

图书在版编目(CIP)数据

机能实验操作教程/赵继英,王莉主编. —北京:中国协和医科大学出版社, 2014. 8

二十一世纪创新立体化医学教材

ISBN 978-7-5679-0131-5

I. ①机… II. ①赵…②王… III. ①实验医学—教材 IV. ①R-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 161655 号

二十一世纪创新立体化医学教材

机能实验操作教程

主 编 赵继英 王 莉

责任编辑 邓明俊 方 琳

出版发行 中国协和医科大学出版社

社 址 北京东单三条 9 号

网 址 www.pumcp.com

印 刷 成都市海翔印务有限公司

开 本 1/16 787×1092

印 张 8.75

字 数 160 千字

版 次 2014 年 08 月第 1 版

印 次 2014 年 08 月第 1 次

书 号 ISBN 978-7-5679-0131-5/R·33

定 价 32.00 元

目 录

第一章 绪论	1
第一节 机能实验学概述	1
第二节 实验报告的书写	3
第三节 实验室规章制度	4
第二章 实验动物	5
第一节 实验动物的作用与意义	5
第二节 常用医学动物的种类与选择	5
第三节 实验动物的品系	7
第四节 实验动物的选择原则及健康状态判断	8
第三章 实验动物的基本操作技术	10
第一节 实验动物的编号、捉拿与固定	10
第二节 实验动物的给药方法	12
第三节 实验动物的麻醉方法	15
第四节 实验动物的取血与处死方法	19
第五节 急性动物实验的基本操作技术	20
第六节 急救措施	28
第四章 机能实验常用仪器	30
第一节 计算机在机能学实验中的应用	30
第二节 MedLab 生物信号采集处理系统	31
第三节 换能器	35
第四节 721 分光光度计	37
第五节 电刺激器具	38
第五章 机能实验学实验项目	40
第一部分 基础实验	40
第二部分 综合实验	83
第三部分 人体机能实验	99

第六章 实验设计	104
第一节 实验设计的基本程序	104
第二节 实验设计的三大要素	107
第三节 实验设计的三大原则	111
第四节 医学科研论文的撰写	119
第七章 处方和临床用药分析	124
第一节 处方	124
第二节 临床用药分析	125

第一章 绪 论

第一节 机能实验学概述

一、机能实验学的特点

生理学、药理学和病理生理学属于医学机能学科。其理论来源于科学的实验，通过对动物体不同水平（如整体、系统、器官、组织、细胞、分子水平）的实验观察，科学分析实验数据，从而认识生命活动的规律，探讨其发生机制，掌握药物治疗的原理。因此，实验教学在基础医学教学中占有十分重要的地位。

机能实验是在学生已学习的生理学、药理学和病理生理学理论的基础上，对三门学科的常规实验，删除了一些不必要的、重复的、简单的验证性实验，以强化基本技能训练、培养综合观察、比较和分析客观事物的科学思维方法、独立解决问题的能力为主线，新编排的一门课程。

机能实验可分为动物实验和临床实验两类。临床实验以人体为实验对象，只适合做一些不损害人体健康、不增加痛苦、不损污人格的实验项目。动物实验有急性实验和慢性实验之分，慢性实验是以完整健康并清醒的机体为对象，在与外界环境尽量保持一致的条件下，对某一项功能进行较长时间的系统观察和综合研究。如：通过唾液瘘管术研究唾液分泌规律；肾上腺切除术研究肾上腺功能等。但因为实验时间长、对实验结果的影响因素复杂、教学学时等种种条件限制，所以教学实验主要进行急性动物实验。

急性动物实验分为离体器官（组织）实验法和活体解剖实验法。离体器官（组织）实验法是从动物体上取出要研究的器官或组织，置于近乎生理状态的环境中进行实验和观察。活体解剖实验法是动物在麻醉（或去大脑）的状态下，对手术暴露欲观察的器官或组织进行实验和观察。急性动物实验无需无菌操作，实验条件可以人工控制，要观察的现象可重复验证，对机制可进行一定的分析。但因为实验对象并非自然状态，以及观察时间短等原因，实验结果有一定的局限性。

二、机能实验的学习目的

机能实验的主要目的在于通过实验培养学生科学思维方法和科学的工作态度；逐步提高学生综合观察、比较和分析客观事物的能力，以及基本技能训练，独立解决问题的能力。要求做到：

（一）了解和初步掌握机能实验的基本方法和技能；学会观察、记录、分析实验结果及书写实验报告的基本方法。

(二) 通过实验技术的技能训练和对实验结果的分析综合,提高独立思考和独立工作能力,为后续学科的学习和科学研究打下一定的基础。

(三) 验证和巩固部分课堂讲授的理论知识,培养学生理论联系实际的能力。

(四) 了解获得实验资料一致性和可靠性的一些基本原则,培养学生严肃的科学态度、严谨的科学作风和严密的科学思维方法。

三、生理学实验课的要求

提高实验课的教学质量,需教师和学生共同努力。因此,实验课的要求包括对教师和学生两个方面。

(一) 实验前

1. 生理学实验是在生命机体上进行的,易受各方面因素的制约和影响。实验前进行集体备课是保证实验顺利完成的基本条件。集体备课应在主管教师的统一指导下进行,负责实验的人员(包括教师、研究生、实验技术人员)全部参加。在备课中,明确实验的目的要求,统一实验的方法步骤,规定实验的项目和内容,并要求教师熟练掌握。

2. 学生必须仔细预习实验指导,了解实验的目的要求、基本原理以及简要的操作步骤。实验课开始后,教师如发现学生未预习,应令其停止实验,待预习后再进行。

3. 学生应复习有关理论,以便提高实验过程中的主动性和效率,并进一步巩固有关理论知识。

(二) 实验过程中

1. 教师应严格要求学生对必须掌握的基本操作技术应持有一丝不苟的态度,培养学生的科学素养和分析问题、解决问题的能力。

2. 学生应认真、仔细地进行各项操作,观察实验中出现的各种现象,如实地加以记录,并对引起各种生理现象的原因、意义进行分析与思考。

3. 实验器材要放置整齐,布局合理,便于操作。要保持实验室清洁卫生,随时清除污物。实验桌上不得放置与实验无关的物品。

4. 爱护仪器与实验动物,注意节约各种实验材料。公用物品在使用完毕后应放回原处,以免影响别人使用。

5. 保持实验室安静,不得嬉笑与高声谈话,以免影响别人实验。

6. 遵守实验室规则,注意实验小组内的团结、配合与分工协作。

(三) 实验后

1. 学生应将实验用具整理就绪,放回原处。所用手术器械必须擦洗干净。实验用具如有损坏或缺少,应即报告指导教师。做好实验室的清洁卫生工作。

2. 妥善处理实验动物,如实验结束后动物尚未死亡,应在教师指导下处死,而后放于指定地点。

3. 整理实验记录,认真书写、及时交实验报告。

4. 教师应认真批改实验报告。如发现不符合要求的实验报告,应指明问题,退回重写。

第二节 实验报告的书写

书写实验报告是为了培养学生独立学习和思考的能力，分析和解决问题的能力以及综合运用知识的能力。

一、实验报告的书写格式

机能实验报告

姓名_____ 学号_____ 班组_____ 实验室号_____ 日期_____

实验题目

实验目的

实验对象

实验方法和步骤

实验结果

分析和讨论

结论

二、书写实验报告的一般要求

(一) 实验方法和步骤

实验方法和步骤可作扼要描述，仅描述实验的主要内容，避免繁琐地罗列实验过程。

(二) 实验结果

实验结果是实验报告的重要部分，应将实验过程中观察和记录到的生理效应如实地、正确地记述和说明。结果部分常需用实验记录，这就需要将实验记录进行合理地加工与剪贴，并加图号、图注及必要的文字说明。不得将原始记录原封不动地附在报告上。凡属定量的测量资料，如快慢、轻重、长短、多少等，均应严谨地以正确的单位和数值写在报告上。为了保证实验的可靠性，有些实验结果需要作统计学处理，求出均数、标准差以及显著性检验。一般实验结果的表达方式有三种：

1. 叙述式 用文字将观察到的、与实验目的有关的现象客观地进行描述。描述时需要遵循时间顺序。
2. 表格式 能较为清楚地反映观察内容，有利于进行对比。
3. 简图式 将实验中记录的曲线图取其不同的时相点剪贴或自己绘制简图，并附以图注、标号及必要的文字说明。

优秀的实验报告与论文中，常三者并用，从而得到最佳效果。

(三) 分析和讨论

分析和讨论是根据已知的理论知识对结果进行解释和分析，或对规律性的结果总结上升为理论。分析和讨论是实验报告的核心部分，可以帮助学生提高独立思考和归纳问题的能力。分析和讨论时，应根据客观的结果提出有创造性的见解和认识，切忌盲目抄书，更不应抄袭别人的劳动成果。在分析和讨论时，对参考文献书刊应注

明出处。

(四) 结论

结论是从实验结果和分析讨论中归纳出的一般性的概括性判断，也就是该实验所验证的基本概念、原则或理论的简明总结。下结论时，应当用最精辟的语言进行高度概括，力求简明扼要，一目了然。结论中不要罗列具体结果，也不要将未得到充分证据的理论分析写入结论。

第三节 实验室规章制度

1. 遵守学习纪律，准时到达实验室，因故缺席或早退应向教师请假。
2. 严肃认真进行实验，培养严谨的科学态度。实验期间不得进行与实验无关的活动。
3. 保持实验室安静，严禁喧哗，以免影响他人实验。养成良好的工作作风。
4. 爱护实验仪器及器材。实验开始前应认真检查器材，如有缺损及时报告指导教师。实验中应严格按操作规程使用仪器，各组专用器材不得串用，以免弄混；实验中如仪器出现故障，及时报告指导教师，严禁自行拆卸、乱修。实验后应将实验器材、用品清点，擦净，放整齐。
5. 珍惜实验动物和标本；节省实验器材和药剂。
6. 保持实验室内清洁整齐，不必要的物品不得带入实验室。实验课结束，清扫实验室卫生。

第二章 实验动物

第一节 实验动物的作用与意义

实验动物是一种遗传限定动物，是根据科学研究需要在实验室条件下有目的、有计划进行人工驯养、繁殖和科学培育获得的动物。实验动物来源于野生动物或家畜家禽，又不同于野生动物或家畜家禽，既具有野生动物的共性，同时又有生物特性明确、遗传背景清楚、表型均一、对刺激敏感性和反应性一致的特点。这些自身特点有利于仅用于少量动物就能获得精确、可靠的动物实验结果，并具有良好的可重复性，因而广泛用于生物学、医学及药学科研究与教学。

实验动物对生物学、医学和药学方面研究的作用，有学者归纳为 3 个方面：①现代科学技术的重要组成部分；②生命科学研究的基础和必备条件；③衡量一个国家或一个科研单位科研水平高低的一个重要标志。

实验动物能复制多种疾病的模型。由于人类各种疾病的发生、发展十分复杂，并且以人为实验对象在道义上和方法学上往往受到各种限制。所以要揭示疾病发生、发展的规律，不可能完全在人身上进行实验。人类的疾病均可利用现代医学实验技术、通过实验动物，准确地复制和模拟出相应的人类疾病模型，模拟人类疾病过程，观察药物及其他各种因素对生物体机能、形态及遗传学的影响。既方便、有效、可比性高，又易于管理和操作。利用实验动物进行各类医学实验研究，对提高人类健康状态和生存质量有着积极的作用。有人统计，在生物医学领域 60% 的研究课题需要借助于实验动物。因此，实验动物在医学基础研究、药物研究及疾病发生与防治等研究领域，均具有十分重要的意义。

机能实验学多以实验动物为对象，通过观察实验动物的基本生理生化反应及病理生理反应，分析干扰因素的影响及药物作用与效应，学习和验证其基本规律。合理而正确地选择和使用实验动物，是顺利完成实验并获得真实可靠实验结果的保证。

第二节 常用医学动物的种类与选择

在机能学实验中，根据实验目的和要求选用不同的动物。常用的动物有蛙、小白鼠、大白鼠、豚鼠、家兔、猫、犬等。选择动物的根据是：①尽量选用与人类各方面机能相近的实验动物；②选用标准化实验动物，即遗传背景明确、饲养环境与动物体内微生物得以控制、符合一定标准的实验动物；③选择解剖生理特点符合实验目的要求的实验动物；④根据不同实验研究的特殊需要，选用不同种系敏感实验动物；⑤符

合精简节约、易得之原则。

实验用动物的特点分述如下：

（一）青蛙和蟾蜍

青蛙或蟾蜍属两栖纲、无尾目动物。其心脏在离体的情况下能有节律的跳动，因此常用于药物对心脏影响的实验。其坐骨神经腓肠标本可有来观察药物对周围神经、横纹肌或神经肌接头的作用。蛙舌及肠系膜是观察炎症反应和微循环变化的良好标本。

（二）小白鼠

小白鼠属哺乳纲，啮齿目，鼠科类动物。有繁殖周期短、温顺易得、体型小，易于饲养等特点。主要适用于动物需要量大的实验，如药物的筛选、半数致死量的测定和安全性实验、药物的效价比较及抗癌药的研究等。小白鼠也适用于避孕药实验。

（三）大白鼠

大白鼠属哺乳纲、啮齿目、鼠科类动物。具有抗病能力强、繁殖快、喜啃咬、性情凶猛、心血管反应敏感等特征。大白鼠常用于药物的抗炎作用、药物对心血管功能影响的实验及胆管和中枢神经系统实验，还可用于观察药物的亚急性和慢性毒性。常用品种有 Sprague—Dawley 大白鼠、Wistar 大白鼠。

（四）豚鼠

豚鼠属哺乳纲、啮齿目、豚鼠科动物，又名荷兰猪。习性温顺喜群居，嗅觉、听觉发达。因豚鼠对组胺敏感，并易于致敏，常被用于抗过敏药试验，如平喘药和抗组胺药实验，也常用于离体心脏、子宫及肠管的实验。又因为其对结核菌敏感，常用于抗核病药的实验治疗研究。

（五）家兔

家兔属哺乳纲、啮齿目、兔科、草食类单胃动物。具有性情温顺、胆小等特点。家兔易得到且易驯服，便于静脉注射和灌胃，在机能学实验中应用广泛，常用作直接记录血压、呼吸，观察药物对心血管功能的影响，用于中枢兴奋药、利尿药的实验。也用于药物对离体肠道平滑肌、子宫平滑肌影响的实验及药物中毒和解毒，药物刺激性实验。由于家兔体温变化较灵敏，也常用于体温实验和热原检测。还适用于避孕药实验。常用品种有新西兰家兔、日本大耳白兔等。

（六）猫

猫属哺乳纲、食肉目、猫科动物。猫的血压比较稳定，故监测血压反应猫比家兔好，常用于心血管药和镇咳药的实验。

（七）犬

犬属哺乳纲、食肉目、犬科动物。具有喜近人，嗅、视、听觉极佳的特点。其消化系统，循环系统、神经系统均发达，且与人类极为相似。犬是记录血压、呼吸最常用的大动物，适用于降压药、升压药、抗休克药的实验。犬还可以通过训练使它顺从，适用于慢性实验。如用手术做成胃瘘、肠瘘，以观察药物对胃肠蠕动和分泌的影响，慢性毒性试验也常采用犬。常用品种有杂种犬、比格犬等。

同一类实验可选不同的动物，如离体肠管和子宫试验可选用家兔、豚鼠、小白鼠和大白鼠；离体血管试验常选用蛙的下肢血管和家兔耳血管，也可选用大白鼠后肢血管及家兔主动脉；离体心脏实验选用蛙、家兔，也可选用豚鼠；在体心脏试验，可选

用蛙、家兔、豚鼠、猫和犬。

第三节 实验动物的品系

实验动物学是近几十年才发展起来的一门学科。实验动物品系的分类命名有以下几种方法。

一、按遗传学特征分类

(一) 近交系

一般是指采用 20 代以上全同胞兄弟姊妹或亲子（子女与年轻的父母）进行交配，而培养出来的遗传基因纯化的品系。因全同胞兄弟姊妹交配较为方便而多被采用。品系内个体间差异很小，一般用近交系数（F）代表纯化程度，全同胞兄弟姊妹近交一代可使异质基因（杂合度）减少 19%，即可使纯化程度增加 19%。全同胞兄弟或亲子交配前 20 代纯合度的理论值可达 $F=98.6\%$ 。然而纯与不纯还要用许多检测遗传学纯度的方法加以鉴定。人们常用“纯种”称呼近交系。

到 1980 年为止，近交系小白鼠已有 250 个品系。小白鼠、大白鼠等实验动物近交系的育成大大促进了医学实验研究的发展。

(二) 突变品系

在育种过程中，由于单个基因的突变，或将某个基因导入，或通过多次回交“留种”，而建立一个同类突变品系，此类个体中有同样遗传缺陷或病态表现，如侏儒、无毛、肥胖症、肌萎缩、白内障、视网膜退化等。现已培育成的具有某些疾病的突变品系有：贫血鼠、肿瘤鼠、白血病鼠、糖尿病鼠、高血压鼠和裸鼠（无胸腺无毛）等。这些动物的大量应用对于相应疾病的防治研究具有重要的价值。

(三) 杂交一代

由两个近交系杂交产生的子一代称为杂交一代。它既有近交系动物的特点，又获得了杂交优势。杂交一代具有旺盛的生命力、繁殖率高、生长快、体质壮、抗病力强等优点。它与近交系动物有同样的实验效果。杂交一代又称为系统杂交性动物。

(四) 封闭群

在同一血缘品系中，不以近交方式而进行的随机交配繁衍，经五年以上育成的相对维持同一血缘关系的种群。我国已大量繁殖封闭群新西兰白兔和封闭群青紫蓝兔，可用于教学、科研实验。

(五) 非纯系

一般指任意交配繁殖的杂种动物。杂种动物具有旺盛的生命力，适应性强，繁殖率高，生长快，易于饲养管理。但个体差异大，反应性及实验结果的重复性差，适用于筛选性实验。杂种动物比较经济，在教学实验中最常用。

二、按微生物学特征分类

(一) 无菌动物

无菌动物是指体表体内，包括皮肤、皮毛和消化系统、呼吸系统、泌尿系统、生

殖系统、血液系统以及脑内循环系统等，任何部位都检测不出微生物及寄生虫的实验动物。这种动物系在无菌条件下剖腹取出，又饲养在无菌、恒温、恒湿的条件下，食品饮料等全部无菌。

（二）指定菌动物

指定菌动物是人工将一种或几种已知菌给予无菌动物，使之带有已知的某种细菌。

（三）无特殊病原体动物

这种动物带有已知的非病原微生物。

以上三种动物因其繁殖饲养条件复杂，价格昂贵，故不适用于教学。但对某些生物医学具有重要意义。

（四）带菌动物

带菌动物即在一般自然环境中饲养的普通动物，其体表内带有多种微生物，甚至带有病原微生物。因价格低，故教学实验中常用之。

第四节 实验动物的选择原则及健康状态判断

一、实验动物的选择原则

在基础医学研究工作中，选择合适的动物是一门学问，也是一个关键的问题。一般情况下，当确立实验目标和方案后，另一个重要的工作就是如何选择动物，选择哪一类动物。除了要熟悉、了解上述内容外，还要掌握以下原则：

（一）一般原则

1. 年龄体重相当 幼龄动物对药物比较敏感，老龄动物代谢缓慢，生理功能低下，一般机能实验均应采用成年动物。常用动物成年时的体重为：小鼠 18~28 g，大鼠 180~280 g，家兔 2~3 kg。同一实验的动物应当年龄一致，体重相近，相差小于 10%。

2. 雌雄动物各半 不同性别动物对药物的敏感性有一定差异，雌鼠对药物的敏感性稍大于雄鼠。如无特殊要求，一般实验宜选雌雄动物各 50%。

3. 健康状况良好 体弱有病的动物对各种刺激耐受性小，实验结果不稳定。饥饿、寒冷与炎热等环境条件也会影响动物的生理变化；怀孕期与哺乳期的动物对外界刺激的反应常常有变化，在一般实验研究中应鉴别剔除。

4. 注意生物节律 动物机体的反应性有节律性变化。体温、血糖、基础代谢率和激素分泌等也有昼夜节律性变化。

（二）常用实验动物的特点

1. 蟾蜍和蛙它们的离体心脏能较持久地、有节律地搏动，常用于药物对心脏作用的实验；坐骨神经腓肠肌标本可用于引导动作电位或观察骨骼肌的收缩变化。

2. 小鼠适用于需要大量动物的实验，如筛选药物、半数致死量等，但不同品系的小鼠对同一刺激的反应性差异较大。

3. 大鼠与小鼠相似，但大鼠的实验动物模型较稳定。另外，一些在小鼠身上不便进行的实验可选用体形较大的大鼠。如用于胃酸分泌、胃排空、水肿、炎症、休克等研究。

4. 家兔常用于药物或其他条件对心脏、血压、呼吸的影响及有机磷农药中毒和解救的实验。

5. 豚鼠性情温顺，因其对组胺敏感，并易于致敏，故常选用于抗过敏药如平喘药和抗组胺药的实验。又因它对结核菌敏感，故也常用于抗结核病药的治疗研究。也常用于离体心房、心脏实验和钾代谢障碍、酸碱平衡紊乱的研究。

（三）与人类疾病的相关性

不同动物对同一疾病的刺激具有不同的反应程度，比如在进行过敏反应或变态反应实验时，应首选豚鼠，而其他动物的排列序列应是家兔、犬、小鼠、猫、青蛙。又如，确定进行致热原物质的实验研究时，应首选家兔，而不应考虑其他动物。另外，大鼠、犬、家兔常用于高血压的研究，小鼠则宜进行各类肿瘤的实验研究。这是由于不同种类动物的生理特性均与人类的某些生理特性较为相似或基本一致，因此对人类疾病的表达形式也有一定的相关性。

（四）对人类疾病表达的稳定性

实验动物对人类疾病的表达，除了会受到动物自身的生理特性的影响外，还有一个重要的影响因素就是动物实验前体内条件的变化，如动物是否处在饥饿、睡眠不足、发情、怀孕、患有疾病等状态，是否有性别差别和年龄差别。另外，实验室工作环境中光线、温度、湿度等诸多因素的变化，也会相应影响实验结果。所以，在进行实验前，应做到：（1）饲养管理人员在严格控制饲养条件的前提下，不合格动物严禁外售使用；（2）实验的组织者也必须对一些情况做出判断，要从实验条件、方法、试剂等诸多因素中，分析因果关系，确定方法是否得当和关键技术运用是否精确。当排除实验条件不准确、不标准、不统一、不一致等诸多因素后，如果同一类别、同一类型的动物不能稳定地表达出某一种疾病的特征，或出现时有时无的表达，就应该立即终止实验，重新选择合适的实验动物。

二、实验动物健康状态的判断标准

掌握判断实验动物是否处于健康状态的方法，是实验得以成功的基本保障之一。初学者应掌握如下原则：

1. 一般情况 动物发育良好，眼睛有神，反应灵活，运动自如，食欲良好，眼球结膜无充血，瞳孔等浑圆清晰，鼻黏膜处无分泌物。无鼻翼扇动、打喷嚏、抓耳挠腮等情况。

2. 皮毛颜色 动物的皮毛清洁、柔软、有光泽，无脱毛、蓬乱和真菌感染的现象。

3. 腹部呼吸 动物腹部呼吸均匀，腹部无膨大隆起的现象。

4. 外生殖器 动物外生殖器无损伤、无脓痂、无异味黏性分泌物。

5. 爪趾特征 动物无咬伤、无溃疡、无结痂等。

第三章 实验动物的基本操作技术

第一节 实验动物的编号、捉拿与固定

一、实验动物的编号

较大动物如兔、猫、狗等，可用号码牌挂在动物颈部，或将特制的铝质标牌固定在耳壳上。小鼠、大白鼠及豚鼠一般用3%~5%苦味酸溶液涂于体表不同部位的毛上。原则是：先左后右，从上到下，从前到后。例如1号—左前肢，2号—左腹部，3号—左后肢，4号—头部，5号—背部，6号—尾部，7号—右前肢，8号—右腹部，9号—右后肢，10号—空白等（图3-1）。

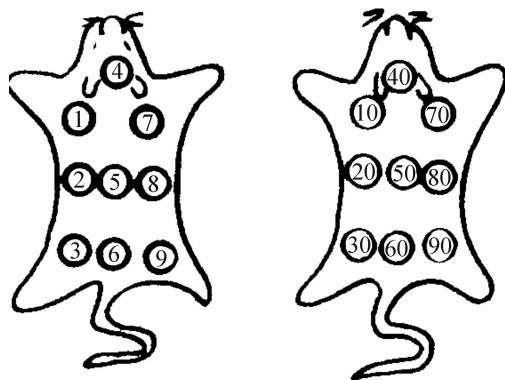


图 3-1 小白鼠的编号

二、实验动物的捉拿与固定

（一）小鼠

用右手提起小鼠尾部，放在实验台上，当其向前爬行时，左手抓住两耳及头颈部皮肤，再置小鼠于左手心，拉直四肢并用手指夹住肢体固定。右手可行注射或其他操作（图3-2）。

（二）大鼠

右手轻轻抓住大鼠尾部向后轻拉，左手抓紧鼠两耳及头颈部皮肤，并将其固定在左手中，右手可行注射或其他操作（图3-3）。

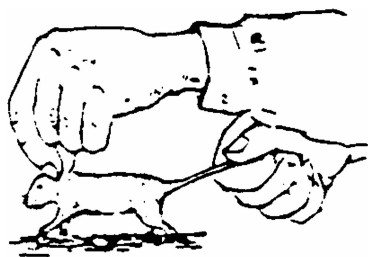


图 3-2 小鼠抓取方法

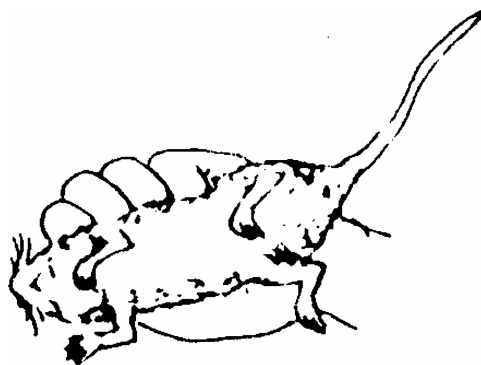


图 3-3 大鼠抓取方法

(三) 兔

正确的抓取兔的方法（图 3-4B）。

固定兔的方法依实验需要而定。分兔台固定、马蹄铁固定和立体定位仪固定等。图 3-5 为兔台固定，将兔仰卧，四肢用粗线绳一端缚扎于前后肢的踝关节以上部位，两前肢线绳在背后交叉穿过，分别固定在兔台两侧；两后肢左右分开，固定在兔台尾端。兔头可用特制的兔头夹固定。



图 3-4 兔抓取方法

A. 错误的抓取方法；B. 抓取的抓取方法

进行头颅部实验时，常用马蹄铁或立体定位仪进行固定。图 3-5 为马蹄铁固定法，先剪去两侧眼眶下部的一小块皮毛，将马蹄铁两侧的尖头金属棒嵌在小孔中，左右对

称旋紧固定金属棒的螺丝；前端中间的金属棒尖端嵌在两上门齿的齿缝之间，旋紧固定金属棒的螺丝。此时兔头被三点固定法牢固的固定在马蹄铁上，若想使头部上仰或下俯，可上下调节前端中间的金属棒。

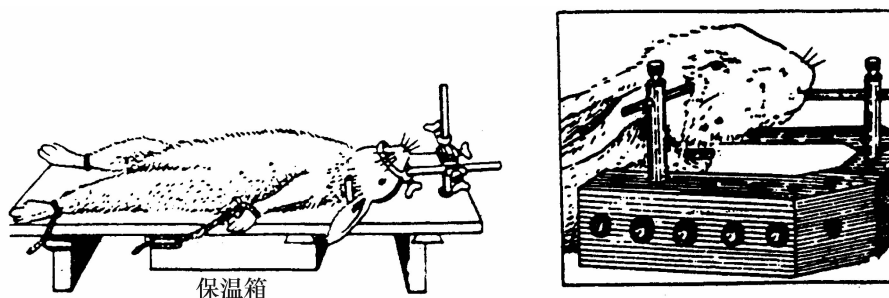


图 3-5 兔台固定法、马蹄铁固定法

(四) 蟾蜍

一般左手抓蟾蜍。将蟾蜍后肢拉直，前肢置于腹部握于掌内，示指压在头前部（图 3-6）。

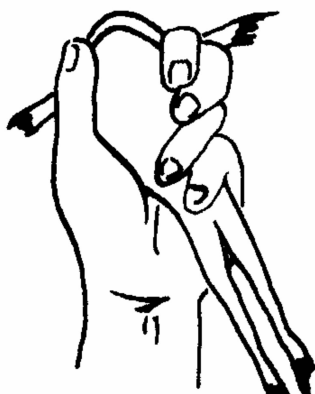


图 3-6 蟾蜍的捉拿方法

第二节 实验动物的给药方法

一、注射法

(一) 静脉注射

静脉注射时，首先应将注射部位的毛去除，手指轻弹血管及压迫静脉近心端阻断血流使静脉充盈，除了以正确的注射方法进行静脉穿刺外，还应注意以下事项：①在注射前须将注射器内的空气排出，以免将空气注入静脉内形成气栓。②注射器的刻度面应朝上，以便读数。针尖的斜面应朝上，便于刺入。③注射速度应尽量慢而均匀，否则易导致动物死亡。④应先选用静脉远端注射，逐次移向近端，以多保留完好静脉作重复穿刺用。

1. 兔耳缘静脉注射 兔的常用静脉注射部位为耳缘静脉（图 3-7）。注射前先拔掉耳背面外缘部位的毛，用水湿润局部，手指轻弹血管使静脉充盈（助手压迫静脉近心端充盈更佳）。一手拇指和无名指固定兔耳远端，另一手持注射器于静脉远心端（尽量在静脉末端进针，以备重复穿刺）刺入皮下，而后针尖沿血管走向刺入静脉。因兔耳缘静脉比较细，不一定有回血。然后，固定兔耳的手将针尖固定在兔耳上，缓缓推注药物入静脉。如手感推注困难，或发现注射部位局部肿胀、变白，则说明针尖没有刺入静脉，药液注在皮下，此时，应将针尖拔出并重新注射。注射完毕后，拔出针头，压迫止血 1~2 分钟。

2. 小鼠尾静脉注射 将小鼠固定（可置于固定筒内，鼠尾外露），用酒精或二甲苯棉球涂擦尾部，或将鼠尾在 50℃ 热水中浸泡半分钟，使其血管扩张。一手拉住尾尖，选择一条扩张最明显的静脉，一手持注射器，将针头刺入血管，推入药液。如推注时手感有阻力，且局部变白表明针头没有刺入血管，应拔针后重新刺入。

（二）腹腔注射

进行兔、猫、狗大动物腹腔注射时，可使动物仰卧，在腹部后 1/3 处略靠外侧，针头垂直刺入腹腔，回抽注射器无回血、无尿液、无消化道内容物时，即可将药物推入腹腔。进行大鼠、小鼠等小动物腹腔注射时，可用手抓取并固定动物后，注射器从腹部向头方向刺入腹腔，回抽注射器无回血、无尿液、无消化道内容物时，再将药物推入腹腔（图 3-8）。

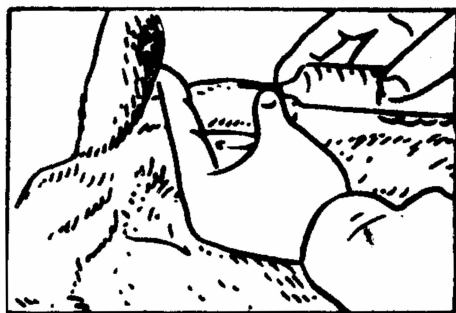


图 3-7 兔耳静脉注射法

（三）皮下注射

皮下注射的常选部位为背部皮下。小鼠皮下注射可由两人合作，一人左手抓住小鼠头部皮肤，右手拉住鼠尾；另一人左手捏起背部皮肤，右手持注射器，将针头刺入背部皮下。如果一人操作，可将小鼠置于铁丝网上，左手抓小鼠，以拇指和示指捏起背部皮肤，右手持注射器刺入背部皮下。大动物皮下注射时需固定。为避免药液外溢，进针和退针要快。

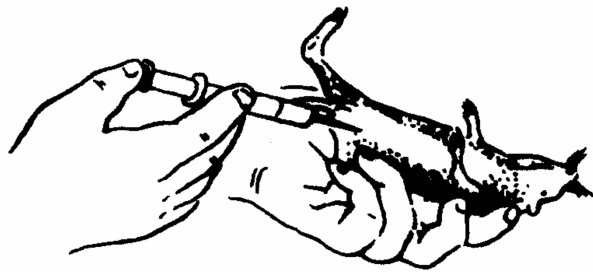


图 3-8 小鼠腹腔注射法

(四) 蟾蜍淋巴囊注射

蟾蜍淋巴囊有数个(图 3-9)，注入药物易吸收。一般注射部位为胸、腹或股淋巴囊。由于其皮肤很薄缺乏弹性，注射后药物易从针孔溢出，所以胸部淋巴囊注射时应将针头插入口腔，由口腔底部穿过下颌肌层进入淋巴囊，将药物注入。

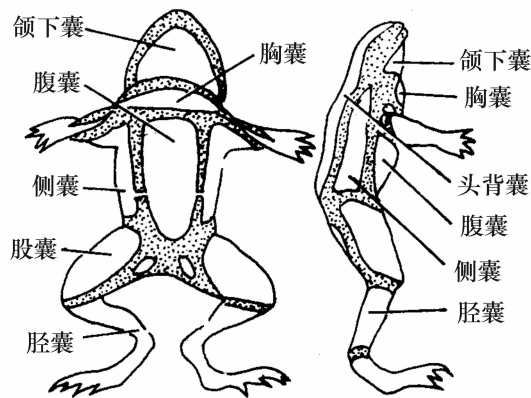


图 3-9 蟾蜍淋巴囊分布

二、灌胃法

(一) 小鼠灌胃法

以左手捉拿小鼠，使腹部朝上，颈部拉直。右手持配有灌胃针头的注射器，自口角处插入口腔，再从舌面紧沿上腭进入食管。如手法正确，不难成功；若遇阻力，应退出后再插。不能用强力猛插，以免刺破食管或灌入气管，造成动物死亡(图 3-10A)。

(二) 家兔灌胃法

需两个人合作进行。一人取坐位，用两腿夹持兔身，左手握住家兔双耳，右手抓住两前肢；另一人将木制开口器横插兔口内，压住舌头并固定之。取 10 号导尿管从开口器中部小孔插入食管。插管时易误入气管，区别方法主要是谨慎观察插管后动物的反应，插入气管时可引起剧烈挣扎和呼吸困难；也可将导尿管的外端浸入水中，观察有无气泡，有气泡表明插入气管。当判明导尿管确在食管内，取注射器接在导尿管上，将药物缓慢推入，再推注少量空气，使导尿管中不致有药液残留，慢慢拔出导尿管，取出开口器(图 3-10B)。

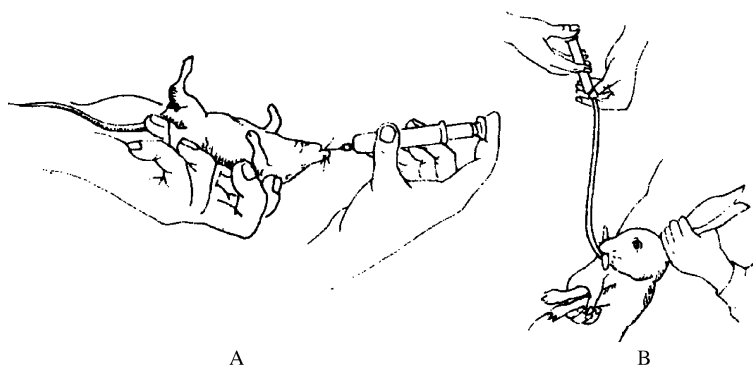


图 3-10 灌胃法图示

A. 小鼠灌胃法; B. 家兔灌胃法

第三节 实验动物的麻醉方法

一、实验动物的麻醉

麻醉的目的是为了在实验或手术过程中减少动物的疼痛,保持其安静。麻醉药的种类繁多,作用原理不尽相同,应用时需根据动物的种类以及实验或手术的性质,慎重选择。

(一) 麻醉方式

1. 注射麻醉

(1) 静脉注射:是全身麻醉的一种常用方法,也是常用的给药方法。安装注射器时,针头缺口与注射器刻度在同一个方向上,这样当针头刺入静脉血管时,其缺口与注射器刻度都朝上以利于注射药液顺利进入血管,也便于观察注射剂量与速度。静脉注射没有明显的兴奋期,几乎立即生效,容易控制麻醉深度,掌握用药剂量。但也要注意抽取药液后应排净注射器内的空气,以免将空气注入血管引起栓塞;注入药物的速度一般要慢;为避免发生麻醉意外(呼吸暂停,心脏停跳,甚至死亡),可先缓慢注入药物总剂量的 $\frac{4}{5}$,剩下的 $\frac{1}{5}$ 根据麻醉深度决定是否应该继续注入。注射部位因动物种类而异:

1) 大白鼠和小白鼠:可取尾静脉注射。鼠尾背腹侧及两侧共有四根血管,腹侧为动脉,其余为静脉。注射时,宜先用鼠固定器固定鼠体,让鼠尾露出。宜选用 4~5 号针头,选择最粗的一根血管刺入。

2) 家兔:常取耳缘静脉为注射部位。耳缘静脉沿耳背内侧行走。首先剪毛,使血管显现,然后用左手中指和示指夹住兔耳根部,拇指和无名指捏住耳尖,右手持注射器,针头与血管成 20° 角,从耳尖部进针。兔耳皮肤薄,耳缘静脉表浅,因此进针不能太深,以免刺破血管,当见到有血液反流入注射器内,表示穿刺成功,此时用左手拇指按压住针头,固定之,右手将药液缓慢推入。

3) 狗:通常注射部位有两个,一是后肢外侧的小隐静脉,该静脉在胫腓骨远端自前向后行走;一是前肢内侧的头静脉,其口径比小隐静脉粗,都位于皮下。注射时,

先用狗头夹固定头部以防咬人，然后剪毛。用胶皮带捆绑近心端，使静脉充盈，将注射针头刺入血管，回抽有血时，松带，即可注入麻醉药。

(2) 腹腔注射：与静脉注射相比，腹腔注射操作简便易行。狗、兔等较大动物腹腔内注射时可由助手固定动物，使腹部朝上，然后在后腹部外侧约 $1/3$ 处进针，回抽，判断针头确在腹腔内，即可注入药物。大、小白鼠腹腔内注射麻醉药一人操作即可。操作者事先用注射器抽取麻醉药，左手拇指与示指捏住鼠耳及头部皮肤，无名指与小指夹住鼠尾，腹部朝上固定于手掌间，右手持注射器从后腹部朝头的方向刺入，回抽，判断针头确在腹腔内，即可注射药液。

腹腔注射麻醉药物由肠系膜吸收入血，经门静脉入肝再进入心脏，然后才能到达中枢神经系统。因此，麻醉作用发生慢，有一定程度的兴奋期，麻醉深度不宜控制，只有静脉注射麻醉失败后才进行。注射时应注意进针角度因动物大小而异，较大动物针头可与腹壁垂直；鼠类宜使针头与腹壁成 30° 夹角，一定要回抽，若回抽到血液、粪便、尿液表示针头已刺入脏器，必须拔出重刺；不要将全身麻醉药注入皮下；所用针头不宜太大，以免注射后药液自针孔流出。

(3) 皮下注射：是常用的局部麻醉方法。这种方法是在手术前，用 2ml 注射器套上 6 号针头将局部麻醉药（普鲁卡因）注入手术部位的皮下，并轻加按压，使药液扩散，即可手术。

(4) 肌内注射：常用于鸟类，取胸肌注射药液。

(5) 淋巴囊注射：两栖动物全身有数个淋巴囊，注射麻醉药液易吸收，发生麻醉作用较快。在所有淋巴囊中，以腹部和头部最常用。

2. 吸入麻醉 小白鼠、大白鼠和家兔常用乙醚吸入麻醉。把 5~10ml 乙醚浸过的脱脂棉或纱布铺于麻醉用的容器内，最好为透明容器，以利于观察，将实验动物置于容器内，容器加盖。约 20~30 秒动物进入麻醉状态，然后可将一大一小合适的烧杯内放入适量的乙醚棉球后，套于实验动物的头部，再进行实验操作，可延长麻醉时间。

(二) 麻醉效果的观察

动物的麻醉效果直接影响实验的进行和结果。如果麻醉过浅，动物会因疼痛而挣扎，甚至出现兴奋状态，呼吸心跳不规则，影响实验。麻醉过深，可使机体的反应性降低，甚至消失。更为严重的是抑制延髓的心血管活动中枢和呼吸中枢，使呼吸、心跳停止，导致动物死亡。因此，在麻醉过程中必须善于判断麻醉程度，观察麻醉效果。判断麻醉程度的指标有：

1. 呼吸 动物呼吸加快或不规则，说明麻醉过浅，可再追加一些麻醉药。若呼吸由不规则转变为规则且平稳，说明已达到麻醉深度。若动物呼吸变慢，且以腹式呼吸为主，说明麻醉过深，动物有生命危险。

2. 反射活动 主要观察角膜反射或睫毛反射，若动物的角膜反射灵敏，说明麻醉过浅；若角膜反射迟钝，麻醉程度适宜；角膜反射消失，伴瞳孔散大，则麻醉过深。

3. 肌张力 动物肌张力亢进，一般说明麻醉过浅，全身肌肉松弛，麻醉合适。

4. 皮肤夹捏反应 麻醉过程中可随时用止血钳或有齿镊夹捏动物皮肤，若反应灵敏，则麻醉过浅；若反应消失，则麻醉程度合适。

总之，观察麻醉效果要仔细，上述四项指标要综合考虑，在静脉注射麻醉时还要

边注入药物边观察。只有这样，才能获得理想的麻醉效果。

(三) 几种常用的麻醉药及其用法

1. 氨基甲酸乙酯（乌拉坦） 常用于兔、狗、猫、蛙类等动物。本药易溶于水，常配成 20% 或 25% 的注射液。注射时可先快后慢，一次给药可维持 4~5 小时，麻醉过程较平稳，动物无明显挣扎现象，但动物苏醒慢，麻醉深度和使用剂量较难掌握。

2. 巴比妥类 用于动物实验的主要有三种：戊巴比妥钠，苯巴比妥钠，硫喷妥钠。其中最常用的是戊巴比妥钠，常配成 3%~5% 的注射液。此药作用发生快，持续时间 3~5h。配制方法：戊巴比妥钠 3~5g 加入 95% 乙醇溶液 10ml，加温助溶（不可煮沸）后，再加入 0.9% 氯化钠溶液至 100ml。静脉注射时，前 1/3 剂量可推注，后 2/3 剂量则应缓慢注射，并密切观察动物的肌紧张状态，呼吸变化及角膜反射。动物麻醉后常因麻醉药的作用以及肌肉松弛和皮肤血管扩张而致使体温缓慢下降，所以应设法保温，不使肛温降至 37℃ 以下。几种常用的麻醉药及其用法见表 3-1。

表 3-1 常用麻醉药剂量和给药途径

药物名称	给药途径	剂量 (mg/kg)				
		狗	猫	兔	大白鼠	小白鼠
戊巴比妥钠	iv	25~35	25~35	25~40		40~70
	ip	25~35	25~35		40~50	
	im	30~40				
苯巴比妥钠	iv	80~100	80~100	100~160		
	ip	80~100	80~100	150~200		
硫喷妥钠	iv	20~30	20~30	30~40		
	ip		50~60	60~80		
氯醛糖	ip	100	50~70	60~80	50	50
	iv	100	60	80~100	60	60
氨基甲酸	iv	1000~2000	2000	1000		
乙酯	ip	1000~2000	2000	1000	1250	1250
	sc		2000	1000~2000	1000~2000	1000~2000
氨基甲酸乙酯+氯	iv			400~500		
醛糖	ip			+40~50	100+10	100+10
水合氯醛	iv	100~150	100~150	50~70 慢		
	ip					
	Sc 或灌肠	250~300	250~300	1000	400	400

3. 氯醛糖 此药溶解度小，常配成 1% 水溶液，使用前需在 50℃ 水浴锅中加热使其全部溶解，但不宜直接加热，更不能煮沸，以免影响药效。加温后不宜久置，以免沉淀而失效。配制时若加入适量硼砂，可提高其溶解度和稳定性。一般取氯醛糖 1g，

硼砂 2g, 加水至 100ml。

4. 普鲁卡因 局部注射麻醉药。手术前, 常用 1% 或 2% 水溶液注入手术部位皮下或肌肉, 阻断神经纤维的传导, 提高感受器官的感觉阈值, 因而能够耐受手术操作。

5. 乙醚 吸入性麻醉药, 可用于各种动物, 尤其是时间短的手术或实验, 吸入后 20~30 秒开始发挥作用。其特点是, 麻醉深度易掌握, 较安全, 麻醉后苏醒快, 但麻醉时有明显的兴奋现象, 且对呼吸道黏膜有较强的刺激分泌作用, 使黏液分泌增加, 易阻塞呼吸道而发生窒息。乙醚为无色, 易挥发, 有刺激性气味的液体, 易燃烧和爆炸, 在光和空气作用下, 可生成乙醛或过氧化物而具有较大毒性, 因此, 开瓶后不能久置。

二、麻醉剂的选择

麻醉的目的是使动物在手术与实验中免除痛苦, 保持安静, 以便实验顺利进行。麻醉方法可分为局部和全身两种, 后者为动物急性实验时采用。理想的麻醉剂应具备以下三个条件: ①麻醉完善, 使动物完全无痛, 麻醉时间能满足实验要求; ②对动物的毒性及所观察的指标影响最小; ③应用方便。

由于不同种属的动物对不同麻醉剂的敏感性不同, 各种麻醉剂对动物生理机能的影响以及麻醉时间也不一样, 故选用适当的麻醉剂, 对能否完成实验是很重要的。

三、使用麻醉剂的注意事项

(一) 注意动物个体差异

不同的动物个体对麻醉剂的耐受性不同。在使用麻醉剂时, 必须密切注意观察动物的状态, 以决定麻醉药用量。麻醉的深浅, 可根据呼吸的深度和频率、角膜反射的敏感度、四肢和腹壁肌肉的紧张性以及皮肤夹捏反应等指标进行判断。当上述指标明显减弱或消失时, 应立即停止给药。

另外, 麻醉剂量往往与动物的种类、健康状况有关。如灰兔比大白兔抵抗力要强; 妊娠兔对麻醉药的耐受量较小, 如按常规剂量麻醉往往会过量, 使用时应酌减原剂量。

(二) 注意给药速度

在采用静脉注射麻醉药时, 注射速度应缓慢; 或者药量的前半快速注入, 使其迅速渡过兴奋期, 后半药缓慢注入。如果没有把握, 最好不要给全量, 麻醉稍浅可追加药量, 否则注射过速, 用药过量, 易导致动物死亡。

(三) 注意麻醉剂的新鲜度

麻醉剂配制时间过久, 发生絮状混浊及冷天有结晶沉淀, 均不宜使用。后者经加热, 结晶溶解还可使用。

(四) 注意补加麻醉剂的方法

当麻醉深度不够, 动物出现挣扎、呼吸急促等反应, 可临时适当补加麻醉剂, 一般每次补加剂量不宜超过注射总量的 $1/10 \sim 1/5$ 。

(五) 注意体重与麻醉剂量的关系

麻醉前一定要先称动物体重, 然后严格按照参考剂量给药。

(六) 注意麻醉过量的处理

当麻醉过量时，动物呼吸慢而不规则，甚至呼吸停止，血压下降，心跳微弱或停止。此时应立即进行抢救，如进行人工呼吸和心脏按摩，必要时用苏醒剂。

第四节 实验动物的取血与处死方法

一、实验动物的取血

(一) 家兔

1. 耳缘静脉取血法 选好耳缘静脉，拔去被毛，用二甲苯或酒精涂擦局部，小血管夹夹紧耳根部，使血管充血扩张。术者持粗针头从耳尖部血管，逆回流方向刺入静脉内取血，或用刀片切开静脉，血液自动流出，取血后棉球压迫止血，取血量 2~3ml。压住侧支静脉，血液更容易流出；取血前耳缘部涂擦液体石蜡，可防止血液凝固。

2. 耳中央动脉取血法 家兔固定箱内，用手揉擦耳部，使中央动脉扩张。左手固定兔耳，右手持注射器，中央动脉末端进针，与动脉平行，向心方向刺入动脉。一次取血量 15ml。取血后棉球压迫止血。注意兔耳中央动脉易发生痉挛性收缩。抽血前要充分使血管扩张，在痉挛前尽快抽血，抽血时间不宜过长。中央动脉末端抽血比较容易，耳根部组织较厚，抽血难以成功。

3. 后肢胫部皮下静脉取血法 家兔固定于兔台上，剪去胫部被毛，股部扎止血带，胫外侧皮下静脉充盈。左手固定静脉，右手持注射器，针头与静脉走向平行，刺入血管后回抽针栓即有血液进入注射器。

4. 心脏取血法 将家兔固定于兔台上，或由助手在坐位将家兔以站立位固定，剪去胸部被毛，常规消毒。术者在胸骨左侧 3~4 肋间摸到心尖搏动，在心搏最明显处作穿刺点；右手持注射器，将针头插入肋间隙，在左手触摸到心跳的配合下，垂直刺入心脏，当持针手感到心脏搏动时，再稍刺入即到达心腔。每次抽血量 20~25ml。针头宜直入直出，不可在胸腔内左右探索。拔针后棉球压迫止血。

家兔颈动静脉和股动静脉取血法与大鼠相同，均需做相应的血管分离手术。

(二) 豚鼠

1. 心脏取血法 豚鼠心脏取血法与家兔基本相同。取血量可根据需要，采集部分血 5~7ml，采集全部血 15~20ml。

2. 背中足静脉取血法 助手固定动物，将后肢膝关节拉直。术者可从动物脚背面找到背中足静脉，常规消毒后，左手拉住豚鼠趾端，右手持注射器穿刺，抽血后立即用纱布或棉球压迫止血。反复取血可两后肢交替使用。

(三) 狗

1. 心脏取血法 狗心脏取血方法与家兔相同。可抽取较多的血液。

2. 小隐静脉和头静脉取血法 小隐静脉从后肢外踝后方走向外上侧，头静脉位于前肢脚爪上方背侧正前位。剪去局部背毛。助手握紧腿，使皮下静脉充盈。术者按常规穿刺即可抽出血液。

3. 颈静脉取血法 狗以侧卧位固定于狗台上，剪去颈部背毛，常规消毒。助手拉

直颈部，头尽量后仰。术者左手拇指压住颈静脉入胸腔处，使颈静脉怒张。右手持注射器，针头与血管平行，从远心端刺入血管。颈静脉在皮下易滑动，穿刺时要拉紧皮肤，固定好血管。取血后棉球压迫止血。

4. 股动脉取血法 麻醉狗或清醒狗背位固定于狗台上。助手将后肢向外拉直，暴露腹股沟，剪去背毛，常规消毒。术者左手示指与中指触摸动脉搏动部位，并固定好血管；右手持注射器，针头与皮肤呈 45° 角，由动脉搏动最明显处直接刺入血管，抽取所需血液量。取血后需较长时间压迫止血。

二、实验动物的处死方法

（一）颈椎脱臼

颈椎脱臼常用于小白鼠，术者左手持镊子或用拇指、示指固定鼠头后部，右手捏住鼠尾，用力向后上方牵拉，听到鼠颈部喀嚓声即颈椎脱位、脊髓断裂，鼠瞬间死亡。

（二）断头、毁脑

断头、毁脑常用于蛙类。可用剪刀剪去头部，或用金属探针经枕骨大孔破坏脑和脊髓而致死。大鼠和小鼠也可用断头法处死，术者需戴手套，两手分别抓住鼠头与鼠身，拉紧并暴露颈部，由助手持剪刀，从颈部剪断鼠头。

（三）空气栓塞

术者用 50~100ml 注射器，向静脉血管迅速注入空气，气体栓塞血管而使动物死亡。使猫与家兔致死的空气量为 10~20ml，狗为 70~150ml。

第五节 急性动物实验的基本操作技术

一、实验常用手术器械

机能实验常对动物进行手术，因此识别和正确使用各种手术器械，既关系到操作能力的培养和实验的成败，也为今后完成动物外科打下基础。现将常用的手术器械种类及使用简述如下（图 3-11）。

（一）剪刀

1. 手术剪（组织剪） 有直、弯两型，又分圆头和尖头两种。手术剪用于剪肌膜、浅筋膜、神经和血管等软组织，也可用于剪手术线。正确的执剪姿势（图 3-12）。

2. 眼科剪 多用于剪较小范围内的神经和血管等软组织。禁止剪线、毛发及坚韧的结构。

3. 粗剪刀（普通剪刀） 可用于剪皮肤、蛙类骨骼与肢体等较坚韧的结构，或在实验中作杂用。