



静脉血细胞悬液放置时间对小鼠血常规测定的影响

康爱君 刘君芳 李雨薇 胡建国 王学文 郑振辉

(北京大学医学部实验动物科学部,北京 100191)

摘要:目的 观察静脉血细胞悬液放置时间对小鼠血常规测定的影响。方法 随机选取成年 ICR 小鼠、C57BL/6 J 小鼠各 20 只,采集定量静脉血液加到定量血细胞分析用稀释液中混匀,制成静脉血细胞悬液,于 0 min、15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 在 MEK-6410C 全自动血细胞分析仪上采用微量血测定法测定血常规。结果 ICR 小鼠和 C57BL/6 J 小鼠血常规数据变化趋势基本一致。与 0 min 相比,RBC 在 2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著降低($P<0.01$),PLT 在 4 h、6 h 和 8 h 均显著升高($P<0.01$),PCT 在 2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高($P<0.01$),MPV 在 2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高($P<0.01$),MCV 在 1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著降低($P<0.01$),MCHC 在 30 min、1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高($P<0.01$),MCH 在 1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高($P<0.01$),HCT 在 1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著降低($P<0.01$),WBC、RDW、PDW 和 HGB 无显著变化($P>0.05$)。结论 微量血测定法测定小鼠血常规时,尽可能在制成静脉血细胞悬液后即刻完成。RBC 总数在 1 h 内测定,与 RBC 相关的 HCT 和 MCV 指标测定不宜超过 30 min,PLT 测定在 2 h 完成,与 PLT 相关的 PCT 和 MPV 测定应在 1 h 内,WBC 总数及 HGB 含量较稳定,可在 8 h 内完成。

关键词:小鼠;静脉血细胞悬液;放置时间;血常规检测

中图分类号: R-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2019)05-0026-05

DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2019.05.005

血常规是动物实验过程中衡量动物生理状态、判定及评价疾病动物模型的重要指标之一^[1-2]。应用全自动血细胞分析仪测定血常规时有两种测定方法可供选择:静脉血测定法和微量血测定法。静脉血测定法需要的血量较大,且需要配制抗凝剂或准备抗凝管;微量血测定法需要的血量少,只需将 20 μL 或 10 μL 全血加到定量的血细胞分析用稀释液中制成血细胞悬液上机测定即可。小鼠体型小、血量少,且动物实验过程中大多需要多次采集血液样本,考虑到动物的健康和继续生存的要求,每次的采血量受到限制,这就无法应用静脉血测定法进行检测,只能选择微量血测定法。血常规测定的影响因素多且复杂,其中血液样本放置时间是比较重要的影响因素^[3-6]。关于静脉血(全血)放置时间对血常规指标的影响,在临床诊断以及动物试验中已有相关报道^[7-9]。应用微量血测定时,将微量静脉血加入分析用稀释液制成静脉血细胞悬液的放置时间对小鼠血常规测定的影响还未见报道。检测过程中,我们发现由于动物实验样本量大或动物实验室与检测

室距离较远时会造成送检血样不及时、放置时间过长现象,从而影响检测结果的准确性。因此,本文选择了动物实验中常用的两个小鼠品种(系)ICR 小鼠和 C57BL/6 J 小鼠,旨在观察稀释后的静脉血细胞悬液分别放置 15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 血常规各项指标的变化,为科研人员在动物实验中血常规测定方面提供技术指导。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物为 SPF 级 ICR 小鼠和 C57BL/6 J 小鼠各 20 只,共 40 只,雄性,8 周龄,20~22 g,由北京大学医学部实验动物科学部提供,生产许可证号:SCXK(京)2016-0010。饲养环境为屏障环境,使用许可证号:SYXK(京)2016-0041,温度为 $(24\pm 2)^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 $(50\pm 10)\%$,并按实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀。

1.2 仪器和试剂

MEK-6410C 全自动血细胞分析仪,日本光电工

业株式会社生产。血细胞分析用稀释液和清洗液由上海光电医用电子仪器有限公司生产。

1.3 血常规测定

血常规测定前做好室内质控、空白计数,确保仪器符合检测标准。采集静脉血液 80 μL 加到定量血细胞分析用稀释液中混匀,制成静脉血细胞悬液,密封备用,于 0 min、15 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 在 MEK-6410C 全自动血细胞分析仪上应用微量血测定法测定血常规。包括白细胞总数 (white blood cell count, WBC)、红细胞总数 red blood cell count, RBC)、血小板 (platelet, PLT)、血红蛋白浓度 (hemoglobin, HGB)、红细胞压积 (hematocrit, HCT)、红细胞平均体积 (mean corpuscular volume, MCV)、平均血红蛋白量 (mean corpuscular hemoglobin, MCH)、平均血红蛋白浓度 (mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC)、红细胞分布幅度 (red blood cell distribution width, RDW)、血小板分布幅度 (platelet distribution width, PDW)、平均血小板体积 (mean platelet volume, MPV) 和血小板压积 (thrombocytocrit, PCT)。

1.4 统计方法

采用 SPSS17.0 统计分析软件进行处理,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据间的比较采用 t 检验分析方法, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 ICR 小鼠静脉血细胞悬液放置不同时间血常规各项指标的变化

与 0 min 相比,RBC 在 2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著降低 ($P < 0.01$),PLT 在 4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P < 0.01$),PCT 在 2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P < 0.01$),MPV 在 2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P < 0.01$),MCV 在 4 h 显著降低 ($P < 0.05$)、在 6 h 和 8 h 也均显著降低 ($P < 0.01$),MCHC 在 30 min、1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P < 0.01$),MCH 在 1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P < 0.01$),HCT 在 1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著降低 ($P < 0.01$),WBC、RDW、PDW 和 HGB 无显著变化 ($P > 0.05$),详见表 1。

表 1 ICR 小鼠静脉血细胞悬液放置不同时间血常规各项指标的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of blood routine indexes in venous haematocyte suspension of ICR mice at different time($\bar{x} \pm s$)								
指标	Indexes	0 min		15 min		30 min		1 h
WBC/($10^9/L$)		5.80±	1.59	5.77±	1.62	5.70±	1.59	5.60± 1.46
RDW/%		14.37±	0.91	14.40±	1.01	14.26±	0.98	14.26± 1.01
RBC/($10^{12}/L$)		7.80±	0.55	7.76±	0.52	7.67±	0.54	7.46± 0.53
PLT/($10^9/L$)		397.32±	106.28	430.95±	126.57	428.40±	127.23	415.30± 94.77
PDW/fL		14.23±	0.98	14.05±	0.84	14.37±	1.11	14.85± 0.94
PCT/%		0.21±	0.05	0.22±	0.06	0.22±	0.06	0.22± 0.04
MPV/fL		5.13±	0.14	5.16±	0.15	5.14±	0.14	5.21± 0.15
MCV/fL		54.03±	1.93	53.59±	1.84	53.45±	1.77	53.45± 1.78
MCHC/(g/L)		301.25±	7.17	303.15±	4.58	308.10±	4.59**	317.40± 5.26**
MCH/pg		16.28±	0.64	16.25±	0.72	16.46±	0.64	16.95± 0.67**
HGB/(g/L)		126.80±	7.03	125.85±	6.43	126.00±	6.45	126.30± 6.61
HCT/%		42.11±	2.53	41.52±	2.08	40.91±	2.26	39.83± 2.44**
指标	Indexes	2 h		4 h		6 h		8 h
WBC/($10^9/L$)		5.76±	1.56	6.05±	1.74	6.25±	1.88	6.61± 1.81
RDW/%		14.26±	0.97	14.13±	1.00	14.27±	0.92	14.40± 1.03
RBC/($10^{12}/L$)		7.21±	0.54**	6.77±	0.53**	6.48±	0.50**	6.43± 0.54**
PLT/($10^9/L$)		450.10±	93.97	512.10±	132.58**	545.70±	149.06**	569.10±116.91**
PDW/fL		14.67±	0.67	14.61±	0.71	14.84±	0.67	14.70± 0.58
PCT/%		0.24±	0.05**	0.29±	0.07**	0.33±	0.09**	0.36± 0.07**
MPV/fL		5.42±	0.21**	5.66±	0.15**	5.97±	0.30**	6.30± 0.39**
MCV/fL		53.40±	1.78	52.84±	1.87*	52.67±	1.77**	52.34± 1.83**
MCHC/(g/L)		330.75±	7.50**	355.75±	10.95**	371.80±	11.06**	377.05± 13.66**
MCH/pg		17.68±	0.81**	18.80±	0.92**	19.60±	0.98**	19.74± 0.98**
HGB/(g/L)		127.00±	7.05	126.95±	6.65	126.60±	6.72	126.50± 6.92
HCT/%		38.42±	2.41**	35.73±	2.33**	34.09±	2.16**	33.62± 2.54**

注:与 0 min 比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$
Note: Compare with 0 min, * $P < 0.05$,** $P < 0.01$. 2 C57BL/6 J 小鼠静脉血细胞悬液放置不同时间血常规各项指标的变化

与 0 min 相比,RBC 在 2 h 显著降低 ($P<0.05$)、在 4 h、6 h 和 8 h 也均显著降低 ($P<0.01$),PLT 在 4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P<0.01$),PCT 在 4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P<0.01$),MPV 在 2 h 显著升高 ($P<0.05$)、在 4 h、6 h 和 8 h 也均显著升高 ($P<0.01$),MCV 在 1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著降低 ($P<0.01$),MCHC 在 30 min、1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P<0.01$),MCH 在 2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著升高 ($P<0.01$),HCT 在 1 h、2 h、4 h、6 h 和 8 h 均显著降低 ($P<0.01$),WBC、RDW、PDW 和 HGB 无显著变化 ($P>0.05$),详见表 2。

表 2 C57BL/6 J 小鼠静脉血细胞悬液放置不同时间血常规各项指标的变化 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Changes of blood routine indexes in venous haematocyte suspension of C57BL/6 J mice at different time($\bar{x}\pm s$)					
指标	Indexes	0 min	15 min	30 min	1 h
WBC/(10^9 /L)		7.18± 0.97	7.07± 1.10	6.93± 1.04	6.64± 1.00
RDW/%		15.31± 1.72	15.26± 1.63	15.22± 1.81	15.28± 1.73
RBC/(10^{12} /L)		8.69± 0.26	8.63± 0.28	8.56± 0.28	8.51± 0.26
PLT/(10^9 /L)		328.40±47.47	324.40±43.20	337.40±28.19	330.40±37.35
PDW/fL		13.62± 0.52	13.52± 0.63	13.45± 0.74	13.85± 0.60
PCT/%		0.16± 0.02	0.16± 0.02	0.17± 0.01	0.17± 0.02
MPV/fL		4.93± 0.11	4.90± 0.12	4.95± 0.13	4.98± 0.16
MCV/fL		49.25± 0.75	48.89± 0.71	48.74± 0.76	48.31± 0.66 **
MCHC/(g/L)		293.10± 2.02	297.00± 2.00	299.30± 1.64 **	303.80± 2.15 **
MCH/(pg)		14.45± 0.24	14.51± 0.22	14.60± 0.25	14.67± 0.25
HGB/(g/L)		125.50± 4.62	125.30± 4.37	124.90± 4.38	124.80± 4.76
HCT/%		42.80± 1.46	42.21± 1.46	41.72± 1.54	41.08± 1.37 **
指标	Indexes	2 h	4 h	6 h	8 h
WBC/(10^9 /L)		6.58± 1.00	6.56± 0.93	6.54± 0.90	6.77± 0.98
RDW/%		15.19± 1.62	15.00± 1.75	14.96± 1.63	14.93± 1.76
RBC/(10^{12} /L))		8.34± 0.32 *	8.20± 0.37 **	8.03± 0.34 **	7.89± 0.34 **
PLT/(10^9 /L)		351.20±36.91	411.70±67.65 **	461.50±75.97 **	477.10±65.66 **
PDW/fL		13.75± 0.72	13.51± 0.87	13.27± 0.77	13.16± 0.91
PCT/%		0.18± 0.02	0.22± 0.04 **	0.24± 0.04 **	0.26± 0.04 **
MPV/fL		5.03± 0.12 *	5.30± 0.18 **	5.29± 0.21 **	5.33± 0.26 **
MCV/fL		48.02± 0.58 **	47.59± 0.62 **	47.61± 0.66 **	47.31± 0.72 **
MCHC/(g/L)		311.80± 4.18 **	321.90± 6.52 **	328.60± 8.49 **	336.50± 7.92 **
MCH/pg		14.90± 0.32 **	15.32± 0.44 **	15.64± 0.49 **	15.92± 0.48 **
HGB/(g/L)		124.80± 4.18	125.60± 4.38	125.60± 4.30	125.50± 4.60
HCT/%		40.04± 1.61 **	39.04± 1.76 **	38.25± 1.64 **	37.31± 1.72 **

注:与 0 min 比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

Note: Compare with 0 min, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3 讨论

研究结果表明,应用微量血测定法检测血常规时检测数据会因静脉血细胞悬液放置时间不同而发生改变。变化的原因是血细胞悬液在放置过程中血细胞的代谢反应、水分的蒸发作用、化学反应等多方面的作用^[10]。血样采集人员应安排专业人员尽快将制备好的血细胞悬液送达检验室,尽量缩短运送时间,检验人员收到血细胞悬液后也应及时检测,减少因放置时间过长对血样带来的不利影响,以保证检测结果的准确。

本研究采用微量血测定法测定小鼠血常规。临

床上大都通过皮肤采集末梢血,皮肤采集血液时,虽然能采到血液标本,但经皮肤采集的末梢血容易溶血、凝血,还容易混入组织液,影响检测结果准确性^[11]。另外,有研究证明,血常规检测中静脉血比末梢血检测结果更准确可靠,且静脉血采集较少受人为因素影响^[11-15],所以本研究采血部位选择静脉,取微量静脉血加入血细胞分析用稀释液中制成静脉血细胞悬液密封后放置不同时间备用。

研究结果显示,静脉血细胞悬液放置 2 h 后 RBC 总数显著降低,与之相关的 MCV 和 HCT 在放置 1 h 后显著降低;放置 4 h 后 PLT 显著升高,与之相关的 MPV 和 PCT 在放置 2 h 后显著升高;放置 8 h 后 WBC 总数和 HGB 含量变化不明显。由研究

结果分析,当应用微量血测定法测定血常规时,制备好的静脉血细胞悬液测定 RBC 时需要在 1 h 内完成,测定与 RBC 相关的 MCV 和 HCT 则需在 30 min 内进行;测定 PLT 需在 2 h 内完成,与 PLT 相关的 PCT 和 MPV 需在 1 h 内进行;测定 WBC 总数和 HGB 含量需在 8 h 内完成即可。综上所述,研究人员需根据实验目的所关注的具体指标在一定时间段内完成检测,若同时关注 RBC 总数、WBC 总数、PLT 以及 HGB 含量等主要指标,则需在 1 h 内检测,若主要检测 MCV 和 HCT 两个指标,则需要在 30 min 内完成,这对血液样本采集人员和检测人员都提出了更高的要求,需要事先沟通协调,尽可能减少放置时间对检测数据的影响。

总之,动物实验目的不同,血常规测定指标不同,血细胞悬液可放置时间不同,送检人员应根据所测指标及时送检,同时,检测人员也应该对送检血样及时进行检测,缩短血样放置时间,为血常规检测结果的准确性提供保障。此外,血液采集部位、血样是否溶血、凝血、动物生理状态和生活环境、人员操作是否规范以及仪器校准情况等^[16-19]也都是影响血常规检测结果的重要因素,这些影响因素对动物血常规检测结果的影响我们将继续关注。

参 考 文 献

[1] 李海波.血常规检验中各项指标的意义[J].世界最新医学信息文摘,2016,16(42):110-111+114.

[2] 杨昆,陶丽新,曹凯,等.代谢综合征与相应血常规指标的关联性研究[J].首都医科大学学报,2016,37(2):203-207.

[3] 郑际伦.影响血常规临床检验精准度的相关因素分析[J].临床检验杂志(电子版),2017,6(1):45-47.

[4] 刘晓莉,隋佳,赵龙.探讨关于血常规临床检验的影响因素

[J].中国卫生标准管理,2015,6(24):141-143.

[5] 韩新海.不同检测模式对血常规指标检测结果的影响[J].国际检验医学杂志,2017,38(12):1701-1702.

[6] 王驹,蔡兴权,蔡坤.临床血常规检测误差影响因素分析[J].检验医学与临床,2016,13(2):220-221+224.

[7] 王建华.采集血液标本后不同放置时间对血常规实际检测值影响的研究[J].临床医药文献电子杂志,2016,3(58):11553-11554.

[8] 艾卫军,彭金兰,徐霞.全血标本保存时间和温度对血常规检测结果的影响分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(9):1293-1296.

[9] 王学文,高俊峰,胡建国,等.SD 大鼠静脉血标本放置时间对血常规测定数据的影响[J].实验动物科学,2012,29(1):63-65+68.

[10] 霍美英.血常规常规检查影响因素分析[J].临床合理用药杂志,2017,10(11):157-158.

[11] 吴智刚,李小蓝,李启欣,等.在血常规检验中末梢血和静脉血的应用效果观察[J].临床检验杂志(电子版),2017,6(1):99-100.

[12] 范春松.静脉采血与末梢采血在血常规检验中差异性研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(60):39-40.

[13] 何新民.末梢血与静脉血采血方法在血常规检验中的应用比较[J].当代医学,2016,22(12):43-44.

[14] 孟凡鑫.血液分析仪测定静脉血和末梢血常规结果的差异[J].中国实用医药,2017,12(3):50-52.

[15] 姜学慧.在血常规检验中末梢血和静脉血的应用效果观察[J].中国医药指南,2017,15(24):40-41.

[16] 卫克生.溶血标本对血常规检验各项指标的影响研究[J].基层医学论坛,2016,20(12):1668-1669.

[17] 刘科亮,郑华,高俊,等.2 种取血方式下 SD 大鼠血常规及生化指标变化的探讨[J].预防医学情报杂志,2016,32(4):383-386

[18] 欧阳铁强,王晖,李志东,练有文.不同光照制对 BALB/c 裸小鼠血细胞的影响[J].实验动物科学,2007(1):10-12.

[19] 王秀英.分析影响血常规检测结果的相关因素[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(20):116+118.

Effects of Storage Time on Blood Routine Test of Venous Haematocyte Suspension in Mice

KANG Aijun, LIU Junfang, LI Yuwei, HU Jianguo, WANG Xuewen, ZHENG Zhenhui

(Department of Laboratory Animal Science, Health Science Center, P. K. U. Beijing 100191, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of storage time on blood routine test of venous haematocyte suspension in mice. **Method** Twenty adult ICR mice and 20 C57BL/6 J mice were randomly selected, which were adopted venous blood. Collection each of quantitative venous blood added in diluent which were adequate for quantitative blood cell analytical instrument to be mixed to make venous haematocyte suspensions. Then detected by trace blood determination on 0 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h in the MEK-6410C full-automatic blood cell analyzer. **Result** The change trend of blood routine data in ICR mice and C57BL/6 J mice is basically the same. Compared with 0 min, RBC decreased significantly at 2 h, 4 h, 6 h and 8 h ($P<0.01$), PLT increased significantly at 4 h, 6 h and 8 h ($P<0.01$), PCT increased significantly at 2 h, 4 h, 6 h and 8 h ($P<0.01$), MPV increased significantly at 2 h, 4 h, 6 h and 8 h ($P<0.01$), MCV decreased significantly at 1 h, 2 h, 4 h, 6 h and 8 h ($P<0.01$), MCHC increased significantly at 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h and 8 h ($P<0.01$), MCH increased significantly at 1 h, 2 h, 4 h, 6 h and 8 h ($P<0.01$), HCT decreased significantly at 1 h, 2 h, 4 h, 6 h and 8 h ($P<0.01$) and there were no significant changes in WBC, RDW, PDW and HGB ($P>0.05$). **Conclusion** By trace blood determination, the blood routine test of mice is done as soon as possible after the haematocyte suspension is made. The RBC is better to be measured in 1 h, HCT, MCV related to RBC were tested should not be more than 30 min. The PLT is better to be measured in 2 h, PCT, MPV related to PLT were tested should not be more than 1 h, The data of WBC and the content of HGB are stable and should be completed within 8 h.

Key words: mouse; venous haematocyte suspension; storage time; blood routine test

(上接第 25 页)

[10] Pellicer A, Albert C, Mercader A, *et al.* The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivo studies investigating the role of interleukin-1beta, interleukin-6, and vascular endothelial growth factor [J]. *Fertil Steril*, 1999, **71** (3): 482-489.

[12] ahin N, Apaydin N, Töz E, *et al.* Comparison of the effects of letrozole and cabergoline on vascular permeability, ovarian diameter, ovarian tissue VEGF levels, and blood PEDF levels, in a rat model of ovarian hyperstimulation syndrome [J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2016, **293**(5): 1101-1106.

[11] 刘梅梅, 丁慧, 尹晓静, 等. 多囊卵巢综合征患者血清血管内皮生长因子、内皮抑素水平及对卵巢间质血流的影响研究 [J]. *中国全科医学*, 2017, **20**(4): 448-453.

Establishment of the Rat Model of Ovarian Hyperstimulation Syndrome

MO Yi¹, LIU Chao², CUI Shilong², LI Bing², SU Libo², LI Yunjuan³, WANG Juan³, NAI Donghong³, XIE Ying²

(1. Research Center For Family Planning Of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China)

(2. Hebei Key Lab of Laboratory Animal Science, Department of Laboratory Animal Science, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

(3. Department of Clinical Practice, The Guangxi Zhuang Autonomous Region Health and Family Planning Commission, Nanning 530021, China)

Abstract: Objective To explore and evaluate the method for the establishment of OHSS model in rats, and to provide an ideal model for study of OHSS mechanism and drug screening. **Method** Totally 60 Wistar and SD rats, 3-5 weeks old, were randomly grouped and injected with different doses of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) and human chorionic gonadotropin (hCG) to establish the OHSS model. The model was evaluated by general pathology examination, measurement of viscera index, and concentration of progesterone, estrogen and VEGF in the peripheral blood. **Result** Among the 4 groups, SD rats that are 3 weeks old showed a greater degree of ovarian enlargement, vascular permeability enhancement, serum VEGF level increasement and other OHSS typical changes. It's more suitable for the establishment of OHSS rat model. **Conclusion** A more suitable model was obtained and can lay the foundation for further study of OHSS mechanism and drugs screening.

Key words: Rat; Ovarian hyperstimulation syndrome; animal model