

• 临床检验研究论著 •

深圳市南山区腹泻患儿诺如病毒筛查及其基因分型研究^{*}

徐 丹, 甘 萍, 蒋 莉, 张丽芬, 黎绍昌

(广东医学院附属深圳市南山区人民医院检验科, 广东深圳 518052)

摘要:目的 了解秋冬季深圳市南山区门诊 5 岁以下儿童病毒性腹泻散发病例中诺如病毒感染状况及基因型别。方法 收集深圳市南山区 2010~2013 秋冬季年深圳市南山区人民医院门诊临床诊断为病毒性腹泻的患儿临床资料及粪便标本 748 份, 采用多重聚合酶链反应方法检测轮状病毒、诺如病毒、星状病毒、肠道腺病毒, 将诺如病毒抗原阳性的标本用逆转录-聚合酶链反应方法进行轮状病毒核酸扩增, 将阳性产物回收、纯化并测序。结果 748 份标本中, 共检出 384 例至少感染 1 种腹泻病毒, 总检出率为 51.33%(348/748), 其中 301 例感染 1 种腹泻病毒, 47 例为 2 种以上腹泻病毒混合感染。诺如病毒感染性腹泻发病高峰季节在 10~11 月份, 占 65.6%(82/125)。诺如病毒感染年龄在 2 岁以下的, 占 95.20%(119/125), 7~12 个月的婴幼儿感染率, 占 68.8%(86/125), 与 1~6 个月的婴幼儿感染率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。诺如病毒混合感染率为 11.20%(14/125) 与肠道腺病毒混合感染率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。男性感染率为 45.6%(57/125), 女性感染率为 54.4%(68/125), 两者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。诺如病毒基因分析显示, 测序的 114 株均属于 GⅡ-4 型, 不同毒株间核酸序列同源性为 98%~100%。结论 诺如病毒是深圳市南山区 7~12 个月婴幼儿病毒性腹泻的主要病原体, 感染较易发生在 10、11 月份。GⅡ-4 型是深圳市南山区婴幼儿诺如病毒感染性腹泻的主要基因型。

关键词:轮状病毒属; 基因型; 腹泻; 病毒性疾病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.06.004

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)06-0663-04

Norovirus screening and genotyping analysis among infants with diarrhea in Nanshan district of Shenzhen city^{*}

Xu Dan, Gan Ping, Jiang Li, Zhang Lifen, Li Shaochang

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Nanshan District People's Hospital,

Guangdong Medical College, Shenzhen, Guangdong 518052, China)

Abstract: Objective To investigate the infection status and genotype of norovirus in sporadic cases of viral diarrhea among out-patient children under 5 years in autumn and winter in Nanshan district of Shenzhen city. **Methods** 748 stool specimens were collected from infants and children under 5 years old with acute non-bacterial diarrhea in the Nanshan District People's Hospital in autumn and winter from 2010 to 2013. Multiplex RT-PCR was used to detect rotavirus(RV), norovirus(NV), astrovirus(AstV) and enteric adenovirus. The specimens with positive NV antigen were performed the RV nucleic acid amplification by the RT-PCR method and the positive products were recovered, purified and sequenced. **Results** Among 748 specimens, 384 cases were identified for at least one viral infection with the detection rate of 51.33%(384/748), of which 301 cases were single virus infection and 47 cases were mixed infection of more than 2 kinds of diarrhea virus. The peak of NV infection was between October to November, accounting for 65.6%(82/125), children aged below 2 years old with NV infection accounted for 95.20%(119/125). The infection rate in infants aged 7-12 months accounted for 68.8%(86/125), compared with the infants aged 1-6 months, the difference between them were statistically significant($P<0.05$). The NV mixed infection rate was 11.20%(14/125). The male infection rate was 45.6%(57/125) and the female infection rate was 54.4%(68/125), the difference between them had no statistical significance($P>0.05$). The NV gene analysis indicated that 114 sequenced strains belonged to type GⅡ-4, the homology of nucleic acid sequence in different strains was 98% to 100%. **Conclusion** NV is the main pathogen of viral diarrhea in 7-12 months infants in Nanshan district of Shenzhen city. Norovirus infection is prone to in October and November. The type GⅡ-4 is the predominant genotype in infantile diarrhea of NV in Nanshan district.

Key words: rotavirus; genotype; diarrhea; virus diseases

病毒性腹泻在感染性腹泻中较为常见, 其中主要是轮状病毒腹泻和诺如病毒腹泻。诺如病毒现在被认为是引起散发和流行胃肠炎的主要原因。但目前仍有许多省份地区未将其列为常规检测和报告项目, 对诺如病毒感染和发病状况的了解甚少, 因此, 为了解深圳市南山区诺如病毒感染的基因型、发病季节、疾病趋势以及婴幼儿年龄与感染诺如病毒的关系, 本研究对腹泻的患儿粪便标本进行诺如病毒检测, 为本地区该病毒

的流行情况积累资料。

1 材料与方法

1.1 材料 收集深圳市第六人民医院(南山医院)2010 年 9 月至 2011 年 1 月、2012 年 9 月至 2013 年 3 月秋冬季 5 岁以下急性非细菌性腹泻婴幼儿的粪便标本 748 份。腹泻诊断标准: 每日大便次数增加(≥ 3 次)或大便性状发生明显改变(包括稀水样、蛋花样、黏液样或稀糊样等)。标本在患者腹泻急性期采

^{*} 基金项目: 深圳市科技计划项目(201203222)。 作者简介: 徐丹, 女, 主任技师, 主要从事临床检验研究。

取,置于无菌容器,立即送实验室,用生理盐水混匀,制成 10% 的悬液,于-80℃保存。

1.2 仪器试剂 PTC-200 基因扩增仪(美国 MJ RESEARCH 公司),BIO- RAD 电泳仪(美国 BIO 公司),病毒 DNA、RNA 提取试剂盒,DNA 凝胶纯化试剂盒(美国 Axygen 公司),聚合酶链反应试剂盒(美国 Fermentas 公司),逆转录聚合酶链反应试剂盒(美国 QIAGEN 公司),RNA 酶抑制剂(Promega 公司)。

1.3 方法

1.3.1 核酸提取 病毒 DNA、RNA 提取试剂盒购于 QIAGEN 公司,严格按照说明书操作,提取的核酸标本每份有 80 μL,在每份标本中加入 RNA 酶抑制剂 1.5 μL,-80℃保存

备用。

1.3.2 引物选择 参照 A 组轮状病毒、诺如病毒和星状病毒、国际参考株序列,分析病毒基因组保守区,根据保守区基因序列选用 Primer5.0 软件设计多重逆转录-聚合酶链反应引物。所设计引物通过 Internet 在美国生物技术信息中心(NCBI)上 BLAST 后(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)初步验证其特异性。聚合酶链反应体系用 β2-微球蛋白的基因片断作为扩增靶序列基因的内部参照物。引物均由 Invitrogen 公司合成,序列详见表 1。肠道腺病毒扩增的上游引物为 5'-GAT ATG CAG CAT GTA TTC CTT TTT CCG AAA CTT CCA-3',下游引物为 5'-ATA GGT ACG CCA CAT GGT GCG ATC GCA-3',引物由 Invitrogen 公司合成。

表 1 腹泻病毒多重聚合酶链反应引物及质控引物

病毒	方向	引物序列(5'~3')	片段(bp)
轮状病毒	F	ATG CAG CTT TAA AAC GAA GTC TTC TAC ATG GAG GTT CTG TA	
	R	ATA GGT ACT AAT TGG TAG ATT ACC AAT TCC TCC AGT TTG	192
诺如病毒	F	ATA TGC AGC TGG AAT TCC ATC GCC CAC TGG	
	R	ATA GGT ACA CAT AGA TCT TCA TCA CCA TA	120
星状病毒	F	CGA TAT GCA GCC GTC ATT ATT TGT TGT CAT ACT	
	R	GGA TAG GTA CAC ATG TGC TGC TGT TAC TAT G	289
β2-微球蛋白	F	CAA GCA GAG AAT GGA AAG TC	
	R	GAT GCT GCT TAC ATG TCT CG	269

F:上游引物;R:下游引物。

1.3.3 多重逆转录-聚合酶链反应体系 模板 RNA 1 μL;逆转录-聚合酶链反应缓冲液 2 μL; dNTP 混合液 0.4 μL;逆转录-聚合酶链反应酶混合液 0.4 μL;RNase 抑制剂 0.05 μL;引物 β2-微球蛋白 0.05 μmol/L、轮状病毒 0.05 μmol/L、诺如病毒 0.05 μmol/L 和星状病毒 0.02 μmol/L(均指引物终浓度);总体积 10 μL。肠道腺病毒 0.2 μL(引物终浓度为 10 μmol/L)。

1.3.4 逆转录-聚合酶链反应程序 50℃反转录 30 min;95℃变性 15 min;循环步骤为 94℃变性 45 s,55℃退火 45 s,72℃延伸 1 min,进行 35 个循环;最后 72℃延伸 10 min,冷却到 4℃。

1.3.5 聚合酶链反应产物检测、纯化和测序确证 诺如病毒阳性扩增产物的纯化在紫外灯下切下含有目的 DNA 的琼脂糖凝胶,用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen 公司)纯化,严格按说明书操作,可最终获得 25~30 μL 洗脱体积。经纯化、回收的诺如病毒阳性扩增产物,用 BECKMAN COULTER 公司生产的 CEQ8800 测序仪进行核苷酸序列测定。测序反应所有加样的过程均须置于冰上进行。测序所得序列输入 GenBank 数据库,用 BLAST 进行同源性比对。

1.4 统计学处理 应用统计软件 SPSS 17.0 对计数资料进行 χ² 检验或确切概率法,双侧 α=0.05,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 总感染情况 在 748 份标本中,共检出 384 例至少感染 1 种腹泻病毒,总检出率为 51.33%(384/748),其中 301 例感染 1 种腹泻病毒,47 例为 2 种以上腹泻病毒混合感染,其中 2 例感染 3 种腹泻病毒。各病毒检出数及检出率见表 2。

2.2 诺如病毒感染病例年龄分布 诺如病毒感染以 2 岁以下婴幼儿为主,感染数占全部病例数的 95.20%(119/125)。1 岁以内感染率占 86.40%(108/125),与 1 岁以上月份比较差异有统计学意义(χ²=132.50,P<0.01)。11 个月、12 个月患儿的诺如病毒阳性率最高,见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。另外小于 6 个月婴幼儿与大于 6 个月小于 12 个月的婴幼儿感染率相比,差异有统计学意义(χ²=75.81,P<0.01)。

表 2 748 例腹泻感染患儿病毒检测结果构成情况

病毒种类	阳性检出数(n)	阳性检出率(%)
轮状病毒	227	30.35
诺如病毒	125	16.71
星状病毒	14	1.87
肠道腺病毒	67	8.95

2.3 诺如病毒感染病例性别比 125 例诺如病毒抗原检测阳性标本中,男性 57 例,女性 68 例,男女性别比为 1:1.19,两者比较差异无统计学意义(χ²=1.94,P>0.05)。

2.4 诺如病毒与其他病毒混合感染情况 125 例诺如病毒阳性患儿中,有 14 例是混合感染,其中 8 例是与轮状病毒混合感染,4 例是与肠道腺病毒混合感染,另 2 例是与轮状病毒、肠道腺病毒同时感染,混合感染率为 11.20%(14/125)。轮状病毒混合感染率为 11.89%(27/227),肠道腺病毒混合感染率为 37.31%(25/67),星状病毒混合感染率为 14.29%(2/14)。肠道腺病毒混合感染率与诺如病毒混合感染率比较差异有统计学意义(χ²=11.54,P<0.01)。轮状病毒混合感染率与诺如

病毒混合感染率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.03, P > 0.05$)。星状病毒混合感染率与诺如病毒混合感染率比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.02, P > 0.05$)，见图 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.5 诺如病毒感染季节分布 125 例诺如病毒阳性患儿中，11 月份诺如病毒的检出率最高，占总例数的 36.00%(45/125)；其次是 10 月份，占总例数的 29.60%(37/125)，要明显高于其他各月。9、12、1、2、3 月所占比例依次为 11.20%(14/125)、11.20%(14/125)、4.80%(6/125)、4.80%(6/125)、2.40%(3/125)。与 10、11 月比较差异有统计学意义($\chi^2 = 19.47, P < 0.01$)，见图 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.6 诺如病毒基因分型 将聚合酶链反应产物进行琼脂糖凝胶电泳，将电泳目的条带应用 Axygen 公司的 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 进行切胶纯化后作测序反应，应用 BECKMAN COULTER 公司 CEQ8800 测序仪进行核苷酸反向测序。将所得序列输入 GenBank，经 BLAST 比对，125 例诺如病毒阳性标本中有 114 株经聚合酶链反应产物纯化、测序成功，并对部分核苷酸同源性进行分析。结果表明，114 株诺如病毒阳性标本均属于诺如病毒 GⅡ型，同源性为 98%~100%，114 株诺如病毒阳性标本均为 GⅡ-4 型，未发现 GI 型。部分测序图见图 4(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

3 讨 论

对收集的门诊临床确诊为非细菌腹泻的患儿粪便标本同时进行轮状病毒、诺如病毒、星状病毒和诺如病毒检测，结果显示在 748 份标本中，384 例至少感染 1 种腹泻病毒，总检出率为 51.33%(384/748)。轮状病毒是最主要的病原(30.35%)，其后依次诺如病毒(16.71%)、诺如病毒(8.95%)、星状病毒(1.87%)。国内外大量研究表明轮状病毒是婴幼儿病毒性腹泻的最主要原因，其中大部分报道轮状病毒阳性率为 31%~68%，不同研究轮状病毒阳性率的不同主要由于研究条件、样品处理方法、地域和社会经济水平差异以及标本的季节性而引起^[1]。本实验轮状病毒检出率为 30.35%，比上述报道比例略低。可能因为近年来深圳地区有轮状病毒的计划免疫，婴幼儿可以服用轮状病毒糖丸进行预防。肠道腺病毒的感染非常普遍，全世界均有报道，婴幼儿急性腹泻中肠腺病毒的检出率为 1%~20% 不等^[2]，如突尼斯儿童腹泻的检出率为 10%，成人 7%^[3]，我国福州市的检出率 4.8%，上海地区的检出率 4.7%，本实验结果为 8.95%，与国外报道基本一致。星状病毒检出率为 1.87%，低于兰州地区^[4]，尽管它的检出率不高，但仍不容忽视。

本研究通过对 2010~2013 年深圳市南山区秋冬季腹泻患儿的监测，诺如病毒的阳性率为 16.71%，低于深圳市 2008 年监测的诺如病毒阳性率 22.59% 的结果^[5]，这可能与深圳市近几年来深圳市病控门对诺如病毒的监测加强了有关系。高于天津市泻患者中诺如病毒的阳性率 11.89% 的结果^[6]，不同地区诺如病毒的流行季节或有不同，可能与检测方法也有关。

我国北京、广州地区血清学研究显示，3 岁时的诺如病毒血清抗体水平就已经达到了 60%~90%，成人部分型别抗体检出率达到 90% 左右。本研究诺如病毒感染患儿大多为 2 岁以下，与河北省卢龙县杯状病毒研究^[7]及上述血清抗体调查结果相符，提示小年龄段婴幼儿是诺如病毒的主要侵入对象。但是本研究显示，小于 6 个月的婴幼儿与大于 6 个月小于 12 个月的婴幼儿感染率相比较，小于 6 个月的婴幼儿感染率明显较

低，可能是因为该年龄段的婴儿大多处于母乳喂养期，乳汁中大量分泌性免疫球蛋白可起到保护其肠道黏膜的作用，从母体获得被动免疫能力尚在；而 2 岁以上的儿童自身分泌性免疫球蛋白增高，自体主动免疫逐渐成熟，抵抗力逐渐增强，感染率自然逐渐下降。因此加强饮食和环境卫生、切断传播途径、提高儿童主动免疫水平是预防急性腹泻的重要环节。

本研究收集的流行季节腹泻患儿的标本，尚不能反映诺如病毒感染在深圳地区季节分布的特征，但可以看出 10、11 月份的诺如病毒感染绝对数要高于 9、12、1、2、3 月份，这与我国河北^[7]、长春^[8]等地研究结果不同，12 月发病最高，然后依次是 1、2 及 11 月份，10 月份发病很低。但与广州市的研究结果大致相同^[9]，这可能与我国南北方气候差异有关。

近年来对于腹泻病原谱监测显示，不同病毒混合感染现象非常普遍，其中以双重感染最多见，亦可见三重或多重混合感染^[10]。本研究深圳地区诺如病毒性腹泻混合感染率为 11.20%。其中 8 例是与轮状病毒混合感染，4 例是与肠道腺病毒混合感染，另 2 例是与轮状病毒、肠道腺病毒同时感染，混合感染率为 11.20%(14/125)。混合感染率明显低于肠道腺病毒混合感染率(37.31%)与轮状病毒、星状病毒混合感染率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。还要进一步研究其混合感染的原因。

根据人类感染诺如病毒株的基因序列分析，可将诺如病毒分为 3 个基因群，即 GⅠ、GⅡ和 GⅣ，至少又可分 25 个基因型和大量亚群。诺如病毒在人体内不断产生遗传漂移和适应性进化，随着诺如病毒衣壳蛋白突出域中高度可变区 P2 区域基因序列突变的积累，GⅡ-4 型诺如病毒如今已成为全球流行株中占主导地位的毒株。在本实验对 114 份阳性标本纯化、测序结果表明均为诺如病毒的 GⅡ-4 型，说明深圳市南山区的流行优势株为诺如病毒的 GⅡ-4 型。长春、广州、武汉、福州、兰州等地先后开展了对诺如病毒的检测，其结果表明我国诺如病毒流行优势株为 GⅡ-4 型。本研究结果表明深圳市南山区 GⅡ-4 型的广泛流行与国内外的相关研究报道^[11-13]基本一致。但目前我国香港、福州等地 GI 型检出率较高^[14-15]。我国不同时间、地点是否存在不同流行优势株，对其分布特征和变化趋势与规律等均需进一步的研究。

诺如病毒极易发生变异，在同一时期和同社区内可能存在遗传特性不同的毒株流行，因此引起婴幼儿急性胃肠炎的诺如病毒易出现基因变异株。目前全球诺如病毒最主要的流行亚型是 GⅡ-4 型，也是引起暴发疫情的最主要的亚型，不同诺如病毒亚型间还可能发生基因重组^[16]。引起日本 2006 年胃肠炎大流行的优势株诺如病毒 GⅡ-4 基因型可能部分基因发生了突变。自 1997 年首次发现雪山病毒自然重组株后，又发现了几株引起急性胃肠炎散发的暴发的重组株。病毒 RNA 的重组是病毒进化的主要驱动力之一，近年来该病出现较大范围的流行是否与病毒基因的变异有关，由此造成的变异使诺如病毒感染的防控任务更为艰巨和复杂。今后应在深圳地区继续开展监测，加深对诺如病毒遗传变异和流行规律的进一步认识^[17-18]。还有在聚合酶链反应引物设计上还要不断改进，以便测定出诺如病毒不同基因组型^[19]。

总之，在本研究中通过探讨各种因素对诺如病毒的检出率的影响，并对其进行了基因测序，初步掌握了深圳市南山区婴幼儿腹泻中诺如病毒的感染状况，病毒的主要基因型，增加了对诺如病毒的认识，为临床的诊断、治疗用药及疫苗研究提供依据和为长期开展诺如病毒的监测工作奠定了基础^[20-24]。

参考文献

[1] Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, et al. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis[J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(8):1224-1231.

[2] Atmar RL, Opekun AR, Gilger MA, et al. Norwalk virus shedding after experimental human infection[J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(10):1553-1557.

[3] Goodgame R. Norovirus gastroenteritis[J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2007, 9(2):102-109.

[4] Turcios-Ruiz RM, Axelrod P, St John K, et al. Outbreak of necrotizing enterocolitis caused by norovirus in a neonatal intensive care unit[J]. *J Pediatr*, 2008, 153(3):339-344.

[5] 司徒潮满, 段利娜, 牛姬飞. 深圳市诺如病毒感染的流行病学分析[J]. *中国热带医学*, 2010, 10(8):924-925.

[6] 李佳萌, 张之伦, 张颖, 等. 天津市 2007~2009 年感染性腹泻病人诺如病毒感染状况分析[J]. *中国病毒病杂志*, 2012, 2(3):192-196.

[7] 吕红霞, 方肇寅, 谢华萍, 等. 河北省卢龙县 1999~2001 年婴幼儿杯状病毒腹泻流行病学研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2003, 24(12):1118-1121.

[8] 谢华萍, 方肇寅, 王光, 等. 长春市儿童医院 1998~2001 年婴幼儿杯状病毒腹泻流行病学研究[J]. *病毒学报*, 2002, 18(4):332-336.

[9] 戴迎春, 刘翼, 詹惠春, 等. 广州市儿童秋冬季诺如病毒感染检测分析[J]. *中国公共卫生*, 2009, 25(1):102-103.

[10] Chen SY, Chang YC, Lee YS, et al. Molecular epidemiology and clinical manifestations of viral gastroenteritis in hospitalized pediatric patients in Northern Taiwan[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(6):2054-2057.

[11] 靳森, 孙军玲, 常昭瑞, 等. 中国 2006~2007 年诺如病毒胃肠炎暴发及其病原学特征分析[J]. *中华流行病学杂志*, 2010, 31(5):549-553.

[12] Gao Y, Jin M, Cong X, et al. Clinical and molecular epidemiologic analyses of norovirus-associated sporadic gastroenteritis in adults from Beijing, China[J]. *J Med Virol*, 2011, 83(6):1078-1085.

[13] Mans J, de Villiers JC, du Plessis NM, et al. Emerging norovirus GII.4 2008 variant detected in hospitalised paediatric patients in South Africa[J]. *J Clin Virol*, 2010, 49(4):258-264.

[14] 陈军林, 王滔, 高建民, 等. 福州地区腹泻患者诺瓦克样病毒感染的分子流行病学特点[J]. *中国人兽共患病杂志*, 2003, 19(2):83-84, 107.

[15] Lau CS, Wong DA, Tong LK, et al. High rate and changing molecular epidemiology pattern of norovirus infections in sporadic cases and outbreaks of gastroenteritis in Hong Kong[J]. *J Med Virol*, 2004, 73(1):113-117.

[16] Guo L, Song J, Xu X, et al. Genetic analysis of norovirus in children affected with acute gastroenteritis in Beijing, 2004~2007[J]. *J Clin Virol*, 2009, 44(1):94-98.

[17] 郝肖阳. 诺如病毒流行病学研究与防治概况[J]. *河北联合大学学报:医学版*, 2013, 15(3):343-344.

[18] 陈志永, 陈小岳. 诺如病毒暴发的流行病学研究进展[J]. *中国人兽共患病学报*, 2012, 28(4):398-402.

[19] 宋锋林, 薛芳, 蔡鹏, 等. 诺如病毒核酸检测及病毒基因序列分析[J]. *中国国境卫生检疫杂志*, 2010, 33(2):86-89.

[20] 薛华, 翟菊萍. 急性腹泻患儿诺如病毒检测和分型[J]. *中国现代医生*, 2011, 49(31):84-85.

[21] 陆建荣, 何连生. 诺如病毒感染现状及其防治措施[J]. *中国公共卫生管理*, 2008, 24(1):72-73.

[22] 傅旭峰. 诺如病毒感染的流行病学意义及临床特征[J]. *口岸卫生控制*, 2008, 13(5):58-61.

[23] 王家栋, 方筠, 韩晓辉. 诺如病毒研究进展[J]. *病毒学报*, 2008, 24(5):409-413.

[24] Esposito S, Ascolese B, Senatore L, et al. Pediatric norovirus infection[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014, 33(3):285-290.

(收稿日期:2013-10-23)

(上接第 662 页)

[5] 周云英, 辜红妮, 郑庭亮. 血清 CEA、CA199、SF 联合检测在胃癌中的临床价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(4):345-348.

[6] 刘颖, 林中, 胡琼花. 血清肿瘤标志物对胃癌诊断及预后判断的临床意义[J]. *中国实验诊断学*, 2010, 14(4):558-560.

[7] Ishigami S, Natsugoe S, Hokita S, et al. Clinical importance of preoperative carcinoembryonic antigen and carbohydrate antigen 19-9 levels in gastric cancer[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2001, 32(1):41-44.

[8] 李岩. 胃癌肿瘤标志物及临床意义[J]. *实用医院临床杂志*, 2011, 8(1):11-15.

[9] Nakagoe T, Sawai T, Tsuji T, et al. Predictive factors for preoperative serum levels of sialyl Lewis(x), sialyl Lewis(a) and sialyl Tn antigens in gastric cancer patients[J]. *Anticancer Res*, 2002, 22(1A):451-458.

[10] Duraker N, Celik AN. The prognostic significance of preoperative serum CA 19-9 in patients with resectable gastric carcinoma: comparison with CEA[J]. *J Surg Oncol*, 2001, 76(4):266-271.

[11] 柯振符, 黎舒. CA724、CA199、CA125、CEA 检测对胃癌诊断临床意义[J]. *临床和实验医学杂志*, 2012, 11(16):1287-1288.

[12] Mihmanli M, Dilege E, Demir U, et al. The use of tumor markers as predictors of prognosis in gastric cancer[J]. *Hepatogastroenterology*, 2004, 51(59):1544-1547.

[13] 周正菊, 雷鸿斌, 龙聪. 血清 CEA、CA199、CA72-4 及胃蛋白酶原联合检测对胃癌的诊断价值[J]. *海南医学*, 2011, 22(21):105-107.

[14] Kim JE, Lee MW, Moon JW, et al. CT detection of dry peritoneal seeding in patients with advanced gastric cancer[J]. *Hepatogastroenterology*, 2012, 59(119):2202-2206.

[15] 陈仁雄, 张军, 张忠涛, 等. 胃癌患者淋巴转移的预测分析[J]. *国际外科学杂志*, 2011, 38(8):540-542.

[16] Komatsu S, Ichikawa D, Nishimura Y, et al. Better outcomes by monitoring tumour dynamics using sensitive tumour markers in patients with recurrent gastric cancer[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(4):1621-1627.

[17] 景晓刚, 王贵吉, 裴迎新, 等. 胃癌患者血脂、脂蛋白、血清 CEA 及 CA199 检测[J]. *郑州大学学报:医学版*, 2011, 46(3):432-435.

[18] 林锋, 吴伍林. 进展期胃癌的外科治疗[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2011, 14(2):81-83.

[19] 黄昌明, 王家镔. 胃癌复发的诊治[J]. *中华普通外科学文献:电子版*, 2012, 6(5):1-4.

[20] 刘洵祺, 袁霞. 胃癌复发转移相关的血清肿瘤标志物研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2012, 20(10):2191-2194.

(收稿日期:2013-10-18)