

广州地区儿童呼吸道感染人博卡病毒的分子流行病学研究

钟家禹 朱冰 谢嘉慧 陈翊 邓力 施静 张莹莹

【关键词】 人博卡病毒; 流行病学; HBoV 1 基因型

Molecular epidemiological study on the human bocavirus with respiratory tract infection in Guangzhou ZHONG Jia-yu¹, ZHU Bing¹, XIE Jia-hui¹, CHEN Yi¹, DENG Li², SHI Jing¹, ZHANG Ying-ying¹. 1 Central Laboratory, 2 Department of Respiratory, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510120, China

Corresponding author: ZHONG Jia-yu, Email: zjyu@sina.com
This work was supported by a grant from the Bureau of Health of Guangzhou Municipality (No. 2009-YB-215).

【Key words】 Human bocavirus; Epidemiology; HBoV1 genotype

人博卡病毒(HBoV)属细小病毒,为瑞典学者 Allander 等^[1]2005 年从小儿下呼吸道感染样本中分离到的一种新呼吸道病原。目前世界各地均有 HBoV 研究相关报告^[2],说明该病毒是世界范围内存在的人类致病原。为了解广州地区 HBoV 的分子流行病学特点和临床特征,对 638 例患儿临床标本进行检测。结果报告如下。

1. 材料与方法:2010 年 3 月至 2011 年 6 月收集广州市妇女儿童医疗中心 638 例患儿临床标本,其中咽拭子 606 份,肺泡灌洗液、脑脊液 32 份,患儿年龄 10 日龄至 4 岁。以 TaKaRa 病毒 RNA/DNA 快速纯化试剂盒提取 DNA,步骤参考说明书。选择 HBoV 的 NP 保守区设计荧光 PCR 引物和 TaqMan 探针。上游引物为:5'-AGA GAG GCT CGG GCT CAT ATC-3',下游引物为:5'-CTT CAT CAC TTG GTC TGA GGT CTT C-3',探针为:5'-FAM-CAG GAA CAC CCA ATC AGC CAC CTA TCG TC-TAM RA-3',随机选取 2010 年 4 月 2 份标本和 2011 年 1、4 月各 1 份 HBoV 阳性标本进行全基因组序列扩增。自行设计 4 对引物,覆盖病毒的全长基因组序列。分段扩增病毒基因组全长,扩增产物直接送 Invitrogen 公司测序。其他病原体均采用荧光 PCR 检测。检测试剂主要为中山大学达安基因公司、广州华瑞安公司和广州广渠公司。

2. 结果:

(1)HBoV 检出情况:检出阳性标本 49 份,总检出率为 7.68%(49/638)。其中 2011 年 6 月检出率最高(9.09%),2010 年 12 月检出率最低(4.55%)。见表 1。

表 1 2010 年 3 月至 2011 年 6 月广州市妇女儿童医疗中心 HBoV 检出情况

检测时间(年-月)	检测例数	阳性例数	阳性率(%)	检测时间(年-月)	检测例数	阳性例数	阳性率(%)
2010-03	35	3	8.57	-12	22	1	4.55
-04	44	3	6.82	2011-01	20	1	5.00
-05	20	1	5.00	-02	35	2	5.71
-06	13	1	7.69	-03	45	4	8.89
-07	20	1	5.00	-04	46	4	8.70
-08	18	1	5.56	-05	67	5	7.46
-09	16	1	6.25	-06	209	19	9.09
-10	13	1	7.69	合计	638	49	7.68
-11	15	1	6.67				

(2)HBoV 感染的年龄分布:49 例阳性患儿年龄为 41 日龄至 4 岁,平均 12.5 月龄。若以 2 岁为分界线,2~4 岁检出率为 2.96%,<2 岁检出率为 8.95%(表 2)。

表 2 49 例 HBoV 感染患儿检出率的年龄分布

月龄	检测例数	阳性例数	检出率(%)
0~	184	16	8.69
7~	181	18	9.95
13~	138	11	7.97
25~48	135	4	2.96
合计	638	49	7.68

(3)HBoV 感染临床诊断与其他病毒混合感染:49 例阳性患儿临床诊断为支气管肺炎 34 例(69.39%)中,喘息性支气管肺炎 12 例(24.49%),肺炎 3 例(6.12%)。HBoV 单独感染 25 例(51.02%),与呼吸道合胞病毒混合感染 12 例(50.00%),占总阳性标本的 24.49%;与腺病毒混合感染 5 例,占总阳性标本的 10.20%;与流感病毒 B 混合感染 1 例,与副流感病毒混合感染 2 例,与肺炎支原体混合感染 2 例,与肠道病毒混合感染 2 例。

(4)HBoV 广州分离株全基因组分析:从荧光 PCR 阳性标本中选取 4 份进行全基因组序列克隆,经分段扩增拼接后,获得 4 株 HBoV 全基因组序列,序列登录于 GenBank 上,分别命名为 GZ2010-03、GZ2011-01、GZ2011-04、GZ2010-1,序列号分别为 JN128953、JN128954、JN128955、JN128956。将这 4 株广州分离株全基因组核苷酸序列与 HBoV 1~4 型全基因组序列进行 Clustal W 比较,发现与 HBoV 1 型的同源性最高(99%),与其他型同源性较低。确认分离的 4 株广州株为 HBoV 1 型。

3. 讨论:HBoV 是引起呼吸道感染重要病原,其临床症状主要为咳嗽、哮喘,表现为支气管炎、肺炎。本研究运用荧

光PCR方法,从638份临床标本中检测出HBoV阳性49份,检出率为7.68%。研究结果显示HBoV感染可发生于全年各月,最高检出率为2011年6月(9.09%),而3月也具有较高的检出率,均为8%以上。许多文献认为大部分HBoV阳性的患儿均<2岁^[3,4],本研究在49例阳性标本中,<2岁的阳性标本有45例,占阳性标本的91.84%,<2岁的总检出率为8.95%,而2~4岁的总检出率为2.96%。HBoV阳性患儿的临床症状主要为支气管肺炎(69.39%),其次为喘息性支气管肺炎(24.49%),而肺炎仅占6.12%。

本研究成功扩增并获得4株病毒的全基因序列,4株广州分离株与GenBank上的HBoV 1型全基因组序列比较发现同源率为98%~99%,说明HBoV 1型之间变异非常小,与文献报道一致^[5]。

[本研究为广州市卫生局研究课题(2009-YB-215)资助]

参 考 文 献

[1] Allander T, Tammi MT, Eriksson M, et al. Cloning of a human

parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 12891-12896.

- [2] Zhao LQ, Qian Y, Zhu RN, et al. Preliminary studies suggest that a novel parvovirus called human bocavirus (HBoV) is related to acute respiratory infections in pediatric patients in Beijing. *Chin J Microbiol Immunol*, 2006, 26: 385-388. (in Chinese)
赵林清, 钱渊, 朱汝南, 等. 北京地区婴幼儿急性呼吸道感染与新近报道的人细小病毒相关性的初步研究. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2006, 26: 385-388.
- [3] Allander T, Jartti T, Gupta S. human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis*, 2007, 44: 904-910.
- [4] Kleines M, Scheithauer S, Rackowitz A. High prevalence of human bocavirus detected in young children with severe acute lower respiratory tract disease by use of a standard PCR protocol and a novel real-time PCR protocol. *J Clin Microbiol*, 2007, 45: 1032-1034.
- [5] Chieochansin T, Chutinimitkul S, Payungporn S, et al. Complete coding sequences and phylogenetic analysis of human bocavirus (HBoV). *Virus Res*, 2007, 129: 54-57.

(收稿日期:2011-09-28)

(本文编辑:张林东)