

动物实验操作的基本知识

一、实验动物抓拿固定

(一) 小白鼠(mouse)

右手抓住其尾，放在鼠笼铁纱网上，然后用左手拇指及食指沿其背向前抓住其颈部，并以左手的小拇指和掌部夹住其尾固定在手上(图 3-1)。取尾血及尾静脉注射时，可将 mouse 固定在金属或木制的固定器上。

(二) 大白鼠(rat)

实验者应戴帆布手套，用右手将鼠尾抓住提起，放在粗糙的台面或鼠笼上，抓住鼠尾向后轻拉，左手抓紧两耳和头颈部皮肤，余下三指紧捏鼠背部皮肤，如果 rat 后肢挣扎厉害，可将鼠尾放在小指和无名指之间夹住，将整个鼠固定在左手中，右手进行操作（图 3-2）。若进行手术或解剖，则应事先麻醉或处死，然后用棉线活结缚四肢，用棉线固定门齿，背卧位固定在大鼠固定板上。需取尾血及尾静脉注射时，可将其固定在大鼠固定盒里，将鼠尾留在外供实验操作。

(三) 豚鼠(cavy)

Cavy 具有胆小易惊的特性，因此抓取时要求快、稳、准。一般方法是：以右手拇指和食指夹住两前肢及头部，使整个颈胸部皆在手掌中（不要抓得太紧以免窒息），左手抓住两后肢，使腹部向上，而后进行操作（图 3-3）。

(四) 蛙或蟾蜍(frog or toad)

捉拿方法宜用左手将动物背部贴紧手掌固定，以中指、无名指、小拇指压住其左腹侧和后肢，拇指和食指分别压住左，右前肢，右手进行操作（图 3-4）。

在捉拿 toad 时，注意勿挤压其两侧耳部突起之毒腺，以免毒液射到眼中。

实验如需长时间观察，可破坏其脑和脊髓以后放在蛙板上固定进行操作。

(五) 家兔(rabbit)

用右手抓住其颈背部皮毛，轻提动物，再以左手托住其臀部，使家兔的体重主要落在左手掌心，然后按实验要求固定（图 3-5）。作兔耳血管注射或取血时，可用兔盒固定。作各种手术时，可将家兔麻醉后固定在手术台上。固定方法常采用仰卧位固定，四肢用粗棉线固定，头用兔头固定夹固定或用棉线钩住家兔门齿再固定在兔台头端铁柱上。

(六) 狗(dog)

犬性凶恶，能咬人，因此进行实验时第一个步骤就是要绑住犬嘴，驯服的犬绑嘴时可从侧面靠近轻轻抚摸其背部皮毛，然后用寸带迅速兜住犬的下颌，绕到上颌打一个结，在绕回下颌打第二个结，然后将寸带引至头后颌颈部打第三个结，并多系一个活结（以备麻醉后解脱）。注意捆绑松紧度要适宜。倘若此举不成，应用犬头钳夹住其颈部，将犬按倒在地，再绑其嘴（图 3-6）。

头部固定：固定犬头需用一特制的狗头固定器，犬头固定器为一圆铁圈，圈的中央有一个弓形铁，与棒螺丝相连，下面有一根平直铁门。操作时先将犬舌拉出，把犬嘴插入固定器的铁圈内，再用平直铁门横于犬齿后部的上下颌之间，然后向下旋转棒螺丝，使弓形铁逐渐下压在动物的下颌骨上，把铁柄固定在犬头的铁柱上即可（图 3-7）。

四肢固定：如采取仰卧位，四肢固定方法与家兔相同。



图 3-1 Mouse 的捉拿固定与腹腔注射

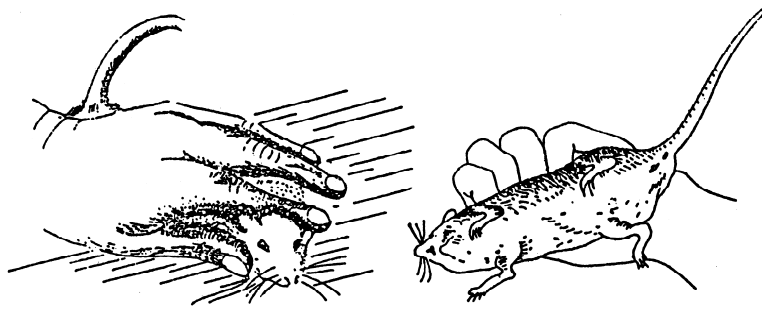


图 3-2 Rat 的捉拿法

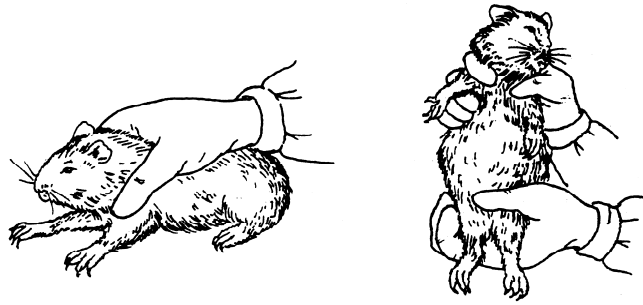


图 3-3 Cavy 的捉拿与固定方法



图 3-4 Frog 的捉拿固定

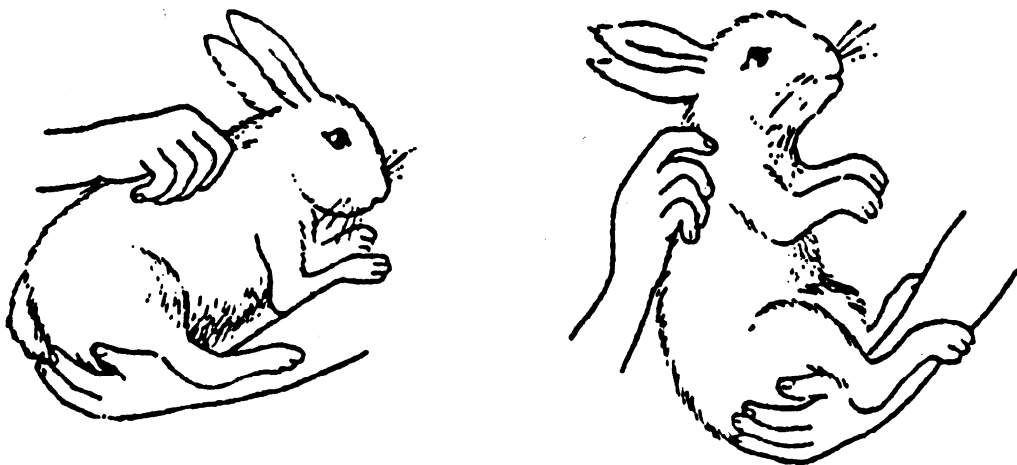


图 3-5 Rabbit 的正确捉拿方法



图 3-6 捆绑犬嘴的方法及犬头钳

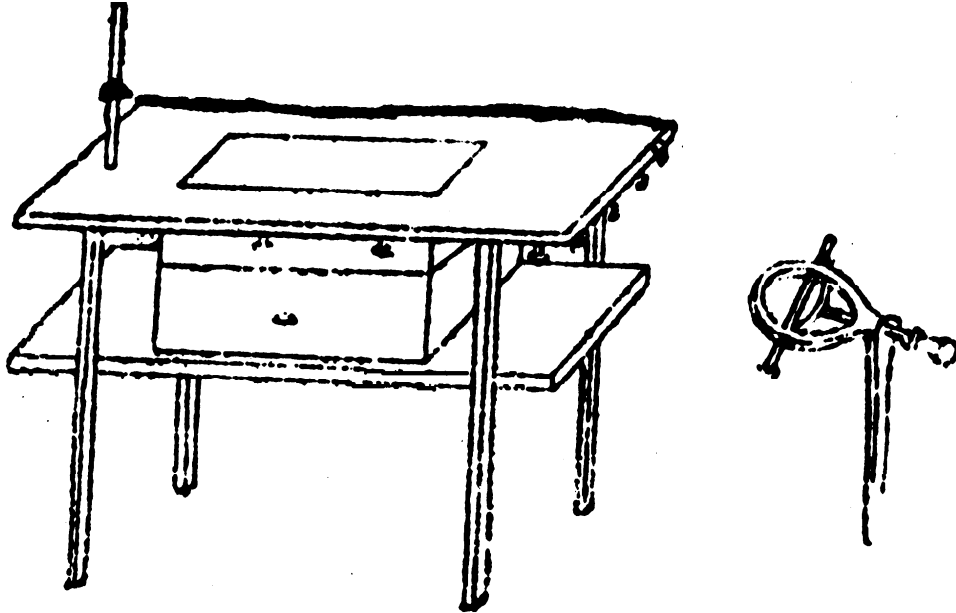


图 3-7 犬台与犬头固定器

二、实验动物的麻醉(anesthesia)和给药途径

(一) Anesthesia 的方法和麻醉药的用量

进行在体动物实验时，宜用清醒状态的动物，这样将更接近生理状态，有的实验则必须用清醒动物。但是进行手术时或实验时为了消除疼痛或减少动物挣扎而影响实验结果，必须使用麻醉药。Anesthesia 动物时，应根据不同的实验要求和不同的动物选择麻醉药。

1. 局部麻醉 (local anesthesia) 如以 0.5~2% 普鲁卡因(procaine)给兔颈部皮下作浸润麻醉，可进行局部手术。

2. 全身麻醉 (general anesthesia)

(1) 吸入麻醉 (inhalation anesthesia)

乙醚 (ether) 蘸在棉球上放入玻璃罩内，利用其挥发的性质，经呼吸道进入肺泡，对动物进行麻醉。可用于各种动物。适用于时间短的手术过程或实验，吸入后约 15~20min 开

始发挥作用。采用乙醚麻醉的优点是：**anesthesia** 的深度易于掌握，比较安全，麻醉后苏醒快。缺点是：需要专人管理。在麻醉初期常出现强烈兴奋现象，对呼吸道有较强的刺激作用。对于经验不足的操作者，用乙醚麻醉动物时容易因 **anesthesia** 过深而致动物死亡。另外，乙醚易燃，易爆，对人亦有作用，使用时应避火，通风，注意安全。

(2) 注射麻醉 (injection anesthesia)

巴比妥类：各种巴比妥类药物的吸收和代谢速度不同，其作用时间亦有长有短。戊巴比妥钠 (**sodium pentobarbital**) 作用时间为 2~4h，属中效巴比妥钠类，实验中最为常用。常配成 3~5% 的水溶液，由静脉或腹腔给药。硫喷妥钠 (**sodium thiopental**) 作用时间仅为 15~30min，属短效或超短效巴比妥类，适用于较短时程的实验。

巴比妥类对呼吸中枢有较强的抑制作用，**anesthesia** 过深时，呼吸活动可完全停止。故应注意防止给药过多过快。对心血管系统也有复杂的影响，故这类药物用于研究心血管机能的实验动物麻醉，是不够理想的。

氯醛糖(**chloralose**)：本药溶解度小，常配成 2% 水溶液。使用前需先在水浴锅中加热，使其溶解，但加热温度不宜过高，以免降低药效。本药的安全度大，能导致持久的浅麻醉，对植物性神经中枢的机能无明显抑制作用，对痛觉的影响也极微，故特别适用于研究要求保留生理反射（如心血管反射）或研究神经系统反应的实验。

乌拉坦：又名氨基甲酸乙酯 (**urethane**)，与氯醛糖类似，可导致较持久的浅麻醉，对呼吸无明显影响。乌拉坦对兔的麻醉作用较强，是家兔急性实验常用的麻醉药。对猫和狗则奏效较慢，在大鼠和兔能诱发肿瘤，需长期存活的慢性实验动物最好不用它麻醉。本药易溶于水，使用时配为 10%~25% 的溶液。

(二) 动物给药途径

1. 灌胃法(intragastric injection, ig)

(1) Mouse

用左手固定 **mouse**，使其头颈部充分伸直，但不宜抓得过紧，以免窒息。右手拿起连有小鼠灌胃针的注射器，将针头小心自口角插入口腔，紧贴上腭入胃，注入药液（图 3-8）。操作时应避免灌胃针插入气管。插入时遇有阻力应抽出再试，如错插入气管注药时可立即死亡。注射量 0.1~0.25ml/10g 体重。

(2) Rat

左手戴防护手套握住 **Rat** 头骨部，或压在鼠笼上固定，右手将连有注射器的灌胃针头从其口角插入口腔，继续用灌胃针压其头部，使口腔与食道呈一直线，再将针头沿咽后壁轻轻

进入食道，这时如插入畅通，无阻力，可插得较深，插入后动物安静，呼吸无异常，可将药液注入。应避免针头或导管插入气管。灌胃量不超过 2ml/只。

(3) Cavy

一个人抓住 Cavy 头颈部和四肢，另一人将“含咀”放入 Cavy 口内旋转使舌压在其下，再将塑料管或导尿管插入，然后注入药物，因 Cavy 上腭部有牙齿，易阻止导管插入，应把 Cavy 头部与躯体拉直，便于导管避开阻碍而进入食道。

(4) Rabbit

一般采用开口器和小儿导管或导尿管。开口器是 2×2×10cm 的木片或竹片，呈纺锤形，于正中垂直开一 6~8mm 直径的圆孔制成。灌胃时，将动物固定于竖立体位，将开口器放于动物的上、下腭齿之间，两端露出口角处，用绳将它固定或用手固定。右手将导管由开口器的小圆孔，沿咽后慢慢进入食道插入胃中，为防止插入气管内，将导管外端插入盛水的小烧杯中，如随动物呼吸而有气泡冒出，表明插入气管应立即拔出插管；若不冒气泡，表明导管插入胃中，方可注入药液，注入完毕，以少量清水冲洗残留管内药液，再拔出导管。

2. 皮下注射(subcutaneous injection, sc)

(1) Frog 或 cavy 淋巴囊注射法

Frog 的皮下有数个淋巴囊，注入药物易吸收。一般以腹部淋巴囊作为给药途径，另外可注于颌下，胸或大腿等淋巴由于其皮肤薄，缺乏弹性，如果用注射器直接刺入拔针后药液易自注入孔流出，因此注射胸淋巴囊时，应从口角入口腔底部刺入肌层再返入皮下，针尖进入胸淋巴囊后进行注射（图 3-9）；注射大腿淋巴囊时针尖从小腿皮肤刺入绕过膝关节进入大腿淋巴囊；注射腹淋巴囊时，针尖从胸淋巴囊刺入；进入腹淋巴囊注射或从 Frog 大腿上端刺入，经过大腿肌层入腹壁肌层再转入腹淋巴囊，然后注射药液。注射量一般 0.25~1.0ml/只。

(2) Mouse 皮下注射

通常在背部皮下注射，注射时以左手拇指和中指将 mouse 颈背部皮肤轻轻提起，食指轻按其皮肤，使其形成一个三角形小窝，右手持注射器，从三角窝下部刺入皮下，轻轻摆动针头，如易摆动时则表明针头在皮下，此刻可将药液注入，针头拔出后，以左手在针刺部位轻轻捏住皮肤片刻，以防药液流出。大批动物注射时，可将 Mouse 放在鼠笼盖或粗糙平面上，左手拉住尾部，Mouse 自然向前爬动，此时右手持针迅速刺入背部皮下，推注药液。

(3) Rat 皮下注射

注射部位可在背部或后肢外侧皮下，操作时轻轻提起注射部位皮肤，将注射针头刺入皮

下，一次注射量为 $<1\text{ml}/100\text{g}$ 。

(4) Cavy 皮下注射

部位可选用两肢内侧、背部、肩部等皮下脂肪少的部位。通常在大腿内侧注射，针头与皮肤呈 45° 角的方向刺入皮下，确定针头在皮下推入药液，拔出针头后，拇指轻压注药部位片刻。

(5) Rabbit 皮下注射法：参照 mouse 皮下注射法。

3. 腹腔注射法(intraperitoneal injection, ip)

(1) Mouse

左手持鼠，将腹部朝上，右手持注射器，针头刺入方向可与腹部呈 45° 角，一般由左或右下腹部刺入，为避免刺伤内脏，可将头部放低，使脏器移向横膈之处，(勿刺破肝脏和膀胱)。当针头刺入腹腔是时，有落空感即可给药（图 3-10）。

(2) Rat, cavy, rabbit, 猫等的腹腔注射皆可参照 mouse 腹腔注射法。但应注意 Rabbit 与猫在腹白线两侧注射时，离腹白线约 1cm 处进针。

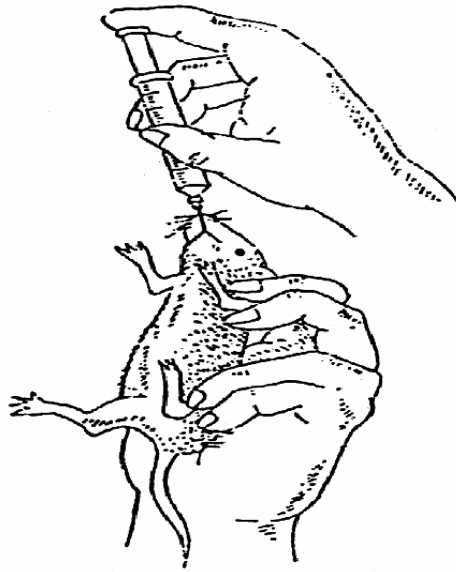


图 3-8 Mouse 的灌胃方法

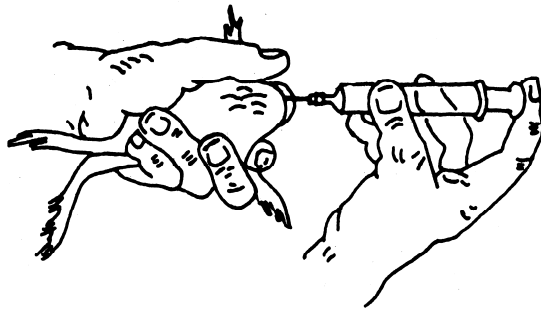


图 3-9 Frog 淋巴囊注射

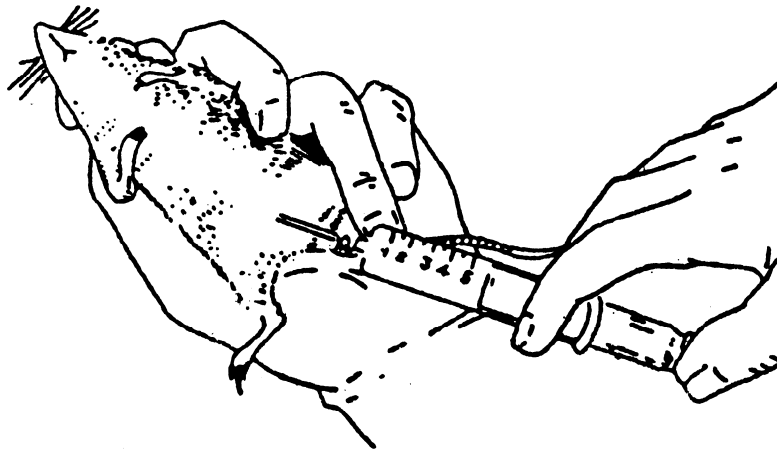


图 3-10 Mouse 腹腔注射

4. 肌肉注射法(intramuscular injection, im)

(1) Mouse、rat、cavy: 一般因肌肉少, 不作 im, 如需要时, 可将动物固定后, 一手拉直动物左或右侧后肢, 将针头刺入后肢大腿外侧肌肉内, 用 5~7 号针头, mouse 一次注射量不超过 0.1ml/只。

(2) Rabbit: 固定动物, 右手持注射器, 令其与肌肉呈 60°角一次刺入肌肉中, 先抽回针栓, 视无回血时, 将药液注入, 注射后轻按摩注射部位, 帮助药液吸收。

5. 静脉注射法(intravenous injection, iv)

(1) Mouse, rat

将 mouse 放入特制圆筒 (或将鼠放在鼠笼内, 使鼠尾从鼠笼网眼中拉出) 尾部用 45~50°C 温水浸泡半 min 或用 75% 酒精棉 (二甲苯) 擦之, 使血管扩张, 并使表皮角质软化, 可以看见三条静脉, 选择其中较粗大静脉 (一般选左, 右两侧之静脉) 用吸取好药的注射器针头 (4~4½ 号针头) 刺入, 缓缓将药液注入 (图 3-11)。如针头确已在静脉血管内, 则药

液进入无阻，否则局部隆起发白出现皮丘，这时可以拔出针头重新穿刺。尾静脉注射时必须从近尾部开始，这样可以重复注射数次。注射量为 0.1~0.5ml/10g 体重。

(2) Cavy

可选用多部位的 iv，如前肢皮下头静脉，后肢小隐静脉，耳壳静脉或雄鼠的阴茎静脉，偶可心内注射。一般前肢皮下头静脉穿刺易成功。也可先将后肢皮肤切开，暴露胫前静脉，直接穿刺注射。注射量不超过 2ml。

(3) Rabbit

Rabbit 静脉注射一般采用耳缘静脉（兔耳外缘的血管为静脉，中央的血管为动脉）。先除去注射部位的兔毛，用酒精棉球涂擦耳缘静脉部皮肤。以左手食指放在耳下将兔耳垫起，并以拇指按压耳缘部分，右手持 6~7 号针头的注射器，尽量从血管远端刺入血管（不一定有回血）。注射时针头先刺入皮下，沿皮下向前推进少许，然后刺入血管。针头刺入血管后再稍向前推进，轻轻推动针栓，若无阻力和局部皮肤发白隆起现象，即可注药。注射完毕后，用棉球压住针眼，拔去针头。

一般耳内缘静脉深不易固定，故不用或少用，外缘静脉浅易固定常用。

(4) Dog

对未经麻醉的犬，可选用前肢皮下头静脉或后肢小隐静脉注射。操作时，先将注射部位毛剪去。在静脉血管的近心端，用橡皮带绑扎肢体，使血管充盈。注射器针头向静脉血管的近心端方向穿刺。回抽注射器针栓，如有回血，则表明针尖在血管内，即可推注药液（图 3-12）。



图 3-11 小鼠尾静脉注射方法



图 3-12 Dog 的前肢头静脉及后肢小隐静脉注射方法

6. 椎管内注射(vertebral canal injection)

剪去兔腰骶部的毛，消毒，然后把动物俯卧于实验台上，左手肘关节及左肋夹住动物头部及其身体，使之固定，再用左手将其尾端向腹侧弯曲，使腰骶部凸出，以增大脊突间隙。注射器针头自第一骶骨前正中轻轻刺入，当刺到椎管时，有似刺透硬膜感觉，此时动物尾巴随针刺而动或后肢跳动，则证明刺中。若刺不中时，不必拔出针头，以针尖不高脊柱中线将针头稍稍撤出一点，换方向再刺，当证实针确实在椎管内时，即可注射药液。一般一只家兔药量为 0.5~1.0ml。

犬的椎管内注射时也大致与家兔相似，一般是两人协作进行。

7. 椎动脉注射(vertebral artery injection)

在 rabbit 剑突上 6cm 处自胸骨左缘向外横切口 4~5cm，分束切断胸大肌，胸小肌，找出锁骨下静脉双侧结扎，于两线间剪断静脉，分离出锁骨下动脉，沿其走向分离出内孔动脉，椎动脉，颈深支，肌皮支。除椎动脉外，分别结扎锁骨下动脉分支的进心端。于椎动脉上方结扎锁骨下动脉远心端，在结扎前选择合适位置（靠近肌皮支处为宜）剪一小口，插一腰穿刺针直至椎动脉分支前，结扎，固定，给药。

犬和猫椎动脉注射时不必开胸。在颈下部切口找出左颈总动脉，向下追踪到锁骨下动脉。结扎其上覆盖的颈外静脉，在其向内转弯处向下分离，可见发自锁骨下动脉的右侧椎动脉向上经肌层进入体腔内，插管给药。

三、实验动物的取血过程和方法

(一) Mouse、rat 和 cavy

1. 尾尖取血 将尾尖剪掉 1~2mm (mouse) 或 5~10mm (rat)，然后自尾根部向尖部

按摩，血即自尾尖流出。如果较多血也可先将尾浸于近 50℃ 的热水中，再剪去尾尖。用此法可采血 3ml。采血后用胶布包扎尾尖进行压迫止血。亦可用点烧灼止血。由于鼠血凝集快，需要全血应事先置抗凝剂于采血管中，如用血球悬液，应立即与生理盐水混合。

2. 球后静脉丛(post-glomus venous plexus)取血

用左手抓住鼠的颈背部，拇指及中指抓住头颈部皮肤，食指按于眼球后使眼球突出，眼底 Post-glomus venous plexus 郁血。右手取一特制的玻璃吸管（一端内径约 1.5mm，另一端渐扩大成喇叭形，用前预先将玻璃管浸入 1% 肝素溶液，取出干燥）或粗钝针头沿内眦眼眶后壁刺入。穿刺时吸管应由眼内眦向后头方向前进 4~5mm，轻轻转动再缩回，血液自然流入管内（图 3-13）。在将到所需血量后，抽出吸管或针头。

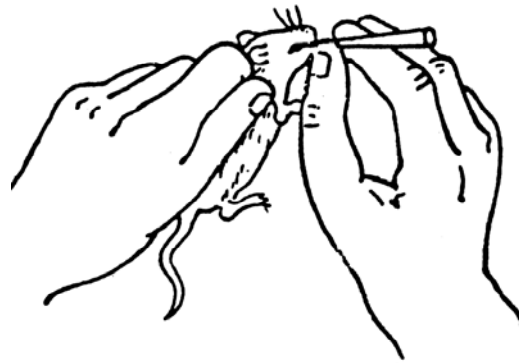


图 3-13 Mouse 球后静脉取血

3. 颈外静脉(external jugular vein)或颈总动脉(common carotid artery)取血

适用于 rat 和 cavy 的反复多次采血。分离出上述血管，结扎远心端，在动脉插管时必须用动脉夹夹住近心端，静脉插管时可以不夹。将聚乙烯管或硅胶管尖端剪成斜面，向另一端插入粗细适宜的钝针头，针座上连接三通活塞。整个管道中充满 20u/ml 肝素生理盐水。在血管上剪一小口（约为管径的 $\frac{1}{2}$ ），将导管向心方向插入 5mm 左右，用丝线打一个结扎结，使血液不致从血管与导管之间流出为度。取下动脉夹，将导管继续插入，在动脉内进入 1~2cm，静脉内插入 4cm（rat）至右心房。用盛有肝素生理盐水的注射器接上三通活塞，将导管内含血的肝素生理盐水抽出，换上洁净的注射器或毛细玻璃管取血。取血完毕后，换上刚才抽出含有血液的肝素生理盐水注射器，直立将下沉的血液输回，然后向导管内注入含肝素为 125u/ml 的生理盐水，关闭三通活塞，留待下次取血。用远心端的血管结扎线将导管结扎固定。

慢性取血的方法：做完上述操作后夹住导管，取下三通活塞和钝针头，向导管内塞入一段磨钝的的大头针或回形针约 5mm。在两耳后的颈部皮肤上切一小口，伸入血管钳直至颈

部皮下，夹住有塞子的导管端拉出，露在体外 2~3cm。如此可在动物清醒活动的状态下取血，每日用肝素生理盐水冲洗 1~2 次。

4. 股静脉(femoral vein)或股动脉(femoral artery)取血

在 rat 或 cavy 的股部三角区找出 femoral artery, femoral vein, 用上述方法插入导管取血, 并可将导管另一端留置背部露出体外以反复采血。也可向暴露的腹部和颈部血管直接穿刺取血, 但易造成出血或取血失败, 不如插管妥当。

5. 下腔静脉 (inferior caval vein) 取血

供一次大量采血用。动物仰卧, 在剑突下做一横切口, 腹正中线作一纵切口, 切开腹壁, 将肠袢拉向动物的左侧, 暴露 Inferior caval vein 用盛有抗凝剂的注射器直接穿刺取血, 也可事先肝素化后取血, rat 仰卧时, 切开小腿前部皮肤, 皮下即可见静脉, 由此注入肝素)。300g 的 rat 可抽得 10ml 血。Mouse 可取得 1ml 血。

6. 心脏取血

动物仰卧, 剪去胸前区毛, 左手食指在左侧第 3~4 肋间触到心尖搏动, 右手用连有针头的注射器, 于搏动最强处穿刺。由于心脏跳动血液进入注射器。多用于 cavy。

(二) Rabbit

1. 耳缘静脉或耳中央动脉取血

(1) 局部去毛, 用电灯照射加热或酒精或二甲苯棉球涂擦, 使静脉扩张, 再以石蜡油深擦耳缘, 防止流出血液凝固。用粗针头将静脉刺破或刀切小口(与血管走行方向平行的纵行切口, 大小视取血量而定, 约 0.3~1.0cm 左右), 让血液自然滴出。

(2) 拔去血管表面皮肤的毛, 轻弹耳壳, 或用二甲苯涂抹皮肤使血管扩张。用注射器可从耳中央动脉取血。耳中央动脉属颈外动脉分支, 受耳神经丛耳支主干支配, 耳支穿过下颌骨后上方冠状突与第一颈椎侧突构成的间隙行走于耳背侧面, 与耳中央动脉伴行。

采血前取 1% 的普鲁卡因溶液 2ml 注入一侧耳根下方冠状突与侧突间隙的深层软组织, 进行耳支神经阻滞麻醉, 致使兔耳中央动脉舒张充血, 指触脉搏感强, 证明麻醉成功。动脉扩张时间约 5min。此时即可用左手食指与拇指固定中央动脉远心端穿刺采血, 每次采血量根据需要而定, 最大采血量可达 10ml 以上。采血后立即用棉球压住针孔, 防止出血。

2. External jugular vein 或 femoral vein 取血

方法同 rat。但兔的中心静脉压低于大气压, 颈外静脉插管时必须夹住近心端。

3. 后肢小隐静脉(small saphenous vein)取血

仰卧固定, 小腿上端扎橡皮管, 小腿外侧皮下可见充盈的静脉, 经皮穿刺可以取血。

4. 心脏取血

第三肋间胸骨左缘3mm处将针头垂直刺入心脏,血即进入注射器。一次可取血20~25ml。

(三) Dog

1. 前肢皮下头静脉或后肢小隐静脉经皮穿刺取血,不宜多次取血。
2. 暴露股静脉或颈外静脉,直接穿刺或插管,可多次取血。