



# 无菌大鼠血液学及血液生化指标正常参考值的测定

仇慧敏, 孙淑华, 胡晓燕, 王艳蓉, 孟金萍, 刘云波

(北京协和医学院 中国医学科学院实验动物研究所, 北京 100021)

**【摘要】** 目的 人工培育 Wistar 无菌大鼠, 观测 F1 和 F2 代无菌大鼠血液学及血液生化指标差异。方法 对清洁级 Wistar 大鼠进行子宫摘除, 隔离器内剥离子宫壁获得大鼠胎仔, 人工哺育为无菌大鼠。待其繁殖后, 采用全自动血液生化分析仪、全血细胞计数仪测定 F1 和 F2 代无菌大鼠的血液学及血液生化指标。结果 不同代数无菌大鼠的血液学和血液生化指标存在显著差异, 其中有差异的血液学指标包括 RBC、HGB、HCT、MCV、MCHC、RDW、MPV、NE%、LYM%、EO%、BA%、NE#、LYM#、EO#、BA# ( $P < 0.05$ ); 有差异的血液生化指标包括 ALT、ALB、LDH、CHO、TBIL、HDL-C、LDL-C、GLO、GLU、ALP、A/G、UA、P ( $P < 0.05$ )。同时这些差异又因性别和年龄而不同。结论 代数、性别、年龄对无菌大鼠的血液学及血液生化指标有较大影响。

**【关键词】** 子宫摘除术; 无菌大鼠; 血液学指标; 血液生化指标

**【中图分类号】** Q592; R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)05-0026-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.05.007

## Detection of Blood Parameters and Blood Biochemical Parameters in Germ-free Rats

ZHANG Hui-min, SUN Shu-hua, HU Xiao-yan, WANG Yan-rong, MENG Jin-ping, LIU Yun-bo  
(Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

**【Abstract】 Objective** To determine and compare the blood parameters and blood biochemical parameters in F1 and F2 germ-free rats. **Methods** Germ-free rats were obtained by uterectomy, and the offspring were fed with artificial milk by hand in the germfree isolator. The blood parameters and blood biochemical parameters were detected by automatic hematology analyzers. **Results** The germ-free rats showed significant differences in the values of RBC, HGB, HCT, MCV, MCHC, RDW, MPV, NE%, LYM%, EO%, BA%, NE#, LYM#, EO#, BA# ( $P < 0.05$ ) and ALT, ALB, LDH, CHO, TBIL, HDL-C, LDL-C, GLO, GLU, ALP, A/G, UA, P ( $P < 0.05$ ). There are different blood values in different gender and age. **Conclusion** The gender and age may affect the blood parameters and blood biochemical parameters.

**【Key words】** Uterectomy; Germ-free rats; Blood parameters; Blood biochemical parameters

无菌动物的培育始于 19 世纪末期, 经过不断的研究试验, 相继培育出了各种无菌动物。20 世纪 40 年代美国圣母大学 Lobund 实验室的 Reyniers 等<sup>[1]</sup> 人培育出无菌大鼠, 并能连续传代。因为无菌动物具有其自身的特点, 在一些研究中具有一定优

势<sup>[4-7]</sup>。国内自 1980 年开始研究无菌动物的培育, 1992 年王荫槐等<sup>[2-3]</sup> 培育出无菌大鼠并能传代。但至今没有较大规模的无菌大鼠繁殖记录, 因而缺少对无菌大鼠系统的生物学特性观察描述, 也没有无菌动物作为实验动物模型在科学研究中规模化

[作者简介] 仇慧敏, 女, 硕士生, 研究方向: 实验动物学。

[通讯作者] 刘云波, E-mail: liu-yanbo@263.net。

应用。本实验在成功培育并繁殖无菌大鼠的基础上,测定了血液学及血液生化指标,为无菌大鼠的使用提供参考<sup>[8-9]</sup>。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 无菌大鼠:5 周、8 周的无菌 Wistar 大鼠各半, F1 代 40 只, F2 代 40 只, 雌雄各半。

1.1.2 仪器:7020 型日立生化分析仪,日本株式会社日立高新技术公司生产;ACT. 5diff 型全自动血球计数仪,美国贝克曼库尔特有限公司生产。

1.1.3 塑料薄膜隔离器:洁净度百级;压力梯度为隔离器对外界 48 Pa;换气次数 56 次/h;

环境温度 20~25℃ 相对湿度 40~65%。

### 1.2 方法

1.2.1 无菌大鼠的获得:将怀孕 21 d 左右的清洁级 Wistar 大鼠(购自中国医学科学院实验动物研究所[SCXK(京)2009-0007])用 CO<sub>2</sub> 麻醉后固定在手术板上,逐层开腹后取出子宫,传到隔离器内剥离子宫壁,取出胎仔。2~4 h 后开始采用吮吸法人工哺乳,喂至 21 d 左右离乳,可以自行觅食,得到 F0 代无菌大鼠。F0 代进行亲兄妹间的近亲交配后得到 F1 代, F1 代亲兄妹近亲交配后得到 F2 代无菌大鼠。

1.2.2 无菌检测:根据中华人民共和国无特定病原体动物、无菌动物生活环境及粪便标本的检验方法 GB/T 14926.41—2001,取无菌大鼠的新鲜粪便、咽拭子、垫料,使用硫乙醇酸盐培养基、改良马丁培养基以及营养肉汤培养基分别于 37℃、27℃ 和 37℃ 进行培养,每日观察并记录(至 14 d)。检查结果如下:

表 1 无菌检查结果  
Tab. 1 Results of sterility test

	硫乙醇酸盐 培养基(37℃) Thioglycollate medium	改良马丁 培养基(27℃) Martin medium modified	营养肉汤培 养基(37℃) Nutrient broth
粪便 Fecal	-	-	-
垫料 Bedding	-	-	-
咽拭子 Throat swab	-	-	-
阳性对照 Positive control	+	+	+
阴性对照 Negative control	-	-	-

注: - 表示无细菌生长, + 表示细菌生长

Note: - Indicates germ-free, + Indicates germ-growth

1.2.3 样品采集:无菌大鼠禁食 12 h 后,摘眼球取血 1.5 mL。0.5 mL 于 EDTAK<sub>2</sub> 抗凝管中,测血常规用;另 1 mL 常温下静置 1 h 后,3000 r/min 离心 15 min,分离血清测定血液生化指标用。

1.2.4 测定方法:仪器在使用前按照规程进行自检,待各项参数正常后方可进行测定,且质控标准品数值在正常范围内,测定数值有效。

丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、肌酸磷酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)使用连续检测法;高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)使用清除法;尿素氮(BUN)使用酶偶速率法;肌酐(CRE)使用苦味酸法;尿酸(UA)使用尿酸酶-过氧化物酶法;白蛋白(ALB)使用溴甲酚绿法;总蛋白(TP)使用双缩脲法;总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)使用酶比色法;葡萄糖(Glu)使用葡萄糖氧化酶法。

白细胞计数(WBC)、红细胞计数(RBC)、红细胞容积(HCT)、血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)使用阻抗法;血红蛋白(HGB)使用分光光度计法;平均红细胞容积(MCV)、平均红细胞血红蛋白(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)使用计算法;白细胞分类使用 ACV 技术(双聚焦流技术)。

1.2.5 统计学处理:所有数据用 SPSS12.0.1 软件进行 t 检验分析,比较无菌大鼠血液学及血液生化指标差异。

## 2 结果

### 2.1 血液学检查结果

2.1.1 5 周龄 F1 代和 F2 代无菌大鼠血常规的测定结果:

5 周龄无菌大鼠在红细胞比积(HCT)、红细胞平均体积(MCV)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞分布宽度(RDW)、平均血小板体积(MPV)、嗜酸性粒细胞百分比(E0%)、嗜碱性粒细胞百分比(BA%)、嗜酸性粒细胞数值(E0#)8 个指标上存在显著差异( $P < 0.05$ );除此以外,雌鼠在血小板计数(PLT)、单核细胞百分比(MO%)、嗜碱性粒细胞数(BA#)3 个指标上还存在着显著差异( $P < 0.05$ );而雄鼠在红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)、嗜中性粒细胞百分比(NE%)3 个指标上也存在着显著差异( $P < 0.05$ )。(见表 1)其余指标差异不显著。

表 2 5 周龄 F1 和 F2 代无菌大鼠血常规的比较

Tab. 2 Comparison of the values of routine blood test in F1 and F2 germfree rats aged 5 weeks

测定项目 (Index)	雌性 (Female)			雄性 (Male)		
	F1	F2	P 值 (P value)	F1	F2	P 值 (P value)
WBC (×10 <sup>9</sup> /L)	7.27 ± 0.38	6.78 ± 0.22	0.267	7.18 ± 0.55	7.42 ± 0.45	0.738
RBC (×10 <sup>12</sup> /L)	6.41 ± 0.12	6.60 ± 0.09	0.207	6.27 ± 0.08	6.02 ± 0.09	0.045*
HGB (g/L)	139.55 ± 2.16	141.55 ± 1.56	0.458	137.60 ± 1.91	131.10 ± 1.57	0.012*
HCT (L/L)	0.44 ± 0.01	0.41 ± 0.00	0.000*	0.44 ± 0.01	0.37 ± 0.01	0.000*
MCV (fL)	69.35 ± 0.56	61.75 ± 0.30	0.000*	70.15 ± 0.58	62.05 ± 0.44	0.000*
MCH (pg)	21.81 ± 0.17	21.48 ± 0.12	0.131	21.96 ± 0.18	21.84 ± 0.14	0.581
MCHC (g/L)	314.45 ± 0.98	347.20 ± 1.40	0.000*	313.10 ± 1.06	352.10 ± 1.56	0.000*
RDW (um)	11.82 ± 0.23	12.72 ± 0.23	0.009*	11.58 ± 0.25	12.75 ± 0.16	0.000*
PLT (×10 <sup>9</sup> /L)	623.05 ± 70.91	833.30 ± 17.76	0.009*	753.30 ± 52.43	756.30 ± 18.73	0.957
MPV (fL)	7.18 ± 0.16	6.35 ± 0.08	0.000*	6.93 ± 0.07	6.41 ± 0.06	0.000*
NE (%)	8.46 ± 0.70	8.30 ± 0.54	0.853	10.60 ± 0.58	9.13 ± 0.42	0.047*
LYM (%)	84.96 ± 0.92	84.78 ± 0.79	0.880	82.24 ± 0.77	83.39 ± 0.59	0.240
MO (%)	5.30 ± 0.37	6.42 ± 0.41	0.047*	6.19 ± 0.36	7.01 ± 0.39	0.130
EO (%)	0.69 ± 0.18	0.12 ± 0.05	0.006*	0.58 ± 0.13	0.15 ± 0.07	0.007*
BA (%)	0.58 ± 0.09	0.38 ± 0.04	0.045*	0.38 ± 0.03	0.30 ± 0.02	0.048*
NE# (×10 <sup>9</sup> /L)	0.61 ± 0.05	0.55 ± 0.03	0.430	0.71 ± 0.06	0.67 ± 0.05	0.604
LYM (×10 <sup>9</sup> /L)	6.16 ± 0.32	5.75 ± 0.20	0.291	5.58 ± 0.38	6.19 ± 0.38	0.261
MON# (×10 <sup>9</sup> /L)	0.40 ± 0.04	0.44 ± 0.03	0.499	0.43 ± 0.05	0.52 ± 0.04	0.187
EO# (×10 <sup>9</sup> /L)	0.05 ± 0.01	0.01 ± 0.00	0.008*	0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.028*
BA# (×10 <sup>9</sup> /L)	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.048*	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.365

注: \* 表示两组动物间存在显著性差异

Note: \* Indicates a significant difference the two groups

## 2.1.2 8 周龄 F1 代和 F2 代无菌大鼠血常规的测定结果:

8 周龄无菌大鼠在红细胞计数 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、红细胞比积 (HCT)、平均血红蛋白浓度 (MCHC)、红细胞分布宽度 (RDW) 5 个指标上存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ); 除此之外, 雌鼠在平均血红蛋白含量 (MCH)、嗜碱性粒细胞百分比

(BA%) 2 个指标上, 雄鼠在红细胞平均体积 (MCV)、血小板计数 (PLT)、嗜中性粒细胞百分比 (NE%)、淋巴细胞百分比 (LYM%)、嗜酸性粒细胞百分比 (EO%)、中性粒细胞数 (NE#)、淋巴细胞数 (LYM)、嗜酸性粒细胞数 (EO#) 8 个指标上也分别存在差异 ( $P < 0.05$ )。(见表 2) 其余指标差异不显著。

表 3 8 周龄 F1 和 F2 代无菌大鼠血常规的比较

Tab. 3 Comparison of the values of routine blood test in germfree F1 and F2 rats aged 8 weeks

测定项目 (Index)	雌性 (Female)			雄性 (Male)		
	F1	F2	P 值 (P value)	F1	F2	P 值 (P value)
WBC (×10 <sup>9</sup> /L)	7.03 ± 0.24	7.23 ± 0.23	0.549	8.29 ± 0.24	9.21 ± 0.46	0.069
RBC (×10 <sup>12</sup> /L)	8.13 ± 0.06	7.27 ± 0.11	0.000*	7.92 ± 0.09	7.39 ± 0.14	0.002*
HGB (g/L)	160.20 ± 1.19	148.05 ± 1.99	0.000*	160.40 ± 1.08	152.19 ± 2.08	0.001*
HCT (L/L)	0.49 ± 0.00	0.42 ± 0.01	0.000*	0.49 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.000*
MCV (fL)	60.15 ± 0.90	58.55 ± 0.34	0.109	62.50 ± 1.00	59.50 ± 0.46	0.011*
MCH (pg)	19.74 ± 0.18	20.41 ± 0.13	0.005*	20.30 ± 0.21	20.64 ± 0.18	0.253
MCHC (g/L)	328.70 ± 2.57	348.75 ± 1.16	0.000*	325.20 ± 3.21	346.63 ± 0.97	0.000*
RDW (um)	9.50 ± 0.12	10.55 ± 0.13	0.000*	10.47 ± 0.09	11.47 ± 0.10	0.000*
PLT (×10 <sup>9</sup> /L)	619.00 ± 58.14	629.45 ± 47.56	0.890	568.75 ± 55.83	706.56 ± 31.74	0.040*
MPV (fL)	6.75 ± 0.10	6.92 ± 0.14	0.334	6.91 ± 0.12	6.71 ± 0.11	0.220
NE (%)	9.30 ± 0.56	8.31 ± 0.41	0.161	11.62 ± 1.04	7.62 ± 0.57	0.002*
LYM (%)	82.49 ± 0.10	83.98 ± 0.52	0.195	77.92 ± 1.60	83.42 ± 0.83	0.005*
MO (%)	6.10 ± 0.40	6.27 ± 0.47	0.790	7.76 ± 0.56	8.17 ± 0.56	0.611
EO (%)	1.50 ± 0.40	0.96 ± 0.24	0.256	2.06 ± 0.31	0.32 ± 0.13	0.000*
BA (%)	0.59 ± 0.05	0.47 ± 0.02	0.047*	0.63 ± 0.13	0.46 ± 0.03	0.241
NE# (×10 <sup>9</sup> /L)	0.65 ± 0.05	0.60 ± 0.03	0.357	0.98 ± 0.10	0.70 ± 0.06	0.037*
LYM (×10 <sup>9</sup> /L)	5.80 ± 0.22	6.07 ± 0.20	0.366	6.44 ± 0.21	7.68 ± 0.37	0.005*
MON# (×10 <sup>9</sup> /L)	0.42 ± 0.03	0.45 ± 0.04	0.524	0.64 ± 0.05	0.76 ± 0.07	0.185
EO# (×10 <sup>9</sup> /L)	0.11 ± 0.03	0.07 ± 0.02	0.266	0.17 ± 0.03	0.03 ± 0.01	0.000*
BA# (×10 <sup>9</sup> /L)	0.04 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.174	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.697

注: \* 表示两组动物间存在显著性差异

Note: \* Indicates a significant difference the two groups

2.2 血生化检查结果

2.2.1 5 周龄 F1 代和 F2 代无菌大鼠血生化的测定结果:

5 周龄无菌大鼠在乳酸脱氢酶 (LDH)、总蛋白 (TP)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、总胆固醇 (CHO)、总胆红素 (TBIL)、肌酐 (CRE)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、钙 (Ca)、尿酸 (UA)、球蛋白 (GLO)、A/G 12 个指标上有显著差异 ( $P < 0.05$ );除以上数值外,雌鼠在谷丙转氨酶 (ALT)、总蛋白 (ALB)、葡萄糖 (GLU)、磷 (P)4 个指标还存在显著差异 ( $P < 0.05$ );而雄鼠在磷酸肌酸激酶 (CK)、谷酰转氨酶 (GGT)、碱性磷酸酶 (ALP) 3 个指标上还存在显著差异 ( $P < 0.05$ ) (见表 3)。其余指标差异不显著。

2.2.2 8 周龄 F1 代和 F2 代无菌大鼠血生化的测定结果:

8 周龄无菌大鼠在白蛋白 (ALB)、甘油三酯 (TG)、尿酸 (UA)、A/G、碱性磷酸酶 (ALP)5 个指标上存在显著差异 ( $P < 0.05$ );除此以外,雌鼠在谷丙转氨酶 (ALT)、总胆固醇 (CHO)、总胆红素 (TBIL)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂

蛋白胆固醇 (LDL-C)5 个指标上还存在显著差异 ( $P < 0.05$ );而雄鼠在乳酸脱氢酶 (LDH)、葡萄糖 (GLU)、磷 (P)、球蛋白 (GLO)4 个指标上也还存在显著差异 ( $P < 0.05$ ) (见表 4)。其余指标差异不显著。

3 讨论

3.1 无菌状态的维持

在无菌动物的培育过程中,无菌状态的维持是一个难点。进入隔离器中的任何物品都要进行严格的灭菌处理。饲料经过<sup>60</sup>Co 在 50 kGy 的水平上辐射灭菌;耐高温的垫料等物品采取 121℃ 40 min 进行灭菌;不耐高温的塑料器皿等,用 2% 过氧乙酸充分浸泡至少 30 min,以彻底灭菌。

另外,无菌大鼠小批量饲养于多个隔离器内,依据 GB/T 14924. 1—2001、GB/T 14924. 2—2001 定期对无菌大鼠微生物携带情况进行检测,确保无菌大鼠的质量。一旦发现某隔离器大鼠被污染,立即淘汰。

3.2 无菌大鼠血液学及血液生化指标的分析

3.2.1 代数的影响:

表 4 5 周龄 F1 和 F2 代无菌大鼠血生化的比较

Tab. 4 Comparison of blood biochemical parameters in F1 and F2 germfree rats aged 5 weeks

测定项目 (Index)	雌性 (Female)			雄性 (Male)		
	F1	F2	P 值 (P value)	F1	F2	P 值 (P value)
ALT (IU/L)	41.89 ± 1.73	46.20 ± 1.22	0.047*	46.25 ± 1.47	45.90 ± 1.42	0.865
LDH (IU/L)	1986.84 ± 99.82	2558.50 ± 109.62	0.000*	1760.90 ± 126.03	2898.85 ± 70.10	0.000*
CK (IU/L)	2169.79 ± 99.76	1895.75 ± 111.40	0.076	1954.25 ± 110.22	2434.10 ± 171.55	0.024*
TP (g/L)	51.90 ± 0.74	59.14 ± 0.98	0.000*	48.98 ± 0.70	55.00 ± 0.66	0.000*
ALB (g/L)	38.20 ± 0.53	41.39 ± 0.56	0.000*	36.84 ± 0.62	38.09 ± 0.41	0.098
AST (IU/L)	185.10 ± 6.75	267.40 ± 8.24	0.000*	179.10 ± 5.87	255.20 ± 5.90	0.000*
GLU (mmol/L)	5.85 ± 0.37	4.01 ± 0.45	0.003*	6.26 ± 0.37	5.64 ± 0.20	0.159
BUN (mmol/L)	6.81 ± 0.28	6.18 ± 0.25	0.103	7.49 ± 0.48	6.83 ± 0.13	0.192
CHO (mmol/L)	1.86 ± 0.06	1.32 ± 0.04	0.000*	1.70 ± 0.06	1.30 ± 0.04	0.000*
TBIL (umol/L)	1.96 ± 0.10	1.44 ± 0.04	0.000*	1.74 ± 0.06	1.49 ± 0.02	0.001*
CRE (umol/L)	59.26 ± 2.35	64.90 ± 1.52	0.049*	61.65 ± 2.95	68.75 ± 1.22	0.035*
HDL-C (mmol/L)	1.29 ± 0.07	0.91 ± 0.03	0.000*	0.98 ± 0.04	0.74 ± 0.03	0.000*
LDL-C (mmol/L)	0.39 ± 0.02	0.29 ± 0.02	0.001*	0.40 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.000*
TG (mmol/L)	1.55 ± 0.14	1.27 ± 0.11	0.114	1.39 ± 0.10	1.37 ± 0.06	0.903
GGT (IU/L)	0.63 ± 0.16	0.20 ± 0.20	0.098	2.35 ± 0.77	0.10 ± 0.10	0.009*
Ca (mmol/L)	2.48 ± 0.02	2.27 ± 0.02	0.000*	2.40 ± 0.02	2.29 ± 0.03	0.002*
UA (umol/L)	193.37 ± 7.90	155.35 ± 5.10	0.000*	196.15 ± 11.74	157.30 ± 5.74	0.006*
P (mmol/L)	3.26 ± 0.05	2.87 ± 0.03	0.000*	3.50 ± 0.06	3.36 ± 0.07	0.137
GLO (g/L)	13.71 ± 2.46	17.74 ± 0.49	0.000*	12.14 ± 0.63	16.90 ± 0.34	0.000*
A/G	2.87 ± 0.12	2.36 ± 0.05	0.001*	3.23 ± 0.21	2.27 ± 0.04	0.000*
ALP (IU/L)	404.42 ± 23.63	374.00 ± 25.14	0.385	471.50 ± 20.60	630.20 ± 23.70	0.000*

注: \* 表示两组动物间存在显著性差异

Note: \* Indicates a significant difference the two groups

表 5 8 周龄 F1 和 F2 代无菌大鼠血生化的比较  
 Tab.5 Comparison of blood biochemical parameters in F1 and F2 germfree rats aged 8 weeks

测定项目 (Index)	雌性 (Female)			雄性 (Male)		
	F1	F2	P 值 (P value)	F1	F2	P 值 (P value)
ALT (IU/L)	33.39 ± 1.58	47.22 ± 3.28	0.001*	49.50 ± 8.09	52.69 ± 3.34	0.741
LDH (IU/L)	2519.89 ± 111.40	2247.11 ± 122.89	0.109	2146.25 ± 124.81	1654.12 ± 135.66	0.012*
CK (IU/L)	2106.78 ± 123.61	2009.22 ± 181.55	0.660	1519.70 ± 70.72	1331.12 ± 152.90	0.275
TP (g/L)	64.03 ± 0.92	62.84 ± 0.90	0.362	60.08 ± 1.00	60.71 ± 0.86	0.648
ALB (g/L)	44.21 ± 0.44	41.80 ± 0.39	0.000*	42.08 ± 0.63	40.07 ± 0.60	0.029*
AST (IU/L)	196.94 ± 11.79	216.06 ± 9.92	0.223	176.85 ± 8.89	184.06 ± 7.71	0.555
GLU (mmol/L)	4.77 ± 0.50	5.86 ± 0.21	0.056	5.08 ± 0.41	6.19 ± 0.32	0.049*
BUN (mmol/L)	8.00 ± 0.30	8.02 ± 0.63	0.972	6.53 ± 0.29	6.78 ± 0.30	0.557
CHO (mmol/L)	1.15 ± 0.07	1.36 ± 0.04	0.015*	1.49 ± 0.06	1.40 ± 0.06	0.287
TBIL (umol/L)	2.09 ± 0.06	1.89 ± 0.07	0.042*	1.58 ± 0.07	1.72 ± 0.07	0.149
CRE (umol/L)	75.78 ± 2.98	72.28 ± 4.25	0.504	67.40 ± 3.39	63.69 ± 1.65	0.369
HDL-C (mmol/L)	0.91 ± 0.05	1.13 ± 0.04	0.002*	0.92 ± 0.05	0.96 ± 0.05	0.585
LDL-C (mmol/L)	0.13 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.000*	0.29 ± 0.01	0.36 ± 0.04	0.160
TG (mmol/L)	0.88 ± 0.08	1.39 ± 0.10	0.000*	1.12 ± 0.04	1.92 ± 0.12	0.000*
GGT (IU/L)	2.06 ± 1.10	1.89 ± 0.92	0.908	0.90 ± 0.46	0.31 ± 0.22	0.257
Ca (mmol/L)	2.37 ± 0.04	2.34 ± 0.02	0.469	2.35 ± 0.03	2.33 ± 0.02	0.514
UA (umol/L)	170.00 ± 4.60	121.78 ± 7.08	0.000*	151.75 ± 12.57	104.56 ± 7.47	0.003*
P (mmol/L)	2.66 ± 0.12	2.57 ± 0.06	0.525	3.32 ± 0.07	2.91 ± 0.07	0.000*
GLO (g/L)	19.82 ± 0.52	21.03 ± 0.56	0.122	18.00 ± 0.76	20.64 ± 0.46	0.006*
A/G	2.25 ± 0.04	2.00 ± 0.04	0.000*	2.43 ± 0.13	1.95 ± 0.04	0.002*
ALP (IU/L)	155.61 ± 11.39	278.33 ± 22.59	0.000*	271.50 ± 16.78	382.37 ± 27.70	0.001*

注: \* 表示两组动物间存在显著性差异

Note: \* Indicates a significant difference the two groups

由表 1、2、3、4 可以看出,不同代数的无菌大鼠在血液学及血液生化指标上都存在一定程度的差异,这可能与远交品种进行近亲交配繁殖有关。实验中我们选择的进行子宫摘除的孕大鼠为封闭群 Wistar 大鼠,人工哺育成活 F0 代以后,连续进行近亲交配,得到 F1 代和 F2 代无菌大鼠。在近交过程中,动物的遗传杂合性逐渐降低,而纯合性逐渐提高,某些基因由于纯合被固定,另外一些则被淘汰。这些变化可能引起动物血液学及血液生化指标的改变,哪种基因针对哪种指标的改变有待进一步研究。

另外也有材料证实品种、品系对动物血液学参数的影响较大<sup>[10]</sup>。

### 3.2.2 性别的影响:

除了代数以外,性别也对血液学及血液生化指标产生影响。F1 代中,雌雄间的差异分别表现在 NE%、LYM%、BA% 和 TP、HDL-C、GGT、Ca、P、ALP 上,其中 LYM%、BA%、TP、HDL-C 和 Ca 5 个指标雌性高于雄性大鼠;NE%、GGT、P、ALP 4 个指标雌性低于雄性大鼠。F2 代中,雌雄间的差异分别表现在 RBC、HGB、HCT、MCHC、PLT 和 LDH、CK、TP、ALB、GLU、BUN、HDL-C、P、ALP 上,其中 RBC、HGB、HCT、PLT、TP、ALB、HDL-C 7 个指标雌性高于雄性

大鼠;MCHC、LDH、CK、GLU、BUN、P、ALP 7 个指标雌性低于雄性大鼠。

雌雄间的差异指标在不同代数之间不同,这也体现了代数对血液参数的影响。

### 3.2.3 年龄的影响:

本次实验还证明了年龄对血液常规及血液生化影响比性别的影响大。F1 代中,5 周龄和 8 周龄的差异表现在 RBC、HGB、HCT、MCV、MHC、MCHC、RDW、LYM%、MO%、EO%、NE#、MO#、EO# 和 LDH、CK、TP、ALB、GLU、CHO、CRE、HDL-C、LDL-C、TG、Ca、UA、P、GLO、ALP、A/G 上,其中 MCV、MHC、RDW、CK、GLU、CHO、HDL-C、LDL-C、TG、Ca、UA、P、ALP、A/G 14 个指标随年龄增大而减小;RBC、HGB、HCT、MCHC、LYM%、MO%、EO%、NE#、MO#、EO#、LDH、TP、ALB、CRE、GLO 15 个指标随年龄增大而增大。F2 代中,不同年龄无菌大鼠的差异表现在 WBC、RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、RDW、PLT、MPV、EO%、BA%、LYM#、MO#、EO#、BA# 和 LDH、CK、TP、ALB、AST、GLU、BUN、TBIL、HDL-C、TG、Ca、UA、P、GLO、ALP、A/G 上,其中 WBC、RBC、HGB、HCT、RDW、PLT、LDH、CK、AST、UA、P、ALP、A/G 13 个指标随年龄增大而减小;MCV、MCH、MPV、EO%、BA%、LYM#、MO#、EO#、BA#、TP、ALB、

GLU、BUN、TBIL、HDL-C、TG、Ca、GLO 18 个指标随年龄增大而增大。

RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、LDH、GLU、HDL-C、LDL-C、TG 和 Ca 随年龄的增大在不同代数间朝不同方向改变,这同样提示了代数对血液学及血液生化指标的影响。

### 3.2.4 微生物的影响:

理论上,无菌动物生活在无菌隔离器内,几乎接触不到微生物,免疫系统发育不完善,作为机体重要防御系统的白细胞群和参与体液免疫的抗体类蛋白应该比较少<sup>[8,9]</sup>。本次实验的无菌大鼠与相关文献报道<sup>[11,12]</sup>的 SPF 级大鼠比较,ALT、TP、WBC 较低,符合上述理论。但也有文献与此不符,考虑是 SPF 级动物的洁净度也已相当高,饲养环境、技术方法等的不同所致<sup>[13-15]</sup>。

实验动物血液学参数能反应机体各组织、器官的功能状态,对实验时动物的选择有很好的参考价值。本次实验旨在建立无菌大鼠的血液学参考指标,但由于环境、饲养条件、实验条件、技术方法等的不尽相同,不同地区或实验室的测定结果总会存在差异。建立我国统一的参考指标,还有待各方面的努力。

### 参考文献:

- [1] 宫川澄. 无菌动物[M]. 东京:医齿药出版株式会社,1973.
- [2] 王荫槐,王钜. 悉生动物学[M]. 辽宁大学出版社,2007.
- [3] 王荫槐,孙淑华,等. 已知菌 Wistar 大鼠血液血清生化正常值的测定[J]. 北京实验动物科学,1992,9(2):11-13.
- [4] Gustafsson BE, Maunsbach AB. Ultrastructure of the enlarged cecum in germfree rats[J]. Z. Zellforsch,1971,120:555-578.

- [5] Kazuyori Y, Mitsuo U. The histochemistry of mucosarides in some organs of germfree rats[J]. Histochemistry,1976,47:219-238.
- [6] Matsuzawa H, Shimizu K, Okada K, et al. Analysis of target organs for the latency of murine cytomegalovirus DNA using specific pathogen free and germfree mice[J]. Arch Virol(1995) 140:853-864.
- [7] Stepankova R, Sinkora J, Hudcovic T, et al. Difference in development of lymphocyte subpopulations from Gut-Associated Lymphatic Tissue (GALT) of germfree and conventional rats: effect of aging[J]. Folia Microbiol,1998,43(5):531-534.
- [8] 李增强,孙淑华,孟金萍,等. SPF 兔与普通兔血液学参数的比较研究[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(4):51-55.
- [9] 张琨,孙淑华,等. 无菌豚鼠与普通豚鼠血液学参数的比较[J]. 中国实验动物学报,2010,18(2):176-180.
- [10] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京:人民军医出版社,2000:911.
- [11] 吴晓燕,王冬平,等. 不同日龄 SPF 级 Wistar 大鼠血液生化参考值的建立[J]. 中国比较医学杂志,2008,18(7):28-32.
- [12] 王刚,黄少琼,等. 性别、年龄等对 SPF 级近交系 Wistar 大鼠血常规值的影响[J]. 中国比较医学杂志,2007,17(3):147-150.
- [13] 詹纯列,肖育华,李新春,等. 普通级、SPF 级 SD、Wistar 大鼠血液生化参考值的建立的测定与比较[J]. 中国比较医学杂志,2004,14(2):94-96.
- [14] 杨斐,顾祖曦,等. 不同周龄 SPF 级 Wistar 大鼠血常规值、主要脏器重量系数及体重、体尺的测定[J]. 实验动物科学与管理,2003,20(4):1-5.
- [15] 齐娜,郭建强,等. SPF 级 Wistar 种 8 周龄大鼠血液学指标及生化指标正常参考值的探讨[J]. 卫生研究,2002,31(6):474-475.

(修回日期)2010-12-31