

论著·临床研究

人鼻病毒 C 型在呼吸道感染住院 患儿中的流行病学研究

李莉 季伟 邵雪君 徐俊 蒋吴君 陈正荣 唐汝泽 严永东

(苏州大学附属儿童医院呼吸科, 江苏 苏州 215003)

〔摘要〕 **目的** 了解苏州地区人鼻病毒 C 型 (HRV-C) 在呼吸道感染 (RTIs) 住院患儿中的检出情况、流行特点及临床特征。**方法** 选取 2014 年 1~12 月 RTIs 住院患儿 1 702 例为研究对象, 采集所有患儿鼻咽深部吸分泌物 1 702 份。采用 RT-PCR 法检测 HRV mRNA; 实时荧光定量 PCR+ 高分辨熔链曲线分析对 HRV-C 进行检测。**结果** 1 702 例 RTIs 患儿中, 检出 HRV 感染 244 例 (14.34%), 其中 HRV-C 型 69 例 (69/244, 28.3%)。HRV-C 混合感染率为 61% (42/69)。HRV-C 在每个月份均有检出, 其中秋季阳性检出率显著高于春、夏、冬三季 ($P<0.05$); 2~5 岁患儿 HRV-C 检出率显著高于其他年龄组 ($P<0.05$)。HRV-C 感染致大叶性肺炎和哮喘急性发作的比例显著高于 HRV-A/B 感染 ($P<0.05$); HRV-C 感染所致中性粒细胞、CRP 升高比例显著高于 HRV-A/B 感染 ($P<0.05$), 但在性别分布和其他临床表现上差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** HRV-C 感染约占 HRV 感染的 1/3, 秋季高发, 混合感染率高, 以 2~5 岁患儿检出率最高, HRV-C 感染患儿的临床表现基本与 HRV-A/B 感染患儿相似。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(11): 1094-1099]

〔关键词〕 鼻病毒; 呼吸道感染; 流行病学; 儿童

An epidemiological study on human rhinovirus C in hospitalized children with respiratory tract infections

LI Li, JI Wei, SHAO Xue-Jun, XU Jun, JIANG Wu-Jun, CHEN Zheng-Rong, TANG Ru-Ze, YAN Yong-Dong. Department of Respiratory Medicine, Children's Hospital Affiliated to Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215003, China (Yan Y-D, Email: yyd3060@126.com)

Abstract: Objective To investigate the detection rates, epidemical characteristics, and clinical features of human rhinovirus C (HRV-C) in hospitalized children with respiratory tract infections (RTIs) in Suzhou, China. **Methods** A total of 1 702 hospitalized children with RTIs from January to December, 2014 were enrolled, and 1 702 nasopharyngeal aspirate samples were collected from all children. RT-PCR was used to measure HRV mRNA, and quantitative real-time PCR combined with high-resolution melting curve was used to measure HRV-C. **Results** Of all children, 244 (14.34%) were detected to have HRV infection, among whom 69 (69/244, 28.3%) had HRV-C infection. The rate of mixed infection of HRV-C with other viruses and bacteria was 61% (42/69). HRV-C was detected in each month of the year, and the detection rate of HRV-C in autumn was significantly higher than that in spring, summer, and winter ($P<0.05$). The children aged 2-5 years had a significantly higher detection rate of HRV-C than those in the other age groups ($P<0.05$). Compared with HRV-A/B infection, HRV-C infection led to significantly higher proportions of patients with lobar pneumonia and acute exacerbation of asthma ($P<0.05$), as well as patients with increased neutrophil count and CRP level ($P<0.05$). There were no significant differences in sex distribution or other clinical manifestations ($P>0.05$). **Conclusions** HRV-C infection accounts for about 1/3 of HRV infection, with a high incidence rate in autumn. The rate of mixed infection of HRV-C with other viruses and bacteria is high, and children aged 2-5 years have the highest detection rate of HRV-C. Children with HRV-C infection have similar clinical manifestations as those with HRV-A/B infection.

[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(11): 1094-1099]

Key words: Rhinovirus; Respiratory tract infection; Epidemiology; Child

[收稿日期] 2016-06-11; [接受日期] 2016-08-17

[作者简介] 李莉, 女, 硕士, 住院医师。

[通信作者] 严永东, 男, 主任医师。

人类鼻病毒(human rhinovirus, HRV)属于小RNA病毒科,分为3个亚型:即HRV-A、HRV-B和HRV-C。研究显示,HRV在成人主要引起普通感冒,而在婴幼儿和儿童,除上呼吸道感染外,还可引起支气管炎和支气管肺炎^[1-4]。新发现的HRV-C不同于其他型的鼻病毒,不仅在儿童中感染率更高,且儿童感染后住院率更高、病情更为严重^[5],致病性更强^[6],与喘息和哮喘的关系更密切。本文采用实时荧光定量PCR+高分辨熔链曲线分析检测HRV-C,该检测方法较常用的基因测序省时、省力,且更经济,目前国内尚未有相关报道,具有较好的临床应用价值;并首次就苏州地区儿童HRV-C呼吸道感染(respiratory tract infections, RTIs)的流行病学和临床特征进行分析,进一步完善本地区病原谱,提高广大医务人员的认识。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2014年1~12月于苏州大学附属儿童医院呼吸科住院的RTIs患儿1702例为研究对象,其中男1098例(64.51%),女604例(35.49%),男女之比为1.8:1;所有患儿年龄在1个月至15岁10个月之间。临床疾病诊断标准依据《诸福棠实用儿科学》第7版。其中<6个月618例,6个月~578例,2岁~352例,≥5岁154例。

收集所有患儿临床表现、实验室检测及胸片结果等临床资料。患儿在入院当天或次日采用一次性吸痰管送入鼻腔7~8 cm,利用负压吸引器抽取鼻咽分泌物2~4 mL,标本迅速送实验室处理用于下呼吸道病原检测。本研究经医院伦理委员会同意,采集过程均告知并征得患儿家属同意。

1.2 实时荧光定量PCR-TaqMan探针法检测HRV基因

参考GenBank序列数据库中已发表的多株不同HRV的全基因组序列,设计了扩增HRV的基因引物,由上海生物工程技术服务有限公司合成。HRV引物序列:F: 5'-TGGACAGGGTGTGAAGAGC-3'; R: 5'-CAAAGTAGTCGGTCCCATCC-3'; PROBE FAM-

TCCTCCGGCCCCCTGAATG-TAMRA。采用天根离心柱膜抽提法提取鼻咽分泌物中的RNA,操作步骤按照说明书上进行。用6-随机引物逆转录合成cDNA。PCR反应体系(25 μL): cDNA 3 μL, RT缓冲液 2.5 μL, 25 mM MgSO₄ 2 μL, dNTP 1 μL, Taq酶 0.25 μL, 引物F 0.5 μL, 引物Probe、R各0.25 μL,另加ddH₂O 14.7 μL。PCR反应条件: 95℃ 5 min; 95℃ 15 s, 60℃ 30 s, 40个循环。根据荧光曲线判定阳性结果。

1.3 HRV-C亚型的鉴定

通过NCBI GenBank数据库分析HRV已知衣壳结构蛋白VP4/VP2区域氨基酸序列,设计特异鉴别HRV-C的兼并引物,由上海生物工程技术服务有限公司合成,其序列为:上游引物F: GGNWWBTCYGATAGGCTHAA;下游引物R: TANBBDGGCCAYTCHCCRTANGC。以HRV-C51阳性株(疾控中心惠赠)为标准品,实时荧光定量PCR扩增HRV-C,反应条件为: 95℃ 15 min; 95℃ 20 s, 60℃ 20 s, 72℃ 20 s, 50个循环;于80℃时收集荧光。根据相应扩增曲线的Ct值及引物二聚体等确定最佳引物浓度。采用上述确定的最适引物浓度扩增HRV-C51,PCR结束后再行高分辨熔链曲线分析,条件为95℃ 1 min, 40℃ 1 min, 60℃ 1 s, 65℃ 1 s,然后逐步上升到95℃,每隔0.02 s收集1次荧光,最后于37℃冷却1 min。采用仪器自带的软件计算相应扩增产物的熔链温度,以确定HRV-C51的特异性熔链温度,排除引物二聚体等非特异性扩增产物的熔链温度。根据与HRV-C51相应的特征性熔链温度峰确定是否为HRV-C亚型。

1.4 7种常见呼吸道病毒的检测

直接免疫荧光法检测呼吸道7种常见病毒:呼吸道合胞病毒(RSV)、腺病毒(ADV)、流感病毒A、B型(Inf-A、Inf-B),副流感病毒1、2、3型(Pinf-1~3)。试剂盒购自美国Chemicon公司,根据说明书进行操作,按阳性标准判断结果。荧光显微镜为德国莱卡(020-518.500)。

1.5 人类偏肺病毒、博卡病毒及肺炎支原体检测

采用RT-PCR法检测人类偏肺病毒(hMPV),实时荧光定量PCR法检测博卡病毒(HBoV)DNA

及肺炎支原体 (MP) DNA。取 10 μ L RT-PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯观察有 213 bp 荧光片断为 hMPV 阳性。HBoV 阳性根据荧光曲线结果判定, 结果以 Ct 值显示, 反应结束电脑自动分析结果, 具体步骤按试剂盒 (德国 QIAGEN 公司) 操作说明。采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 定量检测血 MP 特异性 IgM 和 IgG, 试剂购自德国赛润维润公司。若 IgM>1.1 S/CO 定为 MP 急性感染; 部分患儿于入院 7~10 d 后再次采血复查, 若第 2 份血清 IgG 和 / 或 IgM 增高 4 倍亦定为 MP 急性感染。具体操作由苏州大学附属儿童医院检验科专业技师完成。

1.6 细菌培养

向鼻咽部分泌物中加入无菌生理盐水, 充分捣碎后接种在哥伦比亚培养基 (血琼脂平板、巧克力平板), 置 35 $^{\circ}$ C 培养箱 (5%CO₂ 环境) 中进行分离培养 18~24 h, 根据培养基上菌落特点、革兰染色、显微镜下观察以及生化反应等方法鉴定细菌, 人工计数菌落 $>1.0 \times 10^3$ /mL 为阳性。哥伦比亚琼脂为英国 Oxoid 公司产品。具体操作及结果判定按标本的细菌学检验程序进行。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计学分析。非正态分布计量资料以中位数 (四分位间距) [P_{50} (P_{25} , P_{75})] 表示, 多组比较采用 Wilcoxon 秩和检验; 计数资料以百分率 (%) 表示, 多组比较采用 χ^2 检验、校正 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HRV 及 HRV-C 检出情况

1702 例 RTIs 住院患儿共检出 HRV 感染 244 例, 阳性率 14.34%; HRV-C 感染 69 例, 占 HRV 感染患儿 28.3%。

2.2 混合感染的检测结果

69 例 HRV-C 感染患儿中, 27 例为单纯感染, 42 例为混合感染, 混合感染率 61%。其中混合病毒感染 6 例 (3 例 HBoV, 1 例 RSV, 1 例 Pinf-3, 1 例 HBoV+RSV); 混合细菌感染 32 例, 包括混

合 1 种细菌感染 23 例, 混合 2 种细菌感染 8 例, 混合 3 种细菌感染 1 例, 以混合肺炎链球菌最常见 (9 例); 混合肺炎支原体感染 26 例。

175 例 HRV-A/B 型 (非 HRV-C 型) 感染患儿中, 42 例为单纯感染, 其余 133 例均为混合感染。其中混合病毒感染 32 例 (13 例 RSV, 9 例 HBoV, 4 例 Pinf-3, 1 例 Pinf-1, 1 例 Inf-A, 2 例 HBoV+RSV, 1 例 HBoV+Inf-A, 1 例 HBoV+Pinf-3); 混合细菌感染 78 例, 以混合流感嗜血杆菌最常见 (33 例), 其次为肺炎链球菌 (26 例); 混合肺炎支原体感染 57 例。

2.3 性别分布

69 例 HRV-C 感染患儿中, 男 47 例, 女 22 例, 男女检出率比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.408$, $P=0.523$)。175 例 HRV-A/B 感染患儿中, 男 114 例, 女 61 例, 男女检出率比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.304$, $P=0.854$)。见表 1。

表 1 HRV-C 与 HRV-A/B 感染患儿性别分布 [例 (%)]

性别	例数	HRV-C 阳性	HRV-A/B 阳性
男	1098	47(4.28)	114(10.38)
女	604	22(3.64)	61(10.10)
χ^2 值		0.408	0.304
P 值		0.523	0.854

2.4 年龄分布

HRV-C 阳性患儿的年龄范围为 1 个月至 11 岁 3 个月, 中位年龄为 1 岁 8 个月; HRV-A/B 阳性患儿年龄范围亦为 1 个月至 11 岁 3 个月, 但中位年龄为 10 个月, 与 HRV-C 组比较差异有统计学意义 ($Z=2.409$, $P=0.016$)。

HRV-C 阳性检出情况: <6 个月组检出 21 例 (3.4%), 6 个月~组检出 19 例 (3.3%), 2 岁~组检出 24 例 (6.8%), ≥ 5 岁组检出 5 例 (3.2%)。其中 2 岁~组 HRV-C 检出率显著高于其他年龄组 ($P<0.05$), 其他年龄组 HRV-C 检出率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。HRV-A/B 阳性检出率在各年龄段组患儿间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 HRV-C 与 HRV-A/B 感染患儿年龄分布 [例(%)]

年龄组	例数	HRV-C 阳性	HRV-A/B 阳性
<6 个月	618	21(3.4)	68(11.0)
6 个月 ~	578	19(3.3)	57(9.9)
2 岁 ~	352	24(6.8) ^{a,b,c}	38(10.8)
≥ 5 岁	154	5(3.2)	12(7.8)
χ^2 值		8.730	1.595
P 值		0.033	0.661

注: a 示与 <6 个月组比较, $P<0.05$; b 示与 6 个月 ~ 组比较, $P<0.05$; c 示与 ≥ 5 岁组比较, $P<0.05$ 。

2.5 季节流行分布

HRV-C 在每个月份呼吸道感染患儿中均有检出, 其中秋季阳性检出率显著高于春、夏、冬三季 ($P<0.05$), 春、夏、冬三季阳性检出率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); HRV-A/B 在每个月份均有检出, 但各季节阳性检出率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

表 3 HRV-C 与 HRV-A/B 感染患儿季节分布 [例(%)]

季节	总例数	HRV-C 阳性	HRV-A/B 阳性
春季	447	14(3.1)	51(11.4)
夏季	451	8(1.8)	55(12.2)
秋季	410	35(8.5) ^{a,b,c}	42(10.2)
冬季	394	12(3.0)	27(6.9)
χ^2 值		29.215	7.428
P 值		<0.005	0.059

注: a 示与春季组比较, $P<0.05$; b 示与夏季组比较, $P<0.05$; c 示与冬季组比较, $P<0.05$ 。

2.6 临床特征

HRV-C 感染引起毛细支气管炎 15 例、支气管肺炎 31 例、大叶性肺炎 12 例、哮喘急性发作 11 例, 无上呼吸道感染诊断病例, 其中 HRV-C 感染致大叶性肺炎及哮喘急性发作的发生率显著高于 HRV-A/B 感染 ($P<0.05$); HRV-C 感染最主要的临床表现为咳嗽 (100%), 其他临床表现包括湿罗音 (66.7%)、喘息 (50.7%)、鼻塞、流涕 (46.4%)、发热 (43.5%)、气促 (23.2%)、胃肠道症状 (8.7%)、呼吸困难 (5.8%)、紫绀 (4.3%), 但与 HRV-A/B 型感染患儿比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); HRV-C 感染患儿血中性粒细胞、CRP 升高比例高于 HRV-A/B 感染患儿 ($P<0.05$)。见表 4。

表 4 HRV-C 与 HRV-A/B 感染患儿的临床特征比较

[例(%) 或 P_{50} (P_{25} , P_{75})]

临床特征	HRV-C (n=69)	HRV-A/B (n=175)	$\chi^2(Z)$ 值	P 值
临床症状				
发热	30(43.5)	78(44.6)	0.024	0.877
咳嗽	69(100.0)	172(98.3)	1.198	0.274
鼻塞、流涕	32(46.4)	73(41.7)	0.439	0.508
喘息	35(50.7)	71(40.6)	2.076	0.150
气促	16(23.2)	30(17.1)	1.182	0.277
紫绀	3(4.3)	6(3.4)	0.118	0.732
呼吸困难	4(5.8)	4(2.3)	1.924	0.165
胃肠道症状	6(8.7)	7(4.0)	2.163	0.141
湿罗音	46(66.7)	124(70.9)	0.411	0.521
临床诊断				
支气管肺炎	31(44.9)	89(50.9)	1.544	0.214
大叶性肺炎	12(17.4)	15(8.6)	3.192	0.048
毛细支气管炎	15(21.7)	47(26.9)	0.684	0.408
哮喘急性发作	11(15.9)	12(6.9)	4.784	0.029
辅助检查				
WBC>10 ¹⁰ /L	37(53.6)	84(48.0)	0.626	0.429
N%>75%	15(21.7)	15(8.6)	7.957	0.005
CRP>8 mg/L	28(40.6)	48(27.4)	3.991	0.046
住院天数 (d)	7(6, 8.75)	7(6, 9)	(-0.121)	0.903

3 讨论

急性呼吸道感染是 5 岁以下儿童的常见病和多发病, 也是婴幼儿死亡的首要病因^[7]。HRV 为无包膜的单股正链 RNA 病毒, 归属于肠病毒属, 是引起 RTIs 的重要病因^[1]。HRV 按传统的血清分型可分为 A 和 B 亚型, 随着测序技术及分子分型的应用, 还存在与 A 和 B 不同的 HRV-C 亚型。目前文献报导 HRV 感染病例中 1/3 以上为 HRV-C, 大量研究表明, HRV-C 比 HRV-A/B 所致疾病更严重^[8-10], 且 HRV-C 季节分布与 HRV-A/B 不同, 提示 HRV-C 与其他 HRV 类型致病机制不同^[11-13], 既往研究也表明, 冬季 HRV-C 下呼吸道感染可能需要改变治疗方法^[14], 因为缺少足够的流行病学资料, 目前这些推测尚不确定。因此, 需要一个简单而快速的识别 HRV-C 的方法来加快 HRV-C 的流行病学研究。

由于 HRV-C 不能体外分离培养, 分子分型是鉴别 HRV-C 的唯一方法。为特异性扩增 HRV-C,

本研究通过 NCBI Genbank 数据库分析 HRV 已知衣壳结构蛋白 VP4/VP2 区域氨基酸序列, 获得可特异性扩增的 HRV-C 保守序列 (在 HRV-C 亚型中保守, 同时在 HRV-A 或 HRV-B 亚型中具不同程度的保守性), 最后选择 VP2 的氨基末端 (氨基酸 8-37) 作为 HRV-C 特异性鉴别的靶标, 通过对 51 种已知 HRV-C 亚型这一段氨基酸对应的核苷酸序列进行进化树分析, HRV-A、HRV-B 和 HRV-C 位于不同的进化分枝上, 因此, 扩增靶区域具有足够的变异性以区分不同的 HRV 亚型。该 HRV-C 亚型鉴定的 PCR 方法简单、高效、快速, 且具有灵敏度高、特异性强、准确率高等优点, 具有较好的临床应用价值, 但是, HRV 变异相当多, 目前已有几百种 HRV 亚型或株报道, PCR 方法存在一定的假阳性和假阴性, 可后续采用一定量的样本作序列测定, 以进一步验证及优化实验诊断。由于尚没有掌握 HRV-A/B 扩增检测的熔链温度, 加之时间仓促, 未能行 HRV-A/B 的检测及序列测定。

大量研究显示, 全球范围内, HRV 的三种基因型均有流行, 流行的基因型因地区、时间的变化而不同, 全球各地 HRV-C 感染率也不同。部分地区 HRV-C 型占主导地位, 如: 美国^[15]住院及门诊患儿 HRV-C 检出率分别为 8.2%、3.9%, HRV-A 检出率分别为 8.1%、2.2%, HRV-B 检出率 $\leq 1\%$; 英国^[16]住院患儿 HRV 检出率为 21.5%, 其中 HRV-A、B、C 分别占 39.4%、33.9%、42.9%; 巴西^[17]门诊就诊的喘息儿童患者中 HRV-C 检出率占总 HRV 感染患儿的 60.7%, 在无哮喘史的儿童患者中检出率高达 69.6%。而我国北京^[18]、兰州^[19]、甘肃^[20]、长沙^[21]、香港地区^[22], 及国外新加坡^[23]、韩国^[24]、西班牙^[25]以 HRV-A 感染占主导地位。本研究 244 份 HRV 阳性样本共检出 HRV-C 69 例, 检出率 4.05%, 占 HRV 感染的 28.3%。不同地区 HRV 基因型检出阳性率的不同可能与检测方法、受检的人群不同有关。

本研究发现, HRV-C 检出高峰在秋季, 以 2~5 岁检出阳性率最高。既往研究表明, HRV 感染全年均可发病, 但其感染高峰在每年的春秋季节, 每年的流行时间随地区气候的变化而变化^[20]。HRV-C 的流行呈现明显的季节性: 澳大利亚 McErlean 等^[8]的研究中显示, HRV-C 在春季检出

率较高; 美国^[9]和我国^[26]报道在早冬和晚春检出率较高; 中国香港^[27]、西班牙^[28]和日本^[12]报道的 HRV-C 的检出高峰在秋冬季。很少有研究报道不同 HRV 基因型感染与年龄的关系, 然而, 泰国一项研究发现^[29], HRV-A 感染常见于小于 1 岁患儿及成年人, 而 HRV-C 在 1~4 岁患儿检出较多, 与本研究 HRV-C 常见感染年龄相似。2008 年儿童支气管哮喘诊断与防治指南^[30]指出, 早期起病的持续性喘息主要与病毒感染有关, 其中 <2 岁的儿童通常与 RSV 感染有关, 而 2 岁以上的儿童往往与 HRV 等其他病毒感染有关, 提示 HRV-C 与 2~5 岁儿童喘息关系密切。

本研究中, HRV-C 感染与 HRV-A/B 感染后临床表现无显著差异, 这与美国此前报道一致^[31]。HRV-C 感染主要引起下呼吸道感染, 包括毛细支气管炎、支气管肺炎、大叶性肺炎、哮喘急性发作, 其中大叶性肺炎、哮喘急性发作患儿 HRV-C 检出率显著高于 HRV-A/B, 提示 HRV-C 感染所致呼吸道疾病程度较 HRV-A/B 重, HRV-C 感染易致哮喘急性发作。既往也有研究认为, HRV-C 更易引起婴幼儿急性呼吸道感染, 且大部分是下呼吸道感染, 常与持续咳嗽和哮喘急性发作有关^[8]。

本文所述 HRV-C 亚型鉴定的 PCR 方法简单、高效、快速, 且灵敏度高、特异性强、准确率高, 具有较好的临床应用价值。研究表明, HRV-C 是苏州地区儿童急性呼吸道感染的重要病原体, 全年均可检出 HRV-C 感染, 感染高峰在秋季, 感染年龄以 2~5 岁为主, 与 HRV 其他基因型临床症状相似, 但 HRV-C 引起哮喘急性发作和大叶性肺炎比例较 HRV 其他基因型高, 这对指导临床诊疗与预防具有较高的应用价值。为了全面认识 HRV-C 的流行病学、临床特点, 还需要更多深入的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Costa LF, Queiróz DA, Lopes da Silveira H, et al. Human rhinovirus and disease severity in children[J]. *Pediatrics*, 2014, 133(2): e312-e321.
- [2] Delgado-Corcoran C, Witte MK, Ampofo K, et al. The impact of human rhinovirus infection in pediatric patients undergoing heart surgery[J]. *Pediatr Cardiol*, 2014, 35(8): 1387-1394.
- [3] Bender JM, Taylor CS, Cumpio J, et al. Infants 1-90 days old hospitalized with human rhinovirus infection[J]. *J Clin Lab Anal*, 2014, 28(5): 349-352.
- [4] Broberg E, Niemelä J, Lahti E, et al. Human rhinovirus C--

- associated severe pneumonia in a neonate[J]. *J Clin Virol*, 2011, 51(1): 79-82.
- [5] Piralla A, Rovida F, Campanini G, et al. Clinical severity and molecular typing of human rhinovirus C strains during a fall outbreak affecting hospitalized patients[J]. *J Clin Virol*, 2009, 45(4): 311-317.
- [6] Miller EK, Khuri-Bulos N, Williams JV, et al. Human rhinovirus C associated with wheezing in hospitalized children in the Middle East[J]. *J Clin Virol*, 2009, 46(1): 85-89.
- [7] Williams BG, Gouws E, Boschi-Pinto C, et al. Estimates of world-wide distribution of child deaths from acute respiratory infections[J]. *Lancet Infect Dis*, 2002, 2(1): 25-32.
- [8] McErlean P, Shackelton LA, Lambert SB, et al. Characterisation of a newly identified human rhinovirus, HRV-QPM, discovered in infants with bronchiolitis[J]. *J Clin Virol*, 2007, 39(2): 67-75.
- [9] Miller EK, Edwards KM, Weinberg GA, et al. A novel group of rhinoviruses is associated with asthma hospitalizations[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 123(1): 98-104.e1.
- [10] Bizzintino J, Lee WM, Laing IA, et al. Association between human rhinovirus C and severity of acute asthma in children[J]. *Eur Respir J*, 2011, 37(5): 1037-1042.
- [11] Savolainen-Kopra C, Blomqvist S, Kaijalainen S, et al. All known human rhinovirus species are present in sputum specimens of military recruits during respiratory infection[J]. *Viruses*, 2009, 1(3): 1178-1189.
- [12] Kaida A, Kubo H, Takakura K, et al. Molecular epidemiology of human rhinovirus C in patients with acute respiratory tract infections in Osaka City, Japan[J]. *Jpn J Infect Dis*, 2011, 64(6): 488-492.
- [13] Miller EK, Williams JV, Gebretsadik T, et al. Host and viral factors associated with severity of human rhinovirus-associated infant respiratory tract illness[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127(4): 883-891.
- [14] Linder JE, Kraft DC, Mohamed Y, et al. Human rhinovirus C: age, season, and lower respiratory illness over the past 3 decades[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 131(1): 69-77.e6.
- [15] Iwane MK, Prill MM, Lu X, et al. Human rhinovirus species associated with hospitalizations for acute respiratory illness in young US children[J]. *J Infect Dis*, 2011, 204(11): 1702-1710.
- [16] McIntyre CL, Knowles NJ, Simmonds P. Proposals for the classification of human rhinovirus species A, B and C into genotypically assigned types[J]. *J Gen Virol*, 2013, 94(Pt 8): 1791-1806.
- [17] Moreira LP, Kamikawa J, Watanabe AS, et al. Frequency of human rhinovirus species in outpatient children with acute respiratory infections at primary care level in Brazil[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2011, 30(7): 612-614.
- [18] 宋明辉, 赵林清, 钱渊, 等. 北京地区急性呼吸道感染儿童中人鼻病毒感染状况研究[J]. *病毒学报*, 2013, 29(2): 97-105.
- [19] Jin Y, Yuan XH, Xie ZP, et al. Prevalence and clinical characterization of a newly identified human rhinovirus C species in children with acute respiratory tract infections[J]. *J Clin Microbiol*, 2009, 47(9): 2895-2900.
- [20] 张爽, 毛乃颖, 于德山, 等. 2011年甘肃地区急性呼吸道感染儿童患者中鼻病毒感染规律的研究[J]. *病毒学报*, 2013, 29(3): 273-279.
- [21] Zeng SZ, Xiao NG, Xie ZP, et al. Prevalence of human rhinovirus in children admitted to hospital with acute lower respiratory tract infections in Changsha, China[J]. *J Med Virol*, 2014, 86(11): 1983-1989.
- [22] Mak RK, Tse LY, Lam WY, et al. Clinical spectrum of human rhinovirus infections in hospitalized Hong Kong children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2011, 30(9): 749-753.
- [23] Tan BH, Loo LH, Lim EA, et al. Human rhinovirus group C in hospitalized children, Singapore[J]. *Emerg Infect Dis*, 2009, 15(8): 1318-1320.
- [24] Han TH, Chung JY, Hwang ES, et al. Detection of human rhinovirus C in children with acute lower respiratory tract infections in South Korea[J]. *Arch Virol*, 2009, 154(6): 987-991.
- [25] Calvo C, Casas I, Garcia-Garia ML, et al. Role of rhinovirus C respiratory infections in sick and healthy children in Spain[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2010, 29(8): 717-720.
- [26] Jin Y, Yuan XH, Xie ZP, et al. Prevalence and clinical characterization of a newly identified human rhinovirus C species in children with acute respiratory tract infections[J]. *J Clin Microbiol*, 2009, 47(9): 2895-2900.
- [27] Lau SK, Yip CC, Tsoi HW, et al. Clinical features and complete genome characterization of a distinct human rhinovirus (HRV) genetic cluster, probably representing a previously undetected HRV species, HRV-C, associated with acute respiratory illness in children[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(11): 3655-3664.
- [28] Calvo C, Garcia ML, Pozo F, et al. Role of rhinovirus C in apparently life-threatening events in infants, Spain[J]. *Emerg Infect Dis*, 2009, 15(9): 1506-1508.
- [29] Fry AM, Lu X, Olsen SJ, et al. Human rhinovirus infections in rural Thailand: epidemiological evidence for rhinovirus as both pathogen and bystander[J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17780.
- [30] 中华医学会儿科学会呼吸学组.《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南[J]. *中华儿科杂志*, 2008, 46(10): 745-753.
- [31] Iwane MK, Prill MM, Lu X, et al. Human rhinovirus species associated with hospitalizations for acute respiratory illness in young US children[J]. *J Infect Dis*, 2011, 204(11): 1702-1710.

(本文编辑: 万静)