Original Article

급성 호흡기 감염으로 입원한 소아에서 분리된 보카바이러스의 계통분석

이화여자대학교 의과대학 소아과학교실*
연세대학교 의과대학 소아과학교실, 세브란스 어린이병원 소아청소년과†

안종균* · 최성열† · 김동수† · 김기환†

Phylogenetic Analysis of Human Bocavirus in Hospitalized Children with Acute Respiratory Tract Infection in Korea

Jong Gyun Ahn, M.D.*, Seong Yeol Choi, M.D.†, Dong Soo Kim, M.D.†, and Ki Hwan Kim, M.D.†

Department of Pediatrics, School of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea*
Department of Pediatrics, Severance Children's Hospital†, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Human bocavirus (hBoV), a recently discovered virus, has been detected in children with respiratory tract infections worldwide. The aim of this study was to analyze the frequency and molecular phylogeny of hBoV in the respiratory samples of children with acute respiratory tract infections in 2010.

Methods: Nasopharyngeal samples were collected from 953 children with lower respiratory tract infections at Severance children's hospital in Korea from January 2010 to December 2010. We applied the multiplex PCR technique for the identification of 12 respiratory viruses from the samples. Among the total specimens, hBoV positive samples were subjected to phylogenetic analysis by sequencing a fragment of the VP1/VP2 gene junction.

Results: hBoV was detected in 141 (14.8%) among 953 patients. The 61.7% of hBoV-positive samples were found to co-exist with other respiratory viruses. The results of phylogenetic analysis showed that all 141 hBoV-positive isolates were identified as hBoV 1, revealing a high similarity among the isolates (>98%).

Conclusion: hBoV 1 with minimal sequence variations circulated in children with acute respiratory infections during 2010. More research is needed to determine the clinical severity and outcomes of the minimal sequence variations. **(Korean J Pediatr Infect Dis 2012;19:71-78)**

Key Words : Human bocavirus, Acute respiratory infections, Phylogenetic analysis

서 론

최근 분자생물학적인 진단방법이 발전함에 따라 이전에는 진단되지 못했던 호흡기 감염을 일으키는 몇 가지 중요한 바이러스들이 새롭게 발견되었다. 여기에는 메타뉴모바이러스(human metapneumovirus, hMPV)[1], 사스-코로나바이러스(severe acute respiratory syndrome-coronavirus, SARS-CoV)[2], 코로나바이러스 NL63 (human coronavirus NL63, HCoV-NL63)[3], 코로나바이러스 HKU1 (coronavirus HKU1, CoV-HKU1)[4] 등이 있고, 보카바이러스(human bocavirus, hBoV)[5]도 이에 속한다. 보카바이러스는 2005년 Allander 등[5]이 스웨덴에서 호흡기 감염을 가진 소아의 호흡기 분비물에서 처음으로 발견한 바이러스이다. 계통 분류학적으로는 *Parvoviridae*과 *Parvovirinae*아과의 bocavirus 속에 속하는 단일 가닥 DNA (single-stranded DNA) 바이러스로서 아미노산 배열이 bovine parvovirus, canine minute 바이러스와 유사하기 때문에 이 두 바이러스의

*이 연구는 2011년 한국 소아감염병학회 일성신약 학술상 연구비 보조에 의해 이루어졌음.
접수 : 2012년 3월 2일, 수정 : 2012년 4월 9일
승인 : 2012년 4월 27일
책임저자: 김기환, 연세대학교 의과대학 소아과학교실
Tel: 02)2228-2050, Fax: 02)393-9118
E-mail: khkim99@yuhs.ac

앞의 이름을 혼합하여 human bocavirus라고 명명되었다. 2005년 첫 보고 이래 세계 많은 연구에서 호흡기 검체 내의 보카바이러스의 존재가 규명되었고 국내에서도 호흡기 감염과 관련된 보카바이러스가 보고된 상태로 지금까지 알려진 바에 의하면 전세계적으로 보카바이러스는 소아 호흡기 감염의 1.5-19%를 차지하는 것으로 알려져 있다[6-8].

2009년에서 2010년 사이 보카바이러스의 다른 3가지 유전자형이 보고되었고, 각각 보카바이러스 2형, 3형, 4형(hBoV2, hBoV3, hBoV4)으로 명명되었다[9-11]. 보카바이러스 2형은 파키스탄의 비폴리오 급성이완성 마비(non-polio acute flaccid paralysis)를 가진 소아의 분변에서 처음 발견되었고[9] 곧이어 3형이 호주의 장염을 가진 환아에서, 4형이 미국, 튀니지, 나이지리아의 설사를 보인 환자들의 분변에서 처음 보고되어[10, 11], 아형에 따라 감염의 형태가 다를 수 있을 것으로 생각된 바 있다. 이후의 연구에 따르면 보카바이러스 2형은 호흡기 분비물에서는 거의 발견되지 않지만 소아의 분변에서는 상당히 많이 발견되는 것으로 보고되었고[9, 10, 12-15], 몇 연구에서는 보카바이러스 2형이 위장관 질환의 발생과 연관성이 있다고 발표하였다[10, 13]. 보카바이러스 3형과 4형은 가장 최근에 발견되었기 때문에 그들의 역학이나 전파, 병인 등에 대한 연구가 거의 없는 실정이다[10-12, 15]. 다만 계통학적으로 보카바이러스 1형보다는 보카바이러스 2형에 더 가깝기 때문에 보카바이러스 2형과 좀더 유사한 생물학적, 병리학적 특성을 갖고 있으리라 추측되고 있다[10, 11].

이렇듯 현재 새롭게 부각되고 있는 보카바이러스의 각 유전자형들에 따른 임상적인 특징에 대한 연구는 부족한 실정으로 국내에서 지금까지 호흡기 감염과 관련된 보카바이러스의 연구도 주로 계절적 발현과 관련된 임상적인 특징에 대한 보고가 중심을 이루었고 유전자 분석을 통한 임상적인 역할과 특징을 규명하는 연구는 드물었다. 따라서 이번 연구에서는 중합효소 연쇄반응(PCR)을 이용한 보카바이러스의 분리 및 유전자 분석을 통하여 2010년 국내에서 유행하였던 보카바이러스의 계통 및 유전적 변이를 알아보고 이와 관련된 보카바이러스의 임상양상을 밝히고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상 및 검체의 채취

2010년 1월부터 2010년 12월까지 세브란스 어린이병원에 하기도 호흡기 감염증으로 입원한 953명의 소아를 대상으로 하였다. 환아의 비인두강에서 멸균된 흡입용 튜브를 점액 흡인기에 연결하여 비인두 흡인물을 채취하였다. 모든 검체는 채취한 후 신속히 검사실로 운반하였고 운반이 지연되는 경우에는 4℃에서 냉장 보관하였다.

2. 다중 중합효소 연쇄반응/역전사 중합효소 연쇄반응(Multiplex PCR/RT-PCR)

채취된 검체로부터 QI Aamp Genomic DNA kit (Qiagen)을 사용하여 제품설명서의 방법에 따라 핵산을 추출 하였다. SolGent Co. (대전, 한국)에서 구입한 Multiplex PCR/RT-PCR kit를 이용하여 보카바이러스를 포함하여 총 12가지 바이러스(아데노바이러스, 호흡기세포융합바이러스, 라이노바이러스, 인플루엔자 바이러스 A형 및 B형, 파라인플루엔자 바이러스 1형, 2형 및 3형, 메타뉴모바이러스, 코로나바이러스 OC43 및 229E, 보카바이러스)를 검출하였다[16]. PCR 반응산물은 2% Agarose gel에서 전기 영동하였고, SolGent Co.에서 제공한 양성 대조물과 같은 347 bp 크기의 증폭 산물이 관찰될 때 보카바이러스 양성으로 판정하였다.

3. 보카바이러스 중합효소 연쇄반응과 염기서열결정(sequencing)

Multiplex PCR/RT-PCR에서 보카바이러스 양성인 검체들을 대상으로 이전의 문헌을 참조하여[11, 17] 보카바이러스 1-4형에 특이적인 VP1/2 유전자 염기서열을 기반으로 하는 시발체를 이용한 중합효소 연쇄반응를 시행하였다. 확인된 PCR 증폭산물을 SolGent Co. (대전, 한국)

에 의뢰하여 염기서열결정(sequencing)을 수행하였다.

4. 유전자 분석 및 계통 분석

염기서열 결정으로 확인된 유전자 서열을 Mega 5.0 프로그램을 이용하여 분석하였다. 분석한 유전자 서열과 NCBI GenBank에 등록되어 있는 세계 여러 지역에서 분리된 보카바이러스 균주들의 유전자 서열을 Clustal W를 사용하여 정렬하였다. 계통분석은 Kimura 2-parameter의 근린결합분석(neighbor-joining: NJ)방법으로 시행하였고 계통수 분지에 대한 지지도를 측정하기 위해서 NJ의 부스트랩(bootstrap) 값을 1,000회 반복하였다.

결 과

1. 보카바이러스 검출 결과

전체 953명 중 141명(14.8%)에서 보카바이러스가 검출되었다. 보카바이러스 양성 환아의 평균연령은 24.1±16.6개월이었고, 남아가 89명(63.1%), 여아가 52명(36.9%)이었다. 전체적으로는 아데노바이러스(26.7%), 라이노바이러스(26.0%), 호흡기융합세포바이러스(17.2%) 다음으로 4번째로 많은 빈도를 차지하였다(Fig. 1). 보카바이러스 양성 검체 141건 중 2개 이상의 바이러스가 확인된 중복 검출은 87건(61.7%)이었다. 보카바이러스와 중복 검출된 바이러스는 라이노바이러스 30건(21.3%), 아데노바이러스 및 라이노바이러스 10건(7.1%), 아데노바이러스 6건(4.3%), 호흡기융합세포바이러스 6건(4.3%)의 순이었다(Table 1).

2. 보카바이러스의 분자계통 분석

총 141건의 보카바이러스 양성 검체의 염기분석 결과 모두 보카바이러스 1형이었고, 보카바이러스 2형, 3형, 4형은 검출되지 않았다. 모든 분리된 보카바이러스 사이의 유전형은 2005년 스웨덴에서 분리된 참조균주(HBoV

Table 1. Distribution of Human Bocavirus Detected

Type of infection	Virus				No. of patients (%)	Subtotal (%)
Single infection	hBoV(only)				54 (38.3)	54 (38.3)
Co-infection	hBoV	hRV			30 (21.3)	
	hBoV	hMPV			15 (10.6)	
	hBoV	ADV	hRV		10 (7.1)	
	hBoV	ADV			6 (4.3)	
	hBoV	RSV			6 (4.3)	
	hBoV	PIV(3)			3 (2.1)	
	hBoV	ADV	RSV		3 (2.1)	
	hBoV	PIV(1)			2 (1.4)	
	hBoV	hRV	hMPV		2 (1.4)	
	hBoV	ADV	RSV	hRV	2 (1.4)	
	hBoV	ADV	hMPV		1 (0.7)	
	hBoV	ADV	hCoV(OC43)		1 (0.7)	
	hBoV	ADV	hRV	hMPV	1 (0.7)	
	hBoV	ADV	hRV	PIV(1)	1 (0.7)	
	hBoV	hMPV	hCoV(229E)		1 (0.7)	
	hBoV	hCoV(OC43)			1 (0.7)	
	hBoV	hRV	IFB		1 (0.7)	
	hBoV	PIV(3)	hRV		1 (0.7)	87 (61.7)
Total					141 (100)	141 (100)

Abbreviations: hBoV, human bocavirus; hRV, human rhinovirus; hMPV, human metapneumovirus; ADV, adenovirus; RSV, respiratory syncytial virus; PIV, parainfluenza virus; hCoV, human coronavirus; IFB, influenza virus type B.

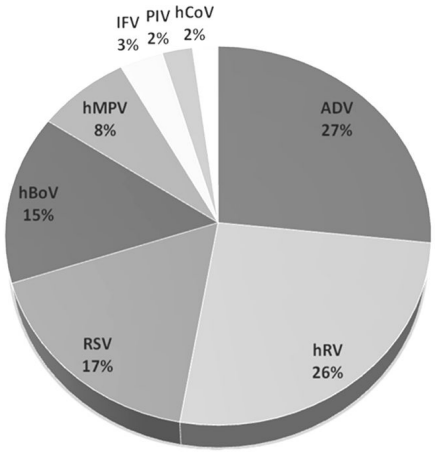

Fig. 1. Distribution of identified respiratory viruses. Abbreviations: ADV, adenovirus; hRV, human rhinovirus; RSV, respiratory syncytial virus; hBoV, human bocavirus; hMPV, human metapneumovirus; IFB, influenza virus type B; PIV, parainfluenza virus; hCoV, human coronavirus.

strain st2, DQ000496)[5]와 98% 이상의 높은 염기유사도를 보였다(Fig. 2). 전체적으로는 576개의 염기서열 위치 중 17개의 염기 위치들이 차이를 보였는데, 이 가운데 15개(88.2%)의 위치는 전이 돌연변이(transition mutation)였고, 2개(11.8%)의 위치는 교차형 돌연변이(transversion mutation)였다. 대부분의 염기 변이는 보존적이었고, 따라서 분리된 모든 보카바이러스 균주들의 아미노산 일치도는 99.48%였다. 변이를 보인 보카바이러스 양성 환아의 역학 및 임상양상은 Table 2에 요약하였으며 개체 수가 적어 변이를 보이지 않은 군과 직접적인 비교를 할 수 없었다.

Table 2. Features of Mutated Human Bocavirus-Positive Patients

Sample number	Sex	Age in month	Diagnosis	Past history and underlying diseases	Respiratory difficulty	Viruses co-detected	WBC ($\times10^3$cells/mm^3)	Neutrophil (%)	CRP (mg/L)	ESR (mm/Hr)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)
ss383	M	27	Pneumonia, Bronchiolitis	None	Present	hRV	15.2	72	5.01	ND	28	10
ss198	F	11	Pneumonia	Prematurity, Congenital heart disease	Present	hRV	13.8	23	6.46	30	18	13
ss395	F	23	Pneumonia	None	Absent	None	33.5	78	113	73	22	7
ss268	F	27	Pneumonia	None	Absent	hMPV	5.2	27	10.5	24	35	16
ss411	M	20	Asthma	Prematurity, Neurological disorder	Present	None	7.4	70	7.92	5	19	6
ss666	M	27	Pneumonia	Prematurity, Neurological disorder	Absent	None	26.4	78	197.18	16	38	27
ss440	M	2	Pneumonia	None	Absent	hRV	11.1	44	4.55	ND	33	29
ss402	M	6	Pneumonia	Neurological disorder	Absent	hRV	11.0	70	34.1	42	24	1
ss396	M	21	Pneumonia	None	Absent	None	10.2	51	52.2	22	25	13
ss511	F	28	Pneumonia	None	Absent	None	8.7	58	1.97	7	27	13
ss334	M	18	Asthma	None	Present	hRV	15.6	60	1.54	20	24	13
ss372	F	9	Pneumonia	None	Absent	None	12.0	41	1.85	14	36	26
ss127	M	25	Pneumonia	None	Absent	hRV	15.8	50	4.06	9	36	12
ss154	M	44	Pneumonia	Neurological disorder	Present	hRV	4.3	63	1.65	2	30	38
ss317	F	16	Pneumonia	IUGR	Absent	hRV	14.7	44	1.62	10	32	14
ss266	F	26	Pneumonia	None	Present	RSV	11.3	75	137	ND	26	11

Abbreviations: WBC, white blood cell; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; M, male; F, female; hRV, human rhinovirus; hMPV, human metapneumovirus; RSV, respiratory syncytial virus; IUGR, intrauterine growth restriction; ND, not done. Respiratory difficulty was defined as tachypnea (breathing >50/minute for infant aged 2 months to <1 year, breathing >40/minute for child aged 1 to 5 years, breathing >20/minute for child aged >5 years) or chest retraction in a calm child or any general danger sign due to dyspnea (unable to drink or breast feed, vomits everything, convulsions, lethargic or unconscious).

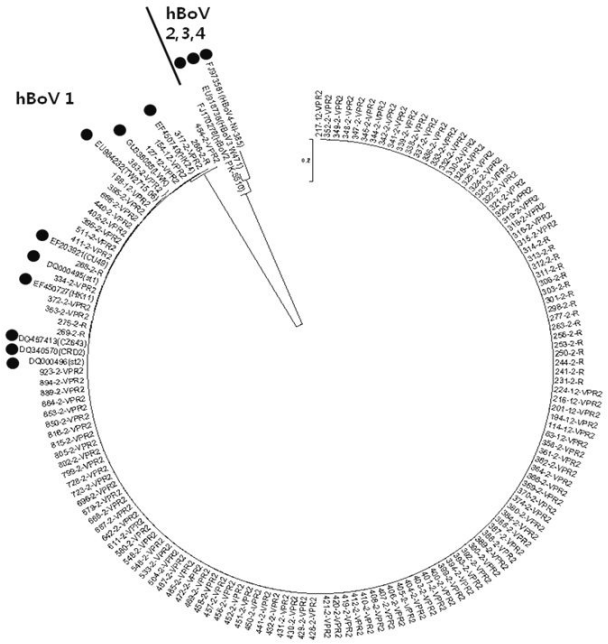

Fig. 2. Phylogenetic analysis of the VP1/VP2 gene junction sequences in hBoV isolates. The topology tree was constructed by the neighbor-joining method using MEGA 5.0. Black dots designate reference strains, the other were sequences analyzed in the present study. GenBank accession no. HBoV2 PK-5510 (FJ170278); HBoV3 W47 1 (EU918736); HBoV4-NI-385 (FJ973561); HK24 (EF4 50740); LWK (GU338055); TW2715_06 (EU984232); CU49 (EF203921; st1 (HBoVstrain st1, DQ000495); HK11 (EF450727); CZ643 (DQ457413); CRD2 (DQ34 0570); st2 (HBoV strain st2, DQ000496).

고 찰

보카바이러스는 2005년의 첫 보고 이후 전세적으로 발견되고 있으며[6-8], 이미 국내에서도 보카바이러스에 대한 몇몇 연구들이 보고된 바 있다[18-22]. 우리 연구에서도 2010년 한 해 동안 보카바이러스는 14.8%가 검출되어 전체 검사 대상이었던 12가지 호흡기 바이러스 중에서 4번째로 많은 빈도로 검출될 만큼 국내에서 호흡기 바이러스의 주요 부분을 차지하고 있음을 보여주었다. 지금까지 국내의 보고에 의하면 소아의 급성 호흡기 질환에서 보카바이러스의 검출율은 4.7-19.1%로 다양하게 보고되고 있으며[18-22] 전 세계적으로도 보카바이러스의 유병율은 보고자마다 큰 차이를 보이고 있다[23]. 이는 대상 환자나 대상 질환과 같은 연구 집단의 특성이나 연구 기간의 차이 때문에 생기는 것으로 여겨진다. 연구마다 이러한 유병율의 차이는 있지만 국내에서도 이제 보카바이러스는 호흡기 감염을 가진 소아에서 빈번하게 검출되고 있기 때문에 앞으로 주요한 호흡기 바이러스로서 비중이 있게 다루어져야 할 것이다.

이번 연구에서 검출된 보카바이러스는 모두 1형이었고, 2형, 3형, 4형은 한 건도 검출되지 않아 2010년 국내 소아에서 호흡기 질환과 관련된 보카바이러스는 1형임을 알 수 있었다. 호흡기 분비물에서 보카바이러스 2형이 일부 검출되었다는 보고가 소수 존재하나 이전 대부분의 연구에서 호흡기 감염증을 가진 환자의 호흡기 검체에서 분리된 보카바이러스는 1형으로 보고하고 있고[9, 10, 12-15, 24] 이는 또한 이번 연구의 결과와도 일치하는 것이다. 지금까지의 연구에 의하면 보카바이러스 2형과 나머지 3형, 4형은 주로 대변 검체에서 발견되고 있는데[9-11] 특히 보카바이러스 2형은 염기서열상 변이가 다양한 것으로 알려지고 있고[10, 14], 위장관염을 가진 환아에서 많이 검출되어서 위장관염과의 관련성을 제시하는 연구결과들이 있다[10, 13]. 이는 이전에 호흡기 분비물에서 소수 검출되었던 보카바이러스 2형이 실제로는 위장관에 존재하고 있다가 호흡기 분비물 채취시 구강 분비물과 오염되면서 나온 결과일수도 있음을 시사한다. 하지만 아직까지 보카바이러스 2형 뿐만 아니라 최근에 발견된 3형과, 4형에 대하여서는 연구가 부족한 실정이므로 향후 이들 아형에 대한 임상적 의미와 역학적 특징들을 밝히는 연구가 진행되어야 할 것이다.

이번에 검출된 보카바이러스 1형의 계통 분석상 염기서열의 변이는 매우 미미하였고 대부분은 동질적인 양상을 보여주었다. 이는 이전에 시행되었던 연구결과와 일치하는 것으로[5, 19, 25-27] 이전 대부분의 결과에서는 주로 높은 동질성을 보여주는 NP-1 유전자를 기반으로 한 염기서열 분석방법이었기 때문에 결과를 해석함에 있어서 제한점을 가지고 있었으나 이번 연구에서는 변이가 심하다고 알려진 VP1/2 유전자를 기반으로 하였음에도 불구하고 균주들 간의 염기서열은 높은 동질성을 보여주었다. 보

카바이러스 1형의 전형적인 균주로 많은 연구에서 인용되는 두 균주들(HBoVstrain st1, DQ000495; HBoV strain st2, DQ000496)도 염기서열이나 단백질 수준에서 99.5%의 동질성을 보이고, 지금까지 여러 연구에서 분리된 보카바이러스 1형들도 염기서열 분석상 이 두 전형균주들과 차이가 거의 없었다[28]. 이와 같이 호흡기 감염을 일으키는 보카바이러스 1형은 DNA 바이러스로서 인플루엔자 바이러스나 라이노바이러스와 같은 RNA 바이러스에 비해 변이가 덜 일어남을 보여주고 있고 이는 보카바이러스 1형에 의한 호흡기 감염증은 매년마다 어떤 일정한 감염의 역학과 임상 증상을 보여주리라는 것을 예측할 수 있다. 실제로 이전에 이루어진 여러 역학조사에서 보카바이러스는 계절적인 유행을 보이는 경우가 많았고[5, 26, 29] 주로는 하기도 감염을 일으키는 것으로 보고되고 있으며[6-8], 소아와는 달리 성인의 호흡기 검체에서는 보카바이러스의 양성률이 매우 낮았다는 점은[5, 7, 21] 이러한 가설들을 간접적으로 뒷받침해주고 있다. 하지만 아직까지 미미한 변이를 보인 균주들에 대한 임상적인 평가가 이루어지지 않았고, 비록 이번 연구에서는 변이를 보인 개체 수가 적어 변이를 보이지 않은 군과 직접적인 비교를 할 수 없었지만 변이를 보인 보카바이러스 양성 환아 16명 중에는 호흡곤란을 보인 경우가 6명으로 나타나 앞으로 이러한 변이들이 갖는 임상적인 중요성에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다.

이번 연구는 하기도 호흡기 감염증을 가진 입원 환자만을 대상으로 하였고 1년 동안의 짧은 기간에 일개 대학병원에서 이루어진 연구이므로 국내 전체의 보카바이러스 감염 실태를 대변하지 못하고 해마다의 변화양상을 보여주지 못한다는 한계점이 있다. 하지만 이러한 제한점에도 불구하고 이번 연구는 2010년 호흡기 감염을 가진 소아의 검체에서 분리된 다수의 보카바이러스에 대한 유전자 분석을 시도함으로써 국내에서 유행하고 있는 균주의 계통 및 유전적 변이를 밝혔다는 점에서 의의가 있다. 이번 연구가 향후 유전자 분석을 통한 보카바이러스의 각 유전자형에 대한 임상적 특징들을 규명하는 데에 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

결론적으로 이번 연구에서 2010년 국내에서 유행한 보카바이러스 호흡기 감염은 모두 보카바이러스 1형에 의한 것으로 나타났고, 동정된 균주들의 염기서열은 동질한 양상을 보였고 변이는 매우 적었다. 아직까지 국내에서 보카바이러스의 변이는 미미한 상태이지만 향후 보카바이러스 호흡기 감염의 유행시 지속적인 유전자형의 추적관찰을 통해 보카바이러스 감염증의 유전자형과 관련된 임상증상과 예후에 대한 다각적인 연구가 필요하다.

요 약

목적: 보카바이러스는 2005년 소아의 비인두 흡입물에서 처음으로 발견된 호흡기 바이러스로서 현재 전세계적으로 발견되고 있고 국내에서도 보카바이러스 호흡기 감염증이 보고되고 있다. 이번 연구는 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 이용한 보카바이러스의 분리 및 유전자 분석을 통하여 2010년 국내에서 유행하였던 보카바이러스의 계통 및 유전적 변이를 알아보고자 하였다.

방법: 2010년 1월부터 2010년 12월까지 세브란스 어린이병원에 하기도 감염증으로 입원한 소아에서 비인두 흡입 검체를 채취하였다. 다중 중합효소 연쇄 반응을 이용하여 12종의 바이러스에 대한 분자진단이 이루어졌고 이 중 보카바이러스 양성인 검체에 대하여 보카바이러스 1-4형에 특이적인 VP1/2 유전자 염기서열을 기반으로 하는 시발체를 이용한 중합효소 연쇄 반응을 시행하여 얻은 증폭산물의 염기서열분석을 확인하여 계통 분석을 시행하였다.

결과: 전체 953명의 소아 중 141명(14.8%)에서 보카바이러스가 검출되었고, 61.7%에서 다른 바이러스와의 중복감염을 보였다. 염기서열분석 결과 모두 보카바이러스 1형으로 확인되었고 보카바이러스 2, 3, 4형은 검출되지 않았다. 검출된 모든 보카바이러스의 염기서열들은 98% 이상의 염기유사도를 보였다.

결론: 2010년 국내에서 유행한 보카바이러스 호흡기 감염은 유전학적으로 모두 보카바이러스 1형에 의한 것이었고, 동정된 균주들은 높은 염기유사도를 보였다. 아

직까지 국내에서 보카바이러스의 변이는 미미한 상태이지만 향후 보카바이러스 호흡기 감염의 유행시 지속적인 유전자형의 추적관찰이 필요하다.

References

1) van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. Nat Med 2001;7:719-24.
2) Drosten C, Günther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt HR, Becker S, et al. Identification of a novel coronavirus inpatients with severe acute respiratory syndrome. N Engl J Med 2003;348:1967-76.
3) van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJ, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. Nat Med 2004;10:368-73.
4) Woo PC, Lau SK, Chu CM, Chan KH, Tsoi HW, Huang Y, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. J Virol 2005;79:884-95.
5) Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. Proc Natl Acad Sci U S A 2005;102:12891-6.
6) Allander T, Jartti T, Gupta S, Niesters HG, Lehtinen P, Österback R, et al. Human bocavirus and acute wheezing in children. Clin Infect Dis 2007;44:904-10.
7) Fry AM, Lu X, Chittaganpitch M, Peret T, Fischer J, Dowell SF, et al. Humanbocavirus: a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand. J Infect Dis 2007;195:1038-45.
8) Bastien N, Brandt K, Dust K, Ward D, and Li Y. Human Bocavirus infection, Canada. Emerg Infect Dis 2006;12:848-50.
9) Kapoor A, Slikas E, Simmonds P, Chieochansin T, Naeem A, Shaukat S, et al. A newly identified bocavirus species in human stool. J Infect Dis 2009;199:196-200.
10) Arthur JL, Higgins GD, Davidson GP, Givney RC, Ratcliff RM. A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children. PLoS Pathog 2009;5:e1000391.
11) Kapoor A, Simmonds P, Slikas E, Li L, Bodhidatta L, Sethabutr O, et al. Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent in enteric infections. J Infect Dis 2010;201:1633-43.
12) Chieochansin T, Kapoor A, Delwart E, Poovorawan Y, Simmonds P. Absence of detectable replication of human bocavirus species 2 in respiratory tract. Emerg Infect Dis 2009;15:1503-5.
13) Chow BD, Ou Z, Esper FP. Newly recognized bocaviruses (HBoV, HBoV2) in children and adults with gastrointestinal illness in the United States. J Clin Virol 2010;47:143-7.
14) Han TH, Chung JY, Hwang ES. Human bocavirus 2 in children, South Korea. Emerg Infect Dis 2009;15:1698-700.
15) Santos N, Peret T, Humphrey C, Albuquerque M, Silva R, Benati F, et al. Human bocavirus species 2 and 3 in Brazil. J Clin Virol 2010;48:127-30.
16) Chun JK, Lee JH, Kim HS, Cheong HM, Kim KS, Kang C, et al. Establishing a surveillance network for severe lower respiratory tract infections in Korean infants and young children. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009;28:841-4.
17) Cheng W, Chen J, Xu Z, Yu J, Huang C, Jin M, et al. Phylogenetic and recombination analysis of human bocavirus 2. BMC Infect Dis 2011;11:50.
18) Choi EH, Lee HJ, Kim SJ, Eun BW, Kim NH, Lee JA, et al. The association of newly identified respiratory viruses with lower respiratory tract infections in Korean children, 2000-2005. Clin Infect Dis 2006;43:585-92.
19) Chung JY, Han TH, Kim CK, Kim SW. Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea. Emerg Infect Dis 2006;12:1254-6.
20) Choi CS, Park CH, Jung K, Lee G, Sun KK, Kim EY, et al. Clinical manifestation of human bocavirus infection in children. Korean J Pediatr Infect Dis 2007;14:136-44.
21) Kim JS, Lim CS, Kim YK, Lee KN, Lee CK. Human Bocavirus in Patients with Respiratory Tract Infection. Korean J Lab Med 2011;31:179-84.
22) Choi JH, Paik JY, Choi EH, Lee HJ. Epidemiologic Characteristics of Human Bocavirus-Associated Respiratory Infection in Children. Korean J Pediatr Infect Dis 2011;18:61-7.
23) McIntosh K. Human bocavirus: developing evidence for pathogenicity. J Infect Dis 2006;194:1197-9.
24) Song JR, Jin Y, Xie ZP, Gao HC, Xiao NG, Chen WX, et al. Novel human bocavirus in children with acute respiratory tract infection. Emerg Infect Dis 2010;16:324-7.
25) Foulongne V, Rodière M, Segondy M. Human bocavirus in children. Emerg Infect Dis 2006;12:862-3.
26) Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, Shapiro ED, Ferguson

D, Landry ML, 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 2006;194:1276-82.
27) Ma X, Endo R, Ishiguro N, Ebihara T, Ishiko H, Ariga T, et al. Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections. J Clin Microbiol 2006;44:1132-4.
28) Chow BD, Esper FP. The human bocavirus: a review and discussion of their role in infection. Clin Lab Med 2009;29:695-713.
29) Naghipour M, Cuevas LE, Bakhshinejad T, Dove W, Hart CA. Human bocavirus in Iranian children with acute respiratory infections. J Med Virol 2007;79:539-43.