

温度与时间对大鼠血清生化指标的影响

Effect of temperature and time on biochemical indexes of serum in rats

杨朝, 刘志永, 李存治, 樊朋, 牛浩, 高俊宏

(兵器工业卫生研究所毒理技术研究中心, 陕西 西安 710065)

摘要: 选取 20 只 SD 雌性大鼠, 探讨血清样本经过不同储存温度和时间后对生化指标测定的影响。结果显示, 储存温度和时间均可对血清生化指标测定结果产生影响, 在无法及时检测血清样本时, 应于 4℃ 保存条件下 48 h 内或 -20℃ 保存条件下 7 d 内完成检测。

关键词: 大鼠; 生化指标; 时间; 温度

中图分类号: R994 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2023)01-0041-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2023.01.014

血液生化指标的检测结果可客观而灵敏地反映肝肾等重要脏器功能状况。在科研工作中, 由于实验室检测条件不足、仪器设备故障或检测样本数量过多等客观条件限制, 常无法及时检测血液样本, 而需保存后检测。目前常规推荐的保存方法包括冷藏和冷冻。本文现对不同保存时间和保存温度条件下 SD 大鼠的血清生化指标变化情况进行比较和分析, 为科研和毒理学评价工作中选择合适的血清样本保存条件提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 AU480 全自动生化分析仪、X-30R 台式高速冷冻离心机 (美国 Beckman Coulter), HYC-610 医用冷藏箱 (青岛海尔特种电器有限公司), MDF-U5412、MCF-U53V 医用低温箱 (日本三洋电机株式会社), SHHW21.600A 三用电热恒温水箱 (天津市泰勒斯特仪器有限公司); 17 项血清生化试剂 (美国 Beckman Coulter)。

1.2 实验动物 SPF 级 SD 雌性大鼠 20 只, 体质量 280~320 g, 购自西安交通大学医学部实验动物中心, 合格证号: 606。实验动物饲养于兵器工业卫生研究所屏障设施, 使用许可证号: SYXK(陕)2016—005; 饲养温度 (23±3)℃, 相对湿度 40%~70%, 12 h 明暗交替。实验前适应性饲养 5 d, 经检疫合格后使用。

实验期间喂饲常规饲料, 自由饮水。

1.3 方法

1.3.1 样本处理 大鼠禁食 12 h, 麻醉后经腹主动脉采集血液样本, 37℃ 水浴 30 min, 3 000 r/min 离心 10 min 后每只大鼠血清分装 12 管, 每管 300 μl, 4 管常温保存、4 管 4℃ 保存、3 管 -20℃ 保存、1 管 -80℃ 保存。常温 and 4℃ 保存的血清分别于 0、4、24 和 48 h 进行检测; -20℃ 保存的血清分别于 24 h、48 h 和 7 d 进行检测; -80℃ 保存的血清于第 7 天进行检测。

1.3.2 样本检测 所有样本检测白蛋白 (ALB)、胆碱酯酶 (ChE)、总蛋白 (TP)、尿素氮 (BUN)、血糖 (Glu)、总胆红素 (TBiL)、直接胆红素 (DBiL)、肌酐 (Cr)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、碱性磷酸酶 (ALP)、尿酸 (UA)、总胆固醇 (CHOL)、γ-谷氨酰转肽酶 (γ-GGT) 和甘油三酯 (TG) 共 17 项血清生化指标。

1.4 统计分析 采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 不同组别及时间点的指标比较采用单因素方差分析, 若不满足正态分布则采用秩和检验进行组间比较, 多重比较采用 LSD 法。检验水准 $\alpha = 0.05$, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 保存时间对大鼠血清生化指标的影响 常温条件下存放 24 h、48 h, ALB、ChE、TP、BUN、Glu、TBiL、Cr、AST、ALT、UA、CHOL 检测结果均显著高于 0 h ($P < 0.05$, $P < 0.01$), CK 显著降低 ($P < 0.01$); 存放 48 h, DBiL、LDH、ALP、γ-GGT、TG 均显著升高 ($P < 0.01$)。4℃ 条件下, 与存放 4 h 相比, 24 h、48 h 检测结果差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 存放 7 d, ALB、ChE、TP、BUN、Glu、TBiL、DBiL、AST、ALT、ALP、γ-GGT 均显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), CK 显著降低 ($P < 0.05$)。

作者简介: 杨朝 (1995—), 男, 助理工程师, 从事生物效应与毒理学研究。

通信作者: 高俊宏, 高级工程师, E-mail: gaoping2285@126.com

-20℃条件下,与存放 24 h 相比,48 h 指标检测结果差异无统计学意义 ($P>0.05$);存放 7 d, γ -GGT 显著升高 ($P<0.05$)。详见表 1。

2.2 保存温度对大鼠血清生化指标的影响 放置 24 h 时,与 -20℃ 相比,常温条件下 ALB、ChE、TP、BUN、Glu、TBiL、Cr、AST、ALT、UA、CHOL 均显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$),CK 则显著降低 ($P<0.05$);在 4℃ 保存条件下 TP、DBiL 显著降低 ($P<$

0.05)。放置 48 h 时,与 -20℃ 相比,在常温保存条件下 CK 显著降低 ($P<0.01$),其他指标均显著升高 ($P<0.01$);在 4℃ 保存条件下,ALB、TP、ALT 显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。放置 7 d 时,与 -20℃ 相比,在 4℃ 保存条件下,ALB、ChE、TP、BUN、TBiL、DBiL、AST、ALT、ALP、 γ -GGT 均显著升高 ($P<0.05$, $P<0.01$);在 -80℃ 保存条件下,所有指标检测结果差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。详见表 1。

表 1 SD 大鼠血清样本不同保存时间和温度生化指标的变化 ($\bar{x}\pm s$, $n=20$)

指标	时间	常温	4℃	-20℃	-80℃	指标	时间	常温	4℃	-20℃	-80℃
ALB (g/L)	0 h	34.47±2.25	—	—	—	TBiL (μ mol/L)	0 h	2.57±0.52	—	—	—
	4 h	34.08±2.27	34.37±2.10	—	—		4 h	2.66±0.52	2.60±0.71	—	—
	24 h	38.32±2.43 ^{bd}	34.31±2.22	34.46±2.26	—		24 h	3.33±0.61 ^{bd}	2.67±0.55	2.53±1.06	—
	48 h	53.15±4.59 ^{bd}	38.04±2.63 ^d	34.73±2.18	—		48 h	4.35±1.01 ^{bd}	3.14±0.62	2.58±1.05	—
	7 d	—	44.19±19.49 ^{bd}	34.55±2.35	34.74±2.27		7 d	—	3.87±1.54 ^{bd}	2.43±1.09	2.37±0.89
TP (g/L)	0 h	69.81±3.75	—	—	—	DBiL (μ mol/L)	0 h	0.72±0.11	—	—	—
	4 h	72.08±3.80	71.03±3.76	—	—		4 h	0.70±0.07	0.67±0.08	—	—
	24 h	86.81±4.89 ^{bd}	71.60±3.60 ^c	74.43±4.45	—		24 h	0.73±0.12	0.65±0.09 ^c	0.72±0.09	—
	48 h	129.72±12.80 ^{bd}	81.08±5.54 ^c	74.30±5.26	—		48 h	0.90±0.19 ^{bd}	0.74±0.10	0.70±0.10	—
	7 d	—	108.67±38.93 ^{bd}	71.52±4.14	72.63±4.19		7 d	—	0.90±0.33 ^{bd}	0.66±0.12	0.65±0.09
ChE (U/L)	0 h	0.71±0.19	—	—	—	AST (U/L)	0 h	119.75±21.90	—	—	—
	4 h	0.75±0.20	0.72±0.18	—	—		4 h	125.10±23.03	126.30±29.62	—	—
	24 h	1.04±0.28 ^{bd}	0.71±0.18	0.79±0.20	—		24 h	153.80±30.15 ^{bc}	127.45±27.43	132.80±28.80	—
	48 h	1.62±0.45 ^{bd}	0.85±0.22	0.78±0.20	—		48 h	235.85±59.49 ^{bd}	151.30±36.42	132.10±32.27	—
	7 d	—	1.18±0.70 ^{bd}	0.73±0.17	0.73±0.18		7 d	—	199.35±83.71 ^{bd}	128.05±28.11	134.35±35.40
BUN (mmol/L)	0 h	6.59±1.06	—	—	—	ALT (U/L)	0 h	42.60±5.30	—	—	—
	4 h	6.74±0.99	6.53±0.96	—	—		4 h	43.90±5.34	43.35±5.34	—	—
	24 h	8.31±1.27 ^{bd}	6.59±0.99	6.80±1.02	—		24 h	50.15±5.67 ^{bd}	43.90±5.37	45.45±5.53	—
	48 h	12.65±2.54 ^{bd}	7.45±1.13	6.74±1.05	—		48 h	70.85±10.68 ^{bd}	50.70±7.30 ^c	45.20±5.41	—
	7 d	—	8.52±5.14 ^{ac}	6.36±0.89	6.47±0.97		7 d	—	67.80±25.36 ^{bd}	43.55±5.34	44.50±5.63
Cr ^c (μ mol/L)	0 h	47.00±5.25	—	—	—	CHOL ^c (mmol/L)	0 h	1.86±0.42	—	—	—
	4 h	47.35±5.56	47.40±5.87	—	—		4 h	1.91±0.42	1.89±0.40	—	—
	24 h	58.50±7.09 ^{bd}	47.10±5.43	47.85±5.87	—		24 h	2.41±0.49 ^{ac}	1.97±0.43	2.08±0.41	—
	48 h	80.60±22.26 ^{bd}	52.45±7.19	43.25±15.73	—		48 h	3.44±1.10 ^{bd}	2.16±0.43	1.88±0.75	—
	7 d	—	39.00±40.70	43.90±11.88	46.05±5.07		7 d	—	1.40±1.68	1.85±0.59	2.00±0.40
UA ^c (μ mol/L)	0 h	81.94±22.90	—	—	—	γ -GGT (U/L)	0 h	0.97±0.32	—	—	—
	4 h	86.20±22.69	83.69±19.69	—	—		4 h	0.93±0.37	0.86±0.41	—	—
	24 h	107.06±27.43 ^{bd}	85.91±21.73	87.28±19.65	—		24 h	0.98±0.47	0.82±0.41	0.81±0.40	—
	48 h	150.01±54.18 ^{bd}	98.39±26.12	87.41±21.68	—		48 h	1.51±0.64 ^{bd}	0.98±0.41	0.96±0.53	—
	7 d	—	85.79±75.75	76.78±25.12	84.29±19.81		7 d	—	1.48±0.75 ^{bc}	1.11±0.37 ^a	1.05±0.31
CK ^c (U/L)	0 h	955.85±982.86	—	—	—	TG ^c (mmol/L)	0 h	0.89±0.59	—	—	—
	4 h	816.90±832.85	900.60±946.39	—	—		4 h	0.91±0.61	0.89±0.60	—	—
	24 h	252.45±97.43 ^{bc}	954.55±906.66	683.45±603.86	—		24 h	1.14±0.74	0.89±0.60	0.93±0.63	—
	48 h	273.21±79.20 ^{bd}	758.65±739.76	855.28±831.95	—		48 h	1.73±1.10 ^{bd}	1.03±0.71	0.87±0.67	—
	7 d	—	332.00±406.60 ^a	668.80±596.36	933.95±974.85		7 d	—	0.94±1.31	0.81±0.62	0.90±0.61

续表

指标	时间	常温	4℃	-20℃	-80℃	指标	时间	常温	4℃	-20℃	-80℃
LDH ^e (U/L)	0 h	1 071.95±379.25	—	—	—	Glu ^e (mmol/L)	48 h	258.50±142.80 ^{bd}	162.85±85.69	147.65±73.60	—
	4 h	1 112.35±404.48	1 132.65±529.24	—	—		7 d	—	219.85±159.67 ^{ac}	141.40±73.41	143.45±73.53
	24 h	1 338.55±497.68	1 140.80±501.71	1 199.05±494.85	—		0 h	10.36±2.24	—	—	—
	48 h	1 721.30±632.23 ^{bd}	1 240.75±446.66	1 096.60±644.65	—		4 h	10.44±2.21	10.10±2.13	—	—
	7 d	—	878.20±981.22	1 103.80±538.79	1 322.30±593.89		24 h	12.53±2.64 ^{ad}	10.33±2.24	10.27±2.27	—
ALP ^e (U/L)	0 h	138.40±70.93	—	—	—		48 h	18.21±3.88 ^{bd}	11.40±2.54	9.22±3.93	—
	4 h	142.40±71.98	140.85±71.08	—	—		7 d	—	7.01±8.11 ^a	8.96±2.57	9.75±1.92
	24 h	171.30±86.43	142.75±72.85	147.15±73.46	—						

注：同一温度条件下不同时间点比较，常温时与 0 h 比较、4℃ 时与 4 h 比较、-20℃ 时与 24 h 比较，a $P < 0.05$ ，b $P < 0.01$ ；同一时间点条件下不同温度比较，均与 -20℃ 比较，c $P < 0.05$ ，d $P < 0.01$ 。e，资料不满足正态分布，采用秩和检验进行组间比较。

3 讨论

本测定结果表明，SD 大鼠血清生化指标检测结果与样本保存的温度以及时间有密切的关系，检测数据因时间和温度的改变而发生变化。因此，为保证检测指标的准确性，在条件允许的情况下，采集血液后应及时分离血清并进行检测。当无法及时对血清样本进行检测时，可在 4℃ 保存条件下 48 h 内或 -20℃ 保存条件下 7 d 内完成检测。有研究表明^[1]，温度和时间对生化指标的影响由蒸发作用、红细胞内容物逸出、细胞酸碱变化等多方面原因引起的。此外，大鼠的性别、周龄、麻醉方式、应激反应，样本的采集时

间、采集部位、样本是否溶血等也都是影响血生化检测结果的重要因素^[2-3]。

参考文献

- [1] 陈福萍. 临床血液生化检验影响因素 [J]. 大家健康 (下旬版), 2018, 12 (2): 46.
- [2] 王利梅, 王廷华, 韩雪飞, 等. 不同性别、不同周龄 SD 大鼠血液生化指标的测定及分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018 (21): 214-216, 268-269.
- [3] 欧阳盛武. 浅析血液标本处理方式对生化检验结果的影响 [J]. 实验与检验医学, 2020, 38 (6): 1107-1108, 1132.

(收稿日期: 2021-09-26; 修回日期: 2021-12-26)

2023 年全国职业健康技术服务学术交流大会征文通知

为贯彻执行《中华人民共和国职业病防治法》和国家“健康中国 2030”战略，提高用人单位职业健康管理及职业卫生技术服务机构技术水平，中国卫生监督协会职业健康技术服务专业委员会拟于 2023 年 6 月在云南省腾冲市召开“服务健康企业建设，助力健康中国发展”主题年会，围绕职业卫生技术服务与企业健康管理等问题展开研讨与交流。

1 征文内容 (1) 职业健康相关的法律法规、政策研究、卫生监督；(2) 职业病危害因素检测与评价、建设项目职业病危害评价、职业病防护设施设计、职业病危害因素风险评估等技术；(3) 用人单位职业健康管理、健康企业、健康促进、健康监护实施、职业病危害因素日常监测体系建设；(4) 职业卫生技术服务机构与职业健康检查机构能力建设与提升等。

2 征文要求 投稿书写格式请参考《中国工业医学杂志》，并附 400~800 字摘要，电子版发送至 zykjsw@163.com。征文请注明作者姓名、单位、联系电话和电子邮箱。大会或分会交流的文章将推荐至《中国工业医学杂志》优先发表。

3 征文截止日期 2023 年 5 月 31 日。

4 联系方式 中国卫生监督协会 杨霞，电话：13801125114。

中国卫生监督协会职业健康技术服务专业委员会