

比较两种墨汁注射途径对免疫低下小鼠廓清实验的影响

王红梅 马 玲 吴少平 闫向东 郑 珊 张 懿  
(北京市疾病预防控制中心,北京 100013)

**摘 要:**为研究不同墨汁注射部位对免疫低下小鼠廓清速率的影响,我们将昆明种小鼠分为生理盐水对照组和 10、20、30 mg/kg BW 氢化可的松剂量组,并采取腹腔注射,隔日 1 次共 3 次的给药方法,于首次给药后第七天测定经内眦静脉丛和尾静脉注入墨汁后的碳廓清指数。结果显示:随氢化可的松剂量增加,2 种给墨汁途径小鼠的校正吞噬指数随之降低,并呈现剂量-反应关系;2 种给墨汁途径与其相应的对照组相比较,小鼠碳粒廓清能力在免疫正常与免疫低下状态时一致;进行廓清能力判定时,校正吞噬指数意义大于廓清指数。结论,内眦静脉法操作简单,以其测定免疫低下小鼠的廓清指数同样可以敏感地反映小鼠吞噬能力,建议推广使用。  
**关键词:**吞噬细胞;吞噬作用;小鼠

**Effects of immune disorder mice on clearance tests of two different ink injecting approaches**  
Wang Hongmei, et al.  
(Beijing Municipal Centers for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China.)

**Abstract:** Objective: To study the phagocytic clearance in immune inhibited mice. Method: Groups of mice were given hydrocortisone 10, 20 and 30 mg/kg BW  $\cdot$  day<sup>-1</sup> and 0.9 % sodium chloride solution separately by intraperitoneal injection every other day for three times. Clearance indexes were determined at the 7<sup>th</sup> day by injecting ink from vena plexus in inner cathus and vena in tail. Results: With the increase of the dose of hydrocortison, the corrected indexes of macrophage of the mice declined in both the two injecting ways which also had the same dose-response relationship; Comparing with their control group, ink clearance abilities in mice were consistent in both normal and inhibited conditions; The corrected index of macrophage was more significant than ink clearance index. Conclusions: Clearance index in mice detected by injecting ink from vena plexus in inner cathus could also sensitively reflect the ability of macrophage in mice. This method may be practiced easily and widely used.  
**Key Words:** Phagocytes; Phagocytosis; Mice

国内外学者目前广泛使用小鼠廓清实验<sup>[1]</sup>作为测定单核巨噬细胞功能的体内检测法,但因小鼠尾静脉细小,一般实验者很难一次准确地将墨汁推入,往往会将部分墨汁注入到皮下或皮内,造成墨汁注入量不准确,从而影响廓清速率计算的准确性。而内眦静脉丛相对于尾静脉容易找到,一次就能成功地将墨汁注射到小鼠体内,保证了每只动物墨汁注射剂量的准确性。现已有人用小鼠眼球后内眦静脉丛注射墨汁<sup>[2]</sup>测定碳廓清速率,我们曾经比较了不同的墨汁注射部位对小鼠廓清速率的影响,<sup>[3]</sup>发现

从尾静脉或内眦静脉注射墨汁对正常小鼠的碳廓清速率均无影响。为进一步研究这两种不同的墨汁注射方法是否对免疫低下小鼠的廓清速率有影响,我们做了以下研究。

**1 材料与方法**  
**1.1 材料**  
氢化可的松 (Hydrocortisone, HY) 中国天津市氨基酸公司人民制药厂,批号:990524。印度墨汁北京市西中化工厂,批号:980301,以生理盐水稀释 5 倍(临用前配置)。0.1 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.1 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 加双蒸水至 100 mL(临用前配置)。

作者简介:王红梅 女 医师

实验动物选用 (27 ±3) 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。

仪器 722 分光光度计,电子天平。

1.2 方法

1.2.1 动物分组

将 80 只小鼠随机分为 2 个方法组,即尾静脉墨汁注射组和内眦静脉墨汁注射组。每个方法组又分为 4 个组,每组 10 只,分别为生理盐水对照组和 3 个 HY 剂量组(即 10、20、30 mg/kg BW)。

1.2.2 给药方式 腹腔注射 HY 10 mL/kg BW 隔日 1 次,共 3 次,阴性对照组动物腹腔注射等量的生理盐水。

1.2.3 测定 于首次给药后第七天按《保健食品功能评价程序和检验方法》检测小鼠碳廓清速率,计算廓清速率和校正吞噬指数。

1.2.4 计算:  $k = (\log A_1 - \log A_2) / (t_2 - t_1)$

$a = \text{体重} / (\text{肝重} + \text{脾重}) \times k^{1/3}$

注:  $k$ :廓清指数;  $a$ :校正吞噬指数;  $t_2$ :给墨汁后第二次取血的时间;  $t_1$ :给墨汁后第一次取血的时间;  $A_1$ :  $t_1$  时的光密度值;  $A_2$ :  $t_2$  时的光密度值。

1.3 统计方法 采用 SPSS 统计软件对全部数据进行统计分析。

2 结果

由表 1 看出,用尾静脉注射法和内眦静脉注射法测定的校正吞噬指数 ( $a$  值),随 HY 剂量增加而逐渐减小,用 20 和 30 mg/kg BW 剂量组同对照组间比较,差异均有显著性。分别比较 2 种给墨汁途径的各 HY 剂量组的  $a$  值(即尾静脉法与内眦静脉法的对照组相比、2 法的 10 mg/kg BW 剂量组相比、2 法的 20 mg/kg BW 剂量组相比、2 法的 30 mg/kg BW 剂量组相比),差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

表 1 不同注墨部位、不同 HY 剂量组的  $a$  值比较

HY 剂量 mg/kg	0	10	20	30
尾静脉注墨法 $a$ 值	5.58 ±0.44	5.34 ±0.46	5.07 ±0.26 <sup>(1)</sup>	4.87 ±0.40 <sup>(1)</sup>
内眦静脉注射 $a$ 值	5.34 ±0.48	5.39 ±0.36	4.90 ±0.31 <sup>(1)</sup>	4.84 ±0.63 <sup>(1)</sup>

注: (1) 剂量组与对照组比较差异有显著性,  $P < 0.05$ 。

由图 1 看出,内眦静脉法 20 mg/kg 组和尾静脉法 30 mg/kg 组的廓清指数  $k$  与相应的对照组比较差异有显著性。

3 讨论

碳粒廓清实验是免疫毒理学实验技术中非特异性免疫功能的测定方法之一,墨汁注入量的准确

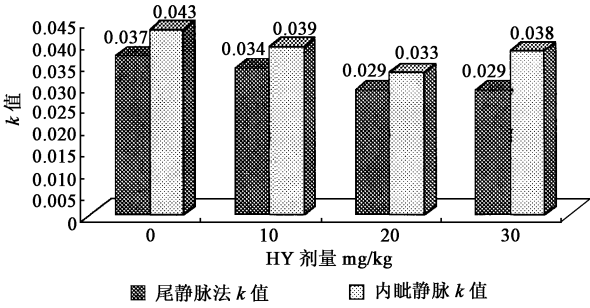


图 1 不同注墨部位、不同剂量 HY 的  $k$  值比较

性是该项实验是否成功的关键因素之一。一般实验室都采用尾静脉注射墨汁法来测定小鼠碳廓清速率,此方法虽能客观地反映单核巨噬细胞吞噬功能,但相对于内眦静脉给墨汁途径来说尾静脉注射较难。我们曾经比较了内眦静脉丛注射墨汁法和尾静脉注射法测定的健康小鼠校正吞噬指数 ( $a$ ),发现此 2 种方法测得的  $a$  值差异无显著性 ( $P > 0.05$ ),且有显著相关性 ( $r > 0.9999$ )。<sup>[3]</sup> 为了进一步验证 2 种注射方法在健康和免疫低下小鼠实验系统中的灵敏性是否有差异,我们以不同剂量的 HY 作为免疫低下的阳性物比较了不同注墨部位对免疫低下小鼠的廓清指数和校正吞噬指数的影响。本次研究发现随 HY 剂量增加,2 种方法测定的  $a$  值均呈现抑制现象,且有良好的剂量反应关系,并且都在 20 mg/kg BW 时出现了显著性抑制。经统计发现,2 种静脉给墨汁途径与相应的对照组比较,均可反映出小鼠由氢化可的松引起的吞噬能力低下状态和正常状态,因此二者反映的小鼠吞噬能力是一致的。

从本次实验结果亦可发现,虽然 20 和 30 mg/kg BW 剂量下 2 种注射方法的廓清指数 ( $k$ ) 呈现明显抑制,但从图 1 可看出在相同剂量下,其廓清指数  $k$  值并不一定产生明显抑制作用,说明实验动物肝脏、脾脏、体重的大小对小鼠碳廓清速率有一定的影响,在进行实验结果判断时,校正吞噬指数 ( $a$ ) 值的意义要大于廓清指数 ( $k$ ) 值,因为前者代表了单位组织重量的吞噬活性,排除了动物脏器重量差异对实验结果的干扰。

因此,用内眦静脉注射墨汁测定碳廓清速率,无论是正常小鼠还是免疫低下小鼠都可以敏感地反映小鼠的碳廓清能力,它简便易学,不需特殊实验条件,是一种可以推广应用的测定单核巨噬细胞功能的实验方法。

参考文献:

[1] 卫生部监督司. 保健食品功能性评价程序和检验方法 [Z]. 1996—07—18.  
[2] 连祥霖. 钼对氯化汞毒性的影响[J]. 工业卫生与职业

中图分类号:R15;Q95-3

文献标识码:B

文章编号:1004-8456(2003)04-0314-03

## 锌粒还原法快速测定食品中的硝酸盐

肖义夫 廖百森 赵 舰 王正虹 邱 宏 陈 静

(重庆市疾病预防控制中心,重庆 400042)

**摘 要:**目的:建立食品中硝酸盐的快速测定方法。方法:用锌粒作还原剂,在银离子催化下将食品中的硝酸盐还原成亚硝酸盐,然后按亚硝酸盐的测定方法测定。结果:该方法的相对标准差低于5%,平均回收率94.0%。结论:运用该方法能对食品中的硝酸盐进行准确而快速的测定。

**关键词:**食品;硝酸盐类;比色法

### Fast determination of nitrate content in food by zinc particle deoxidization method

Xiao Yifu, et al.

(Chongqing Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 400042, China)

**Abstract:** Objective: Developing the method that used to determine the nitrate content in food rapidly. Method: The nitrate in food was reduced into nitrite by the zinc particle with the  $Ag^+$  as the catalyst. Result: Coefficient of variation of the results was below 5%. The average recovery was > 94%. Conclusions: The application of the method can determine the nitrate in food rapidly.

**Key Words:** Food; Nitrates; Colorimetry

目前,食品中硝酸盐的测定方法通常采用镉柱法。<sup>[1]</sup>该法操作繁琐、费时,需镉还原柱等特殊玻璃仪器。尤为严重的是,镉是一种毒性较大的重金属,容易污染环境,不利于环保。其次,由于食品基体非常复杂,有机组分多,因此,水中硝酸盐氮的其他测定方法如麝香草酚分光光度法,紫外分光光度法等不能应用于食品。基于以上两点,本文在参考文献<sup>[2]</sup>的基础上,变锌粉为锌粒,建立锌粒还原法快速测定硝酸盐方法,并应用于各种食品样品,获得满意效果。该法重现性好,准确度高,利于环保,其突出优点还有省时,从取样到出结果不超过2 h。现报告如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试剂

无砷锌粒,5 g/L  $Ag_2SO_4$  溶液,饱和 NaCl 溶液,110 g/L 乙二胺四乙酸二钠溶液,1 mg/mL 硝酸钠标准溶液,1 mg/mL 亚硝酸钠标准溶液, $NH_4Cl$  缓冲溶

液,20 g/L NaOH 溶液,0.42 mol/L  $ZnSO_4$  溶液,60% 乙酸溶液。

显色剂 10 g/L 对氨基苯磺酸溶液和 1 g/L 盐酸萘乙二胺溶液临用前 1:1 混合。

#### 1.2 方法

1.2.1 试样前处理 按文献[1]进行。

1.2.2 将硝酸盐还原为亚硝酸盐 取经过前处理的中间滤液 10 mL (或适量),加 2 滴 5 g/L  $Ag_2SO_4$  溶液,1.0 mL 饱和 NaCl 溶液,0.5 mL 110 g/L EDTA- $Na_2$  摇匀;再加入 3 g 锌粒,充分振摇,放置 10 min,其间每隔 2 min 振摇 1 次。用中速滤纸过滤,待滤完后,再用 10 mL 水分 2 次洗涤残渣,合并滤液备用。

1.2.3 显色 吸取 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 5  $\mu$ g/mL 亚硝酸钠标准使用液,分别置于 5.0 mL 具塞比色管中。分别加入 4.5 mL  $NH_4Cl$  缓冲液;加 2.5 mL 60% 乙酸后立即加入 5.0 mL 显色剂,加水至刻度;混匀,放置 25 min,于 550 nm 波长下,用 1 cm 比色杯,试剂空白为参比,测定吸光度,绘制校正曲线。

将上述全部滤液置于 50 mL 具塞比色管中,同

作者简介:肖义夫 男 主管技师