

幽门螺杆菌检测方法在动物模型中的评估

曹细妹, 吕农华

曹细妹, 吕农华, 南昌大学第一附属医院消化内科, 江西省
消化系疾病研究所, 江西省消化系病研究重点实验室 江西省
南昌市 330006

作者贡献分布: 本文综述由曹细妹完成; 吕农华审校。

通讯作者: 吕农华, 教授, 主任医师, 博士生导师, 330006, 江西省
南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化内科, 江西省
消化系疾病研究所, 江西省消化系病研究重点实验室。

lunonghua@163.com

电话: 0791-8692705 传真: 0791-8623153

收稿日期: 2012-05-24 修回日期: 2012-09-30

接受日期: 2012-10-03 在线出版日期: 2012-10-08

Assessment of methods for detection of *Helicobacter pylori* in animal models

Xi-Mei Cao, Nong-Hua Lv

Xi-Mei Cao, Nong-Hua Lv, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Gastroenterology Institute of Jiangxi Province; Key Laboratory of Digestive Diseases of Jiangxi Province, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Nong-Hua Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University; Gastroenterology Institute of Jiangxi Province; Key Laboratory of Digestive Diseases of Jiangxi Province, 17 Yongwaizheng Avenue, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lunonghua@163.com

Received: 2012-05-24 Revised: 2012-09-30

Accepted: 2012-10-03 Published online: 2012-10-08

Abstract

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is a major risk factor for chronic gastritis and peptic ulcer and is closely related to the occurrence of gastric cancer and gastric mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma. Rational use of animal models is very helpful for the clinical and preclinical investigation of *H. pylori*. However, the methods for detection of *H. pylori* in animal models were less reported. Most of the reported methods require the animal to be executed, and those not requiring killing the animal were less developed. This review will introduce seven methods for detection of *H. pylori* in animal models. These methods can meet the requirements for appropriate and accurate detection of *H. pylori* in different investigation conditions.

Key Words: *Helicobacter pylori*; Animal model;

Detection

Cao XM, Lv NH. Assessment of methods for detection of *Helicobacter pylori* in animal models. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(28): 2697-2702

摘要

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎及消化性溃疡的主要致病因素, 并与胃癌及胃黏膜相关性淋巴组织淋巴瘤(mucosa-associated lymphoid tissue, MALT)的发生密切相关。随着*H. pylori*动物模型更广泛、合理的利用, 为临床、基础研究提供了非常有价值的帮助。目前, 国内相关动物模型中检测*H. pylori*的报道较少, 大多数实验研究中*H. pylori*的检测需要处死动物获取检测标本以确定接种是否成功, 而非侵入性的检测方法仍不成熟。本文综述了目前研究报道的动物模型中七种侵入性及非侵入性*H. pylori*检测方法, 且可根据不同实验条件和要求选择传统的和新颖的检测方法, 以便我们更加方便、准确的检测动物模型中感染的*H. pylori*。

关键词: 幽门螺杆菌; 动物模型; 检测方法

曹细妹, 吕农华. 幽门螺杆菌检测方法在动物模型中的评估. 世界华人消化杂志 2012; 20(28): 2697-2702

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2697.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是一种革兰氏阴性微需氧菌, 在全球自然人群的感染率超过50%, 我国*H. pylori*的感染率范围40%-90%, 平均59%^[1]。*H. pylori*已被WHO列入I类致癌物质, 近年来还发现*H. pylori*与某些胃肠道外疾病相关^[2]。但*H. pylori*感染机制仍不明确, 其致病机制^[3]及有效的治疗方法仍在不断的研究和探索之中。为了克服人体研究的局限性, 动物模型为人类认识*H. pylori*感染的相关疾病提供了必要的手段。在动物模型中处死性的*H. pylori*检测造成了昂贵的成本和长期研究无法开展等问题, 非损伤性的检测有待进一步深入研

■背景资料

在胃肠相关疾病的致病因素中, 幽门螺杆菌(*H. pylori*)发挥的作用是不可忽视的, 1994年国际抗癌联盟将其列为I类致癌物质, 但其感染机制仍不明确, 其致病机制及有效, 治疗方法仍在不断的研究和探索之中。为了克服人体研究的局限性, 动物模型为人类认识*H. pylori*感染的相关疾病提供了必要的手段。

■同行评议者

王蔚虹, 教授, 主任医师, 北京大学第一医院消化内科

■ 研发前沿

目前*H. pylori*致病机制的研究仍未明确,而动物模型的研究方法尚不成熟,明确有效的*H. pylori*检测方法是众多实验研究的迫切需求,且对胃肠疾病的研究有着重要的意义。

究。所以目前找到一种有效的检测方法十分重要,本文重点对动物模型的几种*H. pylori*检测方法进行综述。

1 动物模型的建立

早在19世纪末在狗、猫、棕色的挪威鼠胃中发现了螺形菌^[4]。但直到1983年Warren和Marshall从人胃中分离到*H. pylori*后,此菌与慢性胃病的关系才引起人们的注意。而在自然界中感染*H. pylori*的动物很少。近10余年,*H. pylori*动物模型的建立及应用研究获得了突破性进展,先后在小猪、普通小鼠、基因敲除小鼠、猫、恒河猴、日本猴及狗中成功建立人工感染*H. pylori*动物模型^[5-13],其中蒙古沙鼠模型的建立在研究*H. pylori*的致病机理方面有一定价值^[7,14]。以上几种不同类型的动物模型由于实验过程难操作、数量大及必须在无菌或感染率低的条件下,未形成统一的*H. pylori*动物模型使用标准,目前最广泛、最方便、最便宜并能大多数实验室所接受的是小鼠模型。

2 *H. pylori*的检测方法

在人体内窥镜下*H. pylori*感染的检查方法及非侵入性的检测已经取得很大进展,而在动物模型中大多仍采取处死动物来获取标本。按是否需要处死动物模型,将*H. pylori*的检测方法分为处死性和非处死性两大类^[15],前者需通过取胃黏膜活组织进行检测,主要包括细菌分离培养、病理组织学检查(W-S银染色)、快速尿素酶实验(rapid urease test, RUT)及血清学检查;后者主要¹³C或¹⁴C尿素呼气试验,粪便*H. pylori*抗原检测,聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)等。

3 细菌培养鉴定

细菌培养^[15]是*H. pylori*研究的一项基本技术,从动物模型胃黏膜活检标本中分离培养出*H. pylori*,接种于5%羊血布氏琼脂,50 mL/L O₂, 100 mL/L CO₂, 850 mL/L N₂, 37 °C培养,3-4 d后出现灰色、透明、凸起的菌落,革兰阴性杆菌;在显微镜下观察其形状为弧形、S形或螺旋状,并尿素酶、氧化酶、触酶试验均呈阳性,方可判断细菌培养为阳性。培养1 wk后不生长为阴性。在*H. pylori*感染的蒙古沙鼠其敏感性和特异性分别是56.8%和100.0%^[16]。在敏感性和特异性均相似的人胃黏膜中阳性率是29.6%^[17],而在蒙古沙鼠的阳性率为56.8%,后者的阳性率明显的升高,可能与培养基抗生素的选择有关。但动物粪便中*H.*

*pylori*的培养极其困难。细菌培养鉴定的阳性结果表明有活菌的存在,其阳性结果最基本、最可靠,但由于细胞培养费时、繁琐、影响因素多等影响检出率,因此其检出率很低。

4 染色直接镜检

Warthin-Starry染色法(W-S法)是*H. pylori*较传统及经典的检测方法,是组织学上*H. pylori*感染的确证方法。*H. pylori*呈棕黑至黑色,其余组织灰黄至黄棕色。具有与定量实时聚合酶链反应(qRT-PCR)相似的阳性率,两种检测方法阳性率分别是64.2%和67.9%^[18],但当*H. pylori*球形变及“灶性”感染取材、切片、镜检等均存在局限性,技术要求高,操作繁琐^[19]。另一种改良Giemsa染色^[20]是一步双色快速染色法,操作更为简便,染色效果好,在显微镜下*H. pylori*染成淡蓝色,菌体形态清楚,切片背景清晰,不但可观察到*H. pylori*的数量、侵入深度和分布情况,还能观察到胃黏膜病理改变情况等。

5 快速尿素酶试验

*H. pylori*是人胃内唯一能够产生大量尿素酶的细菌,可通过检测尿素酶来诊断是否感染。在蒙古沙鼠的RUT中检测的敏感性和特异性分别是88.6%和87.5%^[17]。快速尿素酶试纸由黄色变成红色为阳性,不变色为阴性,但试纸一旦受潮会影响判断结果。也可用自配试剂检测。另有报道^[21]RUT与细胞学涂片检测的敏感性和特异性相比,分别为92.7%、60.0%和100.0%、90.0%。目前也有报道在1 h内可以得到精确的尿素酶试验结果^[22],但标本上甲醛的污染可能会导致RUT的假阴性^[23]。

6 *H. pylori*抗体和粪便抗原的检测

通过血清中*H. pylori*抗体(*H. pylori*-IgG)测定*H. pylori*感染的方法比较多,有酶联免疫吸附试验(ELISA)、乳胶凝集试验、免疫印迹试验和细菌凝集试验等,尤其以ELISA试验应用最广泛。最近也有报道用蛋白芯片技术检测*H. pylori*-IgG^[24]。

有报道描述^[25]用ELISA法检测恒河猴*H. pylori*-IgG比在人体更准确,其敏感性、特异性和准确性分别是90%、100%和91%;在蒙古沙鼠感染*H. pylori*后ELISA检测的特异性为95.7%^[26],且在感染8 wk后会有更高的阳性率。在人体最近使用了一些新的检测方法^[27],如唾液及尿液*H. pylori*抗体测定。Kato等^[28]发现尿液中抗体检测对诊断*H. pylori*感染的特异性和敏感性分别为

97.7%和95.6%, 而用活组织检查同样标本的特异性和敏感性分别为78.9%和96.2%。此外在唾液中也检测*H. pylori*的16S rDNA^[29]。ELISA试验检测血清学和尿液的*H. pylori*-IgG仍存在一定的差距, 两者的敏感性分别是96.3%和72.0%^[30], 根据*H. pylori*感染长短不一的窗口期, 相应的抗体才能被检测到。

*H. pylori*粪便抗原(*H. pylori*-SA)检测是一种处死性的检测方法, 其特异性甚至可与金标准相媲美^[31]。*H. pylori*感染蒙古沙鼠^[16]后其敏感性和特异性分别为88.6%和100.0%, 且在灌胃后的第6周检测效果最好, 可便于胃癌的长期研究; 而在Balb/c小鼠^[32]的敏感性和特异性分别为100%和88%。两者的差异可能与样本数量或动物模型的种类相关。在人体, ¹³C-UBT和血清学检测更方便和安全, 使用非常广泛; 但在动物实验*H. pylori*-SA和¹³C-UBT相比前者敏感性却更高。以单克隆抗体为基础的小鼠*H. pylori*-SA检测的敏感性和特异性均达96%, 也是一种快速可靠的诊断方法^[33]。其局限在于不能精确的控制小鼠粪便的收集时间, 超过4-6 h的储存粪便会影响*H. pylori*-SA的敏感性和特异性^[17]。

7 ¹³C-尿素呼气试验

¹³C是一种稳定性同位素, 对机体无损伤, ¹³C-尿素呼气试验(¹³C-urea breath test, ¹³C-UBT)是人体近年应用较多的非侵入性检查手段, 以其简便、快速、安全、无痛苦的优点得到广泛的应用。*H. pylori*能产生大量的尿素酶, 他能使尿素分解为NH₃和CO₂。至今在动物模型¹³C-UBT试验中没有一种确定的CO₂收集方法。Santos等^[34]将小鼠感染*H. pylori*造模后, 给予适量的¹³C-尿素灌胃, 然后将小鼠置于一开放的50 mL的注射器内15 min, 再关闭注射器1 min, 用注射器的针头收集注射器内10 mL气体并转移至密闭容器内。最后用同位素质谱仪测定样本中¹³CO₂的含量即可。以处死小鼠后取胃黏膜行PCR检测作为金标准, C57BL/6小鼠的¹³C-UBT和免疫组织化学的敏感性分别是96.6%和72.4%, 特异性分别是85.7%和95.2%。

最近有一种新的*H. pylori*检测设备也是利用了尿素酶活性, 当胃内pH足够高(pH>9.25)时, 在呼气中能检测到NH₃。这种方法不再要求尿素的类型, 但价格较昂贵^[35]。¹³C-UBT测定胃内感染*H. pylori*的总体情况, 避免了活检标本*H. pylori*分布不均造成的假阴性的结果。他除了定性

以外, 还可做定量测定, 与活检尿素酶试验的敏感性并不一致, 但特异性略高一些^[36]。

8 聚合酶链反应方法

PCR对*H. pylori*检测具有高敏感性和特异性, 但在小鼠粪便中非处死性检测*H. pylori* DNA仍存在问题。Horemans等^[37]报道, *H. pylori* ATCC43504(CagA⁺, VacA⁺)按上述方法分离培养后感染蒙古沙鼠, 分别对感染后1、4、10 d的小鼠粪便样本进行PCR检测。用蛋白酶K裂解液将标本中*H. pylori*的核酸释放出来, 以生物素标记的探针选择性与标本DNA杂交, 加入链霉亲和磁珠后, 分离出DNA最后冲洗干扰性的DNA和PCR抑制剂得到纯化的DNA。用传统PCR的方法将纯化的DNA进行扩增, 未感染*H. pylori*的小鼠粪便检测均为阴性。

还有多种PCR检测方法, Zaman等^[38]证明用PCR检测小鼠的粪便*H. pylori*尿素酶DNA, 可见清晰扩增条带。还有比较常见的检测方法即处死小鼠后取胃黏膜标本行PCR检测^[39,40]。与传统PCR相比, real-time PCR检测*H. pylori*的16S rRNA基因^[41-43]具有灵敏度高、特异性强和重复性好的优点^[44]。在猪的粪便和唾液^[5], 甚至牛奶和羊奶^[45]中也能检测到*H. pylori*。

此方法可以精确的检测出低剂量DNA, 但H.PCR的高敏感性也有他致命的弱点, 使用试剂浓度、操作温度、过度扩增、极少的DNA污染等都可导致假阳性。所以严格控制条件, 合理选择DNA扩增循环次数, 防止污染和设置对照等都是不可忽视的因素。

9 基于核磁共振的代谢组学方法

基于核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)的代谢组学方法是主要利用核磁共振技术和模式识别方法对体液和组织进行系统测量和分析, NMR氢谱的谱峰与样品中各化合物的氢原子是一一对应的, 图谱中信号的相对强弱反映样品中各组分的相对含量。从一维和二维高分辨¹H谱图可得到代谢成分图谱^[46]。最新报道^[47-49]可用¹H NMR的代谢组学方法检测人体、乳牛和大鼠等尿液的代谢物变化。基于¹H NMR的代谢组学方法是一种快速的、前沿性的*H. pylori*检测方法, 应用结合多元模式识别策略的¹H NMR谱分析感染*H. pylori*动物尿液中代谢产物的变化, 具有非损伤性及浓度相对较高的独特优点。

目前, 已有运用代谢组学方法研究动物尿

■相关报道

通常人体*H. pylori*的检测方法比较常见, 而在动物模型中却明显不足, 动物模型*H. pylori*的检测方法在国内的相关报道较少。

■创新盘点

本综述较全面地介绍了动物模型中*H. pylori*的检测方法,可根据不同的实验条件进行检测。首先使用多种动物模型如小鼠、猴子、猪及恒河猴等;其次可在不同的介质上进行检测,如血液、尿液、唾液和呼出的CO₂等;还有可根据实验要求的精确度进行检测,如细菌培养鉴定、PCR、血清学*H. pylori*-IgG测定及代谢组学方法等可精确的检测*H. pylori*的敏感性和特异性,而快速尿素酶试验和染色直接镜检方法相对较粗糙。

液生化效应的报道。虽然尿液是多种有机物的混合物,但他可提供高分辨率的¹H NMR光谱^[46]。Gao等^[50]描述,*H. pylori*感染的蒙古沙鼠尿液中 α -和 β -葡萄糖及TCA的中间产物即顺式-乌头酸的含量升高。处死小鼠后发现*H. pylori*的感染导致了胃黏膜表面活性氧的积累^[51]。*H. pylori*感染的小鼠氧化应激调节能量代谢使血糖升高。另外细胞内糖代谢状态影响了一氧化氮的细胞毒性反应^[52];氨基酸代谢也发生了紊乱即尿牛磺酸和瓜氨酸的缺失及天门冬酰胺、谷氨酰胺和肌氨酸的增加。此外,*H. pylori*的感染干扰了小鼠正常的胃肠道菌群系统,以致改变了微生物相关的代谢产物如硫酸吡啶酚升高和马尿酸降低。最后,通过光谱分析小鼠尿液中代谢产物的变化来有效的判断是否感染了*H. pylori*。

这是一种无损的多参数和动态分析技术,同时具有定性分析和定量分析功能,可以在很短的时间内完成(一般5-10 min)。目前相关研究报道^[53]在丙型肝炎患者尿液中¹H NMR谱检测的敏感性和特异性分别是94%和97%,阳性、阴性预测值及准确性分别是97%、94%和95%;且人血清食管癌的敏感性和特异性分别是88%和92%^[54]。当然NMR方法也有其局限性,例如他的检测动态范围有限,很难同时检测同一样品中含量相差很大的物质。

10 结论

从以上几种检测方法的比较可以看出,细菌培养、染色直接镜检、快速尿素酶实验、*H. pylori*-IgG检测主要是处死性的检测方法。细菌培养准确可靠但敏感性相对较低,同时其费用较高、费时并且*H. pylori*培养条件较为苛刻;W-S法具有特异性,镜下判断结果比较容易,其检出率仍然较低;尿素酶活性检查操作简单,价格低廉,可在数分钟内得出结果,但其检查结果易受室温、胃内pH值、观察时间及试剂灵敏度的影响引起假阳性;血清学*H. pylori*-IgG检测不稳定且菌株选择及抗原制备都直接影响检测方法的准确性,由于小鼠血清的收集量较少故此方法主要用于较大动物。

非处死性的检测方法主要有以下几种:动物模型的*H. pylori*-SA试验敏感性和特异性均较好,是一种经济的检测方法,但粪便的收集时间难以控制;唾液及尿液*H. pylori*-IgG检测是非损伤性检测方法但仍不成熟;¹³C-尿素呼气试验是公认的简便、快速、准确的方法,但其价格较昂

贵且需要特殊的气体采集装置;PCR方法快速、准确、简单,可用于低剂量的细菌检测,是检测*H. pylori*较为理想的方法;基于NMR的代谢组学方法是一项非常有前景的检测方法,他能提供精确的、非损伤性的、快速的*H. pylori*的诊断,但其有待进一步探索。

动物模型在*H. pylori*研究中的重要价值,但目前动物模型中没有一种统一的*H. pylori*感染检测标准。在利用动物模型研究时,务必根据自身研究目的、内容,结合其敏感性和特异性及各实验的不同条件来选择合适的检测方法。目前,在动物模型已有多种*H. pylori*感染的检测方法,但由于实验过程难操作、数量大及检测设备不成熟等,迄今仍然未被普遍认可,更加准确的、方便的、普遍的方法仍需进一步深入研究。

11 参考文献

- 1 中国幽门螺杆菌科研协作组, 张万岱, 胡伏莲, 萧树东, 徐智民. 中国自然人群幽门螺杆菌感染的流行病学调查. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 265-270
- 2 谢川, 吕农华. 幽门螺杆菌与胃肠外疾病的关系. 中华消化杂志 2011; 31: 843-845
- 3 Suzuki H, Iwasaki E, Hibi T. Helicobacter pylori and gastric cancer. Gastric Cancer 2009; 12: 79-87
- 4 Mendes EN, Queiroz DM, Rocha GA, Nogueira AM, Carvalho AC, Lage AP, Barbosa AJ. Histopathological study of porcine gastric mucosa with and without a spiral bacterium ("Gastrospirillum suis"). J Med Microbiol 1991; 35: 345-348
- 5 Casagrande Proietti P, Bietta A, Brachelente C, Lepri E, Davidson I, Francosini MP. Detection of Helicobacter spp. in gastric, fecal and saliva samples from swine affected by gastric ulceration. J Vet Sci 2010; 11: 221-225
- 6 Tatematsu M, Tsukamoto T, Toyoda T. Effects of eradication of Helicobacter pylori on gastric carcinogenesis in experimental models. J Gastroenterol 2007; 42 Suppl 17: 7-9
- 7 Guo BP, Mekalanos JJ. Rapid genetic analysis of Helicobacter pylori gastric mucosal colonization in suckling mice. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 8354-8359
- 8 Ge Z, Feng Y, Muthupalani S, Eurell LL, Taylor NS, Whary MT, Fox JG. Coinfection with Enterohepatic Helicobacter species can ameliorate or promote Helicobacter pylori-induced gastric pathology in C57BL/6 mice. Infect Immun 2011; 79: 3861-3871
- 9 Shojaei Tabrizi A, Jamshidi Sh, Oghalaei A, Zahraei Salehi T, Bayati Eshkaftaki A, Mohammadi M. Identification of Helicobacter spp. in oral secretions vs. gastric mucosa of stray cats. Vet Microbiol 2010; 140: 142-146
- 10 Cooke CL, An HJ, Kim J, Canfield DR, Torres J, Lebrilla CB, Solnick JV. Modification of gastric mucin oligosaccharide expression in rhesus macaques after infection with Helicobacter pylori. Gastroenterology 2009; 137: 1061-1071, 1071. e1-e8
- 11 Oda T, Murakami K, Nishizono A, Kodama M, Nasu M, Fujioka T. Long-term Helicobacter pylori infection in Japanese monkeys induces atrophic

- gastritis and accumulation of mutations in the p53 tumor suppressor gene. *Helicobacter* 2002; 7: 143-151
- 12 Kim SH, Langford ML, Boucher JL, Testerman TL, McGee DJ. Helicobacter pylori arginase mutant colonizes arginase II knockout mice. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3300-3309
 - 13 Recordati C, Gualdi V, Tosi S, Facchini RV, Pengo G, Luini M, Simpson KW, Scanziani E. Detection of Helicobacter spp. DNA in the oral cavity of dogs. *Vet Microbiol* 2007; 119: 346-351
 - 14 Peek RM. Helicobacter pylori infection and disease: from humans to animal models. *Dis Model Mech* 2008; 1: 50-55
 - 15 Blanchard TG, Nedrud JG. Laboratory maintenance of Helicobacter species. *Curr Protoc Microbiol* 2012; Chapter 8: Unit 8B.1
 - 16 Kuo CH, Hu HM, Tsai PY, Yang SF, Chang LL, Wang JY, Chen A, Jan CM, Wang WM, Wu DC. A better method for confirming Helicobacter pylori infection in Mongolian gerbils. *J Gastroenterol* 2008; 43: 32-37
 - 17 Çağdaş U, Otağ F, Tezcan S, Sezgin O, Aslan G, Emekdaş G. [Detection of Helicobacter pylori and Antimicrobial Resistance in Gastric Biopsy Specimens]. *Mikrobiyol Bul* 2012; 46: 398-409
 - 18 张少华, 肖青, 梁健智. 幽门螺杆菌Warthin-Starry染色法和qRT-PCR检测结果比较及相关性分析. *国际检验医学杂志* 2011; 32: 1712-1713
 - 19 陈昱, 罗添友, 唐怡, 唐源. Warthin-Starry染色的应用及体会. *临床与实验病理学杂志* 2010; 26: 634-635
 - 20 胥维勇, 杨红, 杨群, 范小莉, 何娟. 幽门螺杆菌实验室检测与应用价值. *实用医技杂志* 2007; 14: 1127-1128
 - 21 Fakhrijou A, Somi MH, Fattahi E, Koohbanani SS, Shadravan S. Rapid urease test, touch cytology and histopathologic assessment in determining infection by Helicobacter pylori in outpatient setting. *Pak J Biol Sci* 2011; 14: 698-702
 - 22 Mégraud F. The most important diagnostic modalities for Helicobacter pylori, now and in the future. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 9 Suppl 1: S13-S15; discussion S15
 - 23 Ozaslan E, Koseoglu T, Purnak T, Yildiz A. A forgotten cause of false negative rapid urease test: formalin contamination of the sample. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 99-100
 - 24 陈翠玲, 甄燕, 闵小春. 用蛋白芯片技术检测幽门螺杆菌抗体在临床上的应用. *临床血液学杂志(输血与检验版)* 2011; 24: 448-450
 - 25 Handt LK, Fox JG, Yan LL, Shen Z, Pouch WJ, Ngai D, Motzel SL, Nolan TE, Klein HJ. Diagnosis of Helicobacter pylori infection in a colony of rhesus monkeys (Macaca mulatta). *J Clin Microbiol* 1997; 35: 165-168
 - 26 Kumagai T, Yan J, Graham DY, Tozuka M, Okimura Y, Ikeno T, Sugiyama A, Katsuyama T, Ota H. Serum immunoglobulin G immune response to Helicobacter pylori antigens in Mongolian gerbils. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1283-1288
 - 27 Murakami K, Kamada T, Ishikawa H, Imamura H, Matsumoto H, Fujita M, Tarumi K, Shiotani A, Mizukami K, Shiota S, Okimoto T, Kodama M, Akiyoshi A, Oda T, Noda A, Hata J, Haruma K, Fujioka T. An evaluation of the performance of a novel stick-type kit for rapid detection of Helicobacter pylori antibodies in urine. *Clin Lab* 2011; 57: 481-487
 - 28 Kato M, Asaka M, Saito M, Sekine H, Ohara S, Toyota T, Akamatsu T, Kaneko T, Kiyosawa K, Nishizawa O, Kumagai T, Katsuyama T, Abe M, Kosaka M, Hariya S, Minami K, Sanai Y, Sawamura M, Tachikawa T. Clinical usefulness of urine-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibody to Helicobacter pylori: a collaborative study in nine medical institutions in Japan. *Helicobacter* 2000; 5: 109-119
 - 29 Cellini L, Grande R, Artese L, Marzio L. Detection of Helicobacter pylori in saliva and esophagus. *New Microbiol* 2010; 33: 351-357
 - 30 Thong-Ngam D, Chayanupatkul M, Vongchampa P, Hanvivatvong O. An evaluation of a new in-house serum and urine ELISA test for detection of Helicobacter pylori infection in Thai population. *J Med Assoc Thai* 2011; 94: 985-990
 - 31 Guo JX, Han J, Chen L, Xu J, Liu J, Zhao J, Liu AX, Yang LH, Song YJ, Li BA, Mao YL. [Evaluation of the Helicobacter pylori stool antigen test]. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2011; 25: 495-496
 - 32 Wang YL, Sheu BS, Yang HB, Huang AH. A non-invasive H. pylori stool antigen assay to detect H. pylori infection of in vivo BALB/c mice models. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 724-726
 - 33 Crone J, Symonds E, Campbell F, Butler R. Evaluation of a monoclonal antibody-based test for detection of Helicobacter pylori-specific antigen in stool samples from mice. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 799-800
 - 34 Santos AM, Lopes T, Oleastro M, Chaves P, Cordeiro R, Ferreira M, Pereira T, Machado J, Guerreiro AS. Role of 13C-urea breath test in experimental model of Helicobacter pylori infection in mice. *Helicobacter* 2011; 16: 320-326
 - 35 Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Vaira D. Non-invasive techniques for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 489-496
 - 36 Nocon M, Kuhlmann A, Leodolter A, Roll S, Vauth C, Willich SN, Greiner W. Efficacy and cost-effectiveness of the 13C-urea breath test as the primary diagnostic investigation for the detection of Helicobacter pylori infection compared to invasive and non-invasive diagnostic tests. *GMS Health Technol Assess* 2009; 5: Doc14
 - 37 Horemans T, Deschacht M, Clais S, Van Camp J, de Rijk P, Holvoet J, Van Assche T, Maes L, Cos P. An alternative, sensitive method to detect Helicobacter pylori DNA in feces. *Helicobacter* 2011; 16: 113-118
 - 38 Zaman C, Osaki T, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Kamiya S. Analysis of the microflora in the stomach of Mongolian gerbils infected with Helicobacter pylori. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25 Suppl 1: S11-S14
 - 39 黄庆华, 佟素香, 廖方, 余振东, 彭颖, 徐迪, 叶嗣颖, 谢小平. 幽门螺杆菌分离培养技术的改进. *同济医科大学学报* 2001; 30: 145-147
 - 40 Roussel Y, Wilks M, Harris A, Mein C, Tabaqchali S. Evaluation of DNA extraction methods from mouse stomachs for the quantification of H. pylori by real-time PCR. *J Microbiol Methods* 2005; 62: 71-81
 - 41 Smith JG, Kong L, Abruzzo GK, Gill CJ, Flattery AM, Scott PM, Silver L, Kropp H, Bartizal K. Evaluation of experimental therapeutics in a new mouse model of Helicobacter felis utilizing 16S rRNA polymerase chain reaction for detection. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 297-302
 - 42 Yamazaki S, Kato S, Matsukura N, Ohtani M, Ito Y, Suto H, Yamazaki Y, Yamakawa A, Tokudome S, Higashi H, Hatakeyama M, Azuma T. Identification of Helicobacter pylori and the cagA genotype

应用要点

目前关于H. pylori致病机制的研究仍是一个非常重要的热点,而大多数的研究方法缺乏有效且快速的检测H. pylori的方法,这是一个亟待解决的问题。本文主要概括了七种动物模型H. pylori的检测方法,可根据研究的不同条件及要求选择不同的方法。

■同行评价

动物模型在 *H. pylori* 致病的研究中广为应用, 确定 *H. pylori* 的定植是确保造模成功的关键; 本文就动物模型 *H. pylori* 的检测方法进行综述, 对研究者有一定的参考价值。

- in gastric biopsies using highly sensitive real-time PCR as a new diagnostic tool. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 44: 261-268
- 43 Liu H, Rahman A, Semino-Mora C, Doi SQ, Dubois A. Specific and sensitive detection of *H. pylori* in biological specimens by real-time RT-PCR and in situ hybridization. *PLoS One* 2008; 3: e2689
- 44 张如华, 徐双兵, 胡开顺, 康铁邦. 幽门螺杆菌尿素酶基因的克隆及表达. *分子诊断与治疗杂志* 2010; 2: 387-389
- 45 Rahimi E, Kheirabadi EK. Detection of *Helicobacter pylori* in bovine, buffalo, camel, ovine, and caprine milk in Iran. *Foodborne Pathog Dis* 2012; 9: 453-456
- 46 Borel M, Pastoureaux P, Papon J, Madelmont JC, Moins N, Maublant J, Miot-Noirault E. Longitudinal profiling of articular cartilage degradation in osteoarthritis by high-resolution magic angle spinning 1H NMR spectroscopy: experimental study in the meniscectomized guinea pig model. *J Proteome Res* 2009; 8: 2594-2600
- 47 Bertram HC, Yde CC, Zhang X, Kristensen NB. Effect of dietary nitrogen content on the urine metabolite profile of dairy cows assessed by nuclear magnetic resonance (NMR)-based metabolomics. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 12499-12505
- 48 Lauridsen M, Hansen SH, Jaroszewski JW, Cornett C. Human urine as test material in 1H NMR-based metabolomics: recommendations for sample preparation and storage. *Anal Chem* 2007; 79: 1181-1186
- 49 Pérez-Trujillo M, Lindon JC, Parella T, Keun HC, Nicholson JK, Athersuch TJ. Chiral metabolomics: 1H NMR-based enantiospecific differentiation of metabolites in human urine via direct cosolvation with β -cyclodextrin. *Anal Chem* 2012; 84: 2868-2874
- 50 Gao XX, Ge HM, Zheng WF, Tan RX. NMR-based metabolomics for detection of *Helicobacter pylori* infection in gerbils: which is more descriptive. *Helicobacter* 2008; 13: 103-111
- 51 Farinati F, Picciocchi M, Lavezzo E, Bortolami M, Cardin R. Oxidative stress and inducible nitric oxide synthase induction in carcinogenesis. *Dig Dis* 2010; 28: 579-584
- 52 Almeida A, Almeida J, Bolaños JP, Moncada S. Different responses of astrocytes and neurons to nitric oxide: the role of glycolytically generated ATP in astrocyte protection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 15294-15299
- 53 Godoy MM, Lopes EP, Silva RO, Hallwass F, Koury LC, Moura IM, Gonçalves SM, Simas AM. Hepatitis C virus infection diagnosis using metabolomics. *J Viral Hepat* 2010; 17: 854-858
- 54 Zhang J, Liu L, Wei S, Nagana Gowda GA, Hammoud Z, Kesler KA, Raftery D. Metabolomics study of esophageal adenocarcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 141: 469-475, 475. e1-e4

编辑 曹丽鸥 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

本刊讯 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (编辑部主任: 李军亮 2012-03-08)。