

活体长爪沙鼠幽门螺杆菌检测方法的建立

王存龙¹, 李长龙¹, 邢进², 冯育芳², 杜小燕¹, 岳秉飞², 贺争鸣², 陈振文^{1*}

(1. 首都医科大学基础医学院, 北京 100069; 2. 中国食品药品检定研究院实验动物资源研究所, 北京 100050)

【摘要】 目的 应用巢式 PCR 方法通过胃液活体检测长爪沙鼠幽门螺杆菌感染, 从而建立可以持续监测长爪沙鼠幽门螺杆菌感染的检测技术。**方法** 体外培养幽门螺杆菌并接种至长爪沙鼠体内, 在感染后第 10 周使用普通 PCR 方法检测长爪沙鼠胃液, 使用巢式 PCR 方法对长爪沙鼠胃液、胃组织、十二指肠内容物、结肠粪便进行检测; 同时还利用快速尿素酶试验和血清 ELISA 方法等对比分析巢式 PCR 方法的准确性, 上述 PCR 产物均经过测序验证。**结果** 普通 PCR 方法检测胃液、巢式 PCR 方法检测胃液、胃组织、十二指肠内容物, 结肠粪便以及快速尿素酶试验、血清 ELISA 检测方法检验结果阳性率分别为 30%、100%、100%、90%、10%、100% 和 0%。比较不同检测方法的检测结果发现, 胃液巢式 PCR、胃组织巢式 PCR 和快速尿素酶试验均有 100% 的检测率, 普通 PCR 检测胃液的方法、结肠粪便巢式 PCR 方法及血清学 ELISA 检测方法检测率均比较低。**结论** 胃液巢式 PCR 检测方法由于其特异性、准确性及灵敏性较高等特点可以用于长爪沙鼠幽门螺杆菌的长期检测, 特别是对于预防和治疗幽门螺杆菌感染的实验具有重要价值。

【关键词】 长爪沙鼠; 幽门螺杆菌; 巢式 PCR

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 03-0075-06

doi: 10. 3969. j. issn. 1671-7856. 2017. 03. 014

Establishment of a detection method for *Helicobacter pylori* in living Mongolian gerbil

WANG Cun-long¹, LI Chang-long¹, XING Jin², FENG Yu-fang²,
DU Xiao-yan¹, YUE Bing-fei², HE Zheng-ming², CHEN zhen-wen^{1*}

(1. School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing 100069, China;

2. Institute for Laboratory Animal Resources, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050)

【Abstract】 Objective To establish a detection technique for *H. pylori* (HP) infection in Mongolian gerbils using nested PCR technique. **Methods** *H. pylori* was cultured *in vitro* and inoculated into Mongolian gerbils. At the 10th week after infection, the HP in the gastric juice of Mongolian gerbil was detected by conventional PCR assay and the gastric juice, gastric mucosa, duodenal contents and colon stool were examined by nested PCR. Rapid urease test and ELISA were used to analyze the accuracy of the nested PCR assay. All of the PCR products were verified by sequencing. **Results** The positive rate of gastric juice detected by conventional PCR was 30%, while the positive rates of gastric juice, gastric mucosa, duodenal contents and colon stool detected by nested PCR were 100%, 100%, 90%, and 10%, respectively. The positive detection rates of rapid urease test and serum ELISA were 100% and 0%, respectively.

【基金项目】 国家科技支撑计划课题(2015BAI09B01); 国家自然科学基金项目(31572348); 北京自然科学基金重点项目(714100)。

【作者简介】 王存龙(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 实验动物遗传学。E-mail: cunlongwang@qq.com

【通讯作者】 陈振文(1959-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 分子遗传学。E-mail: czwen@ccmu.edu.cn

Comparing the results of different methods, both the positive rates of gastric juice and gastric mucosa detected by nested PCR and the detection rate of rapid urease test were 100%, but the results of conventional PCR detection of gastric juice, the nested PCR detection result of stool in colon and of serum ELISA assay were lower than other methods. **Conclusions**

Due to its high accuracy and sensitivity, the nested PCR assay of gastric juice can be used for the long-time detection of *H. pylori* infection in Mongolian gerbils, especially useful in the experiments of prevention and treatment of *H. pylori* infection.

【Key words】 Mongolian gerbil; *Helicobacter pylori*; Nested-PCR

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)形态特征与弯曲菌类似,为革兰阴性菌。1983年由澳大利亚学者沃伦(J. Robin Warren)和马歇尔(Barry J. Marshall)从胃炎和胃溃疡病人胃黏膜组织中分离培养出来该细菌,研究发现该细菌与胃部多种疾病具有相关性,二位学者因此获得2005年诺贝尔生理学 and 医学奖^[1]。幽门螺杆菌是胃癌发生的重要的风险因素之一,世界卫生组织(WHO)已经将其列为一类致癌物质^[2]。长爪沙鼠(Mongolian gerbil)是幽门螺杆菌研究中重要的模型动物。Honda在1998年利用长爪沙鼠成功复制了幽门螺杆菌感染的动物模型,并且研究发现长爪沙鼠在幽门螺杆菌感染后会出现胃炎、胃溃疡、肠化生甚至胃癌等与人类相似的病理过程^[3]。目前,长爪沙鼠幽门螺杆菌感染的检测方法主要有细菌分离培养、胃组织切片以及血清学检测等方法,尚缺少一种直接针对抗原、快速、有效的活体检测方法。本文通过抽取胃液后进行巢式PCR的方法对感染幽门螺杆菌的长爪沙鼠进行检测和评价。

1 材料和方法

1.1 实验动物和菌株

普通级长爪沙鼠10只,雄性,8周龄,体重50~60 g。所有长爪沙鼠均来自首都医科大学实验动物部,饲养于控制温湿度的普通环境中【SYXK(京)2013-0005】。幽门螺杆菌采用ATCC43504菌株,由中国食品药品检定研究院提供。

1.2 试剂和仪器

哥伦比亚血琼脂基础培养基(Oxoid公司,批号CM0331,英国);无菌脱纤维羊血(北京路桥技术有限公司,中国);MGC微需氧产气袋与密封培养盒(三菱瓦斯化学株式会社,日本),小鼠幽门螺杆菌抗体检测试剂盒(上海通蔚生物科技有限公司,批号:ml13306,中国)幽门螺杆菌诊断试剂盒(YZB/闽0455-2009,福建三强生物化工有限公司,中国),微量样品基因组DNA提取试剂盒(天根生化科技

(北京)有限公司,批号:DP316,中国),PCR Master Mix(2X)预混酶(K0171,Thermo Scientific,美国),低熔点琼脂糖(A8350,Amresco,美国),PCR仪(Applied Biosystems公司,美国),电泳仪(BIO-RAD公司,美国),凝胶成像系统(Bio-Rad公司,美国),压力蒸汽灭菌器(Triumph公司产品),超净工作台,灭菌灌胃针,灭菌手术器械(眼科剪、眼科镊等)。

1.3 实验设计

1.3.1 细菌培养和感染动物

无菌脱纤维羊血加入高压灭菌后的哥伦比亚琼脂基础培养基,倾注平皿,制成含5%脱纤维羊血的哥伦比亚琼脂平板。幽门螺杆菌接种于哥伦比亚血琼脂平板上,至密封培养盒中,36℃微需氧培养48 h。菌苔用无菌生理盐水制成含菌量为 10^9 CFU/mL浓度的菌液,分装成小份,至-80℃冰箱备用,2周内用完。取长爪沙鼠每次灌胃0.5 mL菌液,连续灌胃5次,每次间隔24 h。所有动物灌胃前禁食不禁水24 h。灌胃结束后饲养10周。

1.3.2 胃液基因组提取方法

感染幽门螺杆菌长爪沙鼠禁食不禁水24 h,用高压灭菌水灌胃0.5 mL,等1 min后用灌胃针伸入长爪沙鼠胃中抽取其胃中液体放入离心管中。胃液经过离心,利用微量样品基因组DNA提取试剂盒提取基因组。

1.3.3 巢式PCR引物设计及扩增

使用Primer Premier 5引物设计软件设计引物,第一次PCR反应,引物F₁: AGTAGGGCCATACA TAGAAA,引物R₁: GACAAACTCGTAACCGT,目的片段大小为499 bp,PCR反应程序:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,51.3℃退火30 s,72℃延伸30 s,循环35次;72℃终延伸5 min。第二次PCR反应,引物F₂: CATAGTTGTCATCGCTTTT,引物R₂: GCGTTGGTTGATAGGC,目的片段大小为100 bp,反应程序:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,51.3℃退火30 s,72℃延伸30 s,循环35次;72℃终延伸5 min。

1.3.4 检测阈值的建立

检测前对 10 只长爪沙鼠禁食不禁水 24h。使用灌胃针给长爪沙鼠灌胃 0.5 mL 生理盐水。等 1 min 左右后,再用灌胃针伸入长爪沙鼠胃中抽取其胃中液体放入离心管中。隔天重复操作,将所有长爪沙鼠胃液混合,取 180 μ L 胃液加入浓度为 2×10^9 CFU/mL 浓度的幽门螺杆菌 20 μ L 混匀后倍比稀释,浓度分别为 2×10^8 CFU/mL、 2×10^7 CFU/mL、 2×10^6 CFU/mL、 2×10^5 CFU/mL、 2×10^4 CFU/mL、 2×10^3 CFU/mL、 2×10^2 CFU/mL 和 2×10 CFU/mL 的混合液。使用微量样品基因组 DNA 提取试剂盒提取混合液基因组,进行巢式 PCR 扩增,将扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳及测序。

1.3.5 幽门螺杆菌其他检测方法

普通 PCR 方法检测胃液:使用微量样品基因组 DNA 提取试剂盒提取该液体基因组,只使用巢式 PCR 中第 1 次 PCR 引物进行扩增,将扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳。

将取胃液样本完毕后的长爪沙鼠进行眶静脉采血,并断颈椎处死后采集胃黏膜、十二指肠内容物及结肠粪便,其中部分胃黏膜进行快速尿素酶试验;离心分离静脉血血清,用于 ELISA 检测。胃黏膜、十二指肠内容物及结肠粪便中基因组 DNA,进行巢式 PCR 检测。

快速尿素酶检测方法:使用胃幽门螺杆菌诊断试剂盒(福建三强生物化工有限公司),使用前去底物酶标条的盖子,每孔加入酶促反应液 2 滴(或 100 μ L),待药膜完全溶解后,用洁净镊子将受感染动物的胃黏膜放入药液中,在 $10^\circ\text{C} \sim 30^\circ\text{C}$ 条件下孵育 5min,观察结果。采用目测法,衬白纸在自然光线下观察各孔内胃组织黏膜组织边缘药液颜色变化。幽门螺杆菌阴性为黄色,幽门螺杆菌阳性为浅红色至玫瑰红色。

血清 Elisa 检测方法:通过眶静脉取感染幽门螺杆菌长爪沙鼠血液 500 μ L,室温静置 2 h,3000 r/min,15 min 离心,取血清。按照小鼠幽门螺杆菌抗体检测试剂盒说明书进行 Elisa 检测,最终和阳性标准品比较,确定长爪沙鼠是否感染幽门螺杆菌。

1.3.6 实验结果分析

通过检测胃液中幽门螺杆菌浓度梯度确定胃液巢式 PCR 检测方法的灵敏性,并通过胃液巢式 PCR 检测方法检测造模动物的感染阳性率与常规方法检测的感染阳性率进行比较,确定该方法准确

性和特异性。

2 结果

2.1 普通 PCR 方法检测胃液结果

使用第一对 PCR 引物进行普通 PCR 扩增对胃液检测,目的条带为 499 bp,对于扩增出目的条带的视为阳性。普通 PCR 方法检测以感染动物的胃液,结果显示有 3 只动物感染幽门螺杆菌,检出率为 30% (如图 1A)。

2.2 巢式 PCR 方法检测不同样品结果

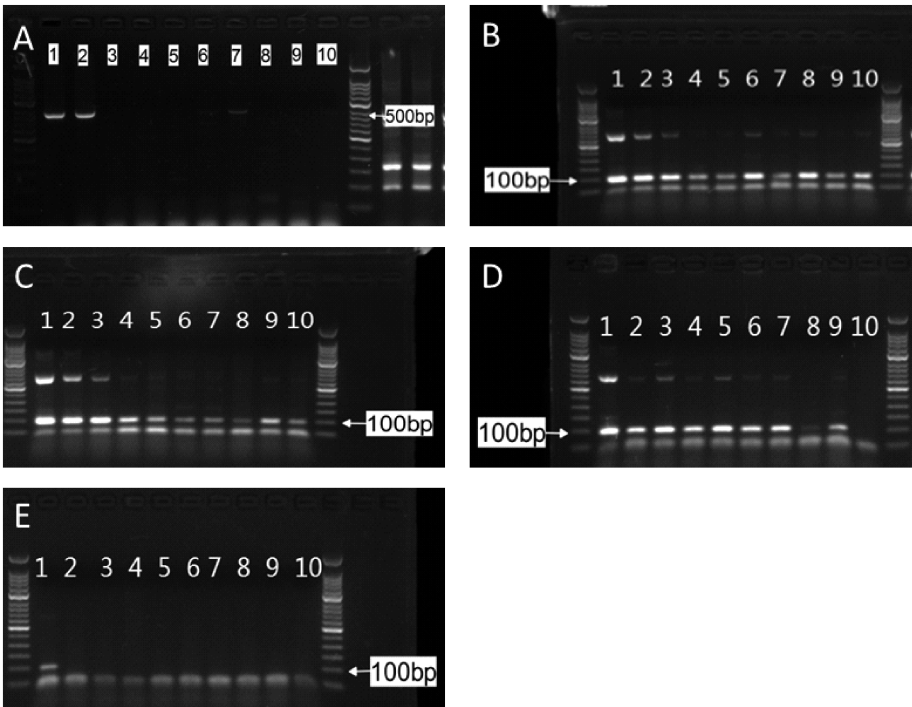
幽门螺杆菌在消化道中均有分布。本研究通过对胃液、胃组织、十二指肠内容物及结肠粪便进行分析,筛选了适合检测的消化道组织或内容物。分别对胃液、胃组织、十二指肠内容物及结肠粪便进行巢式 PCR 检测,经过琼脂糖凝胶电泳分析,对于扩增出目的条带的视为阳性。巢式 PCR 方法检测胃液和胃组织结果显示,10 只动物感染幽门螺杆菌,检出率 100%;巢式 PCR 方法检测十二指肠内容物结果显示,有 9 只动物感染幽门螺杆菌,检出率为 90%,巢式 PCR 方法检测结肠粪便结果显示,仅有 1 只动物感染幽门螺杆菌,检出率为 10% (如图 1B-D)。

2.3 巢式 PCR 方法检测阈值分析

PCR 方法具有分高的灵敏性。本研究取不同浓度菌液提取的基因组进行巢式 PCR 扩增和琼脂糖凝胶电泳并测序,实验结果如图 2 所示,幽门螺杆菌浓度为 $2 \times 10^8 \sim 2 \times 10^2$ CFU/mL 的混合液中均扩增出目的片段。将巢式 PCR 扩增出的目的片段送北京睿博兴科生物技术有限公司进行测序,使用 Pubmed 数据库对测序结果进行 BLAST 分析,确定巢式 PCR 扩增片段为幽门螺杆菌特定片段。胃液巢式 PCR 检测方法幽门螺杆菌最低浓度为 2×10^2 CFU/mL。

2.4 PCR 方法与快速尿素酶试验、血清学 Elisa 检测方法的的结果分析

为了验证巢式 PCR 方法的准确性,本研究选用快速尿素酶试验和血清学 ELISA 检测方法作为对比。结果用检测阳性结果所占比例表示,分别说明各种方法的检测阳性率。快速尿素酶检测方法按其说明书要求通过试剂颜色改变判断其感染情况。检测结果对比如表 1 所示,快速尿素酶试验结果发现有 10 只动物感染幽门螺杆菌,检出率 100%。血清学 ELISA 检测方法检测结果显示有 0 只动物感染幽门螺杆菌,检出率为 0%。

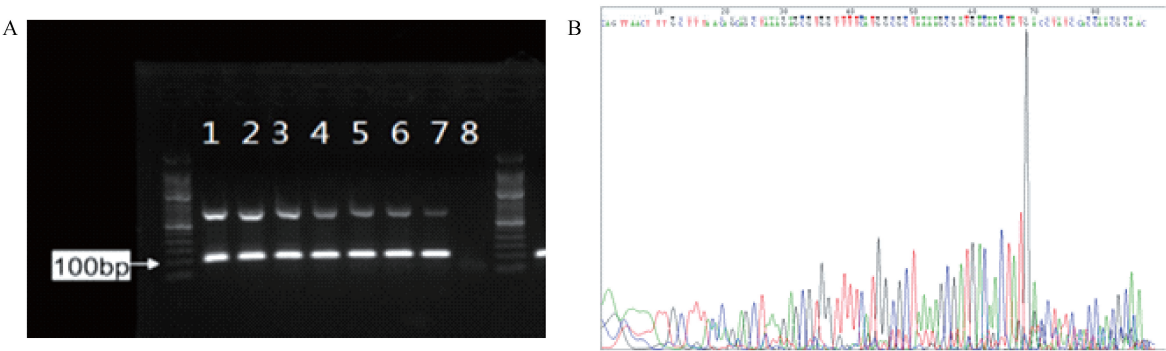


注:A. 胃液一次 PCR 产物电泳图;B. 胃液巢式 PCR 产物电泳图;C. 胃组织巢式 PCR 产物电泳图;D. 肠内容物巢式 PCR 产物电泳图;E. 粪便巢式产物 PCR 电泳图;目的条带均为 100bp。

图 1 通过不同方法检测感染幽门螺杆菌长爪沙鼠的检测结果

Notes. A. Electrophoresis of gastric juice PCR products; B. Electrophoresis of gastric juice nested PCR products; C. Electrophoresis of gastric mucosa nested PCR products; D. Electrophoresis of duodenum content nested PCR products; E. Electrophoresis of colon stool nested PCR products; All the target bands were 100 bp.

Fig.1 *Helicobacter pylori* in the Mongolian gerbils detected by different detection methods



注:A. 不同幽门螺杆菌浓度巢式 PCR 产物电泳图,目的片段大小为 100 bp,1~8 孔浓度分别为 2×10^8 CFU/mL、 2×10^7 CFU/mL、 2×10^6 CFU/mL、 2×10^5 CFU/mL、 2×10^4 CFU/mL、 2×10^3 CFU/mL、 2×10^2 CFU/mL 和 2×10 CFU/mL;B. 巢式 PCR 扩增出 100 bp 条带测序结果。

图 2 胃液巢式 PCR 检测方法检测阈值的测定

Notes. A. The nested PCR electrophoresis map of different concentrations of *H. pylori*. The target band is 100 bp. The concentration of *H. pylori* in the 1~8 wells were 2×10^8 CFU/mL, 2×10^7 CFU/mL, 2×10^6 CFU/mL, 2×10^5 CFU/mL, 2×10^4 CFU/mL, 2×10^3 CFU/mL, 2×10^2 CFU/mL and 2×10 CFU/mL, respectively; B. Sequencing results of nested PCR products of 100bp.

Fig.2 Determination of the threshold of gastric juice nested PCR detection method

表 1 不同方法检测长爪沙鼠幽门螺杆菌的结果比较
Tab.1 Comparison of the results of different methods for detection of *Helicobacter Pylori* in the Mongolian gerbils

编号 Number	胃液 普通 PCR Gastric juice conventional PCR	胃液 巢氏 PCR Gastric juice nested PCR	胃组织 巢氏 PCR Gastric mucosa nested PCR	肠内容物 巢式 PCR Duodenal contests nested PCR	结肠粪便 巢式 PCR Colon stool nested PCR	快速尿素酶 检测方法 Rapid urease test	血清 Elisa 检测方法 Serum ELISA
1	+	+	+	+	+	+	-
2	+	+	+	+	-	+	-
3	-	+	+	+	-	+	-
4	-	+	+	+	-	+	-
5	-	+	+	+	-	+	-
6	-	+	+	+	-	+	-
7	+	+	+	+	-	+	-
8	-	+	+	+	-	+	-
9	-	+	+	+	-	+	-
10	-	+	+	-	-	+	-

注：“+”为阳性，“-”为阴性。
Note. “+” means positive;“-” means negative.

3 讨论

长爪沙鼠由于其在幽门螺杆菌感染后会出现胃炎、胃溃疡、肠化生以及胃癌等一系列病理学变化的特点已经在幽门螺杆菌的相关研究中广泛使用^[3]。目前虽然已经有多种幽门螺杆菌检测方法,但大多数检测方法会对动物造成较大的损伤甚至死亡,不能很好地用于动物的长期监测。例如细菌分离培养方法,其作为幽门螺杆菌感染的金标准,但需处死动物,分离细菌难度较高,且较为耗时^[4]。胃组织切片染色方法也可以作为幽门螺杆菌感染的金标准,但其同样需要处死动物,过程比较复杂,对于组织切片要求较高,并且需要有临床经验的病理医师进行判断,假阴性率较高^[5]。血清学抗体检测方法已经广泛用于人类和大、小鼠幽门螺杆菌感染的检测^[7]。但血清学抗体检测方法是一种间接检测方法,动物感染幽门螺杆菌后数周后才会产生抗体,这将造成检测结果的假阴性率较高。现有检测方法不足制约了使用长爪沙鼠研究幽门螺杆菌。因此,急需一种能比较准确的检测方法检测幽门螺杆菌感染情况并能对其进行长期检测。PCR 技术因其灵敏,快速,方便等特点已经在细菌检测中广泛使用^[6]。本研究建立了胃液 PCR 检测方法用于检测长爪沙鼠幽门螺杆菌感染情况,该方法具有良好的灵敏性、准确性以及特异性,不仅如此,该方法对于长爪沙鼠的损伤甚微,可以作为长期监测类似长爪沙鼠等实验动物幽门螺杆菌感染的无创检测方法。

由于长爪沙鼠胃液比较少,无法直接使用灌胃

针抽取胃液,故本实验采取先灌胃无菌水后再抽取胃液。但由于灌胃使用的水会稀释胃液中幽门螺杆菌浓度,加之普通 PCR 方法检测敏感性低,很难根据普通 PCR 的电泳图判断其感染情况(如图 1A)。而巢式 PCR 技术使用两对 PCR 引物扩增完整的目的基因片段,能够增加 PCR 的特异性和灵敏性^[8]。所以通过使用巢式 PCR 的方法,显著提升了该检测方法的准确性和特异性(如图 1B)。

在本研究中,利用巢式 PCR 方法检测动物不同部位幽门螺杆菌感染情况的阳性率存在差异。其中胃液、组织尿素酶方法和胃组织检测效率最高,阳性率为 100%。十二指肠内容物阳性率为 90%,结肠和粪便检测效率很低。可能有以下原因导致。幽门螺杆菌进入胃内则粘附于黏膜表面的粘液层,寄居于胃小凹及胃黏膜上皮层,特别是胃窦小弯侧^[9]。所以巢式 PCR 方法检测胃液和胃组织的阳性率较高。在自然环境或者灌胃过程中会有部分幽门螺杆菌随水或食物进入到十二指肠与胃组织交界处,所以巢式 PCR 方法检测十二指肠的肠内容物时也可以检测到幽门螺杆菌,但其准确性不如前三种检测方法。长爪沙鼠主要生活在荒漠干旱地带,其粪便含水量较低^[10],不利于细菌生存,巢式 PCR 方法检测结肠部幽门螺杆菌阳性率较低,故长爪沙鼠粪便巢式 PCR 方法不适合作为一种活体检测幽门螺杆菌的方法。

巢式 PCR 方法检测胃液幽门螺杆菌阳性率与快速尿素酶试验结果相一致,阳性结果率均为 100%,证明胃液巢式 PCR 检测方法的准确性较高。相比与快速尿素酶试验需处死动物后检测,胃液巢

式 PCR 检测方法能够在对动物造成极微小的损伤情况下检测动物幽门螺杆菌感染情况。而血清 ELISA 检测结果阳性率较低,主要因为长爪沙鼠对于幽门螺杆菌产生的抗体与小鼠存在一定差异,所以使用小鼠幽门螺杆菌抗体检测试剂盒并不适用于长爪沙鼠。

基于以上不同检测方法的比较,胃液 PCR 检测幽门螺杆菌的方法有以下几个优点。(1)活体检测:相对于传统的幽门螺杆菌检测方法,该方法通过胃液对其进行检测,对动物伤害较小,能够保证动物的存活,动物可以继续用做其他实验。这对于动物实验特别是与幽门螺杆菌研究相关的实验至关重要。(2)操作简单:采用 $2 \times \text{PCR Master Mix}$ 预混酶,需 2 步 PCR 就可得到幽门螺杆菌感染情况。(3)检测速度快:相对于传统方式,该方法能够较快速直观的反映出幽门螺杆菌感染情况。(4)实验结果认定较为简单、客观:该方法结果的判读是根据琼脂糖凝胶电泳图中条带目的条带的有无,使检测结果的判读更加简单、客观。(5)成本低廉,本实验只需要微量样品 DNA 提取试剂盒和普通 PCR 引物及 DNA 聚合酶。相对于细菌体外培养等方式,成本相对较低。(6)抗原检测:相对于抗体等间接检测方法,该方法是通过检测胃液中幽门螺杆菌进行检测,其准确性相对较高。

Watanabe 等^[11]研究发现长爪沙鼠人工感染幽门螺杆菌,其在 6 周定植率可以达到 100%。本实验同样发现通过人工感染的发方法复制长爪沙鼠感染幽门螺杆菌动物模型,在第 10 周时其定植率高达 100%。据此分析,长爪沙鼠是幽门螺杆菌的易感动物。虽然有文献报导长爪沙鼠在自然环境中很少感染幽门螺杆菌^[14]。但是,人感染幽门螺杆菌情况较为普遍,据统计全球约有 50% ~ 70% 的人群感染幽门螺杆菌,有些国家甚至达到 100%^[12],其主要通过口-口途径和粪-口途径传播^[13]。因此,长期在人工饲养环境下,长爪沙鼠有可能会通过人感染幽门螺杆菌。研究发现,幽门螺杆菌感染会导致长爪沙鼠体内氧自由基聚集^[15], IL-12 和 IFN- γ 表达量上升等^[16],这将对实验结果准确性造成严重影响。此外,感染幽门螺杆菌后,长爪沙鼠可以通过口-口途径和粪-口途径传播给幼鼠,导致其在动物群体长期感染并影响动物质量和研究结果^[17]。据此,长爪沙鼠种群中应控制幽门螺杆菌的感染。

参考文献:

- [1] Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis [J]. *Lancet*, 1983, 1 (8336): 1273 - 1275.
- [2] Arfaoui D, Elloumi H, Ben AA. *Helicobacter pylori* and gastric adenocarcinoma [J]. *Tunis Med*, 2009, 87(4): 231 - 236.
- [3] Honda S, Fujioka T, Tokieda M, et al. Development of *Helicobacter pylori*-induced gastric carcinoma in Mongolian gerbils [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(19): 4255 - 4259.
- [4] 何周桃,谢贤和,韦红,等. 幽门螺旋杆菌 5 种检测方法比较 [J]. *临床荟萃*, 2011, 26(07): 570 - 574.
- [5] 史济经,闵海阳,王青,等. 分离培养在 Hp 感染诊断中的重要地位 [J]. *世界华人消化杂志*, 2003, 11(06): 867 - 869.
- [6] 赵洁,马晨,席晓敏,等. 实时荧光定量 PCR 技术在肠道微生物领域中的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2014, 30(12): 61 - 66.
- [7] 张冲,叶辉,张姣. 幽门螺杆菌及其血清抗体测定与胃镜及组织学检查结果的对比分析 [J]. *中国内镜杂志*, 2007, 13 (04): 369 - 371.
- [8] 张平平,王浩然,郭兆彪,等. 多重生物检测技术研究进展 [J]. *军事医学*, 2012, 36(9): 713 - 717.
- [9] 李健,吴丽莉,冯常炜,等. 幽门螺旋杆菌发现简史 [J]. *中华医史杂志*, 1999, 29(04): 11 - 14.
- [10] 丁贤明,钱宝珍. 长爪沙鼠在生物医学中的应用及其生理生化研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2006, 16(05): 313 - 318.
- [11] Watanabe T, Tada M, Nagai H, et al. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in mongolian gerbils [J]. *Gastroenterology*, 1998, 115(3): 642 - 648.
- [12] Amieva M, Peek RJ. Pathobiology of *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(1): 64 - 78.
- [13] 苏青,徐三平. 幽门螺旋杆菌的研究进展 [J]. *临床消化病杂志*, 2014, 26(03): 132 - 133.
- [14] 刘琳娜,丁士刚. 不同幽门螺杆菌菌株感染动物模型的研究进展 [J]. *胃肠病学*, 2010, 15(07): 429 - 431.
- [15] Raju D, Hussey S, Ang M, et al. Vacuolating cytotoxin and variants in Atg16L1 that disrupt autophagy promote *Helicobacter pylori* infection in humans [J]. *Gastroenterology*, 2012, 142 (5): 1160 - 1171.
- [16] 王品桐,刘玉兰. 蒙古沙鼠感染幽门螺旋杆菌后胃黏膜细胞因子水平的改变 [J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2008, 17 (01): 50 - 51.
- [17] Oshio I, Osaki T, Hanawa T, et al. Vertical *Helicobacter pylori* transmission from Mongolian gerbil mothers to pups [J]. *J Med Microbiol*, 2009, 58(Pt 5): 656 - 662.