

原 著

## 三重県における Human Bocavirus の流行疫学 および遺伝子系統樹解析 (2010 年 1 月~2016 年 6 月)

矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 赤地重宏

### Epidemiology of Outbreak of Human Bocavirus (HBoV) and Phylogenetic Tree Analysis in Mie Prefecture (January, 2010~June, 2016)

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA and Shigehiro AKACHI

三重県感染症発生動向調査事業において, 2010年1月~2016年6月までに三重県内の医療機関を受診した小児呼吸器感染症患者1,321名を対象にHuman Bocavirus (HBoV) の流行疫学を把握するために動向調査を実施した. HBoV陽性者は1,321名中46名 (3.5%) であった.

採取年別のHBoV陽性者数は2010年4名, 2011年5名, 2012年9名, 2013年7名, 2014年3名, 2015年9名, 2016年 (1~6月) 9名であった. HBoV陽性者はインフルエンザ終息後の春から初夏 (3~6月) に多数検出される傾向であった.

HBoVのVP1/VP2領域の遺伝子系統樹解析を実施した結果, 2010~2016年に検出されたHBoVは, すべてHBoV1に分類された. 今回, 検出されたHBoV1は遺伝子系統樹上では Group1 から Group3に細分化されることが明らかとなった.

HBoV感染症は流行疫学および臨床症状等において依然として不明な点が多く, さらなるHBoV感染症の理解のためにも, 全国規模のモニタリングを積極的かつ継続的に実施し, 流行疫学および患者臨床情報の蓄積が必要であると考えられる.

キーワード: 急性呼吸器感染症, Human Bocavirus, 流行疫学, 遺伝子系統樹解析

#### はじめに

Human Bocavirus (HBoV) は, 2005年にスウェーデンの呼吸器感染症患者から初めて発見<sup>1)</sup>されたウイルスで, その後, 世界的に分布<sup>2~6)</sup>していることが判明した. HBoVは急性呼吸器感染症 (Acute Respiratory Infections: ARI) の起因ウイルスの一つであり, パルボウイルス科パルボウイルス亜科ボカウイルス属に分類され, 現在, HBoVは4タイプ (HBoV1, 2, 3, 4) に分類されている<sup>7)</sup>. 近年, 国内における呼吸器感染症患者からHBoVの検出報告<sup>7~10)</sup>がされているが, 患者臨床情報などの報告は少ない. 一方でHBoVは, 呼吸器系症状だけでなく, 消化器症状を呈した患者の糞便から検出されており<sup>11,12)</sup>, 未だ不明な点が多い. そこで我々は, HBoV感染症を究明するために, 三重県内の小児呼吸器感染症患者の流行疫学および遺伝子系統樹解析を実施したので以下に報告する.

#### 対象と方法

##### 1. 調査対象

2010年1月~2016年6月の間に三重県感染症発生動向調査事業において, 県内の医療機関 (8施設) を受診した小児呼吸器感染症患者 1,321名から得られた患者臨床検体 (鼻汁, 咽頭拭い液, 気管吸引液) を HBoV 調査の対象とした.

採取年別の検査数は2010年88名, 2011年225名, 2012年213名, 2013年237名, 2014年206名, 2015年198名, 2016年 (1~6月) 154名であった.

##### 2. HBoVおよび他の呼吸器系ウイルスの検出

患者臨床検体から抽出した DNA および RNA は使用時まで $-80^{\circ}\text{C}$ に保存し, HBoV 遺伝子の検出には Allander らの Conventional-PCR 法<sup>1,13)</sup>に加え, 一部の検体について HBoV-LAMP 法<sup>14)</sup>による検出を実施した.

HBoV 以外の呼吸器系ウイルスの検出には、国立感染症研究所のウイルス検査マニュアルおよび論文で公表されている方法に準拠した。検出を試みたウイルスはインフルエンザウイルス C 型<sup>15)</sup>、RS ウイルス<sup>16)</sup>、ヒューマンメタニューモウイルス<sup>17)</sup>、パラインフルエンザウイルス<sup>18-20)</sup>、コロナウイルス<sup>20,21)</sup>、エンテロウイルス<sup>22)</sup>、ライノウイルス<sup>22,23)</sup>を対象とし、各ウイルスの特異的遺伝子を PCR 法により検出を試みた。

なお、対象となった小児の保護者から患者情報および患者検体の使用に関する承諾書への署名を得た。当研究所へ検査を依頼した医療機関において記入された調査票（患者情報）の使用にあたっては、倫理的配慮として、個人情報保護などに留意し実施した。

### 3. HBoV 遺伝子系統樹解析

検出された一部の HBoV について、国立感染症研究所の検査マニュアル等<sup>13,24)</sup>に準じて VP1/VP2 領域の遺伝子について塩基配列解析を行った。遺伝子系統樹解析には、塩基配列解析ソフトウェア Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 5 を用いた。遺伝子系統樹作成には、近隣結合法 (Neighbor-Joining : NJ 法) により行った。Bootstrap test は 1,000 回を行った。

## 結果

### 1. HBoV 検出状況

2010~2016年6月に採取された1,321名について HBoV の検査を実施した結果を Table 1 および 2 に示した。男児 33 名、女児 13 名の計 46 名 (3.5%) から HBoV 遺伝子が検出された。年別の HBoV 陽性者数は 2010 年 4 名 (4.5%)、2011 年 5 名 (2.2%)、2012 年 9 名 (4.2%)、2013 年 7 名 (3%)、2014 年 3 名 (1.5%)、2015 年 9 名 (4.5%)、2016 年 1~6 月 9 名 (5.8%) で

Table 1. Number of HBoV positive patients by year of specimen collection in patients (January, 2010~June, 2016)

| Year of sample collection | Number of patient | Positive patient number (%) |
|---------------------------|-------------------|-----------------------------|
| 2010                      | 88                | 4 (4.5)                     |
| 2011                      | 225               | 5 (2.2)                     |
| 2012                      | 213               | 9 (4.2)                     |
| 2013                      | 237               | 7 (3)                       |
| 2014                      | 206               | 3 (1.5)                     |
| 2015                      | 198               | 9 (4.5)                     |
| 2016 (Jan.-June)          | 154               | 9 (5.8)                     |
| Total                     | 1,321             | 46 (3.5)                    |

あった。

これらの HBoV 陽性者の月別検出数を Table 3 に示した。HBoV の主な検出月は 3~6 月で、3 月 6 名 (13%)、4 月 16 名 (34.8%)、5 月 9 名 (19.6%)、6 月 6 名 (13%) であった。

年別の 3~6 月の検出率は 2010 年 2 名 (50%)、2011 年 4 名 (80%)、2012 年 7 名 (77.8%)、2013 年 6 名 (85.7%)、2014 年 2 名 (66.7%)、2015 年 9 名 (100%)、2016 年 (1~6 月) 7 名 (77.8%) であった。

検出された HBoV 陽性者の年齢構成は 0 歳児 11 名 (23.9%)、1 歳児 28 名 (60.9%)、2 歳児 7 名 (15.2%) で 3 歳児以上の年齢では確認されなかった。

### 2. HBoV 陽性者の他のウイルスとの重複検出例

HBoV が検出された 46 名中 24 名 (52.2%) は、他のウイルスとの重複検出例であった。検出月は 2 月 1 名、3 月 3 名、4 月 10 名、5 月 5 名、6 月 3 名、7 月 1 名、10 月 1 名である。その内訳はヒューマンメタニューモウイルス (9 名)、ライノウイルス (9 名)、RS ウイルス (2 名)、パラインフルエンザウイルス (2 名)、コロナウイルス (1 名)、インフルエンザウイルス C 型 (1 名) であった (Table 2)。

### 3. HBoV 陽性者の臨床診断名および発熱の程度

HBoV 陽性者の臨床診断名は気管支炎 20 名 (43.5%)、細気管支炎 10 名 (21.7%)、咽頭炎 9 名 (19.6%)、喉頭炎 4 名 (8.7%)、その他 (扁桃炎 1 名、中耳炎 1 名、インフルエンザ様疾患 1 名) が 3 名 (6.5%) であった (Table 2)。

HBoV 陽性者の医療機関受診時の平均体温は  $38.6 \pm 0.95^{\circ}\text{C}$  であった。体温別では  $36^{\circ}\text{C}$  台 1 名 (2.2%)、 $37^{\circ}\text{C}$  台 7 名 (15.2%)、 $38^{\circ}\text{C}$  台 20 名 (43.5%)、 $39^{\circ}\text{C}$  台 10 名 (21.7%)、 $40^{\circ}\text{C}$  台 5 名 (10.9%)、不明 3 名であった (Table 2)。

### 4. HBoV 遺伝子系統樹解析

塩基配列解析が可能であった HBoV 陽性者 34 名について国立感染症研究所のボカウイルス検査マニュアル記載の方法による VP1/VP2 領域の系統樹解析を実施した結果、各年で検出された HBoV は全てが HBoV1 に分類された (Fig. 1)。これらの HBoV1 は Fig. 2 で示したとおり、遺伝子系統樹上では 3 つの Group (1~3) に細分化された。Group 1 は計 27 名 (79.4%) と調査期間中に最も多く検出された。2012 年および 2016 年は 8 名で最も多く確認され、次に 2013 年 5 名、2011 年 3 名、2015 年 2 名、2010 年 1 名の順であった。Group 2 は 2014 年 2 名で、2010 年、2011 年、2015 年は各々 1 名の計 5 名 (14.7%) であった。Group 3 は 2015 年のみに計 2 名 (5.9%) 検出された。

**Table 2. Information of HBoV positive patients (January,2010~ June,2016)**

| Patient No. | Age <sup>1)</sup> | Gender | Date of sample collection | Clinical diagnosis     | Body temperature | Virus detected |
|-------------|-------------------|--------|---------------------------|------------------------|------------------|----------------|
| 1           | 11M               | M      | 2010. 4.21                | Bronchitis             | 40℃              | HBoV & HMPV    |
| 2           | 8M                | M      | 2010. 5.17                | Bronchitis             | 37.4℃            | HBoV & HMPV    |
| 3           | 1Y                | M      | 2010. 7.14                | Bronchitis             | 39.5℃            | HBoV & HPIV    |
| 4           | 1Y                | F      | 2010.10.19                | Pharyngitis            | 39.5℃            | HBoV           |
| 5           | 1Y                | M      | 2011. 5.11                | Bronchitis             | 38.0℃            | HBoV & HMPV    |
| 6           | 1Y                | M      | 2011. 5.13                | Bronchitis             | 38.4℃            | HBoV & HMPV    |
| 7           | 8M                | M      | 2011. 5.18                | Bronchitis             | 37.8℃            | HBoV & HMPV    |
| 8           | 1Y                | F      | 2011. 6. 6                | Bronchitis             | 39.6℃            | HBoV           |
| 9           | 1Y                | M      | 2011. 8. 2                | Bronchitis             | 38.7℃            | HBoV           |
| 10          | 1Y                | M      | 2012. 2.22                | Bronchio litis         | 37.4℃            | HBoV           |
| 11          | 2Y                | M      | 2012. 3.27                | Pharyngitis            | 37.8℃            | HBoV           |
| 12          | 1Y                | M      | 2012. 4.10                | Pharyngitis            | 38.6℃            | HBoV           |
| 13          | 1Y                | F      | 2012. 4.16                | Bronchio litis         | 38.5℃            | HBoV           |
| 14          | 1Y                | M      | 2012. 5. 1                | Exudative tonsillitis  | 38.0℃            | HBoV & HMPV    |
| 15          | 2Y                | M      | 2012. 5. 9                | Bronchitis             | 37.2℃            | HBoV           |
| 16          | 1Y                | M      | 2012. 5.21                | Influenza-like illness | unknown          | HBoV           |
| 17          | 9M                | F      | 2012. 6.12                | Bronchio litis         | unknown          | HBoV           |
| 18          | 1Y                | M      | 2012.11.15                | Bronchitis             | 37.0℃            | HBoV           |
| 19          | 2Y                | M      | 2013. 4.19                | Bronchitis             | 40.5℃            | HBoV           |
| 20          | 11M               | M      | 2013. 4.26                | Pharyngitis            | 39.0℃            | HBoV           |
| 21          | 1Y                | M      | 2013. 5. 7                | Bronchitis             | 39.3℃            | HBoV           |
| 22          | 1Y                | M      | 2013. 5.13                | Otitis media           | 38.2℃            | HBoV           |
| 23          | 1Y                | M      | 2013. 6.10                | Pharyngitis            | 38.4℃            | HBoV           |
| 24          | 1Y                | F      | 2013. 6.24                | Pharyngitis            | 39.8℃            | HBoV & RSV     |
| 25          | 1Y                | F      | 2013. 7. 3                | Pharyngitis            | 38.7℃            | HBoV           |
| 26          | 11M               | M      | 2014. 4.23                | Bronchitis             | 38.6℃            | HBoV           |
| 27          | 2Y                | F      | 2014. 4.30                | Bronchitis             | 38℃              | HBoV & HRV     |
| 28          | 2Y                | M      | 2014.10. 9                | Bronchitis             | 38.6℃            | HBoV & HPIV    |
| 29          | 9M                | F      | 2015. 3.27                | Laryngitis             | 38.2℃            | HBoV           |
| 30          | 1Y                | M      | 2015. 3.30                | Bronchio litis         | 38.5℃            | HBoV & HMPV    |
| 31          | 2Y                | F      | 2015. 3.30                | Bronchio litis         | 39.8℃            | HBoV & HMPV    |
| 32          | 11M               | M      | 2015. 4. 4                | Laryngitis             | 38℃              | HBoV & HRV     |
| 33          | 1Y                | M      | 2015. 4.20                | Bronchio litis         | 38.3℃            | HBoV & HRV     |
| 34          | 1Y                | M      | 2015. 4.20                | Pharyngitis            | 39.8℃            | HBoV & HRV     |
| 35          | 1Y                | M      | 2015. 4.24                | Bronchio litis         | 40℃              | HBoV & HRV     |
| 36          | 10M               | F      | 2015. 4.28                | Pharyngitis            | 38.4℃            | HBoV & HMPV    |
| 37          | 2Y                | M      | 2015. 6. 5                | Laryngitis             | 40.4℃            | HBoV & HRV     |
| 38          | 1Y                | M      | 2016. 1.26                | Bronchitis             | 37.1℃            | HBoV           |
| 39          | 1Y                | F      | 2016. 2.17                | Bronchitis             | 39.4℃            | HBoV & InfC    |
| 40          | 1Y                | M      | 2016. 3.25                | Bronchitis             | 38.2℃            | HBoV           |
| 41          | 1Y                | M      | 2016. 3.26                | Bronchitis             | 39℃              | HBoV & HCoV    |
| 42          | 1Y                | F      | 2016. 4. 1                | Bronchio litis         | 38.3℃            | HBoV & HRV     |
| 43          | 1Y                | M      | 2016. 4.12                | Laryngitis             | 40.3℃            | HBoV & RSV     |
| 44          | 1Y                | M      | 2016. 4.14                | Bronchio litis         | 36.9℃            | HBoV & HRV     |
| 45          | 8M                | M      | 2016. 4.30                | Bronchio litis         | 38℃              | HBoV           |
| 46          | 6M                | F      | 2016. 6.11                | Bronchitis             | unknown          | HBoV & HRV     |

1): Y, year old; M, month old

HBoV : Human Boca Virus

HMPV : Human Metapneumo Virus

HPIV : Human Parainfluenza Virus

RSV : Respiratory Syncytial Virus

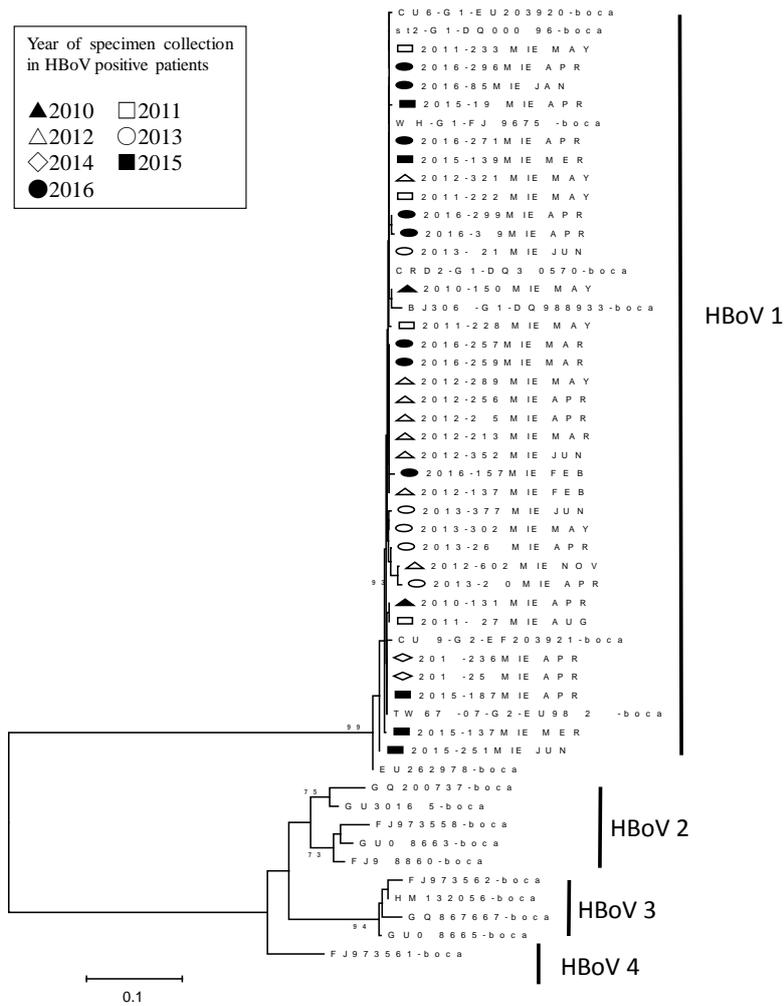
HRV : Human Rhino Virus

HCoV : Human Corona Virus

InfC: Influenza virus C

**Table 3. Number of HBov positive patients by month of specimen collection from patients (January,2010~June,2016)**

| Month sample collection | Year of sample collection |      |      |      |      |      |      | Positive patient number (%) |
|-------------------------|---------------------------|------|------|------|------|------|------|-----------------------------|
|                         | 2010                      | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 |                             |
| Jan                     |                           |      |      |      |      |      | 1    | 1 ( 2.2)                    |
| Feb                     |                           |      | 1    |      |      |      | 1    | 2 ( 4.3)                    |
| Mar                     |                           |      | 1    |      |      | 3    | 2    | 6 (13)                      |
| Apr                     | 1                         |      | 2    | 2    | 2    | 5    | 4    | 16 (34.8)                   |
| May                     | 1                         | 3    | 3    | 2    |      |      |      | 9 (19.6)                    |
| June                    |                           | 1    | 1    | 2    |      | 1    | 1    | 6 (13)                      |
| July                    | 1                         |      |      | 1    |      |      |      | 2 ( 4.3)                    |
| Aug                     |                           | 1    |      |      |      |      |      | 1 ( 2.2)                    |
| Sep                     |                           |      |      |      |      |      |      | 0 ( 0)                      |
| Oct                     | 1                         |      |      |      | 1    |      |      | 2 ( 4.3)                    |
| Nov                     |                           |      | 1    |      |      |      |      | 1 ( 2.2)                    |
| Dec                     |                           |      |      |      |      |      |      | 0 ( 0)                      |
| Total                   | 4                         | 5    | 9    | 7    | 3    | 9    | 9    | 46                          |



**Fig.1. Typing of HBov according to phylogenetic tree analysis (2010–2016)**

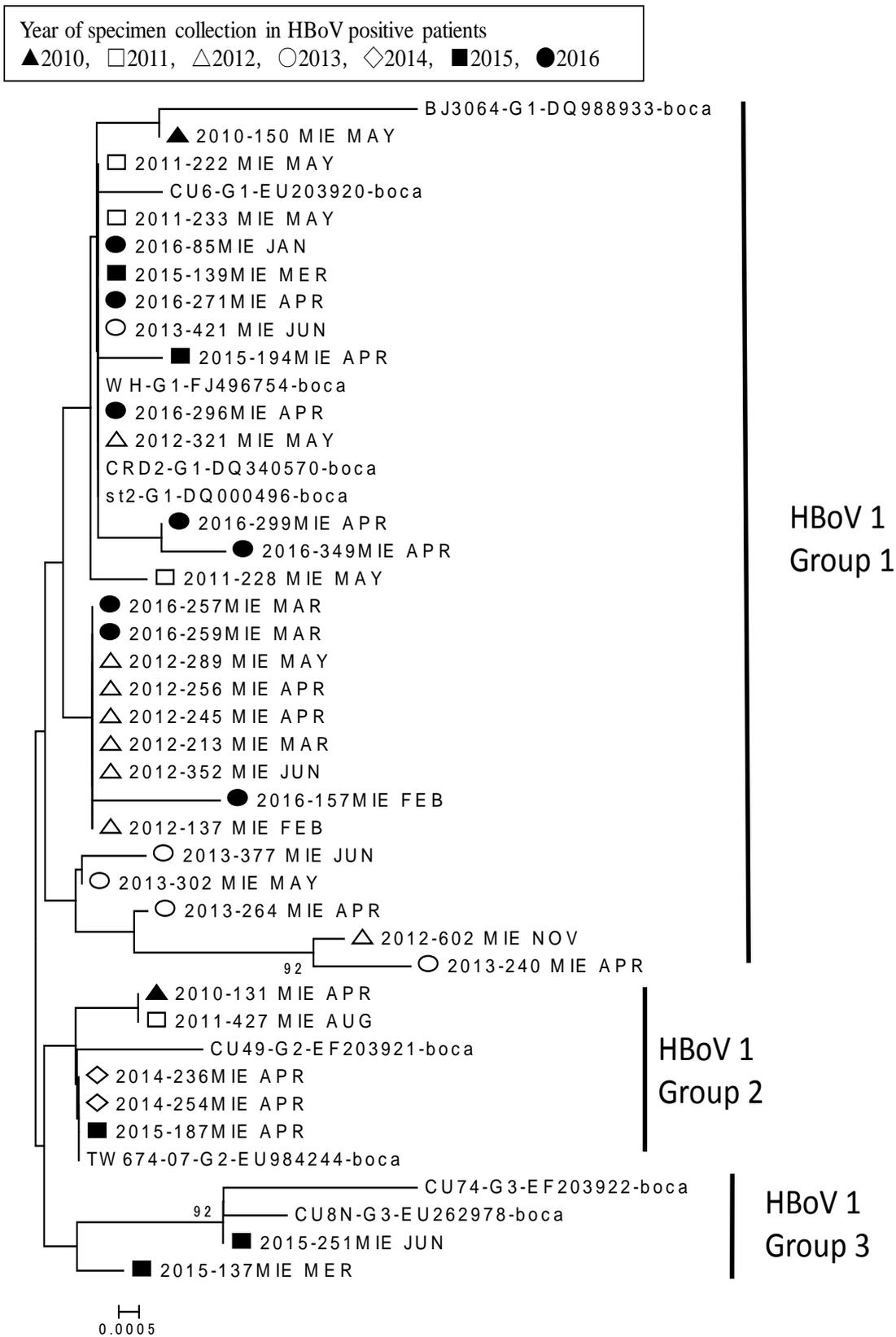


Fig.2. Classification of HBoV1 according to phylogenetic tree analysis (2010–2016)

## 考 察

国立感染症研究所の感染症サーベイランスシステム (NESID) の集計によると、2010～2016年6月までの国内のHBoV陽性者<sup>9)</sup>は1,095名(2016年6月末現在)であった。HBoV調査を実施している自治体数は23府県で、このうち20名以上検出された自治体は12府県と少数の報告であり、依然として国内の患者数および流行像は十分に把握されていないと思われる。本県では2010年からHBoV検査を追加し、継続的な調査を実施しており、2016年6月までの6年半の間に46名(3.5%)からHBoVが検出された。今回、HBoVの流行疫学特性や病原性等について、以下に示す新たな知見を得ることができた。

本調査においてHBoV陽性者46名のうち37名(80.4%)が3～6月に検出されていた。さらに検体採取年別の検出率においても、インフルエンザウイルスの終息後の春から初夏に高い割合で、検出される傾向が認められた。このことは本調査期間中と同時期(2010年1月～2016年6月)のNESIDによるHBoV全国集計<sup>9)</sup>においても1,095名中725名(66.2%)が3～6月に検出されていたことと一致していた。

本研究で解析したHBoV1のGroup1～3の塩基配列相同性は高いものの、HBoV1陽性者(34名)によるHBoV1内のgenotypesについて比較分類したところ、HBoV1のGroup1内には、さらに3つのSubgroupが形成されていた。今後の継続的な調査によってHBoV1-genotypesの変遷などの詳細が判明することで、さらなるHBoVの流行疫学的特徴の究明に繋がるものと思われる。

臨床症状において、様々な呼吸器症状を呈した患児からHBoVが検出されているが、現在、医療機関で迅速検査可能なHBoV簡易診断キットが無く、臨床所見によるHBoVの鑑別は困難である。

本調査において気管支炎、細気管支炎、咽頭炎、喉頭炎等からHBoVが検出されており、中でもHBoV陽性者の65.2%が下気道炎症状を有していたことは、注視すべき呼吸器系感染症の一つと考えられる。さらにHBoV陽性者の37.5℃以上の発熱者は37名(80.4%)で、このうち22名(47.8%)は38.5℃以上であったことから、基礎疾患を有する患児に対する罹患において、考慮されるウイルスであると思われる。

本調査では3歳児以上の年齢からHBoVは検出されておらず、過去の国内外の報告<sup>1,8,25)</sup>と一致した。このことは、6歳児までにHBoV抗体を獲得しているとの報告<sup>26,27)</sup>があることと考え併せ、乳幼児期のHBoV抗体の獲得が、今回のHBoV陽性者の年齢分布との関連性が推察された。

本調査ではHBoVが検出された46名中、他の呼吸器系ウイルスとの重複検出例が24名(52.2%)で確認されている。HBoVと他のウイルスの重複検出における臨床的意義については更なる究明が必要である。HBoV感染症を理解するためには、全国規模のモニタリングを積極的かつ継続的に実施し、流行疫学および患者臨床情報の蓄積が必要であり、今後のHBoV調査の課題であると考えられる。

## 謝 辞

本調査研究を行うにあたり、三重県感染症発生動向調査事業で検体採取を担当された医療機関の諸先生方および関係各位にお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A et al : Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples, *Proc Natl Acad Sci*, **102**, 12891-12896(2005).
- 2) J.Y.Chung, T.H.Han, C.K.Kim, S.W.Kim : Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea, *Emerg Infect Dis*, **12**, 1254-1256 (2006).
- 3) Foulongne V, Olejnik Y, Perez V, Elaerts S et al : Human bocavirus in French children, *Emerg Infect Dis*, **12**, 1251-1253 (2006).
- 4) Sloots TP, McErlean P, Speicher DJ, Arden KE et al : Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children, *J Clin Virol*, **35**, 99-102 (2006).
- 5) Smuts H, Hardie D : Human bocavirus in hospitalized children, South Africa, *Emerg Infect Dis*, **12**, 1457-1458 (2006).
- 6) Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, Shapiro ED et al : Human bocavirus infection in young children in the United States : Molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus, *J Infect Dis*, **19**, 1276-1282 (2006).
- 7) Koseki N, Teramoto S, Kaiho M, Endo Gomi R et al : Detection of human bocaviruses 1 to 4 from nasopharyngeal swab samples collected from patients with respiratory tract infections, *J Clin Microbiol*, **50**, 2118-2121 (2012).
- 8) 改田 厚, 久保英幸, 入谷展弘, 後藤 薫 他 : 乳幼児呼吸器感染症患者からのヒトボカウイルスの検出- 大阪市, 病原微生物検出情報, **29**, 161-162(2008).
- 9) 国立感染症研究所感染症疫学センター : 年別ウイルス検出状況, 由来ヒト, ヘルペス群&その他のウイルス. 2012～2016年 (<http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/iasr/Byogentai/>)

- Pdf/data62j.pdf).
- 10) Moriyama Y, Hamada H, Okada M, Tsuchiya N et al : Distinctive clinical features of human bocavirus in children younger than 2years., *Eur J Pediatr* , **169**, 1087-1092 (2010).
  - 11) Cheng WX, Jin Y, Duan ZJ, Qi HM, et al : Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis, a case-control study, *Clin Infect Dis* , **47**, 161-167 (2008).
  - 12) Jorge Levican, Esteban Navas, Joaquín Orizola, Luis Fidel Avendaño et al : Human bocavirus in children with acute gastroenteritis, Chile, 1985-2010, *Emerg Infect Dis*, **19**, 1877-1880 (2013).
  - 13) 国立感染症研究所：ボカウイルス検査マニュアル 平成21年7月  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/HBoV-manual.pdf>).
  - 14) 矢野拓弥, 前田千恵, 小林章人, 赤地重宏 他 : Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法によるボカウイルス迅速検出法の検討, 三重保環研年報, **15** (通巻第58号), 32-36(2013).
  - 15) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル (第3版) 平成26年9月  
(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/Influenza2014.pdf>)
  - 16) 国立感染症研究所：RSウイルス  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/RS-manual.pdf>).
  - 17) 国立感染症研究所：ヒューマンメタニューモウイルス 平成20年7月  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/hMPV-manual.pdf>).
  - 18) 国立感染症研究所：パラインフルエンザウイルス検査マニュアル 平成21年7月  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/PIV-manual.pdf>).
  - 19) Aguilar J. C, M. P. Pérez-Breña, M. L. Garcia, N. Cruz et al : Detection and identification of human parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4 in clinical samples of pediatric patients by multiplex reverse transcription-PCR, *J Clin Microbiol* , **38**, 1191-1195 (2000).
  - 20) W. Y. Lam, Apple C. M. Yeung, Julian W. Tang, Margaret Ip et al : Rapid multiplex nested PCR for detection of respiratory viruses, *J Clin Microbiol* , **45**, 3631-3640 (2007).
  - 21) Susanna K. P. Lau, Patrick C. Y. Woo, Cyril C. Y. Yip, Herman Tse et al : Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong, *J Clin Microbiol* , **44**, 2063-2071 (2006).
  - 22) 国立感染症研究所：無菌性髄膜炎病原体検査マニュアル  
(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/AsepticMening.pdf>).
  - 23) 国立感染症研究所：ライノウイルス検査マニュアル 平成21年7月  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/RhinoVirus-manual.pdf>).
  - 24) Chieochansin T, Chutinimitkul S, Payungporn S, Hiranras T et al : Complete coding sequences and phylogenetic analysis of Human Bocavirus (HBoV), *Virus Res* , **129** : 54-57(2007).
  - 25) Ma. X. , R. Endo, N. Ishiguro, T. Ebihara et al : Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections , *J Clin Microbiol* , **44**, 1132-1134 (2006).
  - 26) Don M., Soderlund-Venermo M., Valent F., Lahtinen A et al : Serologically verified human bocavirus pneumonia in children. *Pediatr Pulmonol*, **45**, 120-126 (2010).
  - 27) Guido M, Zizza A, Bredl S, Lindner J et al : Seroepidemiology of human bocavirus in Apulia, Italy, *Clin Microbiol Infect* , **18**, E74-76 (2012).

**Epidemiology of outbreak of Human Bocavirus (HBoV)  
and phylogenetic tree analysis in Mie prefecture (January, 2010~June, 2016)**

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA and Shigehiro AKACHI

**Keywords:** acute respiratory infections, human bocavirus, epidemic epidemiology, phylogenetic analysis of gene

Surveillance on trend was conducted to grasp the epidemiology of outbreak of Human Bocavirus (HBoV) for 1,321 patients with pediatric respiratory infectious disease who consulted medical institution in Mie Prefecture. Forty six of 1,321(3.5%) patients were found to be HBoV positive.

HBoV positive patients by collection year were found as follows: n=4 in 2010, n=5 in 2011, n=9 in 2012, n=7 in 2013, n=3 in 2014, n=9 in 2015, and n=9 in 2016(January~June). HBoV positive patients tended to be detected in large number from spring after end of influenza to early summer (May~June). Results of phylogenetic tree analysis in VP1/P2 region of HBoV showed that all HBoVs detected from 2010 to 2016 were classified into HBoV1. At present, it was clarified HBoV1 detected were subdivided from Group1 to Group3 on phylogenetic tree. HBoV infectious disease is still unknown for the most part on epidemiology of outbreak, clinical symptoms, and others. Therefore, National scale monitoring should be actively and continuously conducted and information on outbreak epidemiology and patient clinical state is needed for further understanding of HBoV infectious disease.