

小鼠廓清实验方法的比较

王红梅 马 玲 姚小曼

(北京市卫生防疫站, 北京 100013)

摘 要: 为比较不同注墨部位对小鼠廓清速率有无影响, 采用小鼠碳廓清实验法, 测定了经小鼠内眦静脉丛和经尾静注入墨汁后的碳廓清指数。结果发现, 相同测定条件下尾静脉注射法测得的吞噬指数虽低于内眦静脉法, 但无显著差异; 采样后即刻测得的吞噬指数虽高于采样后放置 24 h, 但也无显著差异。结论, 上述两种测定小鼠廓清速率的方法无显著性差异, 且二法有很好的相关性。

关键词: 吞噬细胞 吞噬作用 小鼠

中图分类号: R865.142 B155.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2000)02-0002-02

脉丛注射墨汁, 刀仅同半勿子, 杜什林守八的头强虽然不用此刀, 但不免有付尾静脉注射和内眦静脉注射墨汁后测定碳廓清速率的比较。本文研究了墨汁不同注入部位、不同测定波长和不同测定时间对小鼠廓清速率的影响, 获得较满意结果, 现将其方法和结论介绍如下。

1 材料与方 法

1.1 实验动物 选用体重 27~30 g 的健康雌性昆明种小鼠, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 动物合格证号: 军医动字第 BDW95007 号。

1.2 药品 印度墨汁: 北京市西中化工厂, 产品批号: 980301, 以生理盐水稀释 5 倍(临用前配制)。0.1% Na_2CO_3 : 0.1 g Na_2CO_3 加双蒸水至 100 mL(临用前配制)。

1.3 实验方法 尾静脉注射检测小鼠碳廓清速率, 按《保健食品功能性评价程序和检验方法》进行测定, 以下简称尾静脉法; 内眦静脉注射墨汁检测小鼠碳廓清速率, 以下简称内眦法。

将 30 只小鼠随机分为尾静脉法和内眦法两组, 每组 15 只。上述两组小鼠分别于尾静脉和内眦静脉丛注射印度墨汁剂量为 0.1 mL/10 g。于注入墨汁后 0.5、10、20 min 分别从尾静脉或内眦静脉丛取血 20 μL , 溶于 0.1% Na_2CO_3 2 mL 中, 再分别于 600、650 nm 和 24 h 后的 600 nm 波长下测定吸光度(A), 计算廓清指数 K 及吞噬指数 a 。

计算公式: $k_1 = (\log A_1 - \log A_2) / (t_2 - t_1)$ $a_1 = \text{体重} / (\text{肝重} + \text{脾重}) \times k_1^{1/3}$

或根据 A_{t0} , A_{t5} , A_{t10} , A_{t20} 求出回归直线及回归系数, 再计算 K_2 和 a_2 , 以 $\bar{x} \pm s$ 来表示不同注墨部位、不同测定波长及不同测定时间的 K 值和 a 值, 进行组间 t 检验, 比较差异的显著性。

2 结 果

2.1 注墨部位、测定波长对碳廓清速率的影响 结果如图 1 所示, 将 600 nm 波长下测定尾静脉法和内眦静脉法的小鼠廓清曲线相比较, 发现内眦法的廓清速率高于尾静脉法(图中 A、C 斜率大于 B、D)。从表 1 可以看出根据校正公式计算的廓清指数(k_1)和校正吞噬指数(a_1), 发现内眦静脉法的 a_1 大于尾静脉法的 a_1 , 但二者无显著性差异, 由图 2 看出, 相同实验方法, 以内眦静脉法在 650 nm 测得的 a_1 要高于 600 nm 下的测定

值,以尾静脉法 650 nm 波长测得的吞噬指数 a_1 低于 600 nm 测得的 a_1 ,但二者均无显著性差异。

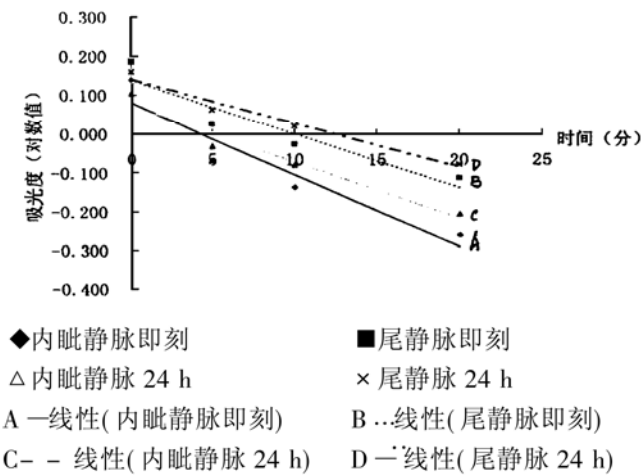


图 1 吸光度(对数值)—时间曲线

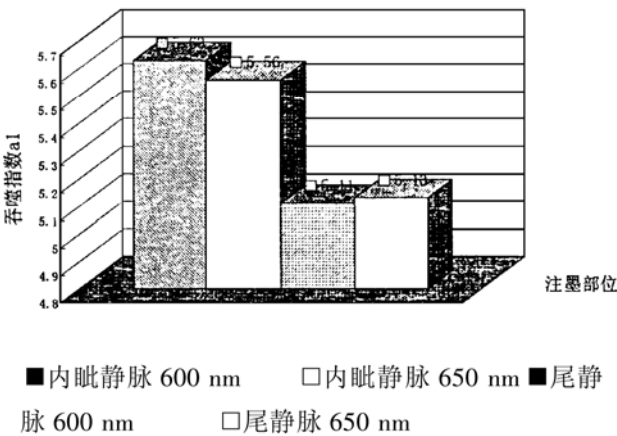


图 2 测定波长对 a_1 的影响

2.2 测定时间对廓清速率的影响 从图 1 可以看出,相同注墨部位,在取血后立即测定试样的吸光度值低于放置 24 h 后测定的吸光值;从表 1 可以看出,放置 24 h 后测定计算出的廓清指数低于取血后即刻测定的值,但无显著差异。

表 1 不同注墨部位的 a 值比较

注墨部位	测定时间	动物数只	k_1	a_1	k_2	a_2	肝/体 mg/g	脾/体 mg/g
内眦静脉	即刻	15	0.0275 ± 0.0083	5.63 ± 0.08	0.0180 ± 0.0027	4.93 ± 0.49	48.3 ± 3.5	5.1 ± 0.6
	24 h		0.0183 ± 0.0062	5.17 ± 0.81	0.0138 ± 0.0027	4.51 ± 0.43		
尾静脉	即刻	15	0.0243 ± 0.0043	5.11 ± 0.75	0.0147 ± 0.0020	4.76 ± 0.51	46.8 ± 4.6	5.0 ± 0.7
	24 h		0.0139 ± 0.0035	4.66 ± 0.70	0.113 ± 0.0017	4.36 ± 0.53		

以上结果均为校正吞噬指数计算公式得出的 $t_1=0, t_2=10$ 时的 k_1 和 a_1 值,一般试验均采用此两点法计算。^[4]我们又根据徐叔云的方法^[3]计算廓清吞噬指数,用 0.5、10、20 min 采样测得的 A, 计算回归直线, 求出 k_2 和 a_2 值。经比较发现(见表 1), $k_1 > k_2, a_1 > a_2$ 。在相同测定条件下,内眦法测得的吞噬指数虽高于尾静脉法,但二者无显著性差异($P > 0.05$);但两种方法测得的 a 值有显著相关性($r = 0.9999$)。

3 讨论 单核巨噬细胞吞噬功能的一般检测,常以显微镜下目测法计数吞噬细菌和红细胞数,或用同位素标记吞噬物后,再作同位素测试。前者客观性较差且操作费时;而后者又需相应的仪器设备,一般实验室不易开展。现在常用的小鼠碳粒廓清实验^[1]是一种仪器要求不高,操作简便,能客观地反映测定结果的方法之一。惟尾静脉注射要求技术熟练,注入墨汁剂量准确,一般实验者很难掌握好此标准;我们采用内眦静脉丛注射墨汁法测定小鼠吞噬指数,通过与尾静脉法相比较,发现此两种方法测得的 a 值无显著性差异($P > 0.05$),但有显著相关性($r = 0.9999$),所以认为内眦法可以替代尾静脉法。在测定条件上,有的研究采用 600、650、680 nm 等不同波长测定,我们选用最常用的 600 nm 和 650 nm 两种波长下测定的 a 值无显著性差异($P > 0.05$);有的研究采用于采样后即测定 A 值和采样后 24 h 再测定,经比较发现此两种条件对小鼠吞噬指数测定无显著性影响($P > 0.05$)。在有凝血的试样中,当放置 24 h 后再测定其 A 值,发现可排除由于凝血而造成的测定值倒置现象,可使计算出的 a 值符合清除规律。

因此建议,在采样过程中要防止出现凝血现象,否则会使测定的 a 值降低,影响结果的客观性。内眦法于取样后立刻在 600 nm 波长下测定 A 值计算吞噬指数,由于与尾静脉法有很好的相关性,可以作为单核巨噬细胞功能的检测方法,替代尾静脉法。

本技术采用内眦静脉注射墨汁, 操作简便, 注入墨汁剂量准确, 初学者可很快掌握, 不需特殊条件, 易为一般实验室所接受, 故为免疫调节剂的体内试验研究提供了较为稳定而方便的方法。

参考文献:

[1] 卫生部卫生监督司. 保健食品功能性评价程序和检验方法[Z] . 13~ 14
[2] 连祥霖. 钼对氯化汞免疫毒性的影响[J] . 工业卫生与职业病, 1995, 21(3) : 151~ 152
[3] 徐叔云. 药理实验方法学[M] . 北京: 人民卫生出版社, 1982, 934
[4] 金若敏, 等. 复方南烛口服液的药理作用研究[J] . 中国药科大学学报, 1995, 26(4) : 220~ 222

Comparison between different clearance tests of mice. / Wang Hongmei, Ma Ling, Yao Xiaoman, et al. // Chinese Journal of Food Hygiene. 2000, 12(3):3~ 5

To study the effect of injection position on the clearance in mice, ink was injected into the mice from vena plexus in inner cathus and vena in tail separately, and the clearance index were detected. The results presents no statistical difference. The phagocytic index was detected immediately after sampling and 24 hours after sampling, and the results presents no statistical difference too. It was concluded that there is no differene between the methods of the two tests and they have closely correlation.

Author’ s address Health and Anti- epidemic Station of Beijing, Beijing PRC, 100013 PRC.

Key Words Phagocytes Phagecytosis Mice

卫生部司(局)文件
卫法监食发[1999]第144号

卫生部法监司关于原因不明食物中毒事故
责任方处罚有关问题的复函

黑龙江省大庆市卫生局:

你局关于“原因不明食物中毒事故责任方处罚有关问题的请示”文收悉。经研究,答复意见如下:

依据《食品卫生法》的规定,生产经营的食品必须符合卫生标准。生产经营不符合卫生标准的食品,造成食物中毒事故或者其他食源性疾患的,卫生行政部门应当依据《食品卫生法》第三十九条的规定,责令停止生产经营,销毁导致食物中毒或者其他食源性疾患的食品,没收违法所得,并处以违法所得一倍以上五倍以下的罚款;没有违法所得的,处以一千元以上五万元以下的罚款。

食物中毒事故的确认,执行《食物中毒诊断标准及技术处理总则》的有关规定。只要确认为食物中毒事故,而且造成食物中毒事故是由于违反了《食品卫生法》的有关规定,卫生行政部门可以依据《食品卫生法》第三十九条规定,对责任方予以行政处罚。

以上意见供参考。

卫生部卫生法制与监督司
一九九九年十月二十九日