^[27]，低于湖南（5.0%）^[28]、德国（4.9%）^[23]、韩国（7%）^[16] 及日本（13.9% 或 16.4%）^[9,20] 的检出率。

流行病学研究证实，KIPyV 及 WUPyV 感染呈全年发病，但关于感染的高峰季节的报道不一。法国研究报道 KIPyV 只在 1 月流行，未发现 WUPyV 感染有明显的季节性^[10]；德国研究报道 WUPyV 高峰为冬季^[23]；意大利报道阳性病例集中在 2004~2006 年冬季和 2007~2008 年春季^[8]；韩国 WUPyV 最初发现者的研究表明，WUPyV 在 5~6 月份阳性率最高，12 月份也是一个小高峰^[16]。日本 Okada 等^[9] 在为期两年的研究中显示，大多数感染发生在春季和夏初。中国广东 WUPyV 阳性率在 2009 年上半年明显高于下半年，且 2 月份最高^[7]。而本研究结果显示 KIPyV 夏季阳性率最高，WUPyV 春季阳性率最高。这提示 KIPyV 及 WUPyV 在不同地区的流行时间及高峰月份有不同，可能与研究时期和地理差异有关。

本研究中，KIPyV 及 WUPyV 感染的阳性患儿年龄均主要集中在 3 岁内。法国学者在 537 名儿童中检测出 3 名 KIPyV 阳性患儿，年龄分别为 10、18、30 个月；WUPyV 阳性患儿年龄在 2 个月至 2 岁间^[12]。日本报道 KIPyV 阳性患儿的年龄主要集中在 3 个月至 2 岁 11 个月之间；WUPyV 感染患儿年龄为 1 个月至 4 岁 11 个月^[20]。中国北京报道 415 份患儿标本中检出 2 例 KIPyV 阳性，患儿年龄分别为 3 个月及 3.5 岁；WUPyV 的易感儿童为 2 个月至 7 岁间，平均年龄 25.4 个月^[26]。

在已有的多篇文献报道中，多瘤病毒可与多种病毒混合感染。KIPyV 与其他病毒的混合感染率可高达 74%，WUPyV 与其他病毒的混合感染率为 68%~79%^[15-16,29]。日本 Teramoto 等^[20] 的研究中

多瘤病毒阳性标本存在与合胞病毒、偏肺病毒、鼻病毒、副流感病毒 1 和博卡病毒的混合感染，KIPyV 及 WUPyV 与其他病毒的混合感染率分别为 57.1% 和 47.4%。日本 Okada 等^[9] 的研究中所有 KIPyV 阳性标本均混合感染其他病毒，51% 的 WUPyV 混合感染其他病毒和细菌。意大利的研究中 8 例多瘤病毒阳性标本中有 4 例分别混合感染合胞病毒和腺病毒^[8]。菲律宾的研究中 KIPyV 阳性标本存在与合胞病毒、偏肺病毒和腺病毒的混合感染，感染率为 75%；WUPyV 阳性标本存在与合胞病毒、副流感病毒 1 和鼻病毒的混合感染，感染率为 64%^[30]。中国北京 11 例 WUPyV 阳性患儿中有 6 例混合感染鼻病毒、4 例混合感染合胞病毒、3 例混合感染副流感病毒、2 例混合感染肺炎支原体^[26]。中国汕头的研究结果显示，3 例 WUPyV 阳性标本全都存在与其他病毒（鼻病毒、博卡病毒）的混合感染^[31]，韩国学者报道 67.6% 的 WUPyV 阳性标本存在其他病毒的混合感染^[16]。本研究检出 KIPyV 与 WUPyV 存在与其他病毒的混合感染，但混合感染率低于以上报道，可能与本研究所检测的呼吸道病毒种类与之不同有关，也可能与各地区不同年份各呼吸道病毒的流行情况不同有关。

本研究利用系统发生分析表明，在核苷酸水平上，KIPyV 与 WUPyV 与国内外流行株间差异较小，本研究测序结果与其他国内参考株序列在同一基因进化簇主分枝中，基因组相对稳定。KIPyV 与 WUPyV 序列保守，与国外其他报道一致^[12,20,26]。

综上所述，本研究在来自天津地区的呼吸道感染患儿中检测到 KIPyV 与 WUPyV 的阳性率分别为 12.14% 和 1.69%，对天津地区儿童呼吸道感染病原谱做了重要补充。发现 KIPyV 和 WUPyV 感染具有一定季节性，有利于以后根据其季节流行特点进行重点监测。但由于 KIPyV 或 WUPyV 与其他病毒存在较高的混合感染率，很难确认患儿哪些临床表现是由 KIPyV 或 WUPyV 单独感染所导致。同时，由于 KIPyV 或 WUPyV 的既往文献多为 2004~2009 年的报道，而本研究的调查时段为近连续 3 年，由于新的呼吸道病毒不断出现，不同病毒的流行趋势可能发生变化，因此在病毒阳性率等方面本研究与既往文献报道有一定差异。本研究的不足之处在于所检测的呼吸道病毒种类有限，

因此混合感染率低于其他国家。今后还应该收集患儿更详细的临床资料,对患儿临床表现、诊断及预后进一步研究,以便更客观地评价 KIPyV 或 WUPyV 的病原学作用。

[参 考 文 献]

- [1] Mulholland K. Global burden of acute respiratory infections in children: implications for interventions[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2003, 36(6): 469-474.
- [2] Lowther SA, Shay DK, Holman RC, et al. Bronchiolitis-associated hospitalizations among American Indian and Alaska Native children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2000, 19(1): 11-17.
- [3] Gaynor AM, Nissen MD, Whiley DM, et al. Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections[J]. *PLoS Pathog*, 2007, 3(5): e64.
- [4] Gardner SD, Field AM, Coleman DV, et al. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation[J]. *Lancet*, 1971, 1 (7712): 1253-1257.
- [5] Padgett BL, Walker DL, Zurhein GM, et al. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy[J]. *Lancet*, 1971, 1(7712): 1257-1260.
- [6] Allander T, Andreasson K, Gupta S, et al. Identification of a third human polyomavirus[J]. *J Virol*, 2007, 81(8): 4130-4136.
- [7] Zhuang WL, Lu XD, Lin GY, et al. WU polyomavirus infection among children in South China[J]. *J Med Virol*, 2011, 83(8): 1440-1445.
- [8] Debiaggi M, Canducci F, Brerra R, et al. Molecular epidemiology of KI and WU polyomaviruses in infants with acute respiratory disease and in adult hematopoietic stem cell transplant recipients[J]. *J Med Virol*, 2010, 82(1): 153-156.
- [9] Okada M, Hamada H, Sato-Maru H, et al. WU polyomavirus detected in respiratory tract specimens from young children in Japan[J]. *Pediatr Int*, 2013, 55(4): 536-537.
- [10] Falcone V, Panning M, Strahm B, et al. Prolonged KI polyomavirus infection in immunodeficient child[J]. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18(4): 706-708.
- [11] Hormozdi DJ, Arens MQ, Le BM, et al. KI polyomavirus detected in respiratory tract specimens from patients in St. Louis, Missouri[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2010, 29(4): 329-333.
- [12] Foulongne V, Brieu N, Jeziorski E, et al. KI and WU polyomaviruses in children, France[J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(3): 523-525.
- [13] Abedi Kiasari B, Vally PJ, Corless CE, et al. Age-related pattern of KI and WU polyomavirus infection[J]. *J Clin Virol*, 2008, 43(1): 123-125.
- [14] van der Zaag MM, Rossen JW, van Ewijk BE, et al. Prevalence and pathogenicity of WU and KI polyomaviruses in children, the Netherlands[J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(11): 1787-1789.
- [15] Bialasiewicz S, Whiley DM, Lambert SB, et al. Presence of the newly discovered human polyomaviruses KI and WU in Australian patients with acute respiratory tract infection[J]. *J Clin Virol*, 2008, 41(2): 63-68.
- [16] Han TH, Chung JY, Koo JW, et al. WU polyomavirus in children with acute lower respiratory tract infections, South Korea[J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(11): 1766-1768.
- [17] Yuan XH, Jin Y, Xie ZP, et al. Prevalence of human KI and WU polyomaviruses in children with acute respiratory tract infection in China[J]. *J Clin Microbiol*, 2008, 46(10): 3522-3525.
- [18] Payungporn S, Chieochansin T, Thongmee C, et al. Prevalence and molecular characterization of WU/KI polyomaviruses isolated from pediatric patients with respiratory disease in Thailand[J]. *Virus Res*, 2008, 135(2): 230-236.
- [19] Furuse Y, Suzuki A, Kishi M, et al. Detection of novel respiratory viruses from influenza-like illness in the Philippines[J]. *J Med Virol*, 2010, 82(6): 1071-1074.
- [20] Teramoto S, Kaiho M, Takano Y, et al. Detection of KI polyomavirus and WU polyomavirus DNA by real-time polymerase chain reaction in nasopharyngeal swabs and in normal lung and lung adenocarcinoma tissues[J]. *Microbiol Immunol*, 2011, 55(7): 525-530.
- [21] 曾跃红, 田海清, 王新华, 等. 多重 PCR 技术检测儿童急性呼吸道感染 DNA 病毒方法的建立与应用 [J]. *实用预防医学*, 2014, 21(11): 1310-1312.
- [22] Abed Y, Wang D, Boivin G. WU polyomavirus in children, Canada[J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(12): 1939-1941.
- [23] Neske F, Blessing K, Ullrich F, et al. WU polyomavirus infection in children, Germany[J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(14): 680-681.
- [24] 王维, 林书祥, 李胜英, 等. 天津地区儿童急性呼吸道感染病毒病原检测分析 [J]. *天津医药*, 2012, 40(6): 625-627.
- [25] 侯晓巨, 林书祥, 王维, 等. 急性呼吸道感染患儿 KI 多瘤病毒的检出和鉴定 [J]. *中华检验医学杂志*, 2013, 36(10): 933-935.
- [26] Ren L, Gonzalez R, Xie Z, et al. WU and KI polyomavirus present in the respiratory tract of children, but not in immunocompetent adults[J]. *J Clin Virol*, 2008, 43(3): 330-333.
- [27] Mueller A, Simon A, Gillen J, et al. Polyomaviruses KI and WU in children with respiratory tract infection[J]. *Arch Virol*, 2009, 154(10): 1605-1608.
- [28] 肖霓光, 张兵, 段招军, 等. 急性下呼吸道感染住院患儿多瘤病毒检测及临床研究 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2010, 25(11): 865-867.
- [29] Le BM, Demertzis LM, Wu G, et al. Clinical and epidemiologic characterization of WU polyomavirus infection, St. Louis, Missouri[J]. *Emerg Infect Dis*, 2007, 13(12): 1936-1938.
- [30] Suzuki A, Lupisan S, Furuse Y, et al. Respiratory viruses from hospitalized children with severe pneumonia in the Philippines[J]. *BMC Infect Dis*, 2012, 12: 267.
- [31] 林广裕, 蔡晓莹, 蔡志伟. 新型呼吸道病毒在 PICU 的检出及其临床意义 [J]. *中国小儿急救医学*, 2014, 21(3): 129-133.

(本文编辑: 邓芳明)