

УДК: 34.25 +578.2.21+ 34.25.05 + 616.036.11

Детекция, идентификация и количественные оценки бокавируса у детей с острыми респираторными вирусными инфекциями и гастроэнтеритами в Москве

Исаева Е.И., Морозова О.В., Ветрова Е.Н., Вартамян Р.В., Козулина И.С.

Бокавирус человека (human bocavirus (HBoV)) вызывает острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) и гастроэнтериты у людей всех возрастов во всем мире. Анализ бокавируса у детей с ОРВИ в Москве в 2005—2010 гг. посредством обратной транскрипции с последующей ПЦР с флуоресцентными зондами в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) показал среднюю многолетнюю частоту детекции ДНК бокавирусов в $14,5 \pm 0,7\%$ из 2395 носоглоточных смывов с диапазоном варьирования от $13,5\%$ до $17,0\%$. Отмечена сезонная активность циркуляции HBoV в течение года. У детей до года HBoV ассоциирован с другими респираторными вирусами, а в возрасте 2—7 лет превалировала бокавирусная моноинфекция. Симптомы гастроэнтерита диагностировали в $34,3 \pm 3,7\%$ случаев. Вирусные нагрузки в $40,5\%$ смывов составляли более 105 геном-эквивалентов в 1 мл в первые дни от начала заболевания и у детей с моно-HBoV инфекцией, в то время как при смешанных ОРВИ вирусные нагрузки бокавируса не превышали 103 геном-эквивалентов в 1 мл.

Ключевые слова: бокавирус, обратная транскрипция с последующей ПЦР с флуоресцентными зондами в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ), острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), гастроэнтериты, вирусная нагрузка.

Detection, identification and quantitation of bocavirus among children with acute respiratory viral infections and gastroenteritises in Moscow

Isaeva E.I., Morozova O.V., Vetrova E.N., Vartanyan R.V., Kozulina I.S.

Human bocavirus (HBoV) causes acute respiratory virus infections and gastroenteritises in humans throughout the world. HBoV DNA detection and identification among children with respiratory infections in Moscow during 2005—2010 by means of reverse transcription with subsequent real time PCR with fluorescent

probes showed the long-term average frequency $14,5 \pm 0,7$ % for 2,395 nasopharyngeal lavages (variations in a rang from 13,5 % до 17,0 %). One should note seasonal activity of the HBoV circulation during a year with 2 peaks in autumn-winter and early spring. Among infants and toddlers less than 1 year old the HBoV was associated with other respiratory viruses, whereas for children 2—7 years old the bocaviral monoinfection was prevailed. Gastroenteritises were diagnosed in $34,3 \pm 3,7$ % clinical cases. The HBoV viral loads in 40,5 % samples were more than 105 genome-equivalents per 1 ml for the first days postinfection, whereas for mixed respiratory infections and for children with the HBoV monoinfection were less 103 genome-equivalents per 1 ml.

Keywords: bocavirus; reverse transcription with subsequent real time PCR with fluorescent probes ((RT)²-PCR); acute respiratory viral infections; gastroenteritises; viral loads.

Введение

Бокавирус (HBoV) впервые был идентифицирован в респираторных образцах у детей с ОРВИ неясной этиологии в Allander T. в Швеции в 2005 г. [5]. Впоследствии он был обнаружен у людей всех возрастов на всех континентах Земли. В настоящее время многие зарубежные исследователи определяют HBoV в качестве одного из лидирующих вирусных патогенов в структуре заболеваемости нижних дыхательных путей (ДП) в детском возрасте [2, 4, 6]. Вместе с тем HBoV не ограничивается патологией респираторного тракта: ДНК HBoV была обнаружена в крови, кале, моче и жидкости из среднего уха, свидетельствуя о способности вируса вызывать системную инфекцию [8]. Данные об эпидемиологии и клинических проявлениях инфекций, ассоциированных с этим вирусом, в нашей стране весьма ограничены [1, 3].

Подобно инфекциям, вызванным другими респираторными вирусами, HBoV инфекция имеет явную сезонную выраженность. В странах с умеренным и умеренно-континентальным климатом максимальная заболеваемость HBoV инфекцией приходится на осенние, зимние и весенние месяцы, в субтропическом и муссонном климатическом поясе — на весну или весну-осень [2, 9].

Частота детекции HBoV в структуре респираторной заболеваемости варьирует от 1,5 до 19,4 % и встречается с первых месяцев жизни, но наиболее подвержены заражению дети в возрасте от 6—12 месяцев до 2—3 лет [4, 9] и

зависит, главным образом, от возрастного контингента обследуемых больных. [3, 9]. Результаты ряда исследований, основанных на изучении сывороток крови детей старшего возраста и взрослых на наличие специфических антител, объясняют это явление существованием протективного иммунитета против реинфекции и указывают на то, что основное инфицирование людей НВoV происходит в первые месяцы и годы жизни [2].

Информация о путях и механизмах передачи НВoV до настоящего времени крайне ограничена. Высокий уровень вирусной ДНК в респираторных секретах позволяет предположить высокий уровень трансмиссии вируса-возбудителя, по-видимому, оральной или воздушно-капельной, при контактах между людьми, подобно тому, как это происходит при других респираторных вирусных инфекциях. В литературе имеются сообщения о выявлении ДНК НВoV в кале детей с признаками гастроэнтерита как с наличием респираторной симптоматики, так и в ее отсутствии [7, 10]. Эти результаты свидетельствуют в пользу существования фекально-орального механизма передачи НВoV.

Весьма важен тот факт, что у 25—31, 6 % больных с ОРЗ и наличием ДНК НВoV в назофарингеальных смывах имеются признаки поражения ЖКТ [3, 7, 10]. При этом в одном из исследований было отмечено, что у 15, 4 % детей с моно-НВoV инфекцией респираторные и гастроинтестинальные симптомы появлялись одновременно [3]. Эти данные позволяют предварительно отнести вновь идентифицированный парвовирус к группе инфекций с острым сочетанным поражением респираторного и гастроинтестинального трактов.

Исследования, касающиеся длительности персистенции НВoV у детей с ОРЗ показали, что ДНК НВoV присутствовала в образцах назальной слизи в течение 4 месяцев. Среди детей, не имеющих респираторных симптомов, длительность персистенции достигала 6 месяцев. При этом бессимптомное носительство НВoV было характерно для детей первого года жизни [3].

Несмотря на каскад исследований, клинический спектр НВoV остается не вполне ясным. Это связано с тем, что вирус, обнаруженный в респираторных образцах, был отнесен к группе респираторных вирусов, и последующие исследования включали детей с заболеваниями дыхательной системы, однако, отмечается большой процент сочетанных инфекций, в которых роль НВoV также до конца не ясна. Кроме того, не следует упускать из внимания тот факт, что НВoV идентифицируется у детей с респираторными инфекциями,

сопровождающимися признаками гастроэнтерита, в этиологии которых ни один из известных патогенов установлен не был.

Цель исследования

Цель состояла в определении ДНК бокавируса методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) в носоглоточных смывах детей с ОРВИ и гастроэнтеритами.

Материалы и методы

Пациенты

С целью установления эпидемиологических особенностей бокавирусной инфекции с 2005 по 2010 гг. обследовано 2395 детей в возрасте от 1 месяца до 15 лет, госпитализированных в стационары Морозовской ДГКБ и КИБ № 1 (г. Москва) по поводу острых заболеваний верхних и нижних дыхательных путей.

Носоглоточные смывы

В качестве клинического материала для вирусологической диагностики инфекций использовали носоглоточные смывы, собранные не позднее 7 дня от начала заболевания. Забор материала осуществляли с помощью стерильного ватного тампона с последующим помещением его в пробирку со средой № 199, содержащей антибиотика (пенициллин и стрептомицин). Носоглоточные смывы хранили при -70°C до исследования.

Выделение нуклеиновых кислот проводили методом лизиса в хаотропных растворах гуанидинизотиоцианата с последующим спиртовым осаждением с использованием коммерческой тест-системы «Рибо-преп» («Ампли-Сенс», Москва) в соответствии с инструкцией производителя.

ПЦР в реальном времени

Образцы тестировали на присутствие следующих респираторных вирусов: метапневмовируса (HMPV), бокавируса (HCoV), вирусов гриппа типа А (H1N1, H3N2) и типа В, парагриппа, респираторно-синцитиального вируса (HRSV), аденовирусов и коронавирусов методом ПЦР в реальном времени. Проведение амплификации с гибридационно-флюоресцентной детекцией в

реальном времени осуществляли с тест-системами «Ампли Сенс- ОРВИ-FL» в соответствии с инструкцией производителя на амплификаторах планшетного типа ДТ-32 и ДТ-48 производства компании «ДНК-технология» (Москва).

Результаты и обсуждения

НВoV в структуре респираторной заболеваемости детей. Из 2395 детей в возрасте до 15 лет, прибывавших в условиях детских стационаров в связи с ОРЗ, НВoV инфекция была зарегистрирована у 360 (14, 5 %). Процент НВoV инфекции определяли как моно-инфекции (4, 9 %), так и ко-инфекции (10, 1 %). В разные периоды исследования частота детекции НВoV варьировала от 13, 5 % в 2006—2009 г. до 17, 0 % в 2008 г. (таблица 1). Максимальный процент моно-НВoV инфекций зарегистрирован в 2006 г. — 5, 0, минимальный — в 2007 г. — 3,1.

Таблица 1 — НВoV инфекция у детей с ОРВИ в разные периоды исследования

Период исследования	Количество обследованных детей	Дети с НВoV инфекцией*
Месяцы, годы	n	n (%)
Январь — декабрь 2005	357	49 (13, 7)
Январь — декабрь 2006	437	59 (13, 5)
Январь — декабрь 2007	481	71 (14, 8)
Январь — декабрь 2008	529	90 (17, 0)
Январь — декабрь 2009	385	47 (12, 2)
Январь — декабрь 2010	206	36(17, 5)
Январь 2005 — май 2009	2395	352 (14, 5)

НВoV циркулирует круглогодично и имеет сезонную активность (рисунок 1). Подъем заболеваемости НВoV инфекции отмечается с сентября по декабрь каждого года. Наиболее высокий уровень респираторных заболеваний, ассоциированных с НВoV, был зарегистрирован в ноябре-декабре 2005 г. — 32, 3—28, 6 % и октябре-ноябре 2008 г. — 29, 8—31, 3 от числа детей, обследованных в каждом месяце. Весной и в начале лета также отмечались волны активности, но значительно менее выраженные. Частота НВoV инфекции нарастала к апрелю и сохранялась на достигнутом уровне до начала лета. В 2005—2006 гг. к июлю отмечался спад активности бокавируса с 18, 8—16, 0 % до 8, 3—5, 6 %, соответственно. А в 2007—2008 гг., наоборот, к середине лета было зарегистрировано еще большее нарастание уровня заболеваемости ОРЗ НВoV этиологии — с 10, 5—25, 0 % до 16, 7—30, 0 %. Статистический анализ сезонного распределения НВoV показал, что вирус достоверно чаще

($p < 0,01$) выявлялся с сентября по декабрь и с апреля по июнь по сравнению с периодом с января по март на протяжении всех лет исследования.

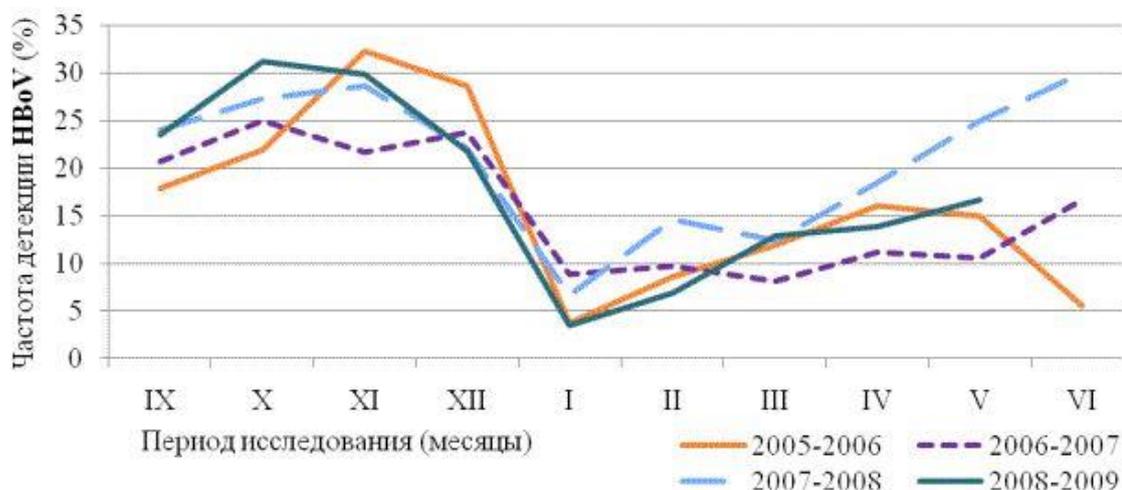


Рис. 1 Частота выявления HBoV инфекции.

Ко-инфекции

HBoV встречался преимущественно (в 72, 2 % случаев) в составе ко-инфекций с традиционными респираторными вирусами на протяжении всех лет исследования (рисунок 2) Наибольший процент микст-HBoV-инфекций формировался с участием HRSV и вирусов гриппа. Несмотря на совпадение волн активной циркуляции HBoV и метапневмовируса, в нашем исследовании не зарегистрировано ни одного случая ассоциации этих вирусов между собой. Превалирование микст-HBoV-инфекций над моноинфекцией в разные годы исследования достоверно ($\chi^2 > 16,28$; число степеней свободы равно 8; табличное значение $\chi^2 = 15,51$ для $p = 0,05$).

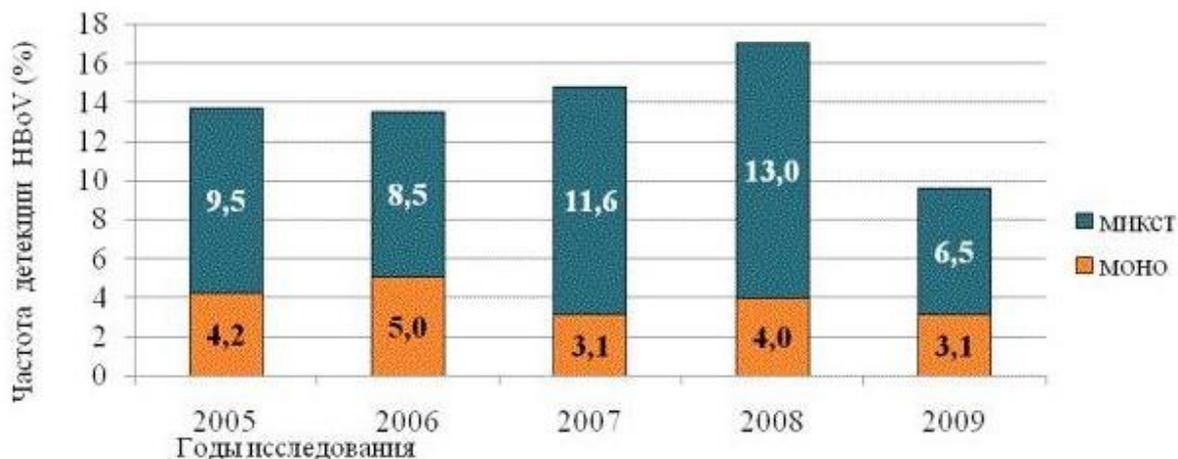


Рис. 2. Соотношение изолированных и сочетанных форм НВoV инфекции в разные годы исследования (частота детекции НВoV указана в процентах от общего числа детей с ОРЗ, обследованных в разные годы)

Вирусная нагрузка у 40, 5 % позитивных пациентов была > 105 геном-эквивалентов/мл в первые дни от начала заболевания и у детей с моно-НВoV инфекцией. У детей со смешанными ОРВИ вирусные нагрузки бокавируса не превышали 103 геном-эквивалентов в 1 мл.

НВoV инфекция в раннем детском и дошкольном возрасте. В группе из 169 детей, госпитализированных в Морозовскую ДГКБ в феврале-апреле 2008 г., НВoV идентифицирован у одной пятой части обследованных (20, 1 %). Из них в 13, 6 % случаев вирус ассоциирован с моноинфекцией и в 6, 5 % случаев — в сочетании с другими респираторными вирусами (рисунок 3).

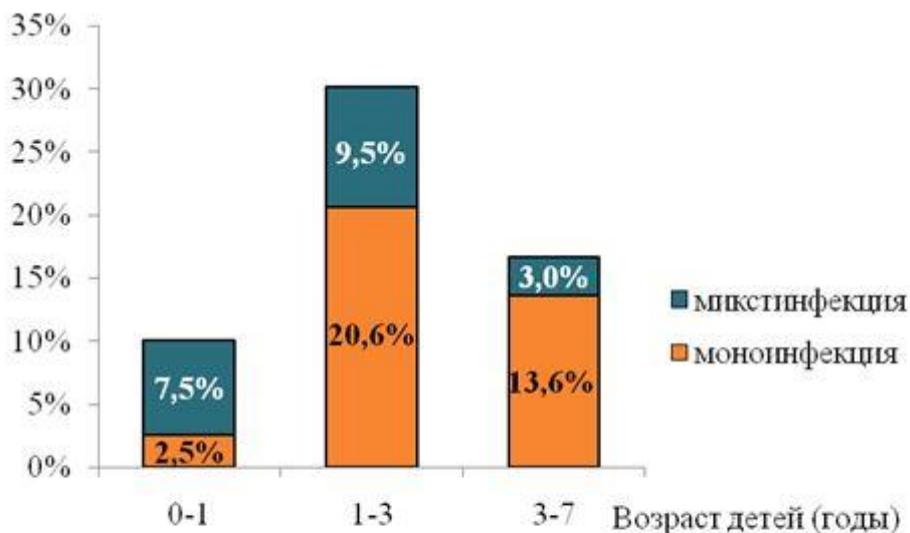


Рис. 3. Частота детекции и соотношение изолированной и сочетанной HBoV – инфекции у детей разного возраста (в % от количества обследованных детей)

Минимальный возраст позитивных по HBoV больных среди обследованных детей составил 5 месяцев, при этом частота выявления вируса оказалась наиболее низкой у детей до года. Затем она возрастала и достигала пика в возрасте от 1 до 3 лет (30, 2 %), после чего к 5 годам жизни вновь снижалась. Событийная вероятность подобного «сценария» невысока ($p = 0,001$; $\chi^2 = 6,99$), что подтверждает достоверность результатов.

Анализ результатов исследований по распределению моно- и сочетанной HBoV-инфекции в разных возрастных группах детей показал, что у детей до года HBoV зарегистрирован преимущественно в сочетании с другими респираторными вирусами, а в возрасте 2—3 лет и в дошкольном возрасте выявлено обратное соотношение, при котором превалировала моно- HBoV-инфекция.

Клинические особенности HBoV-инфекции. HBoV идентифицирован у одной трети (32, 7 %) детей раннего детского возраста, исключая детей грудного возраста, и одной пятой детей дошкольного возраста (22, 5 %) с острым обструктивным ларинготрахеитом и стенозом гортани I—II степени. Среди больных острым ларингитом и бронхитом во всех исследуемых возрастных группах частота обнаружения была ниже и составляла 9, 1 и 12, 5 % соответственно (таблица 2).

Таблица 2 — НВов инфекция в этиологии ОРЗ у детей младшего и дошкольного возраста

Возраст (лет)	Позитивные по НВов (моно и микст), n (%)		
	Ларингит	Ларинготрахеит	Бронхит
	n* = 22	n* = 123	n* = 24
0 — 1	1 (25, 0 %)	2 (10, 5 %)	1 (5, 9 %)
1 — 3	1 (16, 8 %)	18 (32, 7 %)	1 (50, 0 %)
3 — 7	-	11 (22, 5 %)	1 (20, 0 %)
0 — 7	2 (9, 1 %)	31 (25, 2 %)	3 (12, 5 %)

Примечание: * — общее число обследованных детей

Клиническая картина моно-НВов-инфекции в целом сходна с таковой при другой этиологии ОРВИ. Характерна лихорадка, ринит, особенно у детей младшего возраста. Характерны фарингит и кашель. У детей всех возрастных групп отмечалась осиплость голоса, свидетельствующая о явлениях ларингита. Также необходимо отметить, что ОРЗ, ассоциированные с НВов, практически у всех обследованных нами детей (у 95, 7 %) протекали с обструктивным синдромом.

Помимо основных респираторных симптомов в 17, 4 % случаев одновременно отмечались явления диспепсии разной степени выраженности. В основном диспепсия регистрировалась у детей первых 3 лет жизни. Симптомы гастроэнтерита диагностировали в 34, 3 % случаев.

Проведенное клиническое исследование показало, что НВов инфекция может сопровождаться поражением и верхних и нижних ДП, однако наибольший удельный вес НВов имеет в структуре острых обструктивных ларинготрахеитов (28, 4 %). Пневмонии и бронхиты в детском возрасте достаточно редко (4, 2 %) ассоциируются с НВов инфекцией, при этом в структуре бронхитов соотношение моно- и сочетанных форм составляет 2:1, в то время как в структуре пневмоний НВов идентифицируется исключительно как ко-инфекция.

Частота выявления НВов наиболее низкая у детей до года, затем она возрастает и достигает пика в возрасте от 1 до 3 лет (30, 2 %), после чего к 5 годам жизни вновь снижается. Мальчики чаще болеют НВов-инфекцией, чем девочки. Соотношение НВов-позитивных мальчиков и девочек в клиническом исследовании составило 3:1 ($p < 0,05$).

Клинически НВoV-инфекция в большинстве случаев приводит к развитию обструктивного синдрома и нередко сопровождается явлениями диспепсии. Наиболее тяжелое течение ОРВИ НВoV этиологии наблюдается в возрасте до 3 лет. В общем клиническом анализе крови у детей с моноинфекцией НВoV нередко отмечается умеренная лимфопения.

НВoV в 72, 2 % ассоциирован с другими респираторными вирусами, при этом чем младше ребенок, тем выше вероятность сочетанной инфекции. В клинической картине ко-инфекций симптомы, характерные для моноинфекций, вызванных соответствующими вирусами, наслаиваются друг на друга, утяжеляя течение заболевания.

Таким образом, НВoV инфекция является одной из наиболее часто идентифицируемых у детей с патологией органов дыхания. Проведенное нами исследование показало, что частота выявления НВoV в структуре респираторной заболеваемости детей в г. Москве варьирует в разные годы исследования (2005—2010 гг.) от 9, 6 до 17, 0 %, что соответствует данным большинства зарубежных авторов [4, 9].

Установлено, что бокавирус циркулирует на территории столицы РФ круглогодично и имеет два пика активности: первый — наиболее высокий — осенью-в начале зимы, второй — менее выраженный — весной-в начале лета. Подобное сезонное распределение НВoV среди детей с ОРЗ в Москве описано сотрудниками ЦНИИ Эпидемиологии [3]. Максимальный уровень заболеваемости был достигнут в ноябре 2005 г. — 32, 3 % от числа детей, обследованных в данном месяце.

Среди НВoV-положительных детей регистрировался высокий уровень коинфекций с традиционными респираторными вирусами — 72, 2 % с вариациями от 67, 6 до 78, 9 % в разные периоды исследования. Полученные данные входят в диапазон колебаний частоты, сочетанных с НВoV инфекций, представленный в других исследованиях [3, 8, 9]. Наиболее часто совместно с НВoV обнаруживался HRSV, а также вирусы гриппа, что сходно с данными некоторых из этих авторов [3, 4, 5]. В исследованиях, проведенных на базе ЦНИИ Эпидемиологии г. Москвы, коинфекции вирусов гриппа с НВoV, также как и с HMPV, не регистрировались.

В настоящем исследовании продемонстрировано, что НВoV инфекция имеет место в этиологии разных нозологических форм ОРЗ у детей в возрасте от 1 месяца до 15 лет, однако наибольший удельный вес имеет в струк-

туре острых обструктивных стенозирующих ларинготрахеитов. Эти результаты находятся в противоположности с данными Е. Ю. Швеца, согласно которым основной клинической формой НВов-инфекции является ринофарингит. Однако на то, что для НВов-инфекции характерен обструктивный синдром, указывают многие авторы [3, 9]. Превалирование НВов вирусной инфекции в структуре патологии верхних дыхательных путей в детском возрасте, зарегистрированное в нашей работе, соответствует данным других исследователей [3].

Важно отметить, что в этиологии пневмоний НВов идентифицировался исключительно как моновирусная инфекция, тогда как в структуре бронхитов в трети случаев одновременно присутствовали другие респираторные вирусы.

Частота выявления НВов наиболее низкая у детей до года, затем она возрастает и достигает пика в возрасте от 1 до 3 лет (30, 2 %), после чего к 5 годам жизни вновь снижается. Подобное возрастное распределение описано несколькими исследователями [3]. Мальчики достоверно чаще ($P < 0, 01$) болеют данной инфекцией, чем девочки, что соответствует данным других исследователей.

Клинически НВов-инфекция во многом сходна с типичными ОРВИ, однако в большинстве случаев (95, 7 %) приводит к развитию обструктивного синдрома. Можно было бы допустить, что эта особенность в нашем случае обоснована спектром клинических диагнозов детей, вошедших в исследование, однако в зарубежных источниках имеются сообщения о том, что НВов приводит преимущественно к развитию обструктивных заболеваний дыхательных путей, клинически сходных с HRSV-инфекцией. Также характерной для НВов-инфекции является диспепсия. Стоит заметить, что в зарубежной литературе описаны случаи выделения НВов не только у больных с респираторной симптоматикой, но и с изолированными гастроэнтеритами [7, 10]. Наиболее тяжелое течение ОРВИ НВов этиологии отмечается у детей до 3 лет.

НВов часто формирует вирусные ассоциации с другими респираторными вирусами у детей — в 72, 2 % случаев от общего числа больных, позитивных по НВов, при этом чем младше ребенок, тем выше вероятность сочетанной инфекции.

Имеется предположение, что высокая частота встречаемости НВoV в составе сочетанных инфекций может быть обусловлена сохранением вируса в респираторном тракте после недавно перенесенной острой НВoV — инфекции [3]. Также существует мнение, что высокие частоты смешанных инфекций могут свидетельствовать о реактивации изучаемого вируса или усилении его репродукции при инфекции другими респираторными вирусами [<http://emedicine.medscape>].

Из отклонений в показателях общего клинического анализа крови, наиболее часто встречающихся у обследованных нами больных с ОРВИ НВoV этиологии, выявлена умеренная лимфопения. По данным зарубежной литературы, иногда может иметь место повышение уровня общих лейкоцитов (до $16 \times 10^9/\text{л}$) и С-реактивного белка, но не стойкое [<http://emedicine.medscape>].

Относительно клинических особенностей, сочетанных с НВoV инфекций в литературе описаны противоречивые результаты. Так, например, Е. Ю. Швец и ее коллеги [3] показали, что для сочетанной НВoV инфекции с ОРВИ другой этиологии характерны черты клинической картины аналогичных моно-инфекций. Другие авторы придерживаются мнения, что НВoV способен осложнять течение других респираторных инфекций [4]. Указанные противоречия натолкнули и нас к попытке объяснить роль НВoV в структуре ко-инфекций.

У обследованных нами детей клиническая картина ко-инфекций совмещала симптомы, характерные для моно-инфекций, вызванных соответствующими вирусами. Сочетание НВoV с вирусами парагриппа характеризовалось развитием обструктивного стенозирующего ларинготрахеита — нозологии, характерной как для НВoV, так и для парагриппозной моно-инфекций. Однако течение такой ко-инфекции по сравнению с аналогичными моно-инфекциями было более тяжелое: отмечалось острое начало, фебрильная лихорадка, присоединение в ранние сроки инспираторной одышки вследствие стеноза гортани (у всех детей в возрасте до 1, 5 лет — II степени), а также диспепсические явления.

В заключение необходимо отметить высокие частоты выявления бокавируса у детей от 13,5 до 17 %. Установлена сезонная активность циркуляции НВoV. Вирусные нагрузки в 40, 5 % носоглоточных смывов у детей в первые дни заболевания составляли не менее 105 геном-эквивалентов 1 мл. Симптомы ОРВИ в 34, 3 % были ассоциированы с проявлениями гастроэнтерита.

Литература

1. Козулина И.С. Новые инфекционные агенты-метапневмовирус и бокавирус человека // Диссертация на звание кандидата медицинских наук — 2010 — Москва.
2. Мажуль Л.А., Исаева Е.И., Злобин В.И., Вязов С.О. Бокавирус человека. // Вопросы вирусологии. — 2009. — 54(3). — С.4—7.
3. Швец Е.Ю. Клинико-эпидемиологические особенности и диагностика бокавирусной инфекции у детей. // Автореферат дисс. ... кандидата медицинских наук. — М., 2009.
4. Albuquerque MC, Pena GP, Varella RB, Gallucci G, Erdman D, Santos N. Novel respiratory virus infections in children, Brazil. // *Emerg Infect Dis.* — 2009. — Vol.15(5). — P.806—808.
5. Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HG, Lehtinen P, Osterback R, Vuorinen T, Waris M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, van den Hoogen BG, Hyypia T, Ruuskanen O. Human bocavirus and acute wheezing in children. // *Clin Infect Dis.* — 2007. — Vol.44. — P.904—910.
6. Debiaggi M1, Canducci F, Ceresola ER, Clementi M The role of infections and coinfections with newly identified and emerging respiratory viruses in children. *Virol J.* 2012 Oct 27;9: 247.
7. Khamrin P, Thongprachum A, Shimizu H, Okitsu S, Mizuguchi M, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. //Detection of human bocavirus 1 and 2 from children with acute gastroenteritis in Japan. *J Med Virol.* 2012 Jun; 84(6):901—5.
8. Lindner J, Karalar L, Zehentmeier S, Plentz A, Pfister H, Struff W, Kertai M, Segerer H, Modrow S. Humoral immune response against human bocavirus VP2 virus-like particles. // *Viral Immunol.* — 2008. — Vol. 21 (4). — P.443—9. (6) — P.3.
9. Lin JH, Chiu SC, Lin YC, Chen HL, Lin KH, Shan KH, Wu HS, Liu HF. Clinical and genetic analysis of Human Bocavirus in children with lower respiratory tract infection in Taiwan. // *J Clin Virol.* — 2009. — Vol. 44 (3). — P.219—224.
10. Levican J., Navas E., Orizola J., Avendafio L.F., Gaggero A. Human bocavirus in children with acute gastroenteritis, Chile, 1985-2010. // *Emerging Infectious Diseases.* — 2013. — Vol.19. — P.1977—1880.

Literature

1. Kozulina I.S. New infection agents — human metapneumovirus and bocavirus. diss. — 2010 — Moscow (In Russian).

2. Mazhul' L.A., Isaeva E.I., Zlobin V.I., Viazov S.O. Human bocavirus. // *Voprosi virusologii*. — 2009. — 54(3). — P.4—7 (In Russian).
3. Shvets E.Yu. Clinico-epidemiological features and diagnostics of bocavirus infection among children. // *diss.* — Moscow., 2009 (In Russian).
4. Albuquerque MC, Pena GP, Varella RB, Gallucci G, Erdman D, Santos N. Novel respiratory virus infections in children, Brazil. // *Emerg Infect Dis*. — 2009. — Vol.15(5). — P.806—808.
5. Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HG, Lehtinen P, Osterback R, Vuorinen T, Waris M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, van den Hoogen BG, Hyypia T, Ruuskanen O. Human bocavirus and acute wheezing in children. // *Clin Infect Dis*. — 2007. — Vol.44. — P.904—910.
6. Debiaggi M1, Canducci F, Ceresola ER, Clementi M The role of infections and coinfections with newly identified and emerging respiratory viruses in children. *Virol J*. 2012 Oct 27;9: 247.
7. Khamrin P, Thongprachum A, Shimizu H, Okitsu S, Mizuguchi M, Hayakawa S, Maneekarn N, Ushijima H. //Detection of human bocavirus 1 and 2 from children with acute gastroenteritis in Japan. *J Med Virol*. 2012 Jun; 84(6):901—5.
8. Lindner J, Karalar L, Zehentmeier S, Plentz A, Pfister H, Struff W, Kertai M, Segerer H, Modrow S. Humoral immune response against human bocavirus VP2 virus-like particles. // *Viral Immunol*. — 2008. — Vol.21(4). — P.443-9. (6) — P.3.
9. Lin JH, Chiu SC, Lin YC, Chen HL, Lin KH, Shan KH, Wu HS, Liu HF. Clinical and genetic analysis of Human Bocavirus in children with lower respiratory tract infection in Taiwan. // *J Clin Virol*. — 2009. — Vol.44(3). — P.219—224.
10. Levican J.,Navas E.,Orizola J.,Avenida L.F.,Gaggero A. Human bocavirus in children with acute gastroenteritis,Chile,1985-2010. // *Emerging Infectious Diseases*. — 2013. — Vol.19. — P.1977—1880.