



不同影响因素对热原实验中兔筛选的影响

岳敏, 李海滨, 吴丽红, 李梓茜, 顾为望

(南方医科大学实验动物中心, 广州 510515)

【摘要】 目的 分析不同影响因素对新西兰兔的初次筛选合格率、二次筛选合格率的影响。方法 根据2005版《中国药典》进行测定。结果 初次筛选结果中,不同季节、体重值、性别、湿度新西兰兔的筛选率都有显著性差异,筛选时间在7~9月、体重值为1.7~2.0 kg、雄性的新西兰兔、在湿度为61~70%的条件下初次筛选率较高;在二次筛选结果中,不同季节、室温、湿度条件下新西兰兔的筛选率都有显著性差异,筛选时间在1~3月、在室温为22.1~23.0℃、湿度为61~70%的条件下新西兰兔的二次筛选率较高。结论 在不同影响因素的条件下,新西兰兔的初次筛选合格率、二次筛选合格率均受到影响。

【关键词】 季节; 体重; 性别; 室温; 湿度; 热原检测

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)01-0009-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.001.003

Effect on the Screening of Rabbits by Different Factors in Pyrogen Test

YUE Min, LI Hai-bin, WU Li-hong, LI Zi-qian, GU Wei-wang

(Laboratory Animal Centre, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

【Abstract】 Objective To analyze the influence to the 1st screening eligible rate and 2nd screening eligible rate of New Zealand Rabbits according to different factors. **Methods** Mensurating by *Chinese Medicine Dictionary* (edition of 2005). **Results** The consequence of the 1st screening eligible shows the remarkable difference in the different seasons, different body weights, different sexes and different humidities of New Zealand Rabbits. The higher screening eligible rate of 1.7~2.0 kg, male New Zealand Rabbits from July to September, the suitable humidity is 61~70%; The consequence of the 2nd screening eligible shows the remarkable difference in the different seasons, room temprature and humidity of New Zealand Rabbits. The higher screening eligible rate occurs from Jan. to Mar., the suitable room temperature is 22.1~23.0℃ and humidity is 61~70%. **Conclusions** Under different factors, the first screening eligible rate and second screening eligible rate of New Zealand Rabbits will be influenced.

【Key words】 Season; Body weight; Sex; Room temperature; Humidity; Pyrogen test

细菌内毒素等致热物质进入人体后可引起发热反应,严重者可导致休克或死亡。热原检测法则是将一定量的供试品,静脉注入到家兔体内,在规定时间内观察家兔体温升高的情况,以判定试品中所含热原的限度是否符合规定^[1]。该实验是检测制品中热原的一种经典有效的方法,至今仍被许多

国家认为是热原检测的“金标准”。但影响家兔热原质检查实验结果的因素很多,如家兔的健康状况、遗传质量、饲养和实验环境、检测仪器、实验操作技术等。本文就我中心2009年1月~2010年12月的热原实验中的筛选合格率进行了统计学分析,来考察不同影响因素对热原实验中兔筛选的影响。

[作者简介] 岳敏(1982-),女,助教,博士研究生,研究方向:比较医学和人类疾病动物模型。

[通讯作者] 顾为望(1956-),男,教授,博士生导师。

1 材料和方法

1.1 实验动物

普通级新西兰兔,南方医科大学实验动物中心提供(SCXK(粤)2006-0015)。性别不限,体重(1.7~3.0)kg。

1.2 环境条件

清洁级饲养环境,实验室温度每次均控制在17.0~25.0℃,湿度控制在40~70%。且饲养室与热原实验室为相同屏障环境。使用许可证号:(SYXK(粤)2006-0074)。

1.3 检测仪器

ZRY-2D 智能热原仪,天津大学无线电厂产品。

1.4 检测方法

将测温探头插入实验用兔肛内,深度约6cm,测量时间不得少于1.5min。初次筛选时,不注射药物,每隔30min测量一次体温,共测8次,测量结果均在38.0~39.6℃,且最高体温和最低体温差不超过0.4℃者判为初筛合格,可用于热原实验。二次筛选是指进行热原实验时,注射药物前每隔30min测量体温一次,一般测量两次,两次体温之差不超过0.2℃且两次体温均在38.0~39.6℃,判为二

次筛选合格,可用于当日热原实验,以此两次体温的平均值作为该兔的基础体温。

1.5 统计分析

采用SPSS 13.0统计软件,对不同影响因素条件下新西兰兔的初筛情况和二次筛选情况进行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 不同季节的新西兰兔初次筛选合格率和二次筛选合格率的比较

统计结果:不同季节的新西兰兔初筛结果之间有显著性差异 $P < 0.05$,以7~9月合格率最高;不同季节的新西兰兔二次筛选结果之间有显著性差异 $P < 0.05$,以1~3月合格率最高(见表1)。

2.2 不同体重值的新西兰兔初次筛选合格率和二次筛选合格率的比较

统计结果:

不同体重值的新西兰兔初筛结果之间有显著性差异 $P < 0.05$,以1.7~2.0kg重的新西兰兔合格率最高;不同体重值的新西兰兔二次筛选结果之间无显著性差异 $P > 0.05$ (见表2)。

表1 不同季节对新西兰兔初次筛选和二次筛选结果的影响

Tab.1 Effect on the 1st screening and the 2nd screening of New Zealand Rabbits by different seasons

月份 Month	初次筛选 动物数(只) The number of the animal for the first screening	结果 [*] Result		二次筛选 动物数(只) The number of the animal for the second screening	结果 [*] Result	
		合格(只) The number of the first screening eligible	合格率(%) The first screening eligible rate		合格(只) The number of the second screening eligible	合格率(%) The second screening eligible rate
1月~3月	154	94	61.04	238	220	92.44
4月~6月	167	95	56.89	439	363	82.69
7月~9月	249	167	67.07	470	390	82.98
10月~12月	432	233	53.94	373	300	80.43

注:^{*} $P < 0.05$ Note:^{*} $P < 0.05$

表2 不同体重值对新西兰兔初次筛选和二次筛选结果的影响

Tab.2 Effect on the 1st screening and the 2nd screening of New Zealand Rabbits by different body weight

体重(kg) Body weight	初次筛选 动物数(只) The number of the animal for the first screening	结果 [*] Result		二次筛选 动物数(只) The number of the animal for the second screening	结果 [*] Result	
		合格(只) The number of the first screening eligible	合格率(%) The first screening eligible rate		合格(只) The number of the second screening eligible	合格率(%) The second screening eligible rate
1.7~2.0	422	260	61.61	571	484	84.76
2.1~2.5	448	272	60.71	777	637	81.98
2.6~3.0	132	64	48.48	172	147	85.47

注:^{*} $P < 0.05$ Note:^{*} $P < 0.05$

2.3 不同性别的新西兰兔初次筛选合格率和二次筛选合格率的比较

统计结果:

不同性别的新西兰兔初筛结果之间有显著性差异 $P < 0.05$, 以雄性的新西兰兔合格率较高; 不同性别的新西兰兔二次筛选结果之间无显著性差异 $P > 0.05$ (见表 3)。

2.4 不同室温条件下的新西兰兔初次筛选合格率和二次筛选合格率的比较

统计结果:

在不同室温的条件下, 新西兰兔初筛结果之间

无显著性差异 $P > 0.05$, 新西兰兔二次筛选结果之间有显著性差异 $P < 0.05$, 以室温条件为 22.1 ~ 23.0 时新西兰兔的二次筛选率最高 (见表 4)。

2.5 不同湿度条件下的新西兰兔初次筛选合格率和二次筛选合格率的比较

统计结果:

在不同湿度的条件下, 新西兰兔的初筛结果和二次筛选结果均有显著性差异 $P < 0.05$ 和 $P < 0.05$, 以湿度在 61 ~ 70% 时新西兰兔的初筛合格率和二次筛选合格率最高 (见表 5)。

表 3 不同性别对新西兰兔初次筛选和二次筛选结果的影响

Tab. 3 Effect on the 1st screening and the 2nd screening of New Zealand Rabbits by different sex

性别 Sex	初次筛选 动物数(只) The number of the animal for the first screening	结果* Result		二次筛选 动物数(只) The number of the animal for the second screening	结果* Result	
		合格(只) The number of the first screening eligible	合格率(%) The first screening eligible rate		合格(只) The number of the second screening eligible	合格率(%) The second screening eligible rate
♂	476	326	68.49	894	715	79.98
♀	526	306	58.17	626	498	79.55

注: * $P < 0.05$ Note: * $P < 0.05$

表 4 不同室温对新西兰兔初次筛选和二次筛选结果的影响

Tab. 4 Effect on the 1st screening and the 2nd screening of New Zealand Rabbits by different room temperature

室温(°C) Room temperature	初次筛选 动物数(只) The number of the animal for the first screening	结果* Result		二次筛选 动物数(只) The number of the animal for the second screening	结果* Result	
		合格(只) The number of the first screening eligible	合格率(%) The first screening eligible rate		合格(只) The number of the second screening eligible	合格率(%) The second screening eligible rate
17.0 ~ 18.0	51	16	31.37	137	108	78.83
18.1 ~ 19.0	69	39	56.52	273	227	83.15
19.1 ~ 20.0	84	45	53.57	136	116	85.29
20.1 ~ 21.0	153	99	64.71	125	80	64
21.1 ~ 22.0	129	78	60.47	146	122	83.56
22.1 ~ 23.0	149	101	67.79	148	132	89.19
23.1 ~ 24.0	208	126	60.58	234	186	79.49
24.1 ~ 25.0	159	86	54.09	321	284	88.47

注: * $P < 0.05$ Note: * $P < 0.05$

表 5 不同湿度对新西兰兔初次筛选和二次筛选结果的影响

Tab. 5 Effect on the 1st screening and the 2nd screening of New Zealand Rabbits by different humidity

湿度(%) Humidity	初次筛选 动物数(只) The number of the animal for the first screening	结果* Result		二次筛选 动物数(只) The number of the animal for the second screening	结果* Result	
		合格(只) The number of the first screening eligible	合格率(%) The first screening eligible rate		合格(只) The number of the second screening eligible	合格率(%) The second screening eligible rate
40 ~ 50	302	112	37.09	504	329	65.28
51 ~ 60	420	233	55.48	525	408	77.71
61 ~ 70	280	188	67.14	491	396	80.65

注: * $P < 0.05$ Note: * $P < 0.05$

3 结论

初次筛选结果中,不同季节、体重值、性别、湿度条件下都有显著性差异,筛选时间在 7~9 月、体重值为 1.7~2.0 kg、雄性的新西兰兔、在湿度为 61~70% 的条件下初次筛选率较高;在二次筛选结果中,不同季节、室温、湿度条件下都有显著性差异,筛选时间在 1~3 月、在室温为 22.1~23.0℃、湿度为 61~70% 的条件下新西兰兔的二次筛选率较高。

4 讨论

4.1 由表 1 可以看出不同季节的新西兰兔的初次筛选合格率和二次筛选合格率有显著性差异。本次实验统计结果显示初筛时 7~9 月合格率最高,而二次筛选时 1~3 月合格率最高。杜颖等^[2]也发现,家兔体温是随季节的改变而改变的,夏季的正常体温高于冬季。本实验中初次筛选合格率较高的也是在夏季,但二次筛选合格率较高是在冬、春季。可能是由于家兔经过初次筛选后,在第二次筛选时同样还受到了其他如实验室温度、湿度等因素的制约。

4.2 《中华人民共和国药典》2005 年版第三部中规定供试家兔的体重为 1.7~3.0 kg^[1],由表 2 实验统计发现在初次筛选时,1.7~2.0 kg 重的新西兰兔合格率最高。药典要求未曾用于热原检查的家兔,应在检查供试品前 3~7 日内预测体温,进行初次筛选,通过初次筛选的家兔还需要进行二次筛选后才能做为注射药物的实验动物供使用,所以在初次筛选时,需要挑选体重较轻的家兔。

4.3 徐文瑜等^[3]通过实验发现雌性家兔在基础体温和体温波动幅度上都高于雄性家兔,且稳定性较雄性差。与本实验结果相一致,由表 3 可以看出雄性家兔的初次筛合格率较高。可能是由于雌性动物较雄性动物对外界刺激的反应更为敏感,注射药物和人员操作过程的产生一些刺激导致新西兰兔紧张,引起了交感神经兴奋,从而导致肾上腺素和去甲肾上腺素分泌增加、代谢水平升高而使体温升高^[4]。所以在实验过程中,选择雄性新西兰兔用于实验,效果更为理想。

4.4 实验室温度是热原实验中最重要环境条件之一。室温过低或过高都会对家兔体温有不同程度的影响。任珺等^[5]和岳敏等^[6]都发现不同室温对家兔体温的变化有影响,在不同的室温条件下,新西兰兔的筛选合格率和基础体温均受到影响。本实验统计同样也发现二次筛选过程中,由表 4 可见室温条件为 22.1~23.0℃ 时新西兰兔的二次筛选率最高。所以,在实验过程中要严格控制实验室的环境温度范围,达到动物高筛选、高利用率的目的。

4.5 新西兰兔除了对实验室环境的温度非常敏感外,还对其生长环境中的湿度变化非常敏感,如果实验室湿度过高时,实验兔易患脚皮炎^[7],从而影响热原的实验结果。本实验也发现湿度在 61~70% 时新西兰兔的初筛合格率和二次筛选合格率最高(见表 5)。

4.6 除了上述提到的相关的影响因素外,热原实验还受到许多其他因素的影响,如家兔本身的健康状况、遗传质量等。由于结果是受到多个影响因素的综合制约,只有找到各种影响因素结合最佳点,才能达到理想的实验效果。寻找这一最佳点,还需要未来的实验中大量的实验数据统计证明和深入研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005 版三部). 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录 77-78.
- [2] 杜颖, 徐文瑜, 任珺, 等. 热原检查用家兔正常体温的统计分析[J]. 实验动物科学与管理, 2003, 20(1): 17-19.
- [3] 徐文瑜, 任珺, 杜颖, 等. 家兔性别与体温变化对热原检测结果的影响[J]. 实验动物科学与管理, 2006, 23(3): 22-25.
- [4] 吕式瓌. 护理学基础. 上海: 光明日报出版社, 1996, 1: 86.
- [5] 任珺, 徐文瑜, 杜颖, 等. 室温对家兔体温的影响[J]. 实验动物科学, 2007, 24(2): 21-23.
- [6] 岳敏, 范沛, 巫玮, 等. 室温对热原实验中兔筛选的影响[J]. 科技信息, 2010, 24: 25-27.
- [7] 杜颖, 李秀记, 谭德讲. 实验兔脚皮炎与相对湿度的相关性以及对热原筛选实验的影响分析[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(8): 21-24.

(修回日期)2011-10-21