

# 盐酸普萘洛尔对十二指肠溃疡模型大鼠的作用及其机制的实验研究

舒俊伟, 牛智平, 杜嘉原 (安康市人民医院普外科, 陕西安康 725000)

**摘要:** **目的** 探究盐酸普萘洛尔对十二指肠溃疡 (duodenal ulcer, DU) 大鼠的保护作用及其机制。**方法** 35只大鼠随机分为对照组、十二指肠溃疡模型组、低剂量盐酸普萘洛尔组、中剂量盐酸普萘洛尔组和高剂量盐酸普萘洛尔组, 每组7只。采用半胱胺构建DU大鼠模型, 采用Western Blot法测定蛋白浓度, 采用苏木精-伊红染色法 (hematoxylin-eosin, HE) 评估各组大鼠的十二指肠黏膜损伤程度。分别比较各组间大鼠十二指肠中蛋白激酶B (protein kinase B, Akt), 胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factors-1, IGF-1) 和PTEN基因 (gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN) 的表达, 黏膜的损伤程度, 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD), 谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平。**结果** 与对照组相比, 模型组Akt, PTEN和IGF-1的蛋白相对表达量显著降低。与模型组相比, 不同剂量盐酸普萘洛尔组Akt, PTEN和IGF-1的蛋白相对表达量显著升高, 其差异均具有统计学意义 ( $F=10.319$ ,  $P<0.01$ )。模型组的黏膜损伤程度显著高于对照组, 低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的十二指肠黏膜损伤程度均显著低于模型组, 其差异具有统计学意义 ( $F=3.703$ ,  $P=0.025$ )。低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的SOD水平均高于模型组, 高剂量组与模型组的差异具有统计学意义 ( $F=58.843$ ,  $P=0.000$ )。低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的GSH-Px水平均高于模型组, 高剂量组与模型组的差异具有统计学意义 ( $F=8.026$ ,  $P=0.001$ )。低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的MDA水平均低于模型组, 其差异无统计学意义 ( $F=14.519$ ,  $P=0.479$ )。**结论** 盐酸普萘洛尔通过IGF-1/PTEN/Akt信号通路对DU大鼠发挥保护作用, 并且其作用可能与抗氧化有关。

**关键词:** 盐酸普萘洛尔; 十二指肠溃疡; 半胱胺; IGF-1/PTEN/Akt信号通路

**中图分类号:** R332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2020) 06-139-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2020.06.034

## Effects of Propranolol Hydrochloride on Duodenal Ulcer Rats and Its Mechanism

SHU Jun-wei, NIU Zhi-ping, DU Jia-yuan

(Department of General Surgery, Ankang People's Hospital, Shaanxi Ankang 725000, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the relationship between propranolol hydrochloride and duodenal ulcer (DU) in rats and its mechanism. **Methods** Thirty-five rats were randomly divided into the control group, the duodenal ulcer model group, the low-dose propranolol hydrochloride group, the middle-dose propranolol hydrochloride group and the high-dose propranolol hydrochloride group, with 7 rats in each group. Cysteamine was used to construct the DU model in rats, using Western Blot method for the determination of protein concentration, using Hematoxylin-eosin (HE) staining to evaluate each degree of duodenal mucosa damage in rats, respectively in the comparison between groups of rats duodenal protein kinase B (Akt), insulin growth factor-1 (insulin-like growth factors-1, IGF-1) and the expression of gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten (PTEN), mucosal damage degree and levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and malondialdehyde (MDA) have also been detected. **Results** The relative expression levels of Akt, PTEN and IGF-1 in the model group were significantly lower than those in the control group. Compared with the model group, the relative expression levels of Akt, PTEN and IGF-1 in the propranolol hydrochloride group with different doses were significantly increased, and the difference was statistically significant ( $F=10.319$ ,  $P<0.01$ ). The degree of mucosal injury in the model group was significantly higher than that in the control group, and the degree of duodenal mucosal injury in the neutral and high-dose propranolol hydrochloride group was significantly lower than that in the model group, and the difference was statistically significant ( $F=3.703$ ,  $P=0.025$ ). SOD levels of rats in the low and medium dose propranolol hydrochloride group were higher than those in the model group, and the difference between the high dose group and the model group was statistically significant ( $F=58.843$ ,  $P=0.000$ ). The GSH-Px level of rats in the low and medium dose propranolol hydrochloride group was higher than that in the

**作者简介:** 舒俊伟 (1983-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 微创技术在普外科的应用, E-mail: anwangfut@163.com。

**通讯作者:** 杜嘉原 (1982-), 男, 硕士, 主治医师, E-mail: 910932016@qq.com。

model group, the difference between the high dose group and the model group was statistically significant ( $F=8.026$ ,  $P=0.001$ ), and the MDA level of rats in the low and medium dose propranolol hydrochloride group was lower than that in the model group, the difference was not statistically significant ( $F=14.519$ ,  $P=0.479$ ). **Conclusion** Propranolol hydrochloride plays a protective role in duodenal ulcer rats through IGF-1/PTEN/Akt signaling pathway, and its effect may be related to oxidation resistance.

**Keywords:** propranolol hydrochloride; duodenal ulcer; cysteamine; IGF-1/PTEN/Akt signaling pathway

十二指肠溃疡 (duodenal ulcer, DU) 是一种消化系统多发病, 其病程较长且易反复发作, 严重影响患者日常生活。现代医学认为, DU 是侵袭力 (包括胃酸分泌过多和氧化压力过高) 高于防御力时导致十二指肠黏膜受损形成的溃疡<sup>[1-2]</sup>。目前 DU 治疗方法主要有非手术治疗和外科手术治疗两种, 但由于对 DU 的病因、发病机制缺乏认知, 在临床实践中常存在治疗效果不佳等问题。早期已有研究指出维拉帕米 (Verapamil, VR) 对半胱胺诱导的 DU 大鼠具有保护作用<sup>[3]</sup>, VR 和盐酸普萘洛尔均可在临床上用于心律失常和心绞痛等疾病的治疗。但是关于盐酸普萘洛尔在 DU 中应用的报道鲜有。盐酸普萘洛尔是非选择性  $\beta$ -肾上腺素能受体的抑制剂, 其具有阻断血管生成过程和诱导微血管内皮细胞凋亡等作用<sup>[4-5]</sup>。本研究选取经典的半胱胺致 DU 大鼠模型, 探究盐酸普萘洛尔对 DU 大鼠十二指肠黏膜的保护作用及其对抗氧化酶和 IGF-1/PTEN/Akt 信号通路的影响, 以期为临床诊疗提供新思路, 现具体报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 SD 大鼠 35 只, SPF 级, 雌雄各半, 体重为  $210 \pm 10$  g, 均购于西安交通大学医学院实验动物中心。大鼠适应 7 天后开始实验。饲养房湿度控制在 50% ~ 70%, 温度控制在 20 ~ 25℃, 噪音控制在 60 dB 以下。饲料为 60℃灭菌后的全营养饲料, 12 h 明暗交替循环照明。

1.2 仪器与试剂 显微镜购于尼康仪器 (上海) 有限公司, 盐酸普萘洛尔片购于山东健康药业有限公司, 半胱胺购自德国 Merck 公司。丙二醛 (malonaldehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、胰岛素样生长因子 -1 (insulin-like growth factors -1, IGF-1)、PTEN 基因 (gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN) 和  $\alpha$ -tubulin 一抗及相应的二抗均购自 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA)。

1.3 方法 实验分组与建模: 大鼠随机分为 5 组, 每组 7 只, 分别为对照组、十二指肠溃疡模型组 (模型组)、低剂量组 (模型组 +1 mg/kg 盐酸普萘洛尔)、中剂量组 (模型组 +3 mg/kg 盐酸普萘洛尔) 和高

剂量组 (模型组 +9 mg/kg 盐酸普萘洛尔), 其中对照组大鼠灌胃给予 1 ml/kg 生理盐水, 模型组大鼠灌胃给予 450 mg/kg 半胱胺, 低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠先用相应浓度的盐酸普萘洛尔预处理, 再灌胃给予 450 mg/kg 半胱胺<sup>[6]</sup>。24 h 后用脱颈法处死实验大鼠, 剖腹取出十二指肠, 观察其损伤情况并且对其进行检测分析。

Western Blot 检测: 分别取各组大鼠约 0.1 g 的组织并置于研钵中, 加入液氮快速充分研磨, 再加入裂解液, 用蛋白定量试剂盒定量测定蛋白浓度。取 50~100  $\mu$ g 总蛋白, 与上样缓冲液混合均匀 ( $\times 5$ ), 在沸水浴中加热 5 min, 使蛋白充分变性后上样。采用聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 电泳 (分离胶 120V 和浓缩胶 80V), 转膜 2 h。用 TBST 配制含 5 g/dl 脱脂奶粉封闭缓冲液后加入一抗, 4℃过夜。TBST 漂洗液洗膜 3 次 15 min, 加入辣根过氧化物酶 (Horseradish Peroxidase, HRP) 标记的二抗, 37℃振荡孵育 60 min。室温下将膜置于 ECL 发光液中振荡孵育 3 min, 最后应用 Image Pro Plus (IPP) 软件分析扫描图像目的条带的灰度。

大鼠的十二指肠黏膜损伤程度的评价: 对 5 组大鼠的十二指肠黏膜损伤程度采用改良的 moraes 方法进行评价, 具体是: 0 分表示十二指肠黏膜正常; 1 分表示黏膜出现充血、水肿; 2 分表示黏膜出现糜烂、出血; 3 分表示黏膜损伤发展为浅溃疡; 4 分表示黏膜损伤发展为深溃疡; 5 分表示黏膜出现溃疡穿孔。

组织病理学评价: 将动脉组织挑入包埋剂中, 置于烤箱中 40℃过夜。次日升温至 60℃, 48 h 后取出, 然后将动脉蜡块切成 5  $\mu$ m 的薄片, 用二甲苯进行脱蜡处理共 2 次, 再依次使用 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100% 的乙醇进行梯度脱水共 2 次, 3 min/次。蒸馏水漂洗后用苏木精-伊红染色法 (hematoxylin-eosin, HE), 蒸馏水漂洗后依次用 100%, 90%, 80% 的乙醇梯度脱水 2 min, 二甲苯透明处理 10 min 后用中性树胶来封固, 染色成功后在光镜下观察切片的组织形态。

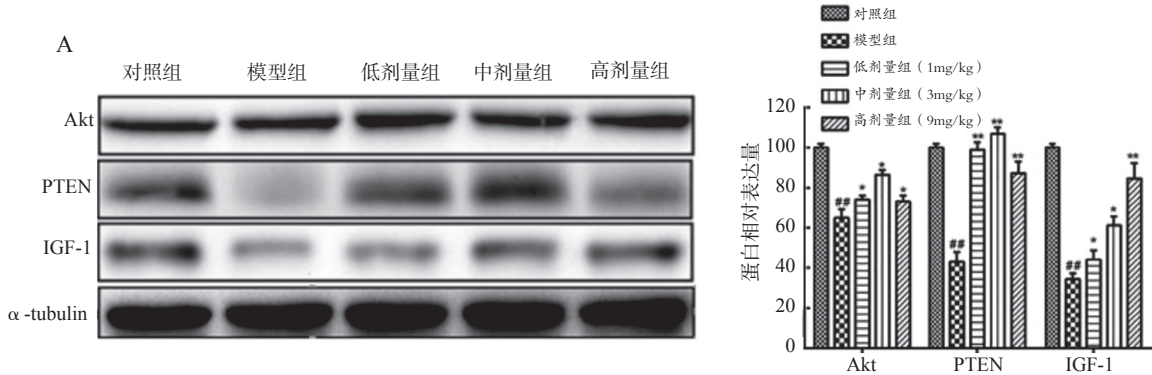
大鼠的抗氧化酶系的测定方法: 取十二指肠组织 0.5 g, 加入生理盐水 12 000 r/min 离心 15 min 后取上清液并保存在 -80℃备用。SOD, MDA 和 GSH-Px 的检测严格参照相应说明书操作。

1.4 统计学分析 运用 SPSS 11.5 统计学软件。对于符合正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 并进行单因素方差分析 (ANOVA)  $F$  检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠十二指肠中 Akt, IGF-1 和 PTEN 的蛋白相对表达量 见图 1。采用 Western Blot 方法

检测各分组大鼠十二指肠中 IGF-1/PTEN/Akt 信号通路相关蛋白的表达水平。与对照组相比, 模型组 Akt, PTEN 和 IGF-1 的蛋白相对表达量显著降低。与模型组相比, 不同剂量盐酸普萘洛尔组 Akt, PTEN 和 IGF-1 的蛋白相对表达量显著升高, 其差异具有统计学意义 ( $F=10.319, P < 0.01$ )。



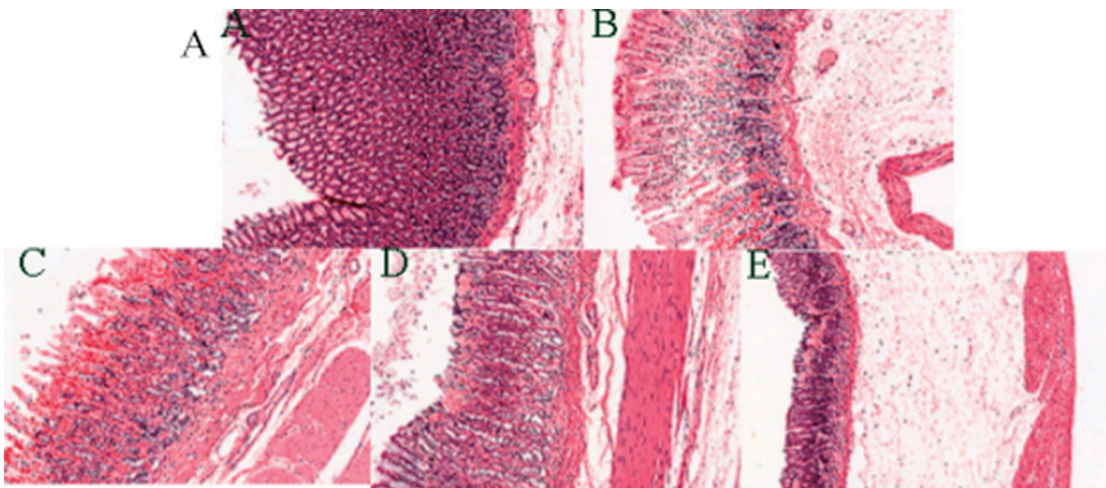
A. Western blot 检测各组大鼠 Akt, PTEN, IGF-1 蛋白的表达。B. 灰度定量分析各组大鼠 Akt, PTEN, IGF-1 蛋白相对表达量, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示 ( $n=7$ )。与对照组相比,  $^{###}P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。

图 1 各组大鼠十二指肠中 Akt, IGF-1 和 PTEN 的蛋白相对表达量

2.2 各组大鼠十二指肠黏膜损伤程度的比较 模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组和对照组大鼠肠黏膜损伤程度 ( $\bar{x} \pm s$ , 分) 依次为  $4.06 \pm 2.18$ ,  $2.08 \pm 1.67$ ,  $1.79 \pm 1.25$ ,  $1.50 \pm 1.03$  和 0。模型组大鼠的肠黏膜损伤程度显著高于对照组, 其差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的十二指肠黏膜损伤程度依次降

低且均显著低于模型组, 其差异具有统计学意义 ( $F=3.703, P < 0.05$ )。

2.3 各组大鼠的 HE 染色结果 见图 2。模型组大鼠十二指肠黏膜及黏膜下层完全破坏, 随着盐酸普萘洛尔浓度的升高, 大鼠的十二指肠黏膜损伤程度逐渐降低。



A. 对照组, B. 模型组, C. 低剂量组, D. 中剂量组, E. 高剂量组

图 2 各组大鼠的 HE 染色结果

2.4 各组大鼠十二指肠的 SOD, GSH-Px 和 MDA 比较 见表 1。低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的 SOD 均高于模型组, 高剂量组与模型组的差异具有统计学意义 ( $F=58.843, P=0.000$ )。低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的 GSH-Px 水平均高于

模型组, 高剂量组与模型组的差异具有统计学意义 ( $F=8.026, P=0.001$ )。低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的 MDA 水平均低于模型组, 其差异无统计学意义 ( $F=14.519, P=0.479$ )。



表1 各组大鼠十二指肠的SOD、GSH-Px和MDA的比较

指标	对照组	模型组	低剂量组	中剂量组	高剂量组	F	P
SOD(U/mg)	4.80 ± 1.25	0.80 ± 0.25	1.12 ± 0.18	1.28 ± 0.14	3.98 ± 0.74	58.843	0.000
GSH-Px(U/mg)	7.06 ± 1.27	4.99 ± 0.98	5.21 ± 0.65	5.44 ± 0.31	7.16 ± 1.23	8.026	0.001
MDA(nmol/L)	1.43 ± 0.19	3.06 ± 0.70	3.04 ± 0.67	3.01 ± 0.52	2.97 ± 0.44	14.519	0.479

### 3 讨论

DU是消化系统的常见疾病,与胃酸分泌异常、幽门螺杆菌(*H.pylori*)感染<sup>[7]</sup>、非甾体抗炎药、生活及饮食不规律、工作及外界压力、吸烟以及精神心理因素密切相关。近年来DU的发病率呈逐渐攀升趋势,严重影响患者的身体健康和生活质量。目前如何有效控制溃疡的发展、减轻溃疡的程度仍是DU临床和基础研究的壁垒。

本研究采用半胱胺建立DU大鼠模型,主要是由于半胱胺所致的溃疡存在部位选择性,一般情况下位于十二指肠近端,这种形态学上的变化与人类的DU类似<sup>[8]</sup>。因此基于此可作为药物药效和作用机制评价的有效基础。

IGF-1是由70个氨基酸组成的单肽,其在细胞增殖、凋亡以及肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用<sup>[9-10]</sup>。NGUYEN等<sup>[11]</sup>人发现IGF-1可通过激活表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)加强溃疡组织表皮细胞的再生作用。PTEN是第一个具有脂质磷酸酶和蛋白磷酸酶双重活性的抑癌基因,其具有促进细胞凋亡、参与调控细胞周期、抑制血管生成和细胞黏附等作用<sup>[12-13]</sup>。本研究结果显示与模型组比较,不同剂量盐酸普萘洛尔组Akt, PTEN和IGF-1的蛋白相对表达量显著升高。

本研究比较各组大鼠十二指肠黏膜损伤程度结果说明模型组的黏膜损伤程度显著高于对照组,这就说明建模是成功且可用的。低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组的十二指肠黏膜损伤程度显著低于模型组,说明盐酸普萘洛尔可有效降低十二指肠黏膜的损伤程度,另外随着剂量的增加,黏膜损伤程度呈减轻趋势,另外HE染色再次验证了这一结论。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)会对蛋白质、核酸、多糖等生物大分子产生损伤作用。当ROS对细胞产生氧化损伤时,细胞内固有的一套抗氧化防御体系将被激活。常见的抗氧化酶有MDA,谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶等,MDA作为脂质过氧化损伤的重要标志,其可影响膜结构和功能。GSH-Px可催化GSH变为氧化型GSH,使有毒的过氧化物还原成为无毒的羟基化合物,同时促进过氧化氢的分解,从而保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物的损害<sup>[14-15]</sup>。十二指肠抗

氧化酶系比较结果显示低、中和高剂量盐酸普萘洛尔组大鼠的SOD和GSH-Px水平显著升高,MDA水平降低,这就可以说明盐酸普萘洛尔对半胱胺致DU大鼠具有保护作用并且与抗氧化有关。

综上所述,盐酸普萘洛尔可降低半胱胺致DU大鼠十二指肠黏膜的损伤程度,并且随着剂量的增加,黏膜损伤程度逐渐减轻。盐酸普萘洛尔通过IGF-1/PTEN/Akt信号通路对DU大鼠发挥保护作用,并且其作用可能与抗氧化有关。

### 参考文献:

- [1] LEAUTE-LABREZE C, DE LA ROQUE E D, HUBICHE T, et al. Propranolol for severe hemangiomas of infancy[J]. 2008, 358(24):2649-2651.
- [2] DENOYELLE F, LEBOULANGER N, ENJOLRAS O, et al. Role of Propranolol in the therapeutic strategy of infantile laryngotracheal hemangioma [J]. International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, 2009, 73(8):1168-1172.
- [3] LEE C K, YIM D S, KIM W H. The effect of verapamil on cysteamine-induced duodenal ulcer in the rat[J]. J Korean Med Sci, 1987, 2(4):247-253.
- [4] 刘扶平. 盐酸普萘洛尔治疗肝硬化并发消化道出血患者的临床效果及安全性评价[J]. 临床医学工程, 2020, 27(4):445-446.  
LIU Fuping. Evaluation on the clinical effect and safety of propranolol hydrochloride in the treatment of patients with liver cirrhosis complicated with gastrointestinal hemorrhage [J]. Clinical Medical & Engineering, 2020, 27(4):445-446.
- [5] 孙保华, 卢世云, 陈登登, 等. 胃、十二指肠溃疡幽门螺杆菌感染及相关病因回顾性分析 204 例[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(6): 628-630.  
SUN Baohua, LU Shiyun, CHEN Dengdeng, et al. *Helicobacter pylori* infection and other risk factors associated with peptic ulcers: an analysis of 204 cases [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2011, 19(6): 628-630.
- [6] SAGHAEI F, KARIMI I, JOUYBAN A, et al. Effects of captopril on the cysteamine-induced duodenal ulcer in the rat [J]. Exp Toxicol Pathol, 2012, 64(4):373-377.
- [7] 杨海斌, 周贤斌. 雷贝拉唑钠肠溶片在幽门螺杆菌阳性十二指肠溃疡中的疗效、安全性及优势分析[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(23):2123-2126.  
YANG Haibin, ZHOU Xianbin. Analysis of the therapeutic effects, safety and advantages of rabeprazole sodium enteric-coated tablets in patients with *Helicobacter pylori* positive duodenal ulcer [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2015, 35(23):2123-2126.

- [8] 刘绍能, 赵凤志, 田德录, 等. 愈疡灵对大鼠诱发性十二指肠溃疡的保护作用及机理研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(5): 24-26.  
LIU Shaoneng, ZHAO Fengzhi, TIAN Delu, et al. Study on the protective effect and mechanism of Yuyingling on rat induced duodenal ulcer[J]. Chinese Journal of Basic Medicine In Traditional Chinese Medicine, 1998, 4(5): 24-26.
- [9] HIGASHI Y, SUKHANOV S, ANWAR A, et al. IGF-1, oxidative stress and atheroprotection [J]. Trends Endocrinol Metab, 2010, 21(4): 245-254.
- [10] 王俊慧, 宋爽, 王德平. 血清 IGF-1 和 IGFBP-3 水平检测在评价基因重组人生长激素治疗特发性身材矮小儿童的疗效分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(6): 105-108.  
WANG Junhui, SONG Shuang, WANG Deping. Effects of recombinant human growth hormone on serum IGF-1 and IGFBP-3 in children with adolescent and late adolescent idiopathic short stature[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(6): 105-108.
- [11] NGUYEN T, CHAI Jianyuan, LI Aihua, et al. Novel roles of local insulin-like growth factor-1 activation in gastric ulcer healing: promotes actin polymerization, cell proliferation, re-epithelialization, and induces cyclooxygenase-2 in a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent manner [J]. Am J Pathol, 2007, 170(4): 1219-1228.
- [12] GOEL A, ARNOLD C N, NIEDZWIECKI D, et al. Frequent inactivation of PTEN by promoter hypermethylation in microsatellite instability-high sporadic colorectal cancers [J]. Cancer Res, 2004, 64(9): 3014-3021.
- [13] WU Chengying, CHEN Rong, WANG Xin, et al. Antioxidant and anti-fatigue activities of phenolic extract from the seed coat of euryale ferox salisb and identification of three phenolic compounds by LC-ESI-MS/MS[J]. Molecules, 2013, 18(9): 11003-11021.
- [14] 王金湖, 鞠少卿, 王惠民. 抑癌基因 PTEN 与人类肿瘤的研究进展[J]. 现代检验医学杂志, 2003, 18(1): 57-59.  
WANG Jinhu, JU Shaoqing, WANG Huimin. Advances in the study of tumor suppressor gene PTEN and human tumors[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2003, 18(1): 57-59.
- [15] CHEN Yeshan, ZHANG Sheng, PENG Gang, et al. Endothelial NO synthase and reactive oxygen species mediated effect of simvastatin on vessel structure and function: Pleiotropic and dose-dependent effect on tumor vascular stabilization[J]. International Journal of Oncology, 2013, 42(4): 1325-1336.

收稿日期: 2020-05-22 修回日期: 2020-08-11

#### (上接第 105 页)

- GUO Shuli, LI Juan, GOU Rong. Detection and analysis of serum immunoglobulin in patients with *Brucellosis*[J]. China Tropical Medicine, 2016, 16(3): 288-289.
- [7] 刘志科, 杨宁宁, 徐明国, 等. 鸡白痢沙门氏菌胶体金免疫层析快速检测试纸条的研制及初步应用[J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2018, 46(1): 39-48.  
LIU Zhike, YANG Ningning, XU Mingguo, et al. Development and primary application of colloidal gold immunochromatography test strip for rapid detection of *Salmonella pullorum* [J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Science Edition), 2018, 46(1): 39-48.
- [8] RAN Xuhua, CHENG Jiajia, WANG Miaomiao, et al. *Brucellosis* seroprevalence in dairy cattle in China during 2008-2018: A systematic review and meta-analysis[J]. Acta Tropica, 2019, 189: 117-123.
- [9] COLOMBE S, WATANAPALACHAIGOOL E, EKGA-TAT M, et al. Cross-sectional study of *Brucellosis* and Q fever in Thailand among livestock in two districts at the Thai-Cambodian border, Sa Kaeo province[J]. One Health (Amsterdam, Netherlands), 2018, 6(1): 37-40.
- [10] SMIRNOVA E A, VASIN A V, SANDYBAEV N T, et al. Current methods of human and animal *Brucellosis* diagnostics[J]. Advances in Infectious Diseases, 2013, 3(3): 177-184.
- [11] 吕辰, 杨蒙雅, 隋秀文, 等. 胶体金免疫层析方法检测肺炎链球菌细胞壁多糖抗原[J]. 天津科技大学学报, 2018, 33(6): 16-19, 34.  
LÜ Chen, YANG Mengya, SUI Xiuwen, et al. Gold immunochromatography assay for *Streptococcus pneumoniae* C-polysaccharide[J]. Journal of Tianjin University of Science & Technology, 2018, 33(6): 16-19, 34.
- [12] 刘亚东, 王慧煜, 刘佳佳, 等. 基于牛源布氏杆菌重组膜蛋白的胶体金免疫层析试纸条的研制[J]. 中国兽医科学, 2018, 48(7): 805-810.  
LIU Yadong, WANG Huiyu, LIU Jiajia, et al. Development of a colloidal gold immunochromatographic assay based upon the combined recombinant of *Brucella* outer membrane proteins [J]. Veterinary Science in China, 2018, 48(7): 805-810.
- [13] 孔玉方, 郑家昊, 王慧煜, 等. 布鲁氏菌病快速检测试纸条的探索[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(5): 460-464.  
KONG Yufang, ZHENG Jiahao, WANG Huiyu, et al. Exploration of a rapid test strip for *Brucellosis*[J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2019, 35(5): 460-464.
- [14] 陈珍珍, 赵越, 王占黎, 等. 自制胶体金试剂盒对布鲁氏菌病的诊断效果评价[J]. 现代预防医学, 2016, 43(15): 2802-2805.  
CHEN Zhenzhen, ZHAO Yue, WANG Zhanli, et al. Diagnostic value of *Brucellosis* colloidal gold reagent kit and study on influencing factors of human chronic brucellosis[J]. Modern Preventive Medicine, 2016, 43(15): 2802-2805.
- [15] WU Lei, JIANG Tao, LU Zengjun, et al. Development and validation of a prokaryotically expressed foot-and-mouth disease virus non-structural protein 2C'3AB-based immunochromatographic strip to differentiate between infected and vaccinated animals[J]. Virology Journal, 2011, 8(1): 186.

收稿日期: 2020-01-20 修回日期: 2020-06-10