

Kristian Koristo

ANTIGEENIN OSOITUKSELLA TODETUN BOKAVIRUSINFEKTION
EPIDEMIOLOGIA JA TAUDINKUVA

Syventävien opintojen kirjallinen työ
Kevätlukukausi 2019

Kristian Koristo

ANTIGEEENIN OSOITUKSELLA TODETUN BOKAVIRUSINFEKTION
EPIDEMIOLOGIA JA TAUDINKUVA

Turun yliopisto
Lääketieteellinen tiedekunta
Kliininen laitos, Lastentautioppi
Kevätlukukausi 2019
Vastuhenkilö: LT, professori Ville Peltola

*Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin
OriginalityCheck -järjestelmällä.*

Bokavirus on tunnistettu lasten hengitystieinfektioiden aiheuttajaksi, mutta suurin osa kliinisistä tutkimuksista on tehty PCR-diagnostiikalla, joka on ongelmallinen, koska bokavirus jää elimistöön pitkäksi aikaa infektion jälkeen. Tässä tutkimuksessa kuvattiin antigeenin osoituksella diagnosoidun lasten bokavirusinfektion epidemiologinen esiintyvyys ja taudinkuva.

Tutkimuksen aineiston muodostivat TYKS:n lasten päivystyspoliklinikalla 16.2.2015 – 5.4.2018 välisenä aikana nenänielunäytteen MariPOC-antigeeninosoitustestillä todetut bokaviruspositiiviset lapset. Potilastietojärjestelmästä haettiin heidän taustatietonsa, kliiniset tietonsa sekä laboratoriotestien ja kuvantamistutkimusten tulokset.

Bokaviruspositiivisia lapsia oli 44 (1,2 %) 3685:stä antigeeninosoitustestillä tutkitusta lapsesta. Viidestä (11 %) näytteestä löytyi MariPOC-testillä toinen virus bokaviruksen lisäksi. MariPOC-bokaviruspositiivisille lapsille tehdyistä 14 (32 %) PCR-tutkimuksesta kaikissa bokavirus oli positiivinen. Bokavirusinfektioiden ilmaantuvuus painottui talviaikaan marraskuun ja maaliskuun välille. Bokavirusinfektiota sairastavien lasten mediaani-ikä oli 1,34 vuotta. Jokin perussairaus oli todettu 13/44 (30 %) lapsella ja keskосуus 13/39 (33 %) lapsella, eli yhteensä 23 (52 %) lapsella oli taustalla krooninen sairaus tai keskосуus. Tyypillisiä taudinkuvia olivat obstruktiivinen bronkiitti (57 %) ja keuhkokuume (18 %), ja välikorvatulehdus todettiin 18 %:lla. Sairaala hoitoa tarvitsi 31 potilasta (70 %) ja heistä hoitoa teho-osastolla 7 potilasta (23 %).

Äkillinen bokaviruksen aiheuttama hengitystieinfektio on pienten lasten tauti, joka tässä aineistossa oli usein varsin vaikeaoireinen. Perussairaudet ja keskосуus altistavat vaikealle bokavirusinfektioille. MariPOC-testi vaikuttaa olevan nopea, luotettava ja hyvin päivystyskäyttöön sopiva testi bokaviruksen osoittamiseen.

Asiasanat: antigeenitesti, bokavirus, hengitystieinfektio, keuhkokuume, obstruktiivinen bronkiitti

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	3
1.1	Hengitystieinfektioiden epidemiologia.....	3
1.2	Bokavirus ja sen esiintyvyys	3
1.3	Diagnostiikka ja merkitys taudinaiheuttajana.....	4
1.4	Taudinkuvat.....	7
1.5	Preventio ja hoito	7
2	AINEISTO JA MENETELMÄT	8
2.1	Aineisto	8
2.2	Diagnostiset menetelmät.....	8
2.3	Tutkimuslupa, eettiset kysymykset ja tilastollinen käsittely.....	9
3	TULOKSET	9
3.1	Viruslöydökset.....	9
3.2	Epidemiologia.....	10
3.3	Demografiset tiedot ja perussairaudet.....	11
3.4	Kliiniset tiedot ja laboratorioarvot	12
3.5	Hoito ja diagnoosit.....	13
4	POHDINTA.....	15
5	LÄHTEET.....	17

1 JOHDANTO

1.1 Hengitystieinfektioiden epidemiologia

Hengitystieinfektiot ovat johtava infektiosyy kuolemiin maailmanlaajuisesti (Martin *et al.*, 2010), ja niistä yleisimpänä keuhkokuume on välittömänä kuolinsyynä 15 %:iin alle 5-vuotiaiden kuolemista (Liu *et al.*, 2016). Suomessa lapset sairastavat keskimäärin 6 hengitystieinfektiota vuodessa ensimmäisen kahden elinvuotensa aikana ja sen jälkeen vielä 2–3 infektiota vuodessa (Toivonen *et al.*, 2016). Infektiot ovat yleisin syy lasten sairaalahoidoille ja käynneille terveyskeskusvastaanotoilla ja ne kattavat noin kolmasosan lasten sairausvastaanottokäynneistä. Päivähoito on hengitystieinfektioiden riskitekijä ja niiden sairastaminen keskittyy ensimmäiseen kuuteen kuukauteen päivähoiton aloituksesta (Schuez-Havupalo *et al.*, 2017). Päiväkotilasten tutkimuksessa noin 60 % oli poissa päivähoidosta infektion takia kolmen kuukauden aikana. (Liu *et al.*, 2016). Suurimman osan lasten hengitystieinfektioista aiheuttavat virukset, joista yleisimpänä on rinovirus.

1.2 Bokavirus ja sen esiintyvyys

Bokavirus (HBoV) on vuonna 2005 löydetty pieni DNA-virus, joka kuuluu Parvovirusten sukuun (Qiu, 2017). Ihmisen bokaviruksia on tunnistettu 4 eri tyyppiä, joista vain tyyppi 1 (HBoV1) on hengitystieinfektioita aiheuttava virus. Sitä on löydetty hengitystienäytteistä ja seerumista hengitystieinfektioita sairastavilta lapsilta PCR-menetelmällä, ja joissakin tutkimusaineistoissa infektio on varmennettu serologisella testillä tai viruksen lähetti-RNA:n (mRNA) PCR-testillä (Christensen *et al.*, 2010; Kantola *et al.*, 2011; Schlaberg *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017).

Vasta-aineet HBoV2-4:ää vastaan vaikuttavat olevan heikompia kuin HBoV1:tä vastaan, mutta kaikki neljä virustyyppiä ovat serologisesti ristireagoivia. HBoV1-4 eroavat toisistaan geneettisesti vain 11–23 % (Hedman *et al.*, 2015). Eri HBoV-tyyppien yleisyys potilasaineistoissa on järjestyksessä HBoV1, HBoV2, HBoV3 ja HBoV4 (Kantola *et al.*, 2011). Erästä pitkäkestoisesta tutkimuksesta löytyi useita tapauksia, joissa kaksi tai kolme tyyppien 1-3 bokavirusta todettiin samanaikaisesti (Hedman *et al.*, 2015).

Hengitystieinfektiota sairastavien lasten nenänielunäytteistä on bokavirus todettu eri tutkimuksissa 2–20 %:lla (Christensen *et al.*, 2010; Qiu, 2017; Nascimento-Carvalho

et al., 2018). Bokaviruksen kanssa yhdessä löytyi jokin muukin virus 50–83 % tapauksista (Martin *et al.*, 2010; Toivola, 2015; Qiu, 2017; Nascimento-Carvalho *et al.*, 2018). Muista viruksista yleisimmät olivat rino-, entero-, adeno- ja respiratory syncytial-virus (RSV) (Christensen *et al.*, 2010). Eräässä tutkimuksessa 20 %:lla lapsista, joilla todettiin HBoV1 ja jokin muu virus PCR:llä, pystyttiin serologisesti varmistamaan HBoV1-infektio (Nascimento-Carvalho *et al.*, 2018). Oireettomien pienten lasten nenänielunäytteissä HBoV1:n prevalenssi on PCR:llä tutkittaessa ollut yllättävän korkea, 10–40 % (Christensen *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2010; Toivola, 2015), eikä siinä ole ollut eroa oireettomien ja oireisten lasten välillä (Martin *et al.*, 2010). Seropositiivisia oli 3-vuotiaista 70–90 %, josta voi päätellä aiemman infektion mahdollisesti antavan immuniteetin (Christensen *et al.*, 2010). Toisessa tutkimuksessa 5-15-vuotiailla lapsilla HBoV1:n seroprevalenssi oli 84 % (Kantola *et al.*, 2011). Myös tästä tutkimuksesta saatiin tukea sille, että HBoV1:n aiheuttaman primaari-infektion jälkeen useimmille lapsille jää suojaava taso vasta-aineita (Wagner *et al.*, 2016). Toisaalta koska serologisia menetelmiä häiritsee HBoV1-4:n ristireagointi ja PCR-menetelmää pitkä erityisaika, niin vielä ei ole tutkimustietoa, joka osoittaisi immuniteetin kehittymistä tai uusintainfektioiden esiintymistä varmuudella. Selvää kausivaihtelua ei bokaviruksella ole dokumentoitu (Christensen *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2010; Schlaberg *et al.*, 2017). Antigeenin osoitukseen ja mRNA-määrittelyyn perustuen aktiivin HBoV1-infektion keston arvioitiin nuorilla lapsilla olevan alle yhden viikon, mutta inkubaatioaikaa ei ole tarkasti määritetty (Xu *et al.*, 2017).

1.3 Diagnostiikka ja merkitys taudinaiheuttajana

Useimmat ja varsinkin vanhemmat HBoV1:n epidemiologian ja taudinkuvan tutkimukset perustuvat hengitystienäytteiden kvalitatiivisella PCR:llä tehtyyn diagnostiikkaan. Tällainen diagnostiikka on ongelmallinen, koska bokavirus jää elimistöön infektion jälkeen jopa vuodeksi (Wagner *et al.*, 2016; Qiu, 2017; Schlaberg *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017) ja voi tulla esiin muun virusinfektion yhteydessä, mikä on johtanut aiemmin raportoituihin suuriin prevalensseihin. Bokavirukseen taudinaiheuttajana viittaavat suuri virusmäärä, muiden virusten negatiiviset löydökset, positiivinen PCR seerumissa tai plasmassa ja lähetti-RNA-PCR:n positiivisuus (Christensen *et al.*, 2010, 2013; Xu *et al.*, 2017). Kvalitatiivinen PCR ei siis yksinään erota akuuttia HBoV-infektiota sen jälkeisestä tilanteesta, jossa on ilmeisesti kyse HBoV:n DNA:n erittymisestä aiemmin infektoituneista soluista (Wagner *et al.*, 2016;

Schlaberg *et al.*, 2017). Useimmat muut yleiset hengitystieinfektiovirukset erittyvät enintään noin 10 päivää, mutta adenovirusta eritetään pitkään, jopa yli 200 päivää (Wagner *et al.*, 2016). Boka- ja adenovirus ovat DNA-viruksia ja niillä voi siksi esiintyä pitkäaikaisempaa säilymistä elimistössä. Useimmat hengitystievirukset ovat RNA-viruksia eivätkä jää elimistöön. Rinoviruksen erityis kestää yleensä vain 1-2 viikkoa, ja jos rinovirus todetaan toistetusti pitkän ajan kuluessa, on yleensä kyse peräkkäisistä eri rinovirustyyppien aiheuttamista infektiosta eikä saman tyyppin pitkäkestoisesta erityksestä.

Joillakin lapsilla primaarinen HBoV2-3 infektio voi aiheuttaa systeemisen infektion merkkejä, kuten viremian ja vahvan IgG-vasteen. Nämä viremiot ovat kuitenkin harvinaisia, lyhyitä ja matalatasoisia, ja IgG-vaste on yleensä heikompi ja lyhytkestoisempi verrattuna HBoV1:een. Lisäksi hyvin matalat äidiltä saadun IgG:n tasot HBoV2-3:a vastaan vauvoilla tukevat käsitystä aikuisten matalista ja jopa mittaamattomista IgG-tasoista. (Kantola *et al.*, 2015). HBoV2-3-virusten diagnostiikka ei ole kliinisessä rutiinikäytössä, koska näiden virusten merkitys taudinaiheuttajina on epäselvä ja luultavasti vähäinen.

Suuri bokaviruksen DNA:n määrä hengitystienäytteissä ja muiden samanaikaisten viruslöydösten puuttuminen viittavat HBoV1:een hengitystieinfektion aiheuttajana (Christensen *et al.*, 2013). PCR:llä todetulla suurella bokavirusmäärällä on osoitettu yhteys akuuttiin ja vakavampaan tautiin, mutta viruksen kopiomäärissä on paljon vaihtelua lasten välillä ja päällekkäisyyttä verrokkilasten kanssa (Schlaberg *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017). Virusmäärä oli $>10^6$ kopiota/ml useimmilla alahengitystieinfektiota sairastavilla lapsilla, mutta osalla terveistä verrokkilapsistakin. Hyvin korkea virusmäärä ($>10^8$ kopiota/ml) todettiin vain alahengitystieinfektiota sairastavilla lapsilla. (Christensen *et al.*, 2010).

Akuutissa bokavirusinfektiossa voi esiintyä lyhytkestoinen viremia (Christensen *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2017). Viremia löytyi 45 %:lla hengitystieinfektiota sairastavilta eikä yhdeltäkään verrokkilapselta, ja lähes pelkästään alle 2-vuotiailta, eli viremia hyvin todennäköisesti kertoo akuutista infektiosta (Christensen *et al.*, 2010).

Seerumista voidaan määrittää bokaviruksen IgM- ja IgG-vasta-aineita ja IgG:n aviditeettia (antigeenin ja vasta-aineen välinen sidosvoima). Serokonversio tarkoittaa seerumin spesifien vasta-aineiden ilmaantumista tai niiden määrän merkittävää muutosta pariseeruminäytteissä. Ongelmana on HBoV1:n ristireagointi HBoV2-3:n

kanssa, jonka vuoksi HBoV1-infektio voi olla vaikea havaita serologisesti, jos henkilöllä on immuniteetti HBoV2-3:a vastaan entuudestaan. Ristireagoinnin poissulkemiseen tarvitaan erikoismenetelmiä, ja bokavirusserologia ei olekaan rutiininomaisessa kliinisessä käytössä. Tutkimustyössä pariseeruminäytteiden IgM- ja IgG-määrittäminen perustuvaa serologiaa on pidetty tarkimpana tapana diagnosoida HBoV1-infektio, myös verrattuna mRNA-määrittäminen. (Nascimento-Carvalho *et al.*, 2018). Serologisilla tutkimuksilla on osoitettu, että 80 %:lla 6-vuotiaista lapsista on IgG-vasta-aineita HBoV1:tä vastaan. Suurimmalla osalla lapsista, joilla oli akuutti HBoV1-infektio, IgG oli negatiivinen, mutta IgM positiivinen jo ensimmäisessä seeruminäytteessä, joka oli otettu alle 2 vuorokautta kuumeen alusta. IgM-positiivisuus voi säilyä kuukausia ja jopa vuoden ajan. (Xu *et al.*, 2017). Näin ollen IgM-positiivisuutta kertanäytteestä ei voi pitää varmana merkinä akuutista infektiosta. HBoV1-IgM:n ilmaantuminen viikon kuluessa oireiden alusta sopii hyvin yhteen mRNA-löydösten kanssa. Serologiset menetelmät sopivat primaari-infektioiden toteamiseen, mutta uudelleen sairastetun bokavirusinfektion serologinen osoitus on vaikeaa. Sekundaarinen IgG-vaste HBoV1:lle on tyypillisesti heikko verrattuna primaariseen IgG-vasteeseen ja spesifiä IgM-vastetta ei useinkaan tule lainkaan. (Kantola *et al.*, 2015).

HBoV1:n mRNA:ta ajatellaan tuotettavan vain viruksen kahdentumisessa (replikaatio) ja se luultavasti häviää nopeasti elimistöstä (Xu *et al.*, 2017). Tästä ei ole täyttä varmuutta, eikä myöskään tiedetä, johtuuko pitkittynyt HBoV1:n DNA:n positiivisuus hengitystienäytteissä viruksen jatkuvasta aktiivisesta kahdentumisesta vai vain passiivisesta virusten pääsemisestä pois kudoksesta. Kuitenkin mRNA on ilmeisesti positiivinen vain akuutin bokavirusinfektion aikana. Muita hengitystieviruslöydöksiä löytyy tällöin vain harvoin, PCR:llä määritetty virusmäärä on suuri, ja muilla parvovirusilla tehdyt tutkimukset myös tukevat tätä. (Schlaberg *et al.*, 2017). Kaikilla oireettomilla HBoV1-DNA-positiivisilla lapsilla mRNA oli negatiivinen, joten HBoV1:n DNA:n aktiivinen kopioituminen RNA:ksi (transkriptio) on vahvassa yhteydessä hengitystieinfektioon (Christensen *et al.*, 2013).

Bokavirus on mukana monianalyttisessä respiratoristen virusten MariPOC-antigeenitestissä. Kokousesityksen mukaan HBoV1:n antigeenitestin ja mRNA-määrittäksen tulokset korreloivat hyvin toisiinsa (Toivola, 2015). Kaikissa antigeeni- ja mRNA-positiivisissa näytteissä virusmäärä oli DNA-PCR:llä määritettynä yli 10e7 kopiota/ml. Antigeenitesti vaikutti lähestyvän mRNA-testiä sekä herkkyydessä että

tarkkuudessa ja olevan nopea ja luotettava testi akuutin HBoV1-infektion osoittamiseksi.

1.4 Taudinkuvat

Diagnostiikan vaikeuden vuoksi bokavirusinfektion todellinen epidemiologia ja taudinkuvat ovat epäselviä. Tutkimukset kuitenkin viittaavat siihen, että HBoV1 on merkittävä alahengitystieinfektioiden aiheuttaja. Lähetti-RNA-PCR:llä varmennetuilla potilailla tyypillisiä taudinkuvia olivat keuhkokuume ja obstruktiivinen bronkiitti, mutta aineistot olivat valikoituja (Christensen *et al.*, 2013; Schlaberg *et al.*, 2017).

Kotisyntyistä keuhkokuumetta sairastavista lapsista HBoV1-mRNA-positiivisia oli 4,3 %, kun terveistä verrokkilapsista positiivisia oli 0,5 % (Schlaberg *et al.*, 2017). Keuhkokuumepotilaista 32 %:lla oli jokin perussairaus. Myös toinen tutkimus tuki vahvasti sitä, että HBoV1 aiheuttaa lasten keuhkokuumetta (Nascimento-Carvalho *et al.*, 2018). Puolessa tämän aineiston tapauksista sairaus ei ollut kliinisesti vakava eikä tarvittu sairaalahoitoa. Tutkijoiden mukaan HBoV1 voi olla keuhkokuumeen taudinaiheuttaja myös silloin, kun samaan aikaan löytyy muita viruksia.

Kahdessa tutkimuksessa on löydetty HBoV1:n yhteys akuuttiin välikorvatulehdukseen ja erityisesti ainoana hengitystieinfektion taudinaiheuttajana myös komplisoituneeseen välikorvatulehdukseen (Beder *et al.*, 2009; Nokso-Koivisto *et al.*, 2014; Wagner *et al.*, 2016). Esimerkiksi yhdessä tutkimuksessa 53 %:lle HBoV1-positiivisista hengitystieinfektiota sairastavista lapsista kehittyi välikorvatulehdus (Wagner *et al.*, 2016). On myös esitetty, että HBoV1 voi vaikeuttaa välikorvatulehduksen oireita ja pidentää niiden kestoja, vaikka se ei olisikaan ainoa taudinaiheuttaja (Beder *et al.*, 2009).

1.5 Preventio ja hoito

Bokavirusta vastaan ei ole rokotetta, joten ennaltaehkäisy on muiden hengitystievirusten kaltaisesti hyvä käsihygienia ja mahdollisuuksien mukaan riskitekijöiden välttäminen. Bokavirusinfektioon ei ole spesifisiä lääkityksiä, vaan hoito on oireenmukaista, kuten suurimmalla osalla hengitystieviruksista. Obstruktiivista bronkiittia voidaan hoitaa keuhkoputkia avaavalla inhaloitavalla beeta₂

sympatomimeetilla, astman vaikeutumista kortikosteroidilla suun kautta, ja tarvittaessa annetaan lisähappea.

2 AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1 Aineisto

Kävimme retrospektiivisesti läpi TYKSin lasten päivystyspoliklinikan 16.2.2015 – 5.4.2018 välisenä aikana tehtyjen MariPOC-testien tulokset (3685 kappaletta) ja tunnistimme bokaviruspositiiviset potilaat (44 lasta). Lasten päivystyspoliklinikka on erikoissairaanhoidon yksikkö, jonne potilaat tulevat pääosin lähetteellä avohoidon päivystyspisteistä ja osaksi suoraan kotoa äkillisten vaikeiden oireiden vuoksi. Noin vuoden 2015 ajan bokavirus oli mukana MariPOC respi -paneelissa testikäytössä ja vuoden 2016 alkupuolelta asti rutiininomaisena osana paneelia, jolloin tulokset tallentuvat testilaitteeseen automaattisesti. Vuodelta 2015 tietolähteenä oli poliklinikalla käsin pidetty kirjanpito ja sen jälkeen laitteeseen tallennetut näytetiedot. Näistä tietolähteistä löydettyjen ja tunnistettujen bokaviruspositiivisten potilaiden tarkemmat kliiniset tiedot, laboratoriotestien tulokset ja kuvantamistutkimusten tulokset kerättiin potilastietojärjestelmästä.

2.2 Diagnostiset menetelmät

TYKSin lasten ja nuorten klinikan päivystyspoliklinikalla on jo pitkään käytetty nopeaa, automatisoitua ja monianalyyttistä respiratoristen virusten antigeenin osoitustestiä (MariPOC, Arcdia), joka perustuu kaksoisfotonivirriteiseen fluoresenssitekniikkaan. Testi tehdään rutiininomaisesti hengitystieinfektion vuoksi osastohoitoon otettaville lapsille ja lääkärin harkinnan mukaan osalle poliklinikalta kotiin pääsevistä lapsista. MariPOC-testiin lisättiin bokaviruksen antigeenin osoitus vuonna 2015. Bokaviruksen tunnistaminen perustuu viruksen kapseliproteiiniin. Muut MariPOC-testiin sisältyvät virukset ovat adenovirus, koronavirus, metapneumovirus, influenssa A ja B, parainfluenssavirukset 1, 2 ja 3 sekä RS-virus.

Osalle näytteistä tehtiin respiratoristen virusten semikvantitatiivinen (+ - +++) multiplex-PCR (ResVirNho), jossa on mukana 16 virusta: adenovirus, influenssavirukset A ja B, parainfluenssavirukset 1, 2, 3 ja 4, RS-virukset A ja B, rinovirus, ihmisen

metapneumovirus, koronavirukset V229E, NL63 ja OC43 sekä enterovirus ja bokavirus.

Joillekin potilaille tehtiin seerumin tai plasman boka-PCR, joka on kvalitatiivinen (positiivinen/negatiivinen).

2.3 Tutkimuslupa, eettiset kysymykset ja tilastollinen käsittely

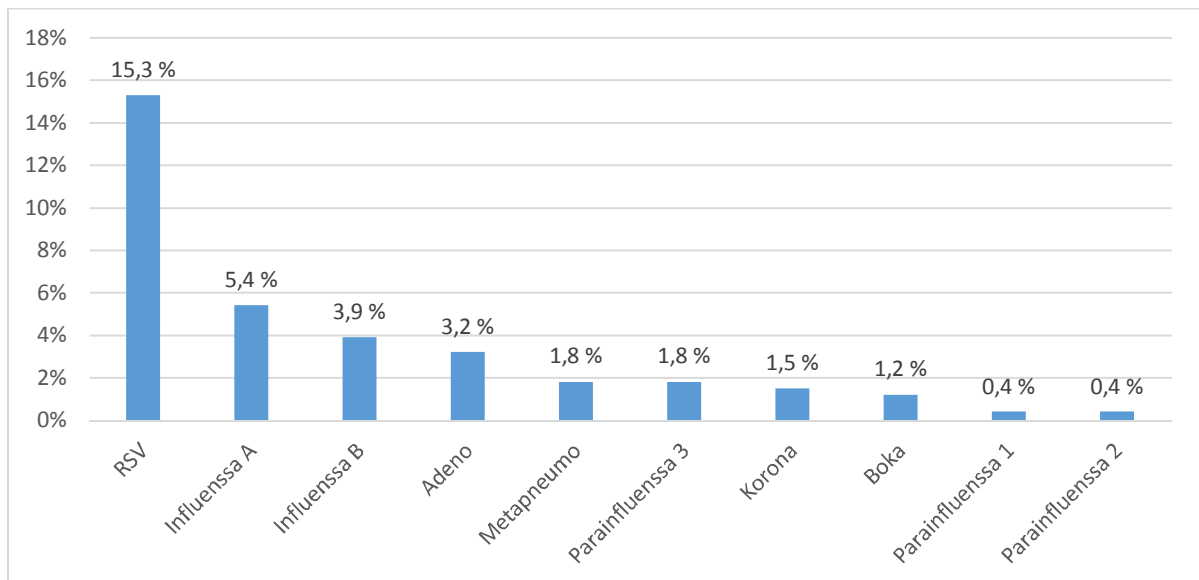
Tutkimukselle myönnettiin VSSH:n tutkimuslupa. Eettisen toimikunnan käsittelyä ei tarvittu, koska kyseessä oli retrospektiivinen normaalin sairaanhoidon yhteydessä kerättyjen tietojen analyysi.

Aineiston tilastollinen käsittely oli deskriptiivinen. CRP-tulosten tilastollisessa käsittelyssä pikamääritysten tulokset <5 mg/l muutettiin arvoksi 5 mg/l.

3 TULOKSET

3.1 Viruslöydökset

MariPOC:lla testattiin tarkasteluaikana 16.2.2015 - 5.4.2018 yhteensä 3685 lasta, joista viruspositiivisia oli 33,5 %. Koko aineistosta bokaviruspositiivisia oli 44 potilasta (1,2 %). MariPOC-testillä löytyi RSV:tä selvästi eniten (15,3 %), ja seuraavaksi yleisimpiä löydöksiä olivat influenssavirukset A (5,4 %) ja B (3,9 %) sekä adenovirus (3,2 %). Lisäksi 1,3 %:lla kaikista potilaista todettiin vähintään 2 virusta yhtä aikaa. Kuvassa 1 on esitetty tarkemmin eriteltynä virukset ja niiden prosenttiosuudet. Viidessä 44:stä bokaviruspositiivisesta näytteestä löytyi MariPOC-testillä myös jokin muukin virus; kahdessa RSV, kahdessa metapneumovirus ja yhdessä RSV, parainfluenssavirus 2 ja koronavirus.

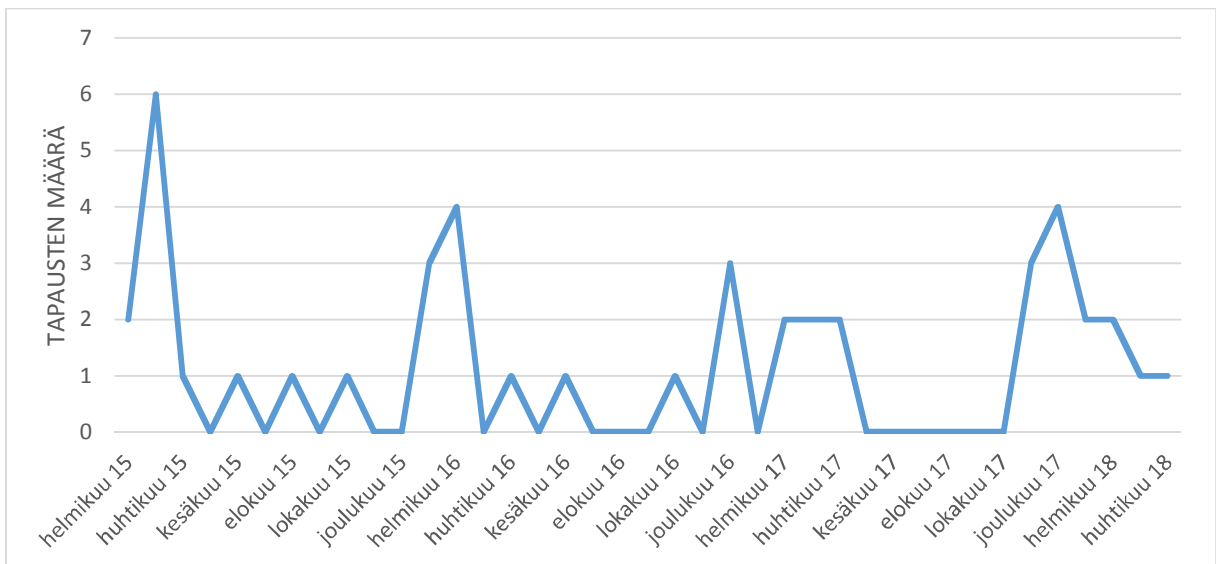


Kuva 1. Eri virusten osuudet MariPOC-tuloksista.

MariPOC-antigeenitestillä bokaviruspositiiviseksi todetuista 44 potilaasta 14:lle (32 %) tehtiin myös bokaviruksen sisältävä PCR-tutkimus. Näistä 12:lle tehtiin nenän limakalvonäytteestä ResVirNho, joissa kaikissa bokavirus oli positiivinen. Semikvantitatiivisen analyysin tulos oli 10 potilaalla +++, yhdellä ++ ja yhdellä +. Bokaviruksen lisäksi löytyi rinovirus viidestä näytteestä ja sen määrä oli yhdessä näytteessä +++, kolmessa ++ ja yhdessä +. Lisäksi yhdessä tapauksessa todettiin PCR:llä adenovirus (+), joka ei näkynyt MariPOC:ssa. Kahdelle potilaalle tehtiin seerumin tai plasman bokavirus-PCR ja molemmat olivat positiivisia.

3.2 Epidemiologia

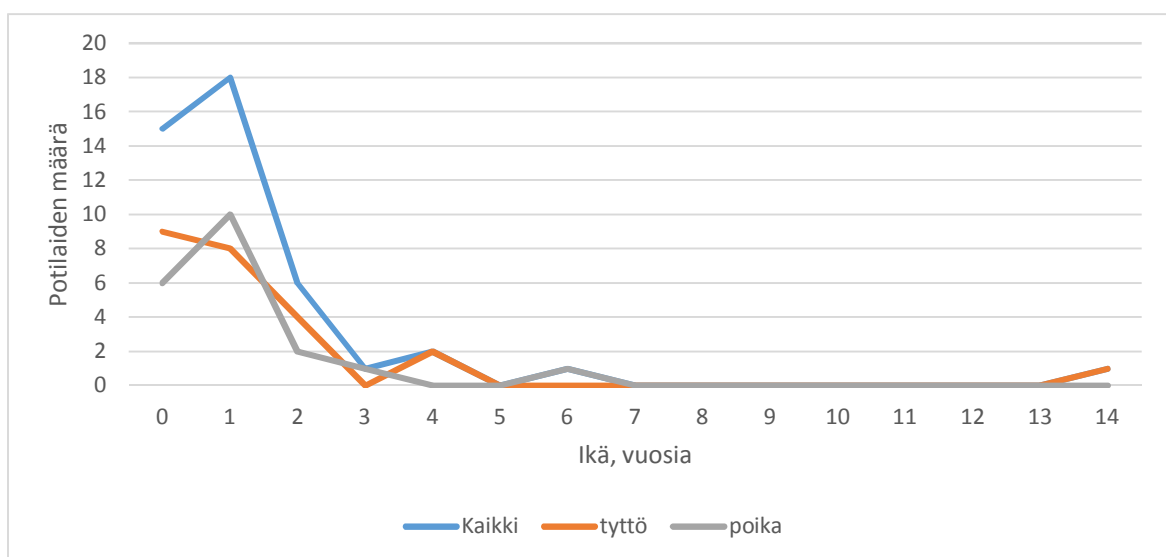
Bokaviruslöydöksiä esiintyi satunnaisesti ympäri vuoden, mutta vuosittainen esiintyminen painottui 1-3 kk pituiselle ajanjaksolle vaihdellen marraskuun ja maaliskuun välillä. Kuvassa 2 on esitetty bokaviruspositiiviset tapaukset kuukausittain tutkimusjakson ajalta.



Kuva 2. Bokaviruspositiiviset tapaukset kuukausittain tutkimukseen sisällyneeltä kolmen vuoden ajanjaksolta.

3.3 Demografiset tiedot ja perussairaudet

Bokaviruspositiivisista lapsista 89 % oli alle 3-vuotiaita. Kuvassa 3 näkyy lasten ikä- ja sukupuolijakauma vuosittain. Iän keskiarvo oli 1,84 vuotta, mutta koska aineistossa yksi 14-vuotias oli selvästi muita vanhempi, oli iän mediaani pienempi, 1,34 vuotta. Sukupuolijakauma oli melko tasainen, tyttöjä oli 24 ja poikia 20. Potilaista 13/39 (33 %) oli syntynyt keskosenä ennen raskausviikkoa 37. Viidestä potilaasta tätä tietoa ei ollut saatavilla.



Kuva 3. Potilaiden jakautuminen iän ja sukupuolen mukaan.

Vähintään yksi muu perussairaus kuin keskosuus oli 13 potilaalla (30 %), joista 2 potilaalla oli sekä kardiologinen että neurologinen sairaus. Kun lasketaan perussairaudeksi myös keskosuus (syntymä ennen raskausviikkoa 37), oli perussairaita 23 (52 %). Taulukossa 1 esitetään tarkempi perussairauksien erittely.

Taulukko 1. Eri perussairauksien kokonaismäärät.

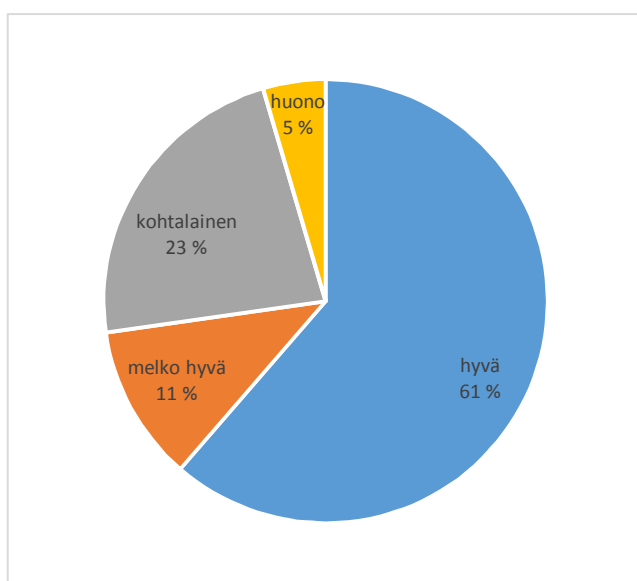
Perussairaus	n/N (%)
Keskosuus	13/39 (33)
Neurologinen sairaus tai vamma	7/44 (16)
Kardiovaskulaarinen vika tai sairaus	5/44 (11)
Muu	3/44 (7)

N = lukumäärä, josta tieto käytettävissä.

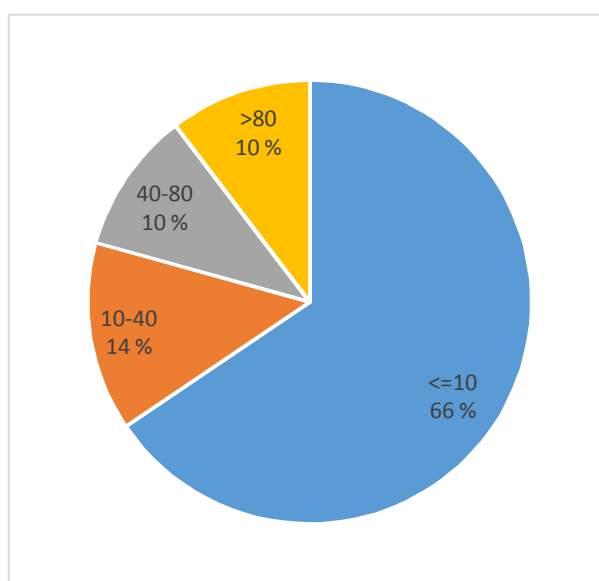
Muut perussairaudet olivat maligniteetti, tyypin 1 diabetes ja refluksitauti.

3.4 Kliiniset tiedot ja laboratorioarvot

Potilaiden yleistila päivystyspoliklinikalla arvioituna on esitetty kuvassa 4. Suurimmalla osalla (71 %) potilaista yleistila oli hyvä tai melko hyvä. Huono yleistila oli vain kahdella lapsella, joista toisella todettiin keuhkokuume ja korkea C-reaktiivisen proteiinin (CRP) arvo (210 mg/l) ja toisella viruskeuhkokuumeeksi diagnosoitu tauti, jossa CRP oli <40 mg/l. Kuumetta oli tullessa 25 potilaalla (57 %), kun kuumeen rajana pidettiin 38,0



Kuva 4. Tulovaiheen yleistilan jakauma (n=44).



Kuva 5. Tulovaiheen CRP:n jakauma, mg/l (n=29).

astetta. Kuumeen kesto ennen sairaalaan tuloa oli keskimäärin 2,1 vuorokautta. Nuhaa oli 29 potilaalla (66 %) ja yskää 33 potilaalla (75 %). Kuudella potilaalla (14 %) ei ollut yskää eikä nuhaa ja 3 potilaalla (7 %) ei ollut näitä oireita tai kuumettakaan. Oireiden keston mediaani ennen päivystykseen tuloa oli 3 päivää.

Rauhallinen hengitys todettiin 10 potilaalla (23 %) ja muilla 34 potilaalla (77 %) hengitys oli poikkeavaa joko kuunnellen hengitysääniä tai katsellen hengitystyötä. Auskultoiden hengityksen vinkunaa kuului 21 potilaalla (48 %), joista valtaosalla (17 potilasta, 81 %) ekspiratorista eli uloshengityksen vinkunaa.

Keuhkokuva otettiin 15 potilaalta (34 %), joista 13:lla siinä oli poikkeavia löydöksiä. Ne jakaantuivat radiologin lausunnon perusteella siten, että 7 sopi tulehdukseen, 4 oli mahdollisesti tulehduksellisia ja 2 virusperäiseen tulehdukseen sopivia.

Tulehdusarvo CRP oli mitattu 29 potilaalta ensimmäisen vuorokauden aikana. CRP oli 19 lapsella alle 10 mg/l ja vain kuudella yli 40 mg/l. Tarkempi jakauma on kuvassa 5. CRP:n keskiarvo oli 33 mg/l, mediaani 6 mg/l ja keskihajonta 56 mg/l.

Veren valkosolumäärä laskettiin ensimmäisen vuorokauden aikana 23 potilaalta (52 %) ja nämä tulokset ovat taulukossa 2.

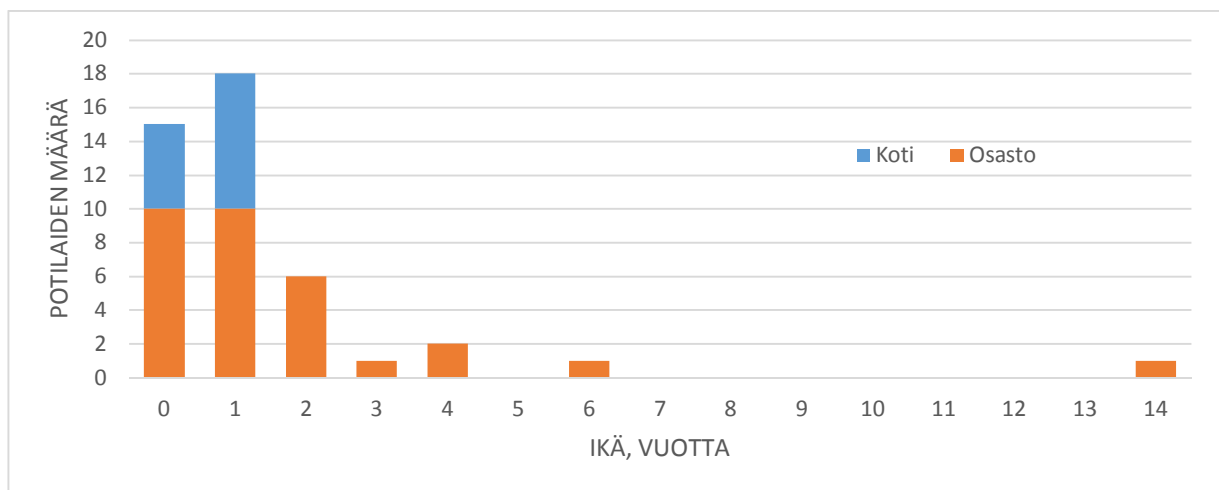
Valkosolut	n = 23
0-3,9	1 (4 %)
4,0-14,9	16 (70 %)
>=15	6 (26 %)

Taulukko 2. Veren valkosolumäärä, $\times 10^9/l$

3.5 Hoito ja diagnoosit

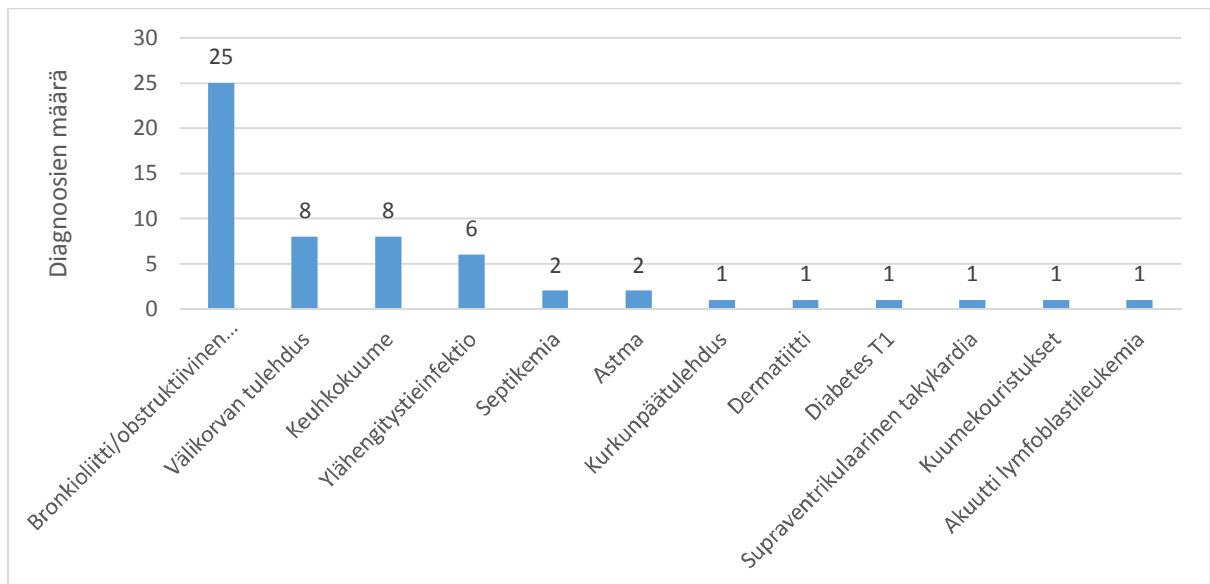
Jatkohoitopaikka eriteltynä poliklinikalta kotiin lähteneisiin ja sairaalaan osastohoitoon otettuihin on esitetty kuvassa 6. Kotiin lähetettiin 13 potilasta (30 %), joista kaksi kävi päivystyksessä kahteen kertaan. Kotiutetuista lapsista kaksi (15 %) sai hoidoksi antibioottia, toinen keuhkokuumeeseen ja toinen välikorvatulehdukseen, viisi lasta sai inhaloitavaa salbutamolia ja kolme myös 3 vuorokauden kuurin prednisolonia suun kautta. Osastolle otettiin 31 potilasta (70 %), joista seitsemän (23 %) kotiutettiin vähintään kerran päivystyksestä ennen osastolle ottamista. Osastohoidon keston keskiarvo oli 3,9 vuorokautta ja mediaani 3 vuorokautta. Teho-osastolla hoidettiin seitsemän potilasta (23 %) ja teho-osastohoidon keskimääräinen kesto oli 3,4

vuorokautta. Sairaalahoidoon otetuista potilaista kahdella ei ollut hoidon ensisijaisena syynä infektio, vaan näistä toisella oli kyseessä leukemian hoito ja toisella sairastuminen tyypin 1 diabetekseen. Osastohoidossa antibioottia sai 17 potilasta (55 %), joista kuusi potilasta (35 %) sai sen ensin suonensisäisesti. Antibioottihoidon indikaationa osastopotilailla oli yhdeksällä potilaalla (29 %) keuhkokuume ja seitsemällä potilaalla (23 %) välikorvatulehdus, näistä yhdellä oli syynä nämä molemmat, ja kahdella potilaalla (6 %) indikaationa oli septikemia. Koko aineistosta antibioottia sai 19 potilasta (43 %) ja antibioottihoidon kesto oli keskimäärin 6,5 vuorokautta. Osastohoidossa hengitettävää salbutamolia sai 21 potilasta ja näistä 15 lisäksi prednisolonia ja yksi hengitettävää adrenaliinia. Tehohoidossa olleiden lisäksi viisi potilasta sai osastohoidon aikana lisähapetta.



Kuva 6. Iän mukaan esitetty jatkohoitopaikan erittely (n = 44).

Potilaiden diagnoosit on eritelty kuvassa 7. Kaikkiaan 31 potilasta (70 %) sai yhden diagnoosin ja 13 potilasta (30 %) sai kaksi diagnoosia. Tavallisimmat diagnoosit olivat bronkioliitti ja obstruktiivinen bronkiitti, yhteensä 25 potilaalla (57 %). Seuraavaksi yleisimmät diagnoosit olivat keuhkokuume kahdeksalla potilaalla (18 %), välikorvatulehdus kahdeksalla potilaalla (18 %) ja ylähengitystieinfektio kuudella potilaalla (14 %).



Kuva 7. Eri diagnoosien kokonaismäärät.

4 POHDINTA

Havaitsimme tässä tutkimuksessa, että MariPOC-antigeenitestillä todettiin bokavirus vain noin yhdellä prosentilla tutkituista lapsista, mutta näiden lasten taudinkuvat olivat varsin vakavia hengitystieinfektioita. Merkittävä osa lapsista tarvitsi tehohoitoa.

MariPOC-menetelmä on melko epäherkkä, mutta sen tarkkuus on hyvä. MariPOC-testi on positiivinen näytteissä, joissa on suuri määrä HBoV1-virusta. Aiempien tutkimusten mukaan MariPOC-testin bokavirustulokset korreloivat hyvin sekä lähetti-RNA-PCR:n (Toivola, 2015) että DNA-PCR:n suuren virusmäärän kanssa (Christensen *et al.*, 2010, 2013; Schlaberg *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017). Näin ollen antigeenin osoitus tällä menetelmällä löytää hyvin potilaat, joilla on todellinen HBoV1-infektio. Tässä tutkimuksessa antigeenitestin tulokset kävivät hyvin yhteen PCR-löydösten kanssa: kaikki tutkitut antigeeniposiitiviset olivat PCR-positiivisia ja kymmenellä 12 lapsesta bokaviruksen semikvantitatiivinen PCR oli vahvasti positiivinen. Kahdelle lapselle tehtiin seerumi- tai plasmanäytteen PCR ja molemmat olivat bokaviruspositiivisia. Viremia kertoo myös muiden tutkimusten perusteella akuutista bokavirusinfektiosta (Christensen *et al.*, 2010, 2013). Muissa tutkimuksissa nenänielunäytteen PCR:n mukaan bokaviruspositiivisilta lapsilta löytyi jokin muukin virus 50-83 % tapauksista (Martin *et al.*, 2010; Toivola, 2015; Qiu, 2017; Nascimento-Carvalho *et al.*, 2018), kun meidän tutkimuksessamme antigeeniposiitivisilta löydettiin toinen virus MariPOC-testillä vain 5 potilaalta (11 %), mutta toisaalta 12:sta respiratoristen virusten PCR:llä

tutkituista lapsista kuudella (50 %) oli myös toinen virus. Yhdessä nämä tulokset viittaavat siihen, että MariPOC:lla todetuilla bokaviruspositiivisilla lapsilla on todennäköisesti lähes kaikilla akuutti bokavirusinfektio, eikä kysymyksessä ole aiemman infektion jälkeen jatkuva viruksen erittyminen, jota bokavirus-PCR:llä on havaittu jopa vuoden ajan primaarin infektion jälkeen (Wagner *et al.*, 2016; Qiu, 2017; Schlaberg *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017). Meillä ei ollut käytettävissä bokaviruksen lähetti-RNA:n määrittämiä, mutta aiempi tutkimus tukee antigeenitestin yhtäpitävyyttä mRNA-testin kanssa (Toivola, 2015).

Joissakin aiemmissa tutkimuksissa on tultu siihen tulokseen, että primaarin bokavirusinfektion jälkeen jää mahdollisesti immuniteetin antava tasainen vasta-ainetaso. Seroprevalenssi on suuri jo varhaisessa iässä, 3-vuotiailla 70-90 % (Christensen *et al.*, 2010; Wagner *et al.*, 2016). Meidän tutkimuksessamme tätä havaintoa tukee se, että 89 % potilaista oli alle 3-vuotiaita. MariPOC-testillä bokaviruspositiiviseksi todetuilla pienillä lapsilla on todennäköisesti primaari bokavirusinfektio. Tähän sopien kahdessa muussa tutkimuksessa, joissa oli mukana muitakin kuin pieniä lapsia, bokavirusinfektiota sairastavien lasten mediaani-ikä oli 1,6 vuotta ja 2 vuotta (Christensen *et al.*, 2010; Schlaberg *et al.*, 2017).

Muissa tutkimuksissa bokavirusinfektiolla ei ole havaittu selvää kausivaihtelua, mutta osa näistä tutkimuksista on tehty päiväntasaajan alueella, jossa varsinaista vuodenaikojen vaihtelua ei tapahdu, ja osassa diagnostiikka on ollut epävarmaa menetelmänä käytetyn kvalitatiivisen PCR:n vuoksi (Christensen *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2010; Schlaberg *et al.*, 2017). Omassa tutkimuksessamme havaitsimme bokaviruslöydösten painottumisen talvikuukausiin 1-3 kk pituiselle ajanjaksolle vaihdellen marraskuun ja maaliskuun välillä. Myös useiden muiden yleisten hengitystievirusten, kuten influenssavirusten ja RSV:n esiintyminen painottuu talviaikaan Suomessa ja muissa pohjoisen pallonpuoliskon maissa.

Perussairauksien yleisyydestä akuutin bokavirusinfektion vuoksi sairaalahoitoon otetuilla lapsilla ei ole paljoa tietoa aiemmista tutkimuksista. Meidän tutkimuksemme kohdistui lasten päivystyspoliklinikalle tullessiin potilaisiin, jolloin koko aineisto oli todennäköisesti vinoutunut niin, että perussairauksia oli merkittäväällä määrällä tutkituista lapsista. Tämä huomioidenkin bokaviruspositiivisilla lapsilla oli huomattavan paljon perussairauksia: aiempi keskosuus mukaan lukien yli puolella potilaista. Tämä viittaa siihen, että perussairaus voi lisätä bokavirusinfektion vakavuutta.

Keuhkokuume ja obstruktiivinen bronkiitti ovat olleet tyypillisiä bokaviruksen aiheuttamia sairauksia aiemmissa tutkimuksissa, joissa diagnoosi on varmennettu lähetti-RNA:n PCR:llä (Christensen *et al.*, 2013; Schlaberg *et al.*, 2017). Potilasaineistot ovat kuitenkin olleet valikoituja. Lisäksi akuutti välikorvatulehdus selvästi kytkeytyy bokavirusinfektioon useissa aiemmissa tutkimuksissa (Beder *et al.*, 2009; Nokso-Koivisto *et al.*, 2014; Wagner *et al.*, 2016). Meidän tutkimuksemme tukee näitä havaintoja. Bronkioliitti (alle 1-vuotiaan uloshengitysvaikeus) tai obstruktiivinen bronkiitti (yli 1-vuotiaan uloshengitysvaikeus) oli diagnoosina yli puolella potilaista ja keuhkokuume noin joka viidennellä. Myös välikorvatulehdus oli suhteellisen yleinen (18 %). Taudinkuvien vakavuudesta kertoo se, että 70 % bokaviruspositiivisista lapsista otettiin sairaalahoitoon ja 23 % tarvitsi tehohoitoa. Kaikki lapset kuitenkin paranivat taudistaan.

Tutkimuksen rajoituksena on, että potilasaineistona olivat lasten päivystyspoliklinikan potilaat, jotka tulivat pääosin lähetteellä avohoidon vastaanotoilta. MariPOC-testiä ei tehty systemaattisesti kaikille päivystyspoliklinikan potilaille. Aineisto ei kuvasta avohoidossa hoidettavia hengitystieinfektioita sairastavia lapsia, joiden taudinkuvat ovat lievempiä. Toinen rajoitus on, että respiratoristen virusten PCR-tutkimus tehtiin vain noin kolmasosalle potilaista, seerumin tai plasman bokavirus-PCR vain satunnaisille potilaille ja serologisia menetelmiä tai bokaviruksen lähetti-RNA:n PCR:ää ei käytetty. Lisäksi retrospektiiviseen tutkimukseen voi liittyä puutteellisesta tietojen dokumentoinnista aiheutuvia virheitä.

Yhteenvetona voidaan todeta, että antigeeninosoitus MariPOC-testillä on nopea, helppo ja tarkka menetelmä akuutin bokavirusinfektion aiheuttaman hengitystieinfektion osoittamiseen ja soveltuu siksi hyvin lasten päivystykseen. Antigeeninosoituksella todetun bokavirusinfektion tyypillisiä taudinkuvia olivat tässä aineistossa obstruktiivinen bronkiitti ja keuhkokuume sekä yleisenä komplikaationa välikorvatulehdus. Taudinkuvat olivat usein melko vaikeita ja merkittävä osa potilaista tarvitsi tehohoitoa. Bokavirusinfektioiden esiintyminen painottui tässä kolmevuotisessa tutkimuksessa talviaikaan.

5 LÄHTEET

Beder, L. B. *et al.* (2009) 'Clinical and microbiological impact of human bocavirus on children with acute otitis media', *European Journal of Pediatrics*, 168(11), pp. 1365–

1372. doi: 10.1007/s00431-009-0939-7.

Christensen, A. *et al.* (2010) 'Human bocavirus in children: Mono-detection, high viral load and viraemia are associated with respiratory tract infection', *Journal of Clinical Virology*, 49(3), pp. 158–162. doi: 10.1016/j.jcv.2010.07.016.

Christensen, A. *et al.* (2013) 'Detection of Spliced mRNA from Human Bocavirus 1 in Clinical Samples from Children with Respiratory Tract Infections', *Emerging Infectious Diseases*, 19(4), pp. 574–580. doi: 10.3201/eid1904.121775.

Hedman, K. *et al.* (2015) 'Original antigenic sin with human bocaviruses 1–4', *Journal of General Virology*, 96(10), pp. 3099–3108. doi: 10.1099/jgv.0.000253.

Kantola, K. *et al.* (2011) 'Seroepidemiology of Human Bocaviruses 1–4', *The Journal of Infectious Diseases*, 204(9), pp. 1403–1412. doi: 10.1093/infdis/jir525.

Kantola, K. *et al.* (2015) 'B-Cell Responses to Human Bocaviruses 1–4: New Insights from a Childhood Follow-Up Study', *PLOS ONE*. Edited by O. Schildgen, 10(9), p. e0139096. doi: 10.1371/journal.pone.0139096.

Liu, L. *et al.* (2016) 'Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000–15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals.', *Lancet (London, England)*, 388(10063), pp. 3027–3035. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31593-8.

Martin, E. T. *et al.* (2010) 'Frequent and Prolonged Shedding of Bocavirus in Young Children Attending Daycare', *The Journal of Infectious Diseases*, 201(11), pp. 1625–1632. doi: 10.1086/652405.

Nascimento-Carvalho, A. C. *et al.* (2018) 'Serologically diagnosed acute human bocavirus 1 infection in childhood community-acquired pneumonia.', *Pediatric pulmonology*, 53(1), pp. 88–94. doi: 10.1002/ppul.23891.

Nokso-Koivisto, J. *et al.* (2014) 'Role of Human Bocavirus in Upper Respiratory Tract Infections and Acute Otitis Media', *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 3(2), pp. 98–103. doi: 10.1093/jpids/pit061.

Qiu, J. *et al.* (2017) 'Human Parvoviruses.', *Clinical microbiology reviews*, 30(1), pp. 43–113. doi: 10.1128/CMR.00040-16.

Schlaberg, R. *et al.* (2017) 'Human Bocavirus Capsid Messenger RNA Detection in Children With Pneumonia.', *The Journal of infectious diseases*, 216(6), pp. 688–696.

doi: 10.1093/infdis/jix352.

Schuez-Havupalo, L. *et al.* (2017) 'Daycare attendance and respiratory tract infections: a prospective birth cohort study.', *BMJ open*, 7(9), p. e014635. doi: 10.1136/bmjopen-2016-014635.

Toivola, H. *et al.* (2015) 'Advances in the diagnosis of acute human bocavirus infections', in *Poster P0329, ECCMID*.

Toivonen, L. *et al.* (2016) 'Rhinovirus Infections in the First 2 Years of Life.', *Pediatrics*, 138(3), pp. e20161309–e20161309. doi: 10.1542/peds.2016-1309.

Wagner, J. C. *et al.* (2016) 'Determining Persistence of Bocavirus DNA in the Respiratory Tract of Children by Pyrosequencing', *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 35(5), pp. 471–476. doi: 10.1097/INF.0000000000001058.

Xu, M. *et al.* (2017) 'Comparative Diagnosis of Human Bocavirus 1 Respiratory Infection With Messenger RNA Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction (PCR), DNA Quantitative PCR, and Serology', *The Journal of Infectious Diseases*, 215(10), pp. 1551–1557. doi: 10.1093/infdis/jix169.