

王娅简历

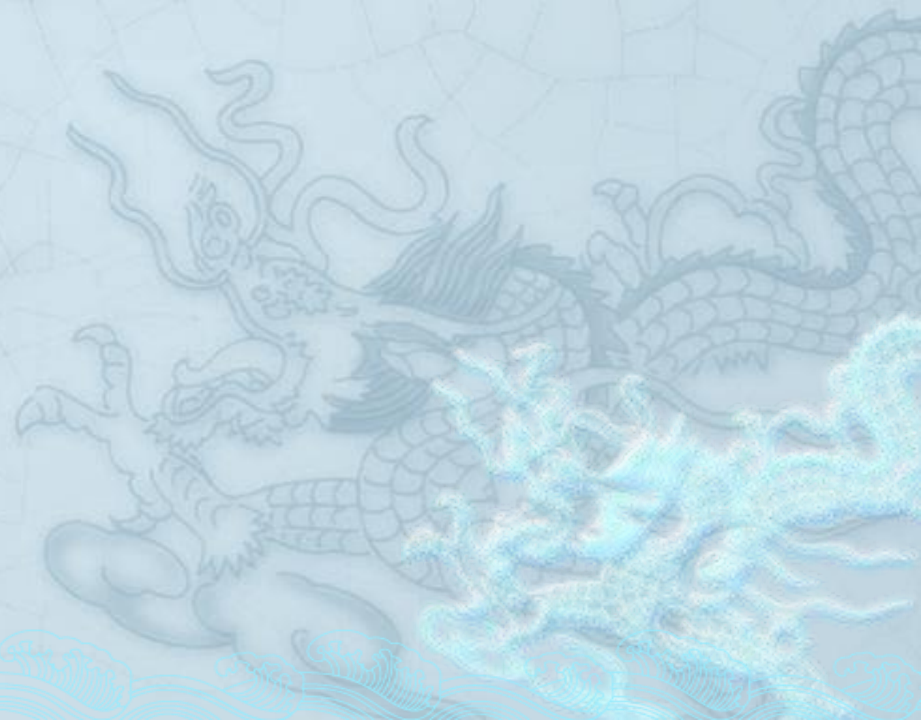
- ◆ 学习经历：2006年毕业于四川农业大学 动物医学临床兽医学专业。
- ◆ 就职单位：四川农业大学。
- ◆ 工作经历：2006至今从事动物疾病诊疗相关工作。
- ◆ 职称：高级实验师，硕士研究生导师。
- ◆ 科研方向：营养代谢病与中毒病、内分泌疾病、中西兽药与临床。
- ◆ 临床疾病方向：内科疾病与老年病、猫科、超声影像学。

实验动物专题

- ◆ 第一部分
- ◆ 概述
- ◆ 动物实验前的准备
- ◆ 实验设计和组织管理
- ◆ 数据收集和处理
- ◆ 第二部分 动物实验技术

第一节、概述

- ◆ 动物实验的概念
- ◆ 实验动物的概念
- ◆ 分类



动物实验概念

- ◆ 动物实验是以实验动物为载体进行科学实验。研究动物的生物学特性、动物实验技术、实验动物的反应和发生发展规律。
- ◆ 开展科学研究、产品质量检验、教学工作等不可缺少的基本手段。

动物实验的特点及应用

- ◆ 载体：实验动物
- ◆ 科学实验：发现和验证新知识、发现新规律的途径之一。
- ◆ 科学实验：经过科学设计，对各种影响因素进行有效控制，对所获得结果进行分析和验证。

动物实验分类

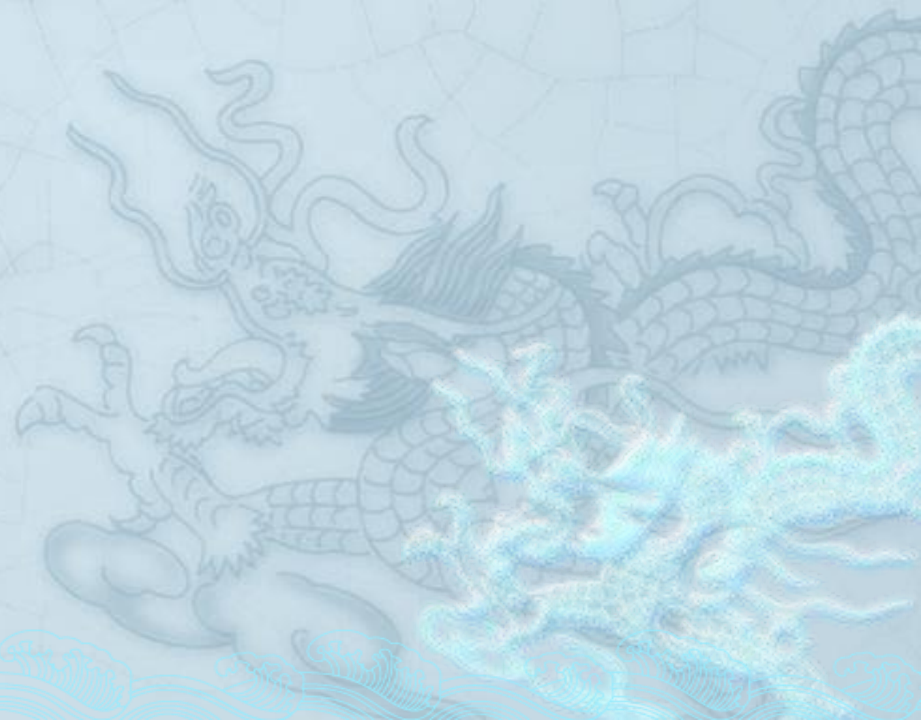
- ◆ 实验动物进行：研究性、生产性、教学性、检测性
- ◆ 感染危害：感染性、非感染性
- ◆ 周期：长期、短期
- ◆ 机体和器官的利用：离体、在体
- ◆ 使用领域：药物安全评价、水质环境质量

影响动物实验结果的因素

- ❖ **动物因素**：包括遗传因素、性别、年龄、疾病因素
- ❖ **环境因素**：包括理化因素（温度、湿度、通风、光照、噪声、有害气体等）、营养因素（饲料、饮水等）、微环境（房舍、笼具、垫料、饮食器具等）、生物因素（饲养密度、微生物、寄生虫等）
- ❖ **人为因素**：包括动物的饲养管理，动物实验的设计、操作技术及结果的处理等

第二节、动物实验前准备

- ◆ 仪器设备和器械的准备
- ◆ 动物实验场地和饲养条件的准备
- ◆ 实验动物的准备



动物实验前的准备

- ◆ 动物实验前要进行一系列的准备工作，包括**理论准备、条件准备、预备实验**。
- ◆ 理论准备：了解动物实验的基础理论知识、选题立项和设定假设，研究计划和方案的制订、实验方法的选择、技术参考文献查阅等。
- ◆ 条件准备：仪器设备的备置与校准、药品的配制、器械的准备、实验动物的购入、实验场所消毒与器具配套等等。
- ◆ 预备实验：对动物实验试探性摸索，对开展好动物实验研究十分重要。

动物实验前的理论准备

- ◆ 首先要了解有关实验动物科学方面的基础理论，特别是熟悉实验动物的**生物学特性**，对开展动物实验研究将十分有益。
- ◆ 其次要掌握有关**动物实验方法学**方面的基础知识和基本技能。

动物实验前的条件准备

动物实验前的条件准备的内容指准备好实验仪器、药品、试剂和实验动物等。条件准备的要求是尽可能使实验手段和实验方法标准化。

比如，实验仪器必须校准；药品的纯度应有明确的要求，试剂的配制必须严格遵守操作规程；称量药品应使用精确的计量仪器等等。

实验环境和饲养条件

- ◆ 环境：安静、舒适、放松、减少应激
- ◆ 饲养设备和器具：普通笼具、超净工作台、空气交换器、给排水设备、保温器具等

实验动物的选择

根据不同**目的**选用实验动物

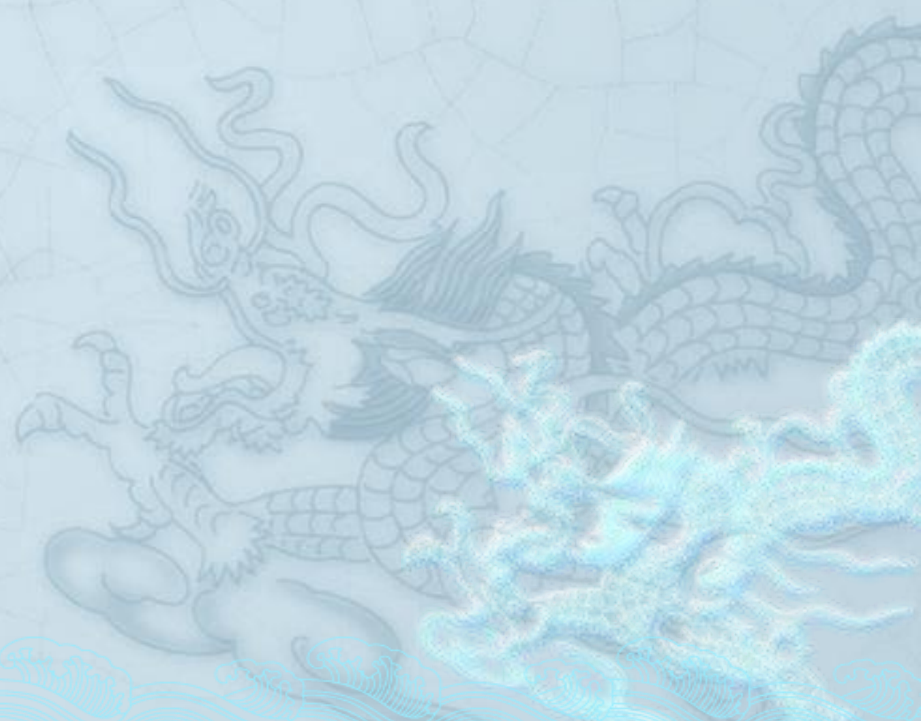
选用相应的**合格**实验动物(许可证)

制定动物实验**方案**

- 实验目的
- 负责人姓名
- 供试品和对照品的名称、缩写名、代号
- 给药途径、剂量、频率、用药期限
- 实验选择理由
- 实验动物种、系、数量、年龄、性别、体重范围和来源
- 实验动物识别方法
- 实验的环境条件
- 饲料的名称或代号
- 实验用品的类型

实验动物的一般检查

- ◆ 性别
- ◆ 体重
- ◆ 年龄
- ◆ 总体状态
- ◆ 体温、呼吸、脉搏
- ◆ 四肢
- ◆ 运动
- ◆ 粪、尿
- ◆ 其他等
- ◆ 记录背景资料



三、预备实验

预备实验是在动物实验前对正式实验进行初步实验，其目的在于检查各项准备工作是否完善，实验方法和步骤是否切实可行，测试指标是否稳定可靠，初步了解实验结果与预期结果的距离，从而为正式实验提供补充、修正的意见和经验，是动物实验必不可少的重要环节。

预备实验可使用少量动物进行，实验方法和观察指标应和正式实验一样。但是，预备实验的结果不能归入正式实验的最后结果中一同分析。

实验方法的选定

- ◆ 实验方法按学科可分为生理学方法、生物化学方法、生物物理方法、免疫学方法等等；按性质可分为形态学方法、机能学方法；按范围可分为整体综合方法和局部分析方法；按水平可分为整体水平、器官水平、细胞水平、分子水平、量子水平等等。
- ◆ 无论选择何种实验方法，均应保证以下几点：**、可靠性、优越性、创造性**

预实验的设计

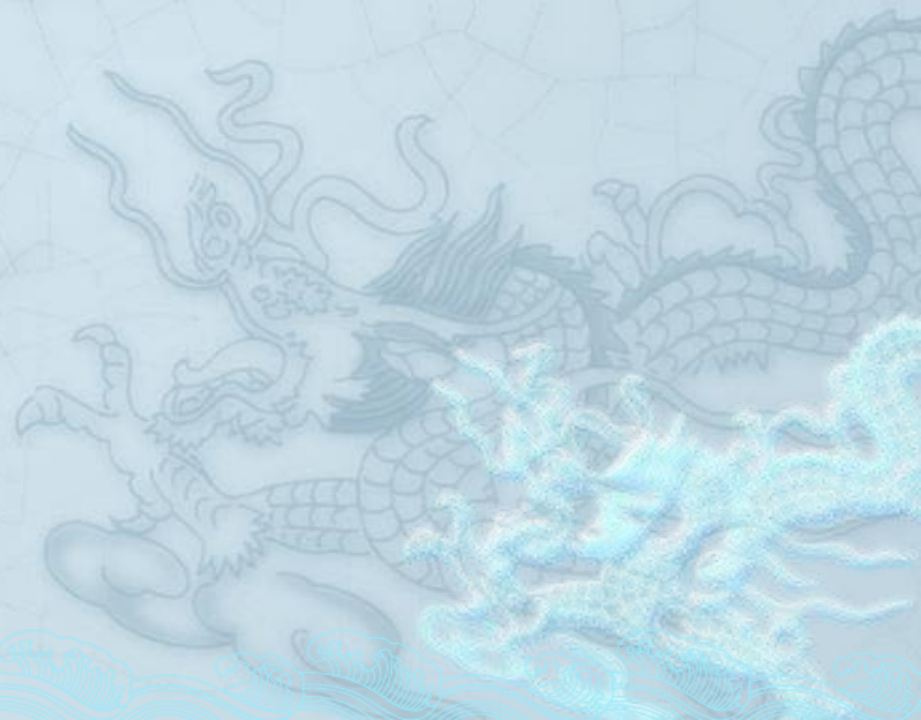
动物实验的设计是动物实验过程的依据，是实验数据处理的前提，也是提高实验研究质量的重要保证。

严密而合理的动物实验设计与分组，不但对实验结果和误差有比较准确地估计，最大限度的获得丰富而可靠的资料，而且还可提高工作效率，避免因实验设计不当，造成人力、物力的浪费，甚至前功尽弃的不良结果。

因此，做好动物实验设计是一项十分重要的工作。

动物实验设计的基本原则

- ◆ 对照性
- ◆ 随机性
- ◆ 客观性
- ◆ 一致性
- ◆ 重复性



对照性原则

对照性原则是要求在实验中设立可与实验组比较，用以消除各种无关因素影响的对照组。

对照应有可比性：同时同地同条件

一个完整实验除了实验组外，还应包括下列对照组，所有动物应根据随机原则分配到各组内。

① **阴性对照组** 阴性对照组包括空白对照组、正常对照组和假手术组，需要根据实验的具体情况设置

② **阳性对照组** 阳性对照组是用已知的能达到预期阳性试验结果的处理因素作用于动物，其余非处理因素应与其它组一致。

阳性对照组有2个作用，一是检验试验体系是否正确，如果阳性对照未出现阳性结果，就应该检查试验体系的哪个环节出现问题；二是以阳性对照作为参照物，比较和评价实验组的阳性结果是高于还是低于阳性对照。

③ **实验对照组（模型对照组）** 实验对照组是指在研究过程中，给对照组施加部分处理因素，但不是被研究的处理因素。例如：为了研究某种药物对某一病种或证型的治疗作用，常常采用一定的动物模型。对动物模型的处理方法实验治疗组和实验对照组完全相同，但是治疗组给予药物，而实验对照组不给药物

④ **标准对照组** 在以动物为实验对照组时，常设立一个不造模处理的正常对照组，即标准对照组，在与实验组和治疗组同样的条件 and 环境中完全按常规饲养。例如在老年病研究中，除了设立老年对照组外，还需设立一个青年对照组。青年对照组的动物种类、性别与老年对照组和治疗组相同，只是月龄小（成年）。在这里，青年对照组相当于标准对照组，其实实验数据对于老年对照组（模型对照组）而言，相当于标准值或正常值。

◆ 有的实验还可设**自身对照**。

➤ 同一个体身上观察实验处理前后某种指标的变化

➤ 同一动物在施加实验因素的一侧与不施加实验因素的另一侧作左右的对照。

自体对照可有效减少个体差异对试验处理反应的影响。凡可进行自身对照设计的实验应尽量加以采用。

◆ 在药理学和毒理学试验中，实验组还进一步分成多个剂量组，以此观察不同剂量的量效关系。不同剂量组也可互视为**剂量对照组**。

④ **标准对照组** 在以动物为实验对照组时，常设立一个不造模处理的正常对照组，即标准对照组，在与实验组和治疗组同样的条件 and 环境中完全按常规饲养。例如在老年病研究中，除了设立老年对照组外，还需设立一个青年对照组。青年对照组的动物种类、性别与老年对照组和治疗组相同，只是月龄小（成年）。在这里，青年对照组相当于标准对照组，其实验数据对于老年对照组（模型对照组）而言，相当于标准值或正常值。

对照性原则（其他）

- ◆ 有的实验还可设**自身对照**。
- 同一个体身上观察实验处理前后某种指标的变化
- 同一动物在施加实验因素的一侧与不施加实验因素的另一侧作左右的对照。

自体对照可有效减少个体差异对试验处理反应的影响。凡可进行自身对照设计的实验应尽量加以采用。

- ◆ 在药理学和毒理学试验中，实验组还进一步分成多个剂量组，以此观察不同剂量的量效关系。不同剂量组也可互视为**剂量对照组**。

随机性原则

随机性原则就是按照机遇均等的原则来进行分组。其目的是使一切干扰因素造成的实验误差尽量减少，而不受实验者主观因素或其他偏性误差的影响。

◇ 随机化的手段可采用编号卡片抽签法，随机数字表或采用计算器的随机数字键。

重复性原则

重复性原则是指同一处理要设置多个样本数。

重复的主要作用是估计试验误差、降低试验误差和增强代表性，提高实验结果的精确度，保证实验结果能在同一个体或不同个体中稳定地重复出来。

一致性原则

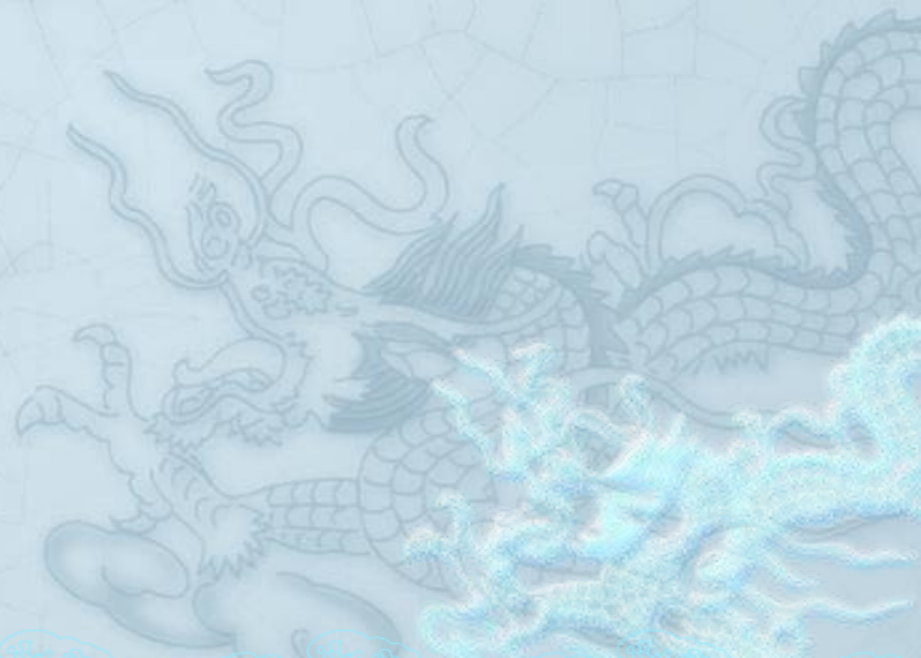
一致性原则是指在实验中实验组与对照组除了处理因素不同外，非处理因素基本保证均衡一致。均衡一致是处理因素具有可比性的基础。

非处理因素：

- ◆ 实验对象：动物品系、体重、年龄、性别、
- ◆ 实验条件：饲料和饲养方式、
- ◆ 实验环境：实验室温度、湿度、气压、季节
- ◆ 实验时间：
- ◆ 药品：药物厂商、批号、纯度、剂型、剂量、注射容量和速度、酸碱度、温度、给药途径和给药顺序
- ◆ 仪器、设备：仪器种类、型号、灵敏度、精确度、零点漂移、电压稳定性
- ◆ 操作人员：操作步骤熟练程度

客观性原则

动物实验设计中要力戒主观偏性干扰，选择观察指标时，不用或尽量少用带主观成分的指标。结果判断要客观，更不能以主观的意愿对结果或数据作任意的改动和取舍。



第三节、动物实验设计

——动物实验设计前应考虑的问题

实验条件问题

- ◆ 实验者必须了解进行本实验的所有条件是否均已具备，如相应的动物设施、动物来源、仪器设备、试剂、人员、技术熟练程度等，这些实验条件的描述将充分体现在实验方案中。

经费预算问题

- ◆ 动物实验是需要经费支持的，一般来说，同一课题经费不同，所选择的实验条件会不同，研究的层次也会不同。本着节约经费的原则，有多少经费做多少事情，量入为出。特别注意的是实验过程中会发生很多不可预见的意外，增加额外的经费。充分估计到各种情况就能保证实验方案的顺利实施。

实验方案的制定

一个完整的动物实验方案应包括以下内容：

1. 实验动物种属、品种品系、性别、年龄（体重）的选择
2. 实验组数的确定
3. 动物实验分组设计的基本类型
 - ①单组比较设计
 - ②完全随机化设计
 - ③随机区组设计
 - ④配对设计
4. 样本量的确定

4、每组样本量的确定

- ◆ 每组的样本量反映了同一处理的重复个数。样本量过小，抽样误差大，不易发现实际存在的差异，得不出统计学意义的结论；样本量过大，不符合动物福利的原则，也浪费人力、物力和财力。一般情况下啮齿类大小鼠实验分组每组10-20只，雌雄各半即可满足统计学分析的要求。大动物如兔、犬和猪的实验一般每组6-10只。
- ◆ 一般来说，各组样本量相等时，统计效率最高。在实际工作中，因一批动物中个别不均一性而剔出、实验人员操作技术不熟练或技术复杂、高剂量组因毒性的不确定等而在实验中致动物死亡等的情况屡有发生，因而实际使用的动物数量应比理论计算的样本量要适当增加。

5. 实验处理方法和指标的选定

- ◆ 实验处理包括处理因素、处理时间、次数、强度（剂量）、途径等，这些都要在实验方案中确定下来。
- ◆ 动物实验指标一般包括两部分：试验期间活体观察指标和实验结束处死解剖观察取材测试指标。
- ◆ **试验期间活体观察指标：**包括一般观察、无创伤性测定指标和创伤性测定指标。一般观察包括动物的精神、行为、营养、被毛、摄食情况、大小便及口鼻耳阴部分泌物等，一般无需惊动动物；无创伤性测定指标包括心电图、血压、呼吸、自主活动等测试，有的需要无线遥控设备。无线遥控无创伤观察测试可避免干扰动物，减少动物应激，因而测试数据准确、可靠。创伤性测定指标包括手术、取血取材等，对动物长期观察忽多忽少产生影响。实验设计时要考虑研究团队有无技术基础和实验条件，以及评估创伤性试验对动物试验的影响。
- ◆ **实验结束处死解剖观察取材**测试涉及到麻醉、取全血/血浆/血清、脏器称重、病理组织取材及固定等一系列步骤，可依据实验目的和检测指标选择部分或全部进行。

◆ **综 上**：所用的试验方法、仪器设备和指标也各不相同，但无论选择何种实验方法，均应力求做到以下几点：

- (1) **可靠性**：即方法切实可行、指标稳定可靠，是受大家公认的方法，也称经典方法。
- (2) **客观性**：尽量选用仪器设备检测，避免主观描述；能定量的就不要选用定性指标。
- (3) **先进性**：当今重大科研成果的出现几乎都利用了先进的仪器设备、技术和检测指标，将整体动物实验与细胞水平、分子水平检测指标结合起来进行综合分析。因此充分利用本单位或其它单位的先进仪器设备为自己的课题服务对于提升课题的级别，提高试验质量有着重要意义。

第四节 动物实验数据的收集与处理

- ◆ 动物实验数据是指在动物实验过程中对动物采取某种（或多种）处理的观察记录或用物理、化学的方法检测而获取的原始资料或数据。原始资料还包括照片、图片和视频记录。
- ◆ 通过对实验数据的记录，贮存，分类和整理，可使研究资料系统化，便于后期对实验数据进行统计处理。可以说，实验数据的收集和整理是实验结果分析和评判的基础，也是动物实验最重要的工作内容之一。

一、实验数据的记录与贮存

（一）实验数据的记录

- ◆ 设计记录实验数据的表格
- ◆ 准确记录实验数据
- ◆ 保存仪器设备自动打印的原始数据

（二）实验数据的贮存

- ◆ 一般记录的介质有实验专用记录本（卡）、计算机的硬盘、光盘、U盘等。
- ◆ 应做好必要的数据备份。

二、实验数据的检查与核对

三、数据缺项与差错的处理

四、实验数据的分类与整理

- ◇ 应先区别原始数据是数量性状资料还是质量性状资料。不同类型的数据采用不同的整理方法。

(一) 数量性状资料

1. **计数资料**：指用计数方式而获得的资料。这类资料每个变量或变数 (variable) 必须以整数表示，在两个相邻的整数间不允许有带小数的数值存在。如产仔数、成活数、雌雄数等。
2. **计量资料**：指通过直接计量而得来的以数量为特征的资料，系用度量衡等计量工具直接测定的。如体重、血压、肺活量、脏器重量等。

(二) 质量性状资料

- ◆ 指一些能观察到而不能直接测量的性状资料，又称属性性状资料。如毛色、性别、生死等。对于质量性状资料的分析，必须将质量性状数量化，其方法有：
 1. **统计次数法**：根据动物的某一质量性状的类别统计其次数，以次数作为质量性状的数据。在分组统计时，可按质量性状的类别进行分组，再统计各组出现的次数。
 2. **评分法**：对某一质量性状，因类别不同，分别给予评分或用数字划分等级，如动物对某一病原的感染程度，可分为0(免疫)、1(一过性感染)、2(顿挫性感染)、3(致死性感染)；病理组织坏死情况可分为：无(-)，25%以下坏死(+)，25~50%坏死(++)，50%~75%坏死(+++)，75%以上坏死(++++)。这样就可将质量性状资料量化，以利进一步统计处理与分析。

五、实验数据的统计学处理

- ◆ 生物统计学处理数据的方法很多，最常用的统计学方法有：各组间计量资料的比较用方差分析法（F检验），各组间计数资料的比较用卡方检验（ χ^2 检验），通过概率计算得出各组间差异是否具有显著性意义。一般认为两组数据之间差异概率 $P \leq 0.05$ 具有显著性意义， $P \leq 0.01$ 具有极显著性意义，表明两组数据之间的差异不是抽样误差，而是处理因素作用所致。
- ◆ 现在一般实验数据的统计学处理有专用软件，如SPSS、SAS、SYSTAT、GraphPad Prism等。

第五节、动物实验设计方法

(一) 单组比较设计

单组比较设计是指在同一个体上观察实验处理前后某种观测指标的变化。优点是能清楚个体间生物差异，但不适用于在同一个体上多次进行实验和观察的情况。

（二）配对设计（paired design）

是将动物按某些特征或一定条件配成对，再将每对中两个动物随机分配到两个不同处理组中。配对的因素是影响试验效应的主要非处理因素，如动物性别、体重，两组动物取得均衡进行实验，以减少误差及动物间的个体差异。

(三) 随机区组设计

是配对设计的扩大。将全部动物按体重、性别及其他条件等分为若干组，每组中动物数目与拟划分的组数相等，体质条件相似，再将每个区组中的每一只动物进行编号，利用随机数字法将其分配到各组。

（四）完全随机设计（completely random design）：

是将各个实验对象随机分配在各组，并从各组实验结果的比较中得出结论。通常用随机排列表法进行完全随机化分组。

➤ 随机化分组：避免人为影响

➤ 例：将14只小鼠随机分成两组。

➤ ①先将小鼠编为1~14号，

➤ ②在随机数字表上任点一数，按任意方向连续抄14个随机数字。编排如下：

➤ 动物编号 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
➤ 随机数字 16 22 77 94 39 49 54 43 54 82 17 37 93 23
➤ 归 组 B B A B A A B A B B A A A A

➤ ③奇数代表A组，偶数代表B组

➤ ④A组: 3 5 6 8 11 12 13 14

➤ B组: 1 2 4 7 9 10

➤ ⑤调整分组: 接刚才随机数字23继续抄表得随机数字78, 用78除以8 (因为需要把A组的8个数字调整掉一个), 得余数6, 所以把A组的第6个动物, 即12号动物调整到B组

➤ ⑥ 最终分组

➤ A组: 3 5 6 8 11 13 14

➤ B组: 1 2 4 7 9 10 12

例：12只大鼠随机分为3组

①大鼠编号1~12

②在随机数字表上任点一数，按任意方向连续抄12个随机数字。

③每个数分别用3除，记录余数，

④ 根据余数分组

大鼠编号：	1,	2,	3,	4,	5,	6,	7,	8,	9,	10,	11,	12
随机数字：	08,	27,	01,	50,	15,	29,	39,	39,	43,	79,	69,	10
余数：	2,	0,	1,	2,	0,	2,	0,	0,	1,	1,	0,	1
组别：	B,	C,	A,	B,	C,	B,	C,	C,	A,	A,	C,	A

⑤ A: 3, 9, 10, 12

B: 1, 4, 6

C: 2, 5, 7, 8, 11

⑥调整分组: 接刚才随机数字10继续抄表得随机数字61, 用61除以5 (因为需要把C组的5个数字调整掉一个), 得余数1, 所以把C组的第1个动物, 即2号动物调整到B组。

⑦最终分组

A: 3, 9, 10, 12

B: 1, 2, 4, 6

C: 5, 7, 8, 11

（五）交叉设计（cross-over design）：

是在自身配对设计基础上发展起来的。该设计考虑了一个处理因素（A、B两水平），两个与处理因素无交互作用的非处理因素（试验阶段和受试对象）对试验结果的影响。

首先将条件相近的观察对象配对并依次编号，再用随机的方法将各对观察对象分配到A、B两组；其中一个观察对象在第Ⅰ阶段接受A处理，第Ⅱ阶段接受B处理；另一个观察对象在第Ⅰ阶段接受B处理，第Ⅱ阶段接受A处理。因而要求观察对象的例数为偶数。

由于A、B两种处理在全部试验过程中“交叉”进行，故称为交叉试验设计。

（六）拉丁方实验设计（Latin square design）：

是按拉丁方阵的字母、行和列安排实验（或试验）的三因素等水平的设计。该设计同时考虑三个因素对试验结果的影响。

第六节、动物实验室的选择

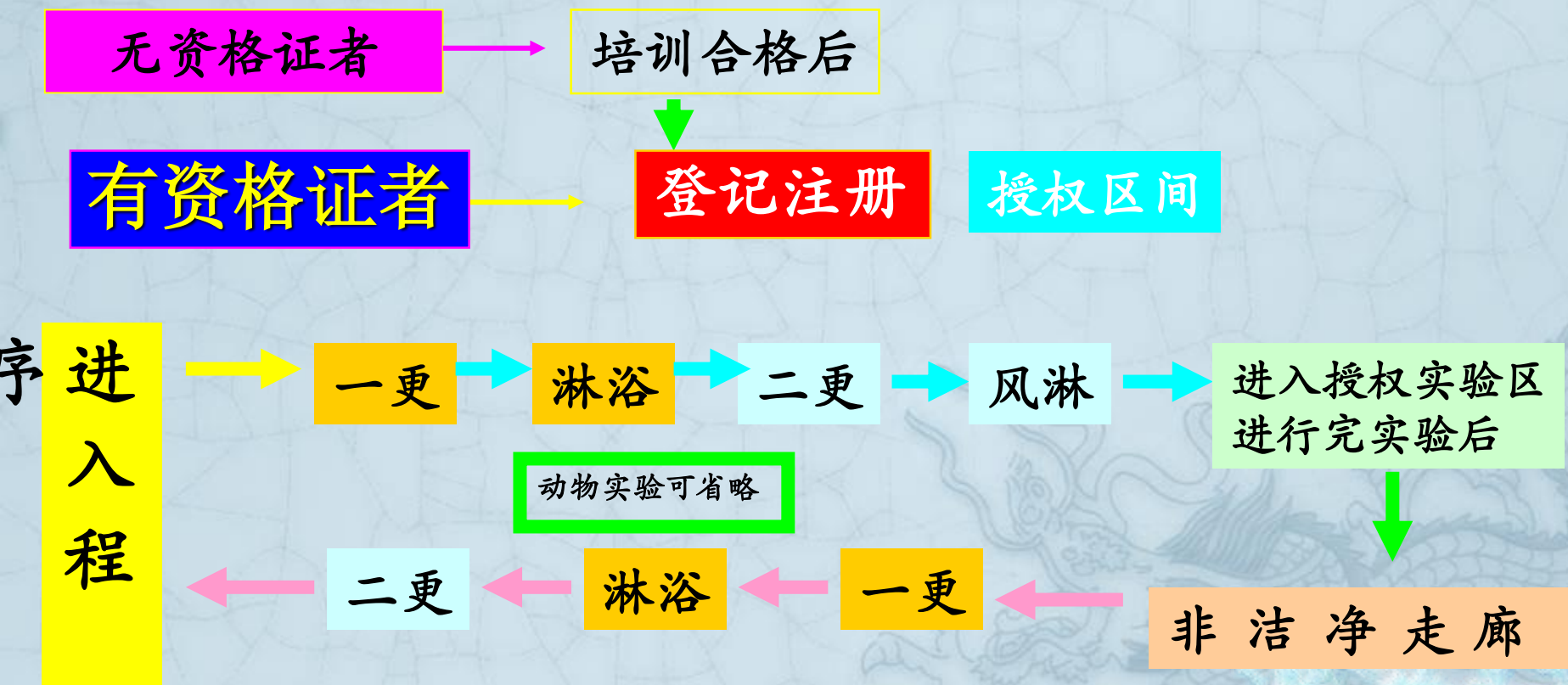
- ◆ 根据实验目的选择合适的**实验室及饲养室**
- ◆ 动物实验室要与实验动物**同等级别**
- ◆ 饲养室应符合实验动物的生活习性及国家实验动物设施各项**标准**

实验人员无菌化准备

实验人员着装

实验服
连身衣
脚套
头套
口罩
手套





(1) 一般准备 进屏障区域要换穿无菌隔离服，戴好口罩及帽子。

(2) 口罩：要盖住鼻孔，帽子要盖住全部头发。剪短指甲，并除去甲缘下积垢。手臂皮肤破损有化脓感染时，不能接触动物。

(3) 穿无菌隔离服和戴手套的方法

目前多数屏障设施都采用经高压蒸汽灭菌的胶手套。如用胶手套，应先戴手套，再穿无菌隔离服。

洗手与手的消毒

1. 概念 将手涂满肥皂泡沫并对其所有表面进行强有力的短时揉搓，然后用流动水冲洗的过程，称洗手。

2. 目的 清除手上的微生物，切断通过手传播感染的途径。

3.方法和步骤（六步洗手法）

每次接触动物后应立即进行手部清洗和消毒。离开实验区时，脱隔离服后再次用流水及肥皂冲洗手，每次冲洗1分钟左右。手消毒用0.3%~0.5%碘伏消毒液或快速手消毒剂(洗必泰、新洁尔灭醇、75%酒精等)揉搓1-3分钟。

掌心擦掌心

手指交错掌心擦掌心

手指交错掌心擦手背



A



B



C

双手互握互擦指背

指尖摩擦掌心

拇指在掌中转动



D



E



F

六步洗手法

洗手注意事项

- (1) 洗手时操作程序正确，手的各个部位要洗到
- (2) 洗手时水不可外溅不污染周边环境及工作服
- (3) 洗手后不可检出致病微生物
- (4) 在下列情况下应认真洗手：
 - ①进入和离开动物实验室前
 - ②接触干净物品前和处理污染物后
 - ③无菌操作前后，接触动物伤口前后
 - ④戴无菌手套前和脱手套后
 - ⑤护理任何动物前后

消毒剂的选择

- (1) 选择作用速度快、不损伤皮肤、杀菌效果好的消毒液。
- (2) 可选择75%酒精、0.5%碘伏、0.5%洗必泰酒精、含氯消毒剂或过氧乙酸等。

第七节、动物的选择

- ◆ 相似性原则
- ◆ 特异性原则
- ◆ 适宜规格的原则
- ◆ 标准化原则
- ◆ 经济易获性原则
- ◆ 借鉴与法规

实验动物分组

实验动物分组

①分组原则

实验动物分组应严格按照**随机分组**的原则进行，使每只动物都有同等机会被分配到各个实验组中去，尽量避免人为因素对实验造成的影响。

②建立对照组

实验动物分组时应特别注意建立对照组。对照组**可分自身对照组和平行对照组**。

实验动物标记编号

标记编号方法应保证编号不对动物生理或实验反应产生影响，且号码清楚、易认、耐久和适用。

目前常用的标记编号方法有电子芯片植入法、染色法、耳孔法、烙印法、挂牌法、剪毛法等标记编号方式。

动物安装电子标签的基本方法包括有：颈圈式、耳标式、可注射式和药丸式电子标签。

(1) 颈圈式电子标签能够非常容易地从一头动物身上换到另外一头动物身上。主要应用于厩栏中的自动饲料配给以及测定牛奶产量。

(2) 耳标式电子标签的性能大大优于条码耳牌。因为电子标签比起条码存储的数据多得多，而且适合于有油污、雨水的恶劣环境，阅读器与电子标签相距最远数米都可以把数据读出来，而只有几个厘米大小的条码耳牌，要放到条形码阅读器旁边，才能识别这些动物，因此不适用于全自动化过程。

(3) 可注射式电子标签是在近几年才开始应用。其原理是利用一个特殊工具将电子标签放置到动物皮下，因此在动物的躯体与电子标签之间就建立起了一个固定的联系，这种联系只有通过手术才能撤消。



染色法

- ◆ 涂染法是用单一颜色的染色剂涂染实验动物不同部位的方法。
- ◆ 分类：单染色法、双染色法。

单染色法

单色涂染法是用单一颜色的染色剂涂染实验动物不同部位的方法。常规的涂染顺序是从左到右、从上到下。在每组动物不超过10只的情况下适用。

实验动物：大鼠、小鼠。

常用染色剂：3-5%苦味酸溶液，可染成黄色。

方法步骤：

- (1)涂染顺序：从左到右、从上到下。
- (2)左前肢为1号、左侧腹部2号、左后肢3号。
- (3)头部4号、背部5号、尾根部6号。
- (4)右前肢7号、右侧腹部8号、右后肢9号。
- (5)不作染色标记为10号。

双染色法

双色涂染法是采用两种颜色同时进行染色标记的方法。在每组动物不超过100只的情况下适用。

实验动物：大鼠、小鼠。

常用染色剂：

(1)3-5%苦味酸溶液，可染成黄色。——作为“个”位数。

(2)0.5%中性红或品红溶液，可染成红色。——作为“十”位数。

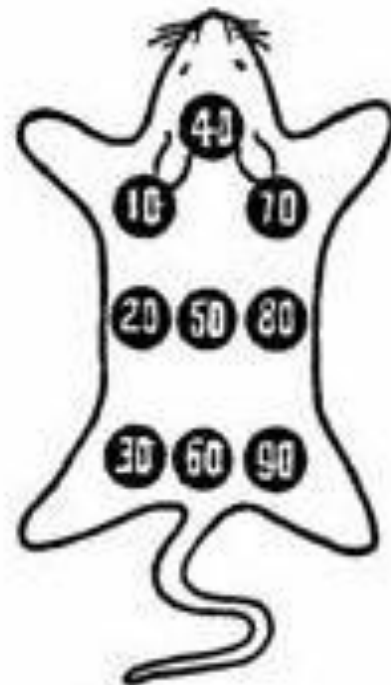
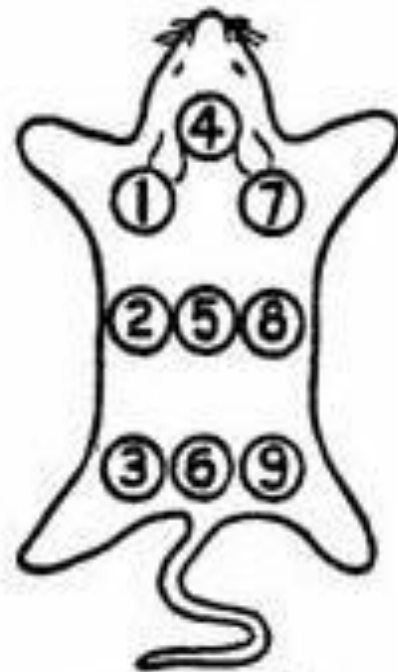
方法步骤：

(1)用两种颜色同时进行染色标记。

(2)用苦味酸(黄色)染色标记作为个位数，个位数的染色标记方法同单色涂染法。

(3)用品红(红色)染色标记作为十位数，

(4) 左前肢为10号、左侧腹部20号、左后肢30号，头部40号、背部50号、尾根部60号，右前肢70号、右侧腹部80号、右后肢90号第100号不作染色标记。



常用染色剂

- A、3% ~ 5% 苦味酸 溶液，可染成黄色。
- B、0.5% 中性红 或 品红 溶液，可染成红色。
- C、2% 硝酸银 溶液，可染成咖啡色（涂染后在可见光下暴露十分钟）。
- D、煤焦油酒精溶液，可染成黑色。

染色方法：适用于被毛白色的实验动物如大白鼠、小白鼠等。

染色法虽然简单方便，不会给实验动物造成损伤和痛苦，但是长时间实验会使涂染剂自行褪色，或由于实验动物互相嬉闹、舔毛、摩擦、换毛、粪尿和饮水浸湿被毛等原因，易造成染色标记模糊不清，因而染色法对慢性实验不适用。如果所做慢性实验只能采用此种染色方法，则应注意不断地补充和加深染色。

常用染色剂的毒性对实验动物的影响也是需要注意的一个问题。

耳孔法

耳孔法是用打孔机直接在实验动物的耳朵上打孔编号，根据打在动物耳朵上的部位和孔的多少，来区分实验动物的方法。用打孔机在耳朵打孔后，必须用消毒过的滑石粉抹在打孔局部，以免伤口愈合过程中将耳孔闭合。

耳孔法可标记三位数之内的号码。

另一种耳孔法是用剪刀在实验动物的耳郭上剪缺口的办法，作为区分实验动物的标记。



90 80 70 60 50 40 30 20 10 1 2 3 4 5 6 7 8 9



(例：No.5)



(例：No.73)

④烙印法

烙印法是直接把标记编号烙印在实验动物身体上的方法，尤如盖印章一样。

烙印方法有两种，对犬等大动物，可将标记号码烙印在其皮肤上（如耳、面、鼻、四肢等部位），对家兔、豚鼠等动物，可用数字号码钳在其耳朵上刺上号码；烙印完成后，伤口涂抹酒精黑墨等颜料，即可清楚读出号码。

烙印法对实验动物会造成轻微损伤，操作时宜轻巧、敏捷，必要时麻醉，以减少痛苦。





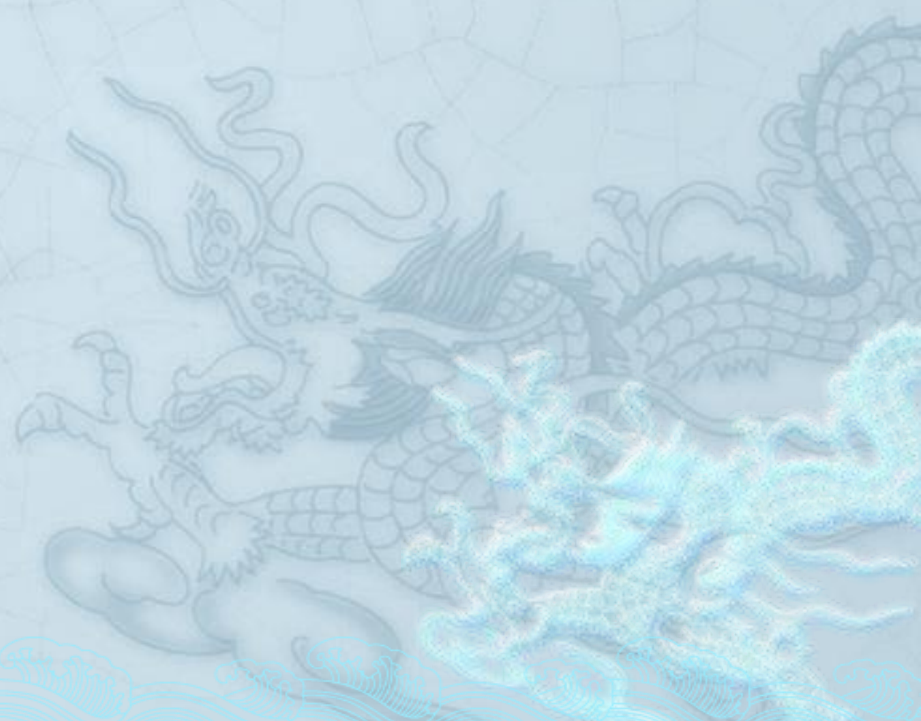
© Copyright 2004, ALMS®. All rights reserved.
Reproduction without written permission
is strictly prohibited.

⑤挂牌法

挂牌法是将编好的号码烙印在金属牌上，挂在实验动物颈部、耳部、肢体或笼具上，用来区别实验动物的一种方法。金属牌应选用不生锈、刺激小的金属材料，制成轻巧、美观的小牌子。

◆ 相似性原则

- ◆ 尽量选用与人体结构、功能、代谢及疾病特征相似的动物。
- ◆ 目的：对动物和人类疾病进行类比研究，解决人类疾病的预防和治疗问题。因此，动物的进化程度在选择实验动物时应是首先考虑的问题。



人和实验动物在解剖、生理及代谢方面的相似点

动物	相似点
小鼠	老龄肝变化
大鼠	脾脏，老龄胰变化，老龄脾变化
兔	脾脏血管，脾脏，免疫，神经分布，鼓膜张肌
豚鼠	脾脏、免疫
猫	脾脏血管，蝶骨窦，表皮，锁骨，硬膜外，脂肪分布，鼓膜张肌
狗	垂体血管，肾动脉，脾脏，脾脏血管，蝶骨窦，肾脏血管，肝脏，表皮，核酸代谢，肾上腺神经分布，精神变化
猪	心血管分支，红细胞成熟，视网膜血管，胃肠道，肝脏，牙齿，肾上腺，皮肤，雄性尿道
绵羊	脾脏血管，汗腺
山羊	静脉管
灵长类	脑血管，肠循环（猩猩），胎盘循环，胰管，牙齿，肾上腺，神经分布，核酸代谢，坐骨区（新世界猴），脑（大猩猩），生殖行为，胎盘，精子
牛	升结肠
马	肺血管，胰管，肝脏

标准化原则

尽量选用符合国家标准实验动物

标准化动物系遗传背景明确，具有已知菌丛和模型性状显著且稳定的动物。实验动物质量合格证，是标准化实验动物的标志。

- 动物购买： 具有动物生产和质量合格证的单位。

◆ 特异性原则

- ◆ 尽量选用解剖、生理特点符合实验目的要求的动物，是保证实验成功的关键因素。
- ◆ 很多实验动物具有某些解剖生理特点，为实验所要观察的器官或组织等提供了很多的便利条件，如能适当使用，将减少实验准备方面的麻烦，降低操作难度，使实验容易成功。

充分利用不同品系实验动物存在的某些特殊反应

- ◆ 不同种系实验动物对同一因素的反应往往是相似的，即共同性，但也有特殊反应，有特殊性。
- ◆ 家兔对体温变化十分敏感——发热、解热和检查致热原等实验研究。小鼠和大鼠体温调节不稳定，不宜选用；
- ◆ 家兔对放射线十分敏感，发生休克，常选用小鼠、大鼠、犬和猴等。
- ◆ 鸽子、家犬、猴和猫的呕吐反应敏感——适宜做呕吐实验。家兔、豚鼠等草食动物呕吐反应不敏感，小鼠和大鼠无呕吐反应。
- ◆ 豚鼠易于过敏——过敏性实验研究。

适宜规格的原则

1、年 龄

不同品种（品系）的实验动物其寿命各不相同，年龄不同，生物学特性不同，受到外界因素作用时，可呈现不同的反应。

如果对狗和小鼠均观察一年，所反应的发育过程是不同的；即使同样是狗，不同的年龄阶段所得的实验数据也不尽相同。

一般实验应该选择性成熟的青壮年动物为宜。幼龄动物的某些功能尚不完善，而老年动物的各系统功能和代谢作用均下降，除特殊试验外（如老年医学研究），也不宜选用。

2、体 重

实验动物年龄与体重一般呈正相关，可按体重推算年龄。例如**KM小鼠6周龄时**雄性约为**32g**，雌性**28g**；**Wistar大鼠**雄性约为**180g**，雌性**160g**。

一般来说，选择的实验动物年龄、体重应尽可能一致，若相差悬殊，则易增加动物反应的个体差异，影响实验结果的准确性。

不同品种、品系的动物都有各自的生长曲线，如大小鼠，同龄而不同品种、品系，其体重有差异。

42天	Wistar	雄性	187g	雌性	166g
	SD	雄性	206g	雌性	172g

3、性 别

- 性别不同，对实验的敏感程度也不同。
- 如用戊巴比妥钠麻醉大鼠，雌性动物的敏感性是雄性动物的2.5~3.8倍；雌性小鼠对四环素毒素的耐受力低于雄鼠。
- 一般来说，若对实验动物性别无特殊要求，则宜选用雌雄各半，以避免因性别差异所造成的结果误差。

4、生理状况

动物如果怀孕、哺乳、换毛等，对实验结果影响很大，因此实验不宜选用处于特殊生理状态下的动物进行。

家兔有年龄性换毛和季节性换毛，每年的4~5月和9~10月为季节性换毛。年龄性换毛有两次，出生100天时第一次，5月龄时第二次。换毛时家兔的抵抗力最差，尤其是第二次年龄性换毛时更差。

在实验过程中发现动物怀孕，则体重及某些生理、生化指标均可受到严重影响，有时应将怀孕动物剔除。

5、品种、品系的不同

不同药物或化合物，在不同种系动物上引起的反应是有很大差异的。这些在选择实验动物时必须加以注意。

实验动物对某些药物反应的差异

- **雌激素** 能终止大鼠、小鼠妊娠 但不能终止人的妊娠
- **吗啡** 对犬、兔、猴、大鼠、人 中枢抑制 对小鼠、猫有兴奋
- **安妥明**（降血脂药）使家犬下肢瘫痪 对其它动物无此副作用
- **鹤草酚**（驱虫药）使家犬失明 对猴无此副作用
- **苯** 引起家兔白细胞减少 狗白细胞增多
- **苯胺及其衍生物** 引起犬、猫、豚鼠与人相似的病理变化—变性血红蛋白，对家兔则不易引起，对鼠则完全不产生。

经济易获性原则

尽量选用结构与功能简单又能反映研究指标的动物

- ◆ 复制动物模型时，在条件允许的情况下，尽量考虑与人相似、进化程度高的动物作模型。但不能因此就认为进化程度越高等的动物其所有器官和功能越接近人类。
- ◆ 动脉粥样硬化：非人灵长类，病变部位经常在小动脉，与人类分布不同；鸽子作模型，胸主动脉出现的黄斑面积可达10%，镜下变化与人也较相似。
- ◆ 果蝇具有生活史短（12天），饲养简便，染色体少（4对），唾液腺染色体制作容易等优点，是遗传学研究的绝好材料。

充分考虑有关实验动物政策法规及伦理道德问题

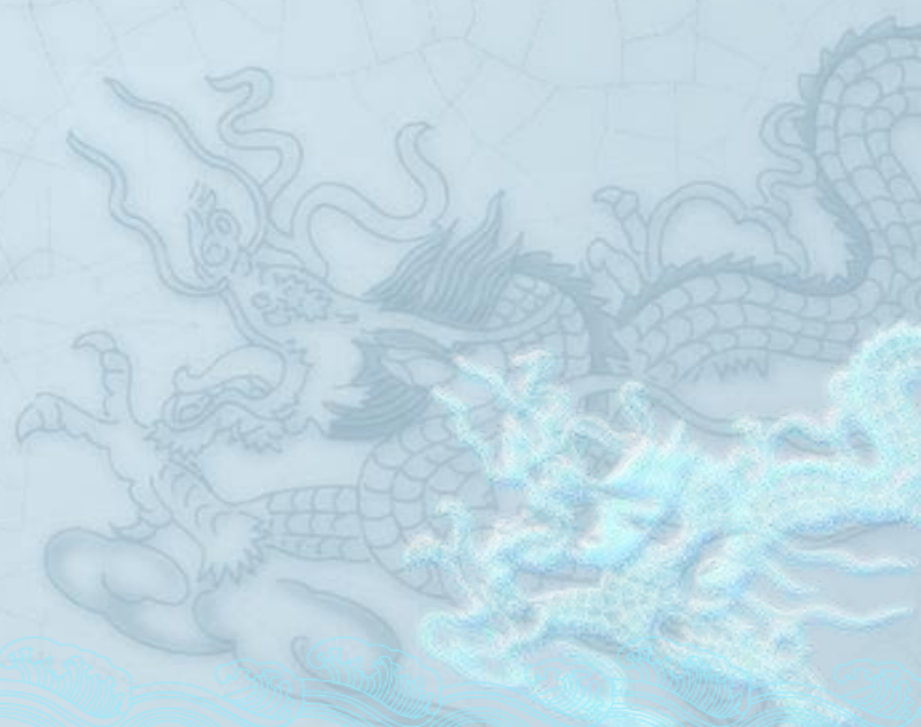
- ◆ 我国制定了关于实验动物和动物实验方面的政策、法规、国家标准和规范。国际上要求动物实验达到良好实验室操作规范（GLP）和标准操作程序（SOP），对实验动物选择和应用、实验室条件、工作人员素质、技术水平和操作方法都要求标准化。
- ◆ “3R”原则：目前在国内外已被普遍关注和接受，它不但体现了对于实验动物的爱惜、保护和伦理道德，同时也体现了科学地进行动物实验的观念。

第二部分 动物实验技术

- ◆ 不同的实验动物选择不同的保定和抓取方法。
- ◆ 不同的抓取和保定有利于任何动物安全。
- ◆ 不同的实验设计和药物剂型，选用不同的给予方式。
- ◆ 不同的实验设计选用不同的手术方法和术后护理。

内容

- ◆ 动物抓取、保定
- ◆ 动物注射
- ◆ 动物的灌胃
- ◆ 动物采血
- ◆ 动物的麻醉
- ◆ 动物外科手术
- ◆ 动物术后观察
- ◆ 动物安乐死



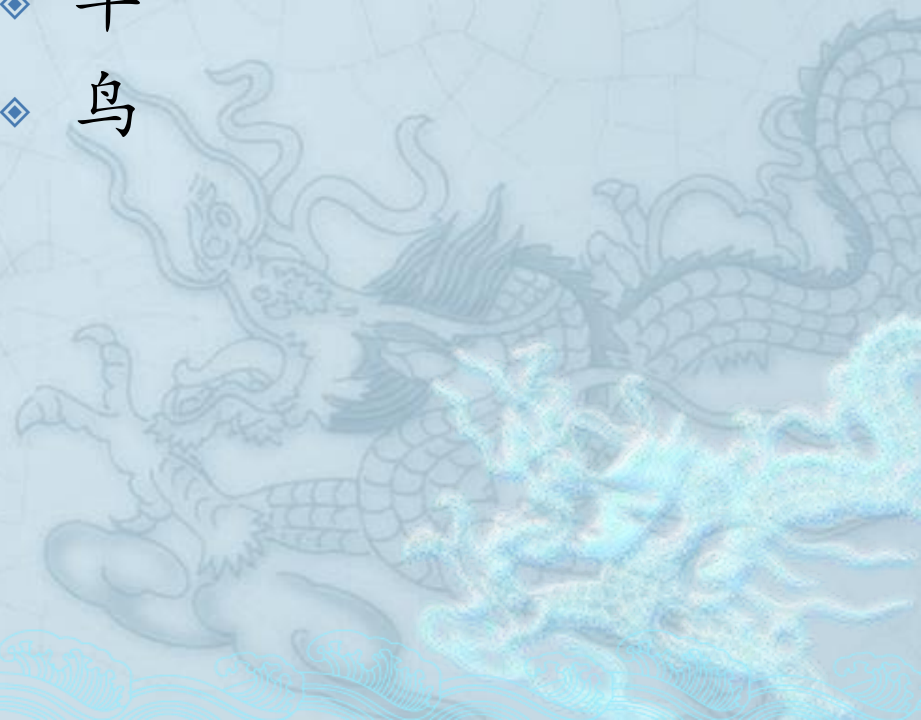
动物的捉拿、保定

- ◆ **原则：** 保证实验人员的安全，防止动物意外性损伤，禁止对动物采取突然、粗暴的动作。
- ◆ **方法：** 慢慢友好地接近动物，并注意观察其表情，让动物有一个适应过程，捉拿的动作力争准确，迅速、熟练。
- ◆ **目的：** 力争在动物感到不安之前捉拿好动物。

动物的抓取

- ◆ 小鼠
- ◆ 大鼠
- ◆ 豚鼠
- ◆ 家兔
- ◆ 犬
- ◆ 猫

- ◆ 猪
- ◆ 灵长类
- ◆ 蟾蜍
- ◆ 羊
- ◆ 鸟

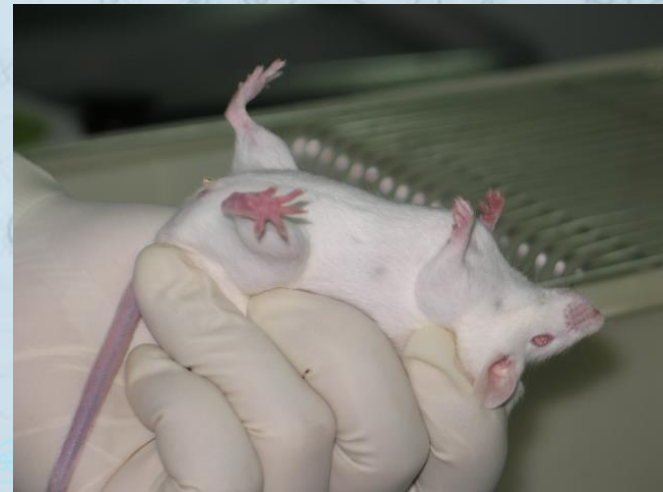


小鼠的捉拿保定操作规程

- ◆ 先用右手抓取鼠尾提起;
- ◆ 置于鼠笼或粗糙实验台向后拉;
- ◆ 在鼠向前爬行时, 用一只手拇指和食指抓住大、小鼠的两耳和颈部皮肤;
- ◆ 将鼠体置于左手心中, 把后肢拉直;
- ◆ 以无名指按住鼠尾, 小指按住后腿即可; 如果大鼠体积太大, 可由第二个人协助固定后肢。

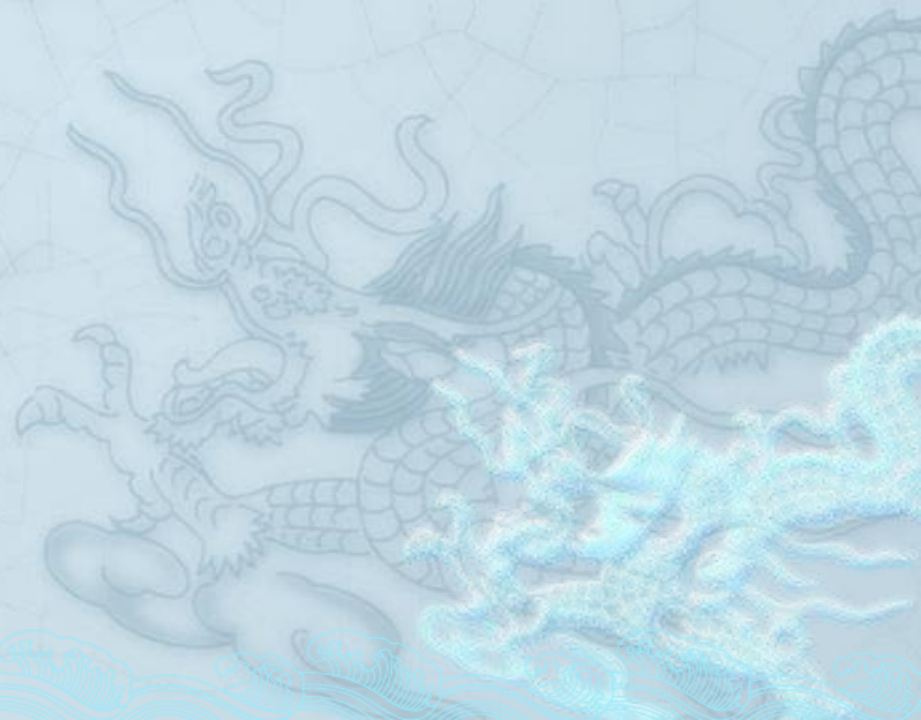
小鼠抓取固定方法

抓取时先用右手抓取鼠尾提起，置于鼠笼或实验台向后拉，在其向前爬行时，用左手拇指和食指抓住小鼠的两耳和颈部皮肤。以无名指按住鼠尾，小指按住后腿即可。



适用范围

- ◆ 肌肉注射
- ◆ 腹腔注射
- ◆ 灌胃



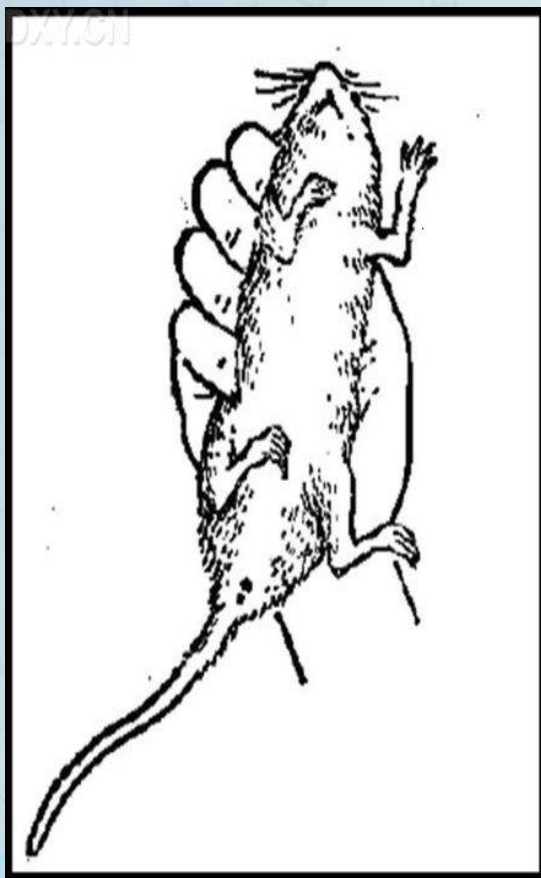
固定板固定法

- ◆ 适用于外科手术或解剖



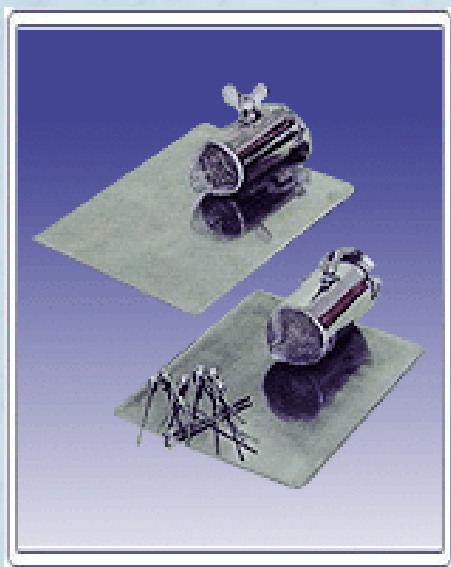
大鼠的抓取固定方法

- ◆ 抓取时为避免咬伤，可带上帆布手套。用拇指和食指捏住鼠耳，余下三指紧捏鼠身体中段皮肤，置于左掌心中，这样右手即可进行各种实验操作

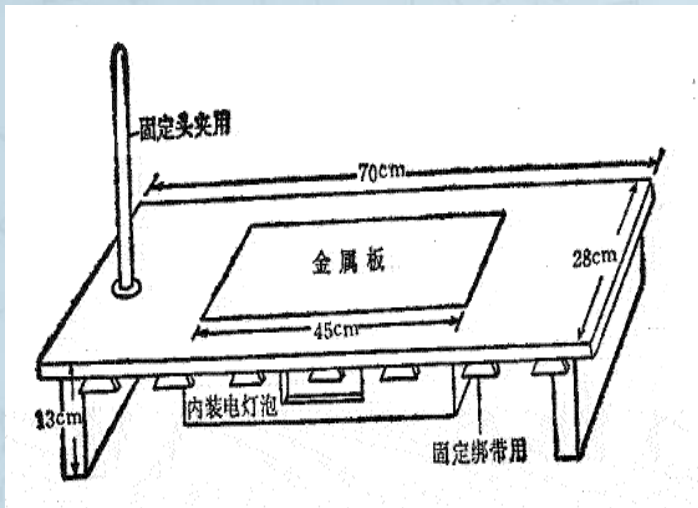




须取尾血或进行尾静脉注射时，
将小鼠固定在特定的固定器中。



- ◆ 大小鼠的固定：若做手术或解剖等，则需事先麻醉或处死，然后用细棉线绳缚腿，背卧位绑在大鼠固定板上



大鼠的捉拿保定



大鼠牙齿很尖锐，在抓取时要小心，不能粗暴，否则就易被其咬伤。

在大鼠较安静时打开盒盖，用右手捏住鼠尾根部提起，不能抓尾尖，也不能让大鼠悬在空中的时间过长，否则容易导致尾部皮肤脱落，并易使实验者被咬伤。

初学者在抓取大鼠时，最好戴防护手套（帆布手套）。

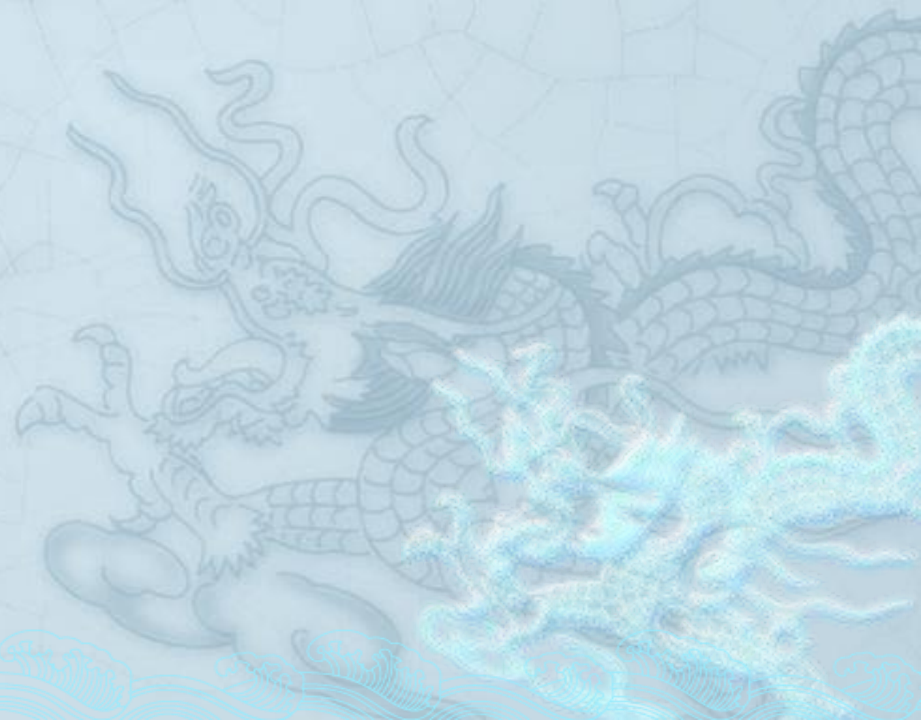
大鼠的捉拿与保定



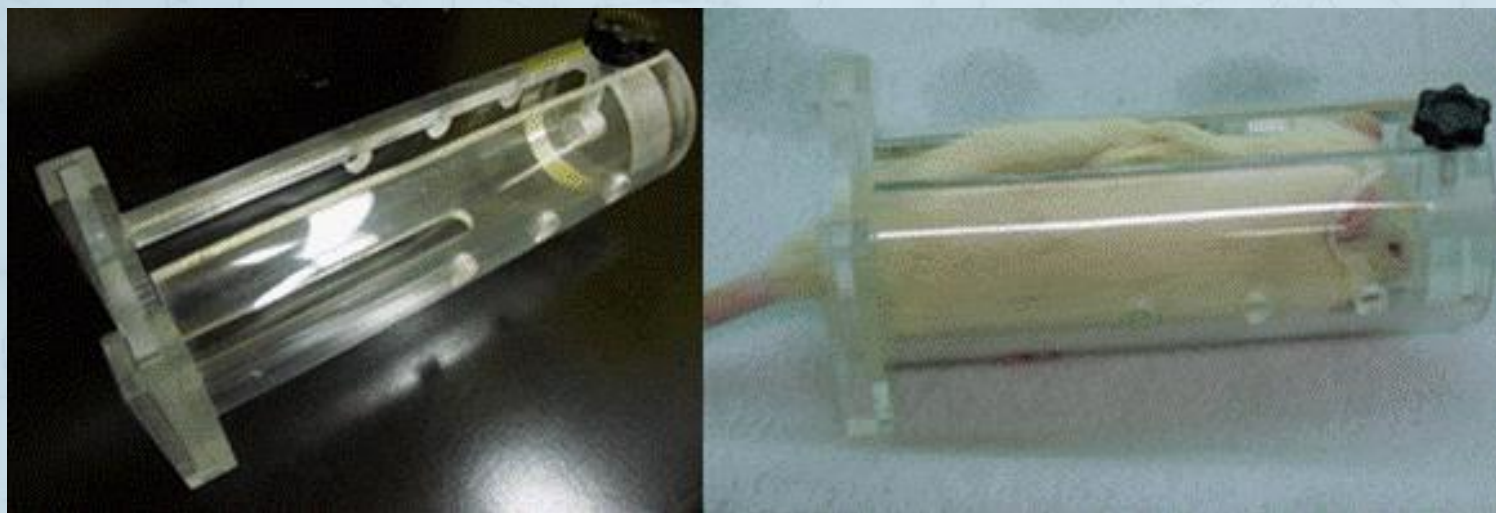
在鼠向前爬行时，用另一只手拇指和食指抓住大鼠的两耳和颈部皮肤
其他3个手指与大鱼际抓住大鼠背部皮肤，翻转手心使大鼠身体呈一条直线。

适用范围

- ◆ 静脉输液
- ◆ 皮下注射
- ◆ 腹腔住着



大鼠的捉拿与保定



兔捉拿和保定

兔的捉拿保定：

连同耳部抓取兔颈背部毛皮一起提起，后用另一只手托住其臀部使兔体重主要落在这只手上。兔一般不咬人，但其爪锐利，当其被捉拿挣扎时，极易引起操作人员抓伤。应防避其四肢的活动。另外不能只提拿兔双耳、双后腿，抓腰、提背部皮毛以避免造成兔耳、肾、颈椎的损伤或皮下出血。

兔捉拿和保定

麻醉后兔的保定一般采用盒式保定架或台式保定架。这类保定方法适用于耳缘静脉采血、注射、血压测定等外科手术性实验。还有一种适用于颅脑部位实验的保定台。

绑缚动物四肢时，应将粗棉带打成活结，不能系死结，以免在紧急情况下迅速松绑困难，造成动物四肢骨折或其它部位的损伤。



Rabbit Restraint



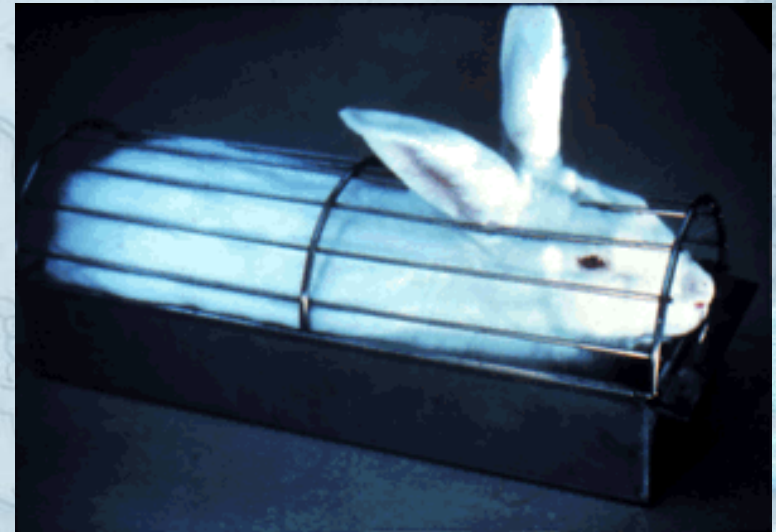
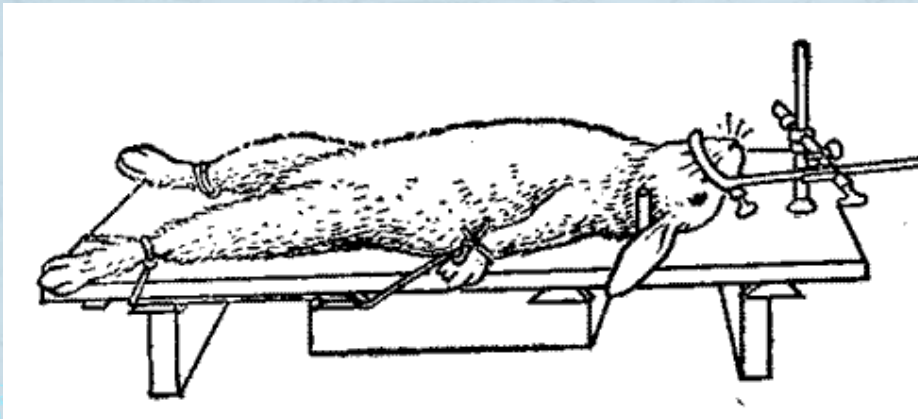
Rabbit Restraint



Rabbit Restraint



兔的保定器械



豚鼠捉拿保定操作规程

- ◆ 先用一只手掌迅速扣住鼠背；
- ◆ 抓住其肩胛上方，以拇指和食指环握颈部，中指和无名指轻轻扣住胸廓；
- ◆ 或象抓取大鼠一样抓住双耳和颈背部皮肤；
- ◆ 另一只手托住臀部。

豚鼠的捉拿保定



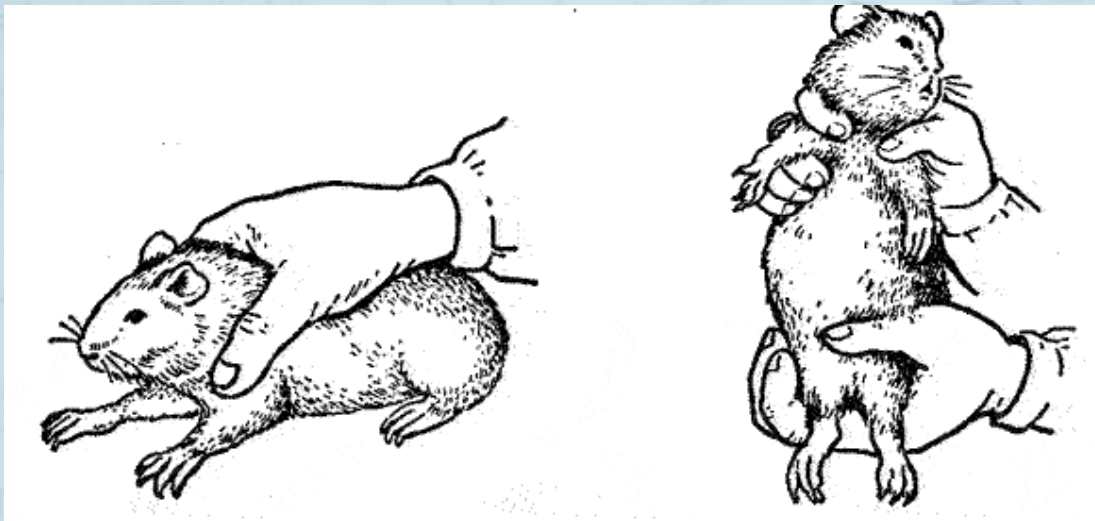
或像抓取大鼠一样抓住双耳和颈背部皮肤。

另一只手托住臀部。

豚鼠的捉拿保定

豚鼠性情温和，胆小易惊，一般不易伤人。

捉拿时先用手掌扣住豚鼠背部，抓住其肩胛上方，
拇、食指环扣颈部，另一只手托住臀部。



- ◆ 该方法不适宜在实验中频频挣扎的情况，操作者的拇、食指会越抓越紧而引起窒息。可用纱布将头部轻轻盖住，操作人员轻轻扶住其背部或者让其头部钻到实验人员拳心或肘窝、腋窝处然后进行实验操作。

蛙的捉拿保定

蛙类保定比较容易，一般不伤人。

方法：操做者以左手食指和中指夹住左前肢，用左拇指按住右前肢、右手拉直双下肢，再用无名指和小指夹住即可用右手进行给药等操作、蟾蜍由于其两耳部突起之毒腺可喷射毒性较强的毒汁，所以在捉拿保定时，切勿挤按其局部，以避免毒汁射进眼中。若实验需要，可将麻醉的或破坏了脑脊髓的蛙类固定在蛙板上。

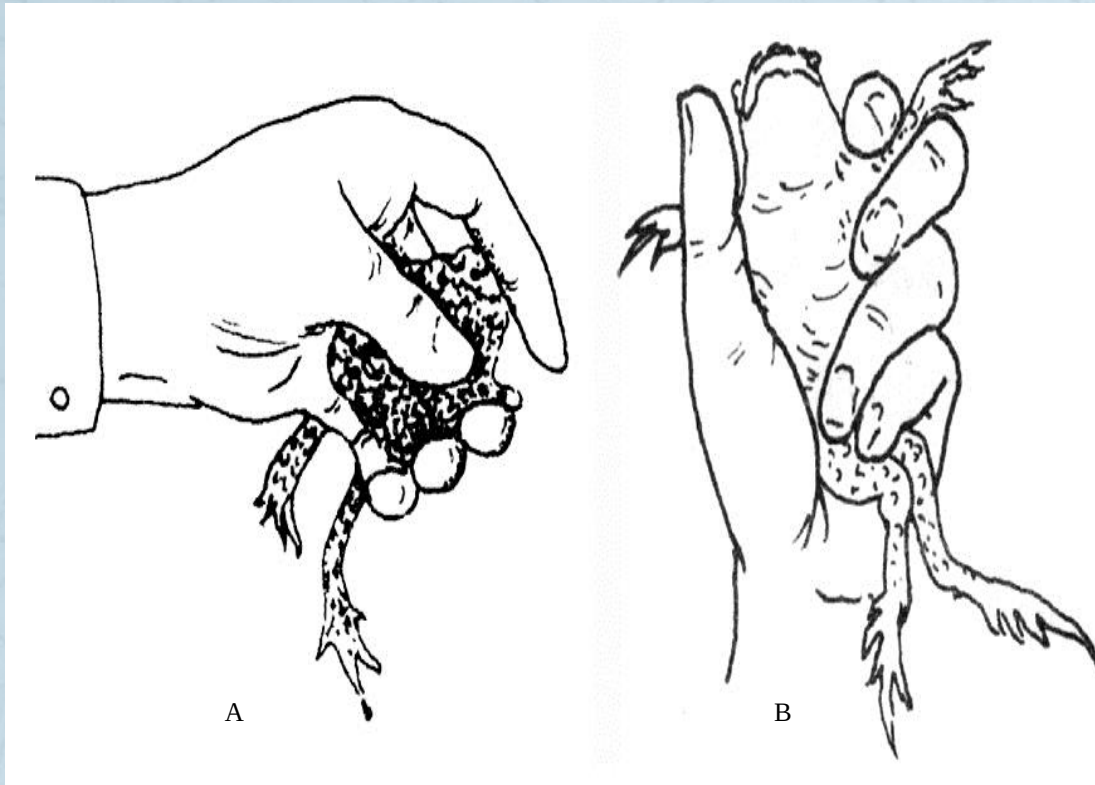


图3-2-1 青蛙(或蟾蜍)捉拿法

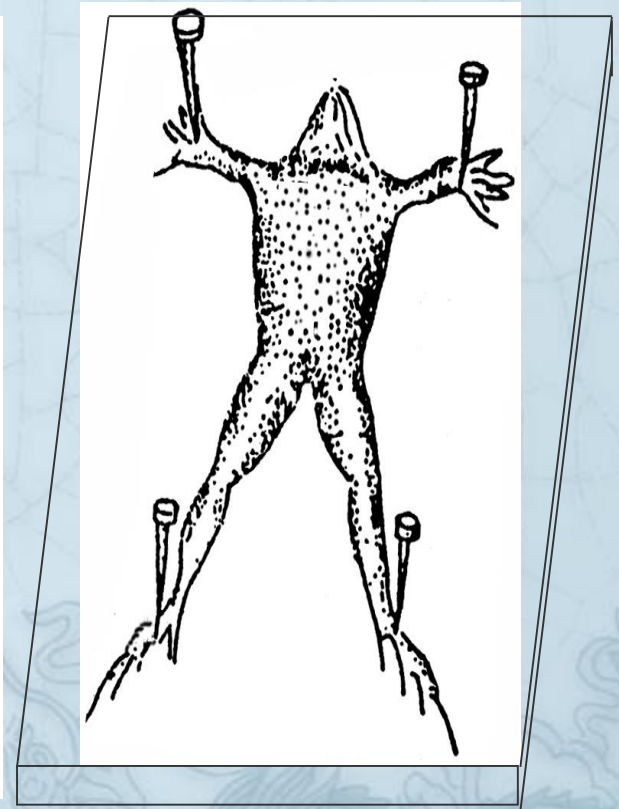


图3-2-2 青蛙(或蟾蜍)固定法

猴的捉拿保定

操作者不应低估猴的力气、顽强和凶猛所造成的危险。

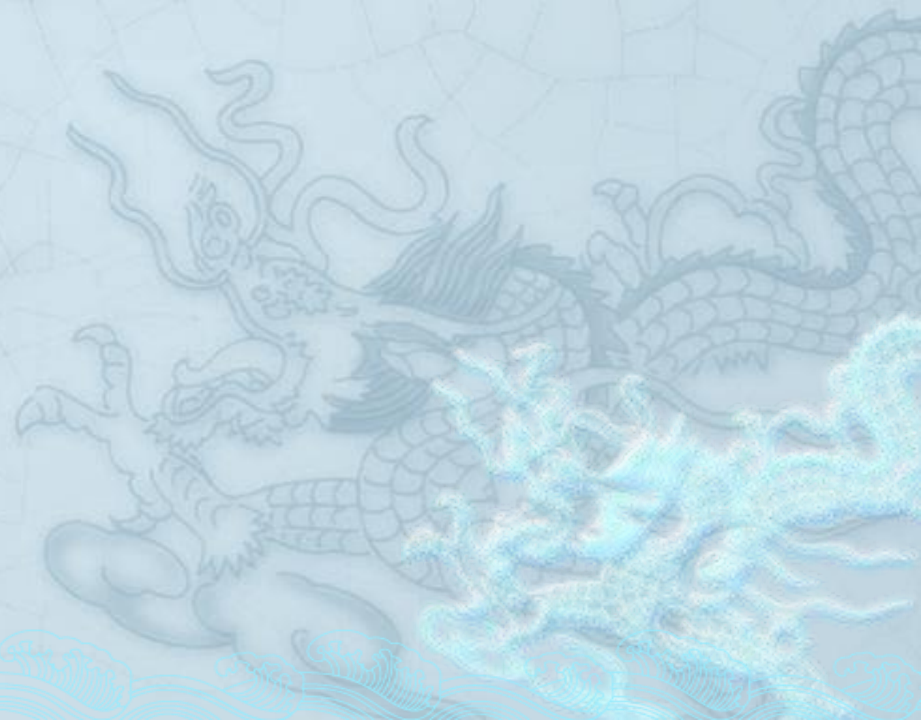
捉取时，特别是没有经验的操作者难以预料猴所做出的反应。如果可能，捉取前应先保定。

捉取猴应备有挤压机械装置，对于体型较小的猴，捉取时应先握紧肘部以上的前臂，并把臂部反扭到背后，同时使它的腿伸直，但应防止臂、腿部骨折。对于体型较大的猴，捉取前应先用化学药物使其制动。



羊的捉拿保定

- ◆ 围抱式
- ◆ 骑跨市
- ◆ 倒提保定



羊的保定

➤ 羊的性情温顺，保定较容易。

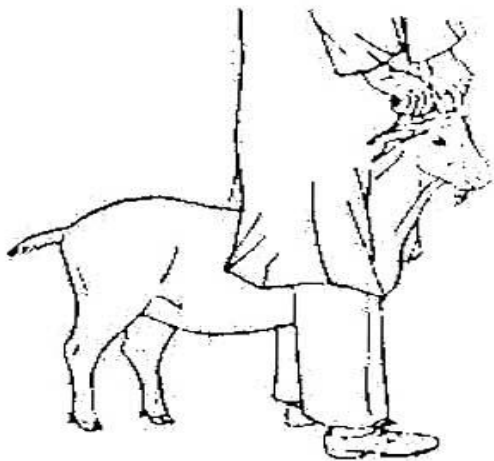
羊有“聚堆”的习性，为捉捕羊的后肢造成有利的条件。在羊群中捉羊时，可抓住一后肢的跗关节或跗前部，羊能被控制。

➤保定者抓住羊的角，骑在羊背部，作为静脉注射或采血等操作时的保定。又可面向尾侧 骑在羊身上，抓紧两侧后肢膝褶，将羊倒提起，其后再将手移到跗前部并保持之。

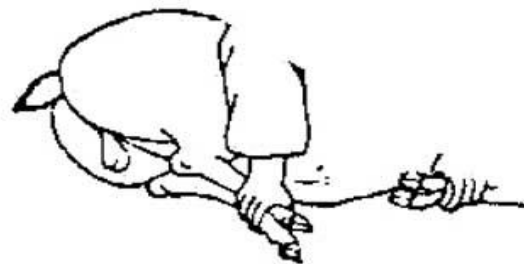
➤ 对体格较大的羊进行卧倒时，右手提起羊的右后肢，左手抓在羊的右侧膝皱襞，保定者用膝抵在羊的臀部。左手用力提拉羊的膝褶，在右手的配合下将羊放倒，后捆住四肢。

羊的保定

1 站立保定 两手握住羊的两角，骑跨羊身，以大腿内侧夹持羊两侧胸壁即可保定。可用于临床检查或治疗。

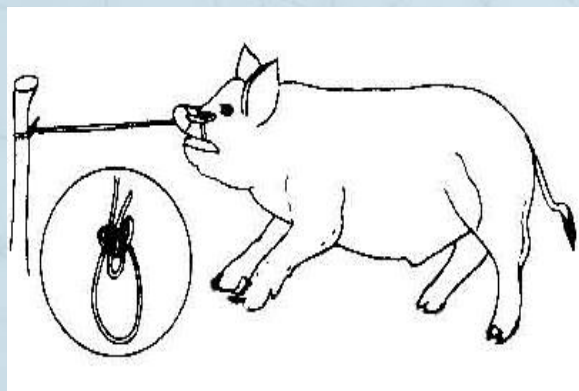


2 倒卧保定 保定者俯身从对侧一手抓住两前肢系部或抓一前肢臂部，另一手抓住腹肋部膝襻处扳倒羊体，然后改抓两后肢系部，前后一起按住即可。此法可用于治疗或简单手术。



猪的保定

1 站立保定 先抓住猪耳、猪尾或后肢，然后做进一步保定。也可在绳的一端做一活套，使绳套自猪的鼻端滑下，套入上颌犬齿后面并勒紧，然后由一人拉紧保定绳或拴于木桩上，此时，猪多呈用力后退姿势。此法适用于一般的临床检查、灌药和注射等。

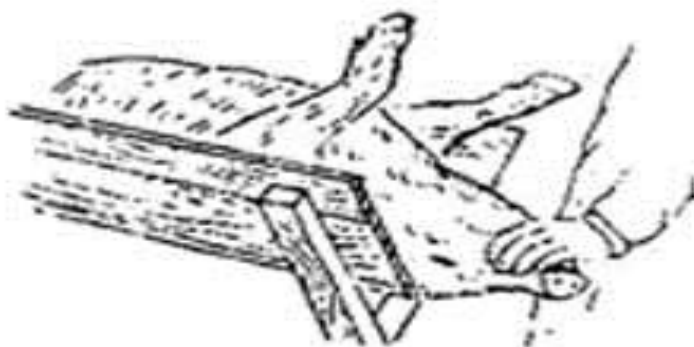


2 提举保定 抓住猪两耳，迅速提举，使猪腹部朝前，同时用膝部夹住其颈胸部。此法用于胃管投药及肌肉注射。

猪的保定

3 **网架保定** 取两根木棒或竹竿（长100~150cm），按60~75cm的宽度，用绳织成网床。将网架于地上，把猪赶至网架上，随即抬起网架，

4 保定架保定 将猪放于特制的活动保定架或较适宜的木槽内，使其成仰卧姿势，或行背位保定。此法可用于前腔静脉注射及腹部手术等。





猪的保定

5 侧卧保定 左手抓住猪的右耳，右手抓住右侧膝部前皱褶，并向术者怀内提举放倒，然后使前后肢交叉，用绳在掌跖部拴紧固定。此法可用于大公、母猪去势，腹腔手术，耳静脉、腹腔注射。

6 后肢提举保定 两手握住后肢飞节并将其提起，头部朝下，用膝部夹注背部即可固定。此法可用于直肠脱的整复、腹腔注射以及阴囊和腹股沟疝手术等。



犬的保定

1 扎口保定

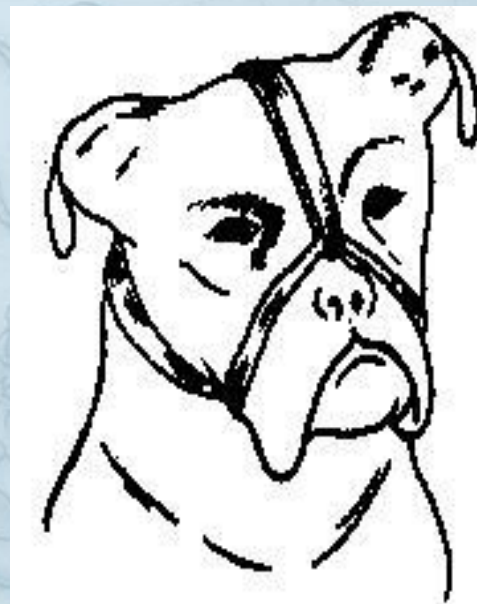
用绷带在犬的上下颌缠绕两圈后收紧，交叉绕于颈部打结，以固定犬嘴不得张开。

此法可用于一般检查。

长嘴犬

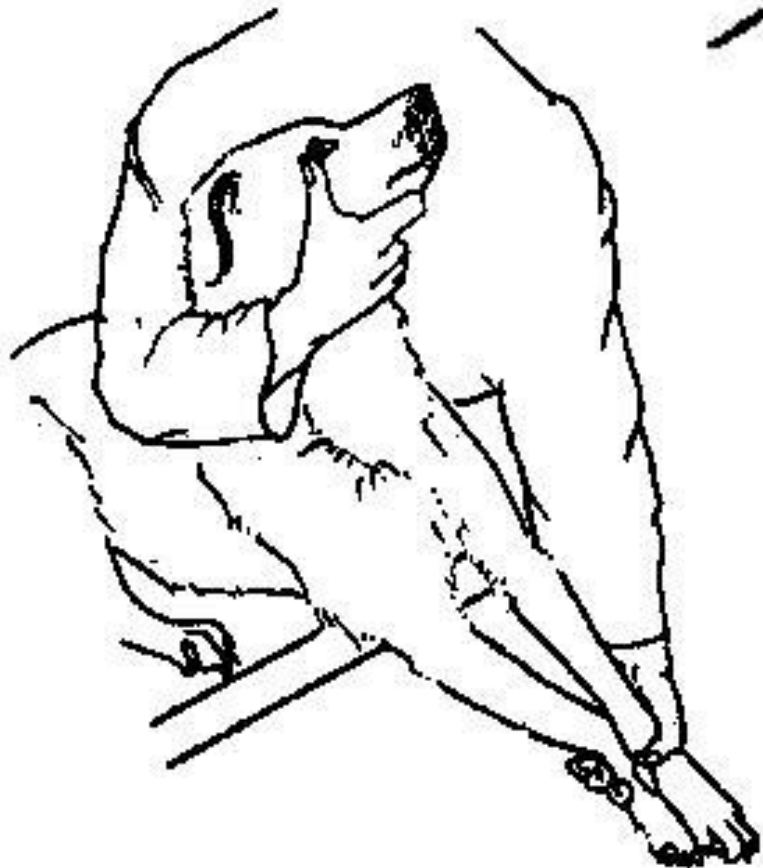
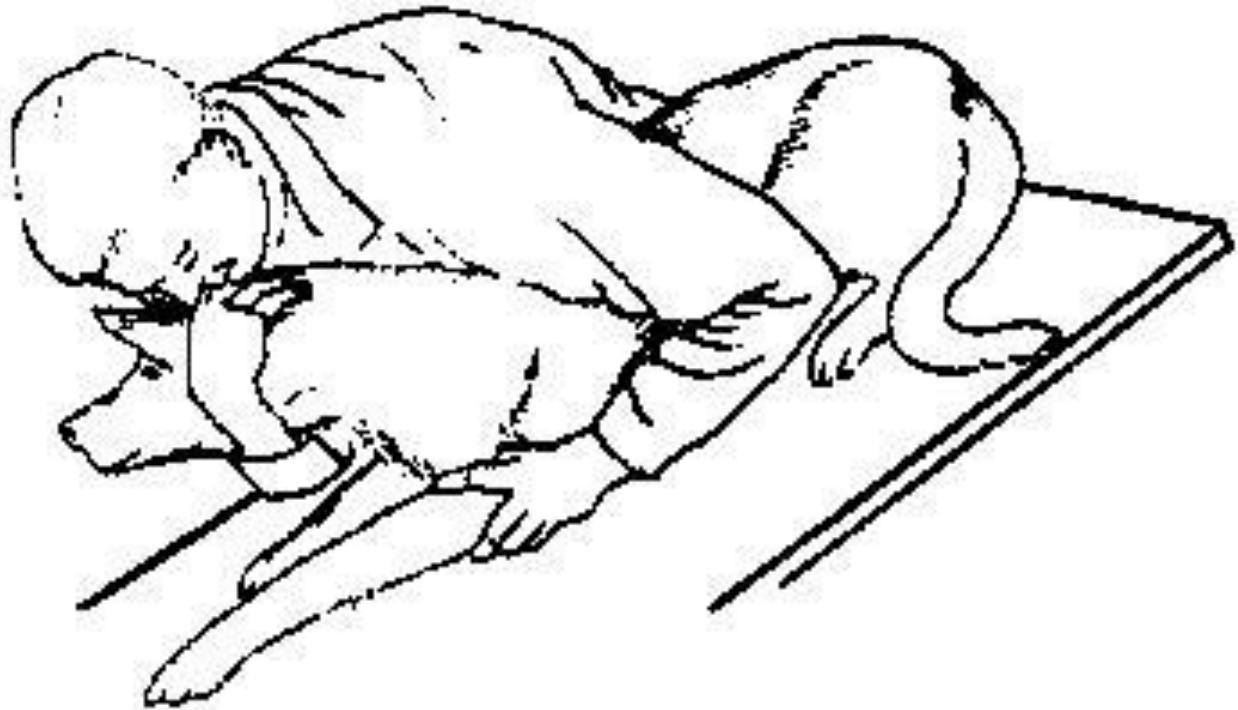


短嘴犬





犬颈静脉注射保定法



犬前臂皮下静脉注射保定法

注意：应将犬扎口保定！

鱼类的捉拿保定

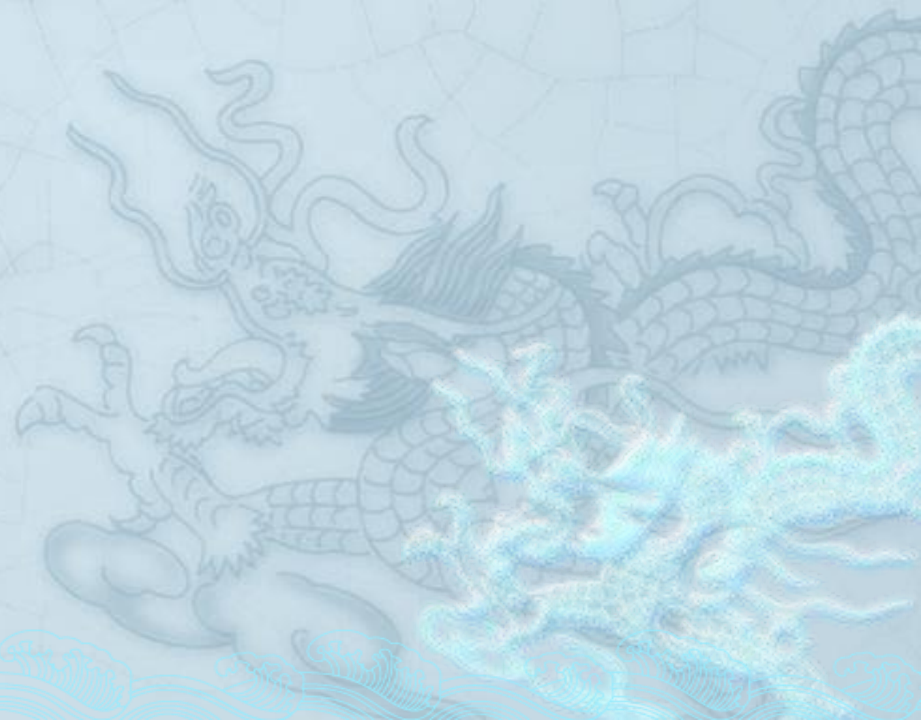
- 1.机械保定 用网将水中的鱼捞起，网具材料不能太粗糙或太硬，捉取鱼时手应湿润。
- 2.化学保定 如果鱼较大或大量抓取时，先向养池中投入 CO_2 和苯佐卡因(Benzocaine)，也可投入1：12 000~1：25 000的甲磺酸三卡因(MS-222)。

三、试验物品给予技术—注射法

在动物实验过程中应根据不同的实验目的、不同的动物种类、不同的试验物品来决定动物的给药途径。

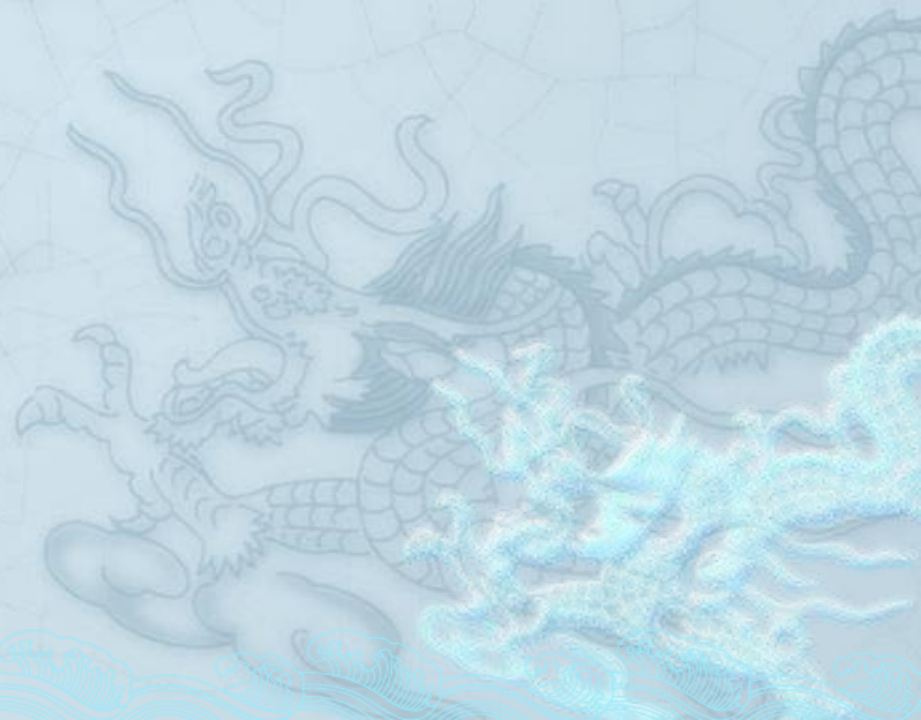
给药原则

- ◆ 防感染
- ◆ 防差错
- ◆ 防意外



注射法

- ◆ 皮内注射
- ◆ 皮下注射
- ◆ 肌肉注射
- ◆ 静脉注射
- ◆ 腹腔注射
- ◆ 其他注射法



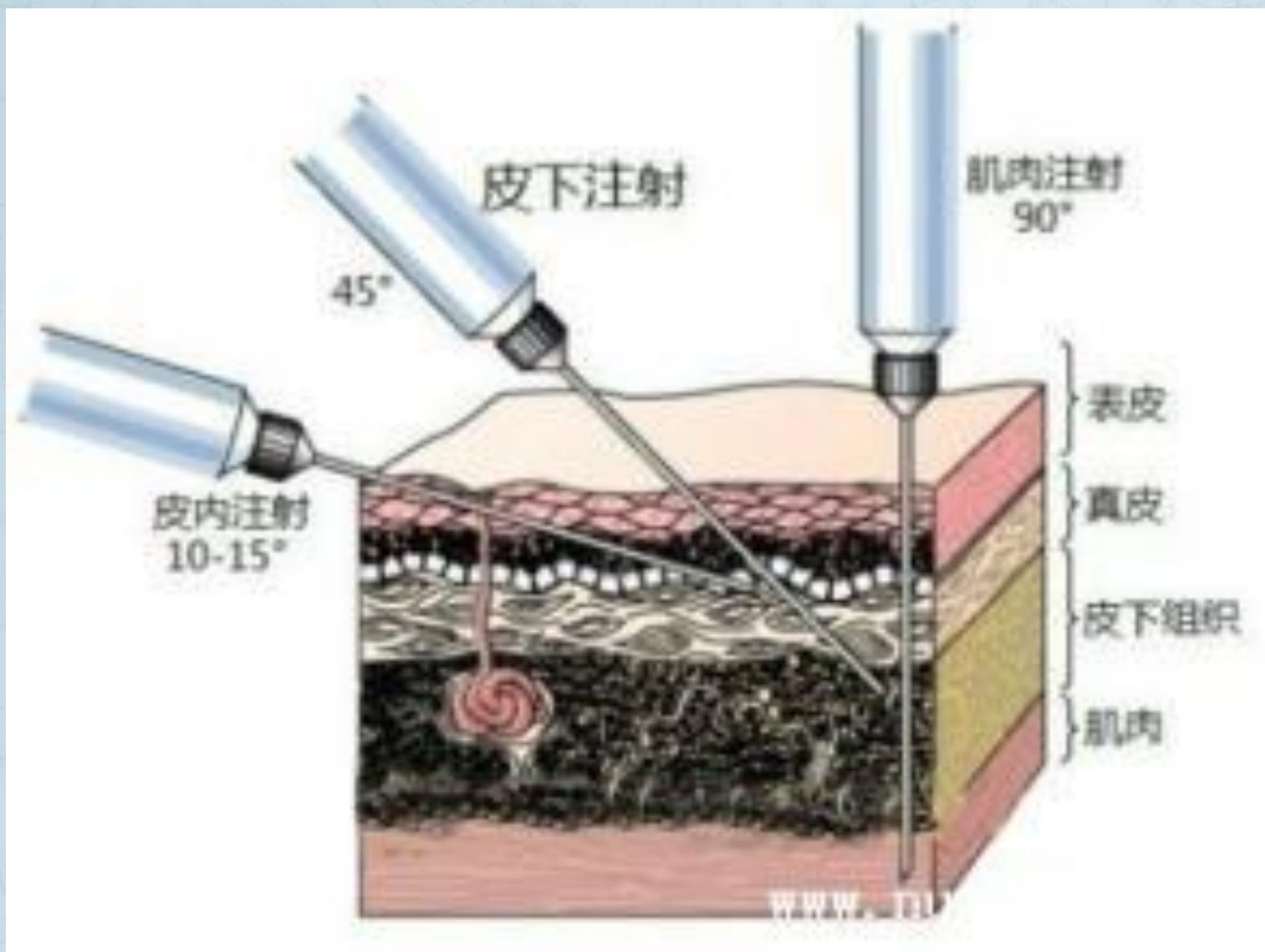
注射法

注射法是最常用的给予方法，是通过注射器以人力将液体推入机体。采用注射法用药量准确，奏效快，动物安静，不易污染。

注射器按吸液量有0.25、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 ml规格，注射针头规格也不同，不同动物不同给药方法所使用的针头型号。针头必须锐利，与注射器结合严密，备有通针。

不同动物所使用针头型号及投入量

		灌胃	皮下注射	肌肉注射	腹腔注射	静脉注射
小鼠	最大投入量	1ml	0.4ml	0.4ml	1ml	0.8ml
	使用针头	9号(钝头)	5号半	5号半	5号半	4
大鼠	最大投入量	2ml	1ml	0.4ml	2ml	4ml
	使用针头	静脉切开针	6	6	6	5
豚鼠	最大投入量	3ml	1ml	0.5ml	4ml	5ml
	使用针头	静脉切开针	6号半	6号半	7	5
兔	最大投入量	20ml	2ml	2ml	5ml	10ml
	使用针头	10号导尿管	6号半	6号半	7	6
猫	最大投入量	20ml	2ml	2ml	5ml	10ml
	使用针头	10号导尿管	7	7	7	6



1. 皮内注射

是将药液注入**皮肤的表皮与真皮**之间。多用于**接种、过敏试验**。注射应以左手将皮肤捏成皱襞，右手持注射器使针头与皮肤呈 30° 刺入皮肤内，在注射部位呈现小丘疹状隆起为注射正确。皮内注射若推入阻力小，表明注于皮下，应重新进针。注射后不要用力压迫，以免药液流出。

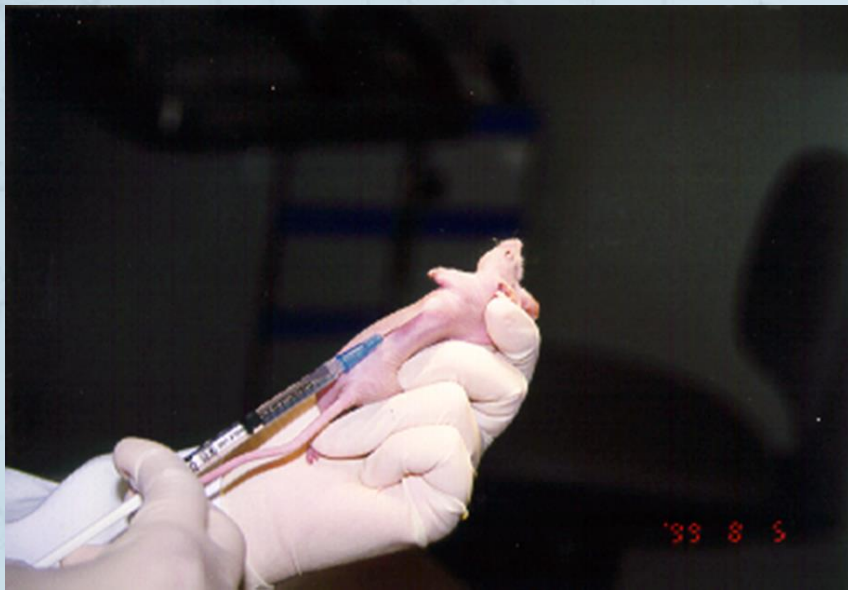
2.皮下注射

动物皮下注射选择的部位多为大腿内侧、颈背部等皮下脂肪少的地方。皮下注射是将投入液推入皮下结缔组织内，经淋巴管、毛细血管吸收进入循环。具体方法是局部消毒后，左手拇指、中指捏起皮肤，用食指压其顶点，使其成三角窝，右手呈执笔式持注射器垂直于皮下凹窝中，迅速刺入皮肤，刺入后放开左手，抽动活塞若无回血，即可注射。正确刺入皮下时，针头可自由摆动。如若剂量大时，可分点注射。

小鼠皮下注射



小鼠皮下注射



兔皮下注射

皮下注射器械



75% 酒精棉球；21 G 针头，1 ml 注射器

兔皮下注射



3. 肌肉注射

动物肌肉注射应选择肌肉内血管丰富的部位。肌肉注射吸收快，又因感觉神经较皮下少，比皮下注射疼痛轻。操作时，针头刺入肌肉应迅速，回抽针栓若无回血，即可注射。

抗生素、镇静剂和麻醉剂注射最常用方法。



兔肌肉注射

肌肉注射器械



Hypnovel 和 Hypnorm, 麻醉剂; 75% 酒精棉球; 27G 针头, 1 ml 注射器; 24G针头, 5ml 注射器

兔肌肉注射



4.腹腔注射

腹膜内注射吸收能力很强，注射剂量较大，动物实验中常用。用大、小鼠做腹腔注射时，以左手捉拿动物，使腹部向上，**头低尾高位**，右手持注射器将针头刺入左（或右）下腹部皮下，使针头向前推0.5~1.0cm，再以45°斜穿过腹肌，固定针头，缓慢注入药液。家兔、犬、小型猪的腹腔注射点应选择腹白线侧方。

大、小鼠腹腔注射操作规程

- ◆ 以一只手抓取和固定动物，使腹部向上，以及使鼠头稍朝下大约15度角（头低位）；
- ◆ 另一只手拿消毒酒精棉球（签）进行进针部位消毒；
- ◆ 接着将注射器针头于左（或右）小腹部刺入皮下；
- ◆ 使针头向前推进0.5cm左右，再以45度角穿过腹肌；
- ◆ 定住针头，缓缓注入药液；
- ◆ 若大鼠体积过大，可由第二个操作员协助进行腹腔注射。

大鼠腹腔注射

大鼠腹腔注射所需器械



75%酒精棉球用于皮肤表面消毒;中等大小的毛巾,用于保定大鼠;1ml注射器, 25G 5/8" 针头

大鼠腹腔注射



大鼠腹腔注射



注意：

为避免伤及内脏，一定要使动物处于头低位，使内脏移向上腹。

小鼠腹腔注射

小鼠腹腔注射器械



75% 酒精棉球； 25G 1/2" 针头， 1 ml 注射器

小鼠腹腔注射



注意：头低尾高位；逆毛消毒

小鼠腹腔注射

使针头向前推进0.5cm左右，再以45度角穿过腹肌；定住针头，缓缓注入药液。



5. 静脉注射

将投入液直接推入静脉管内的方法在动物实验中也常使用。大、小鼠多选用尾静脉注射。鼠尾静脉注射一般选择左右侧边两条。

注射前，先将鼠尾尖浸入40~60℃温水中升温3分钟或用酒精擦拭使血管扩张，并软化表皮角质，用无名指和小指夹住尾巴末梢，右手持注射器（4号半针头）平行于尾或有一定角度（15°）进行注射。



灯罩、烤热



保定



静脉扩张



平行下针



回抽



打入

可从尾远端（距尾尖1/3处）开始注射，此处皮肤薄容易刺入。刺入后，先回栓少许，看有否回血。有回血，表明针头在静脉内。再缓缓推入少量药液。若针头不在血管内，推入投入液后局部皮肤变白色，应停止注射，重新向近尾端换一位置注射。

犬、豚鼠静脉注射

选在**后肢小隐静脉**或**前肢内侧皮下静脉**。

兔用于**耳缘静脉注射**。

兔耳中央是一条动脉，外缘是静脉。因内缘静脉较深，较少使用，而外缘静脉较浅且容易固定，故较常用。

注射前先使静脉充盈，用左手夹住静脉近心端，用6号针头刺入远端方向，无名指、小指垫在耳下，刺入静脉后回一下血，放开食指，推入液体。然后拔出针头，用碘酊棉球压在针孔上片刻。

(1) 消化道给予

经口给予多数都用灌胃法（除Beagle犬外），适用于大鼠、小鼠、兔、豚鼠等容易捉拿保定的动物。将灌胃针或管（圆球头部）安在注射器上，保定动物头部，强迫张开口腔，灌胃针压在舌根部，沿咽后壁慢慢插入食道。

成年动物插入食道的深度一般：豚鼠5cm、兔约15cm、大鼠5cm、小鼠3cm。

经口投入应注意动物的反应，若挣扎厉害，应拔出胃管，检查动物食管是否有损伤，并重新操作，同时应注意胃管是否确实插入食道，以免误将给予物投入气管内。

灌胃量一般不超过体重的1%

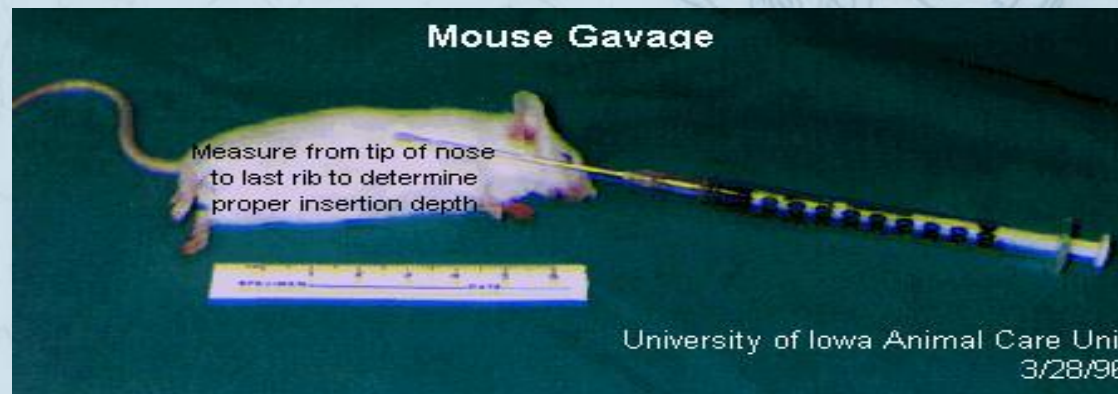
大、小鼠灌胃操作规程

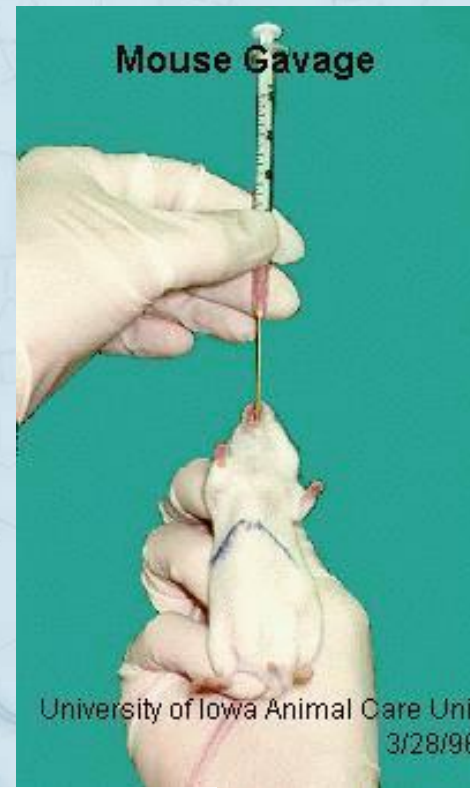
- ◆ 将针尖圆滑的灌胃针接在注射器上，吸入药液；
- ◆ 一只手抓住鼠背部及颈部皮肤将动物抓取固定；**体位为头高尾低（头高位）**；
- ◆ 另一只手持注射器，将灌胃针从动物嘴部侧面插入动物口中；
- ◆ 然后轻轻摆正灌胃针并沿口腔顶壁和咽后壁徐徐插入食道；针插入时应无阻力。若感到阻力或动物挣扎时，应立即停止进针或将针拔出，以免损伤或穿破食道以及误入气管。
- ◆ 一般当灌胃针插入小鼠3—4cm，大鼠或豚鼠4—6cm后轻轻回抽一下，见有胃液可将药物注入。
- ◆ 常用的灌胃量小鼠为0.2-1ml，大鼠1-4ml，豚鼠为1-5ml。

灌胃给予

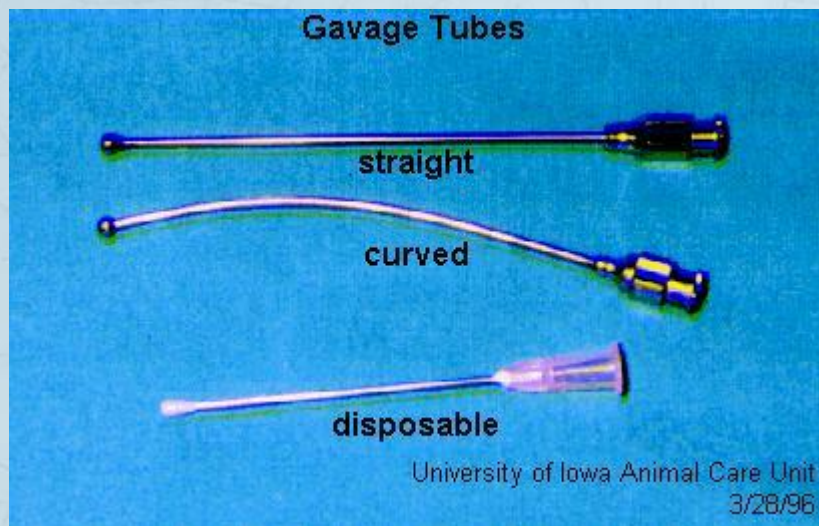
灌胃量不超过体重的1%

小鼠灌胃器械：18 G 不锈钢
灌胃针、手套





大鼠灌胃



给兔、犬等动物灌胃时，应使用开口器，避开动物臼齿和犬齿，以免咬坏灌胃管。动物经口投入的剂量：小鼠小于1ml/次、大鼠小于4~7ml/次、兔小于80~150ml/次、犬小于200~500ml/次。肠道投入多为直肠。

五、实验动物液体样本的采集

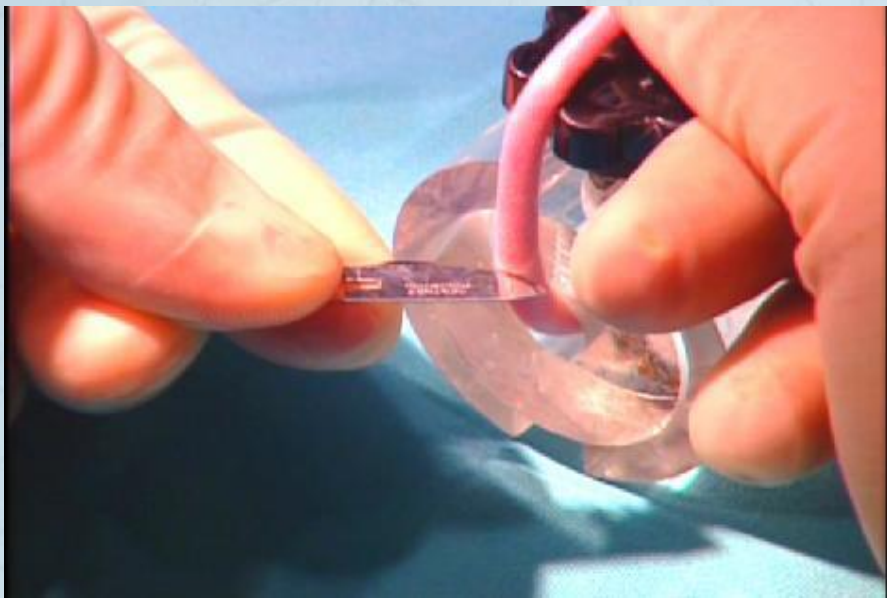
血液的采集方法

大鼠、小鼠的采血方法

- ◆ (一) 剪尾采血
- ◆ (二) 眼眶后静脉丛采血
- ◆ (三) 摘眼球采血
- ◆ (四) 腹主动脉采血

◆ 1. 剪尾采血

- ◆ 手拇指和食指从背部抓住小鼠颈部皮肤，将小鼠头朝下，小鼠保定后将其尾巴置于50°热水中浸泡数分钟，使尾部血管充盈。擦干尾部，再用剪刀或刀片剪去尾尖1~2mm，用试管接流出的血液，同时自尾根部向尾尖按摩。取血后用棉球压迫止血并用6%液体火棉胶涂在伤口处止血。每次采血量0.1ml。



◇ 2. 眼眶后静脉丛采血

- ◇ 左手拇指及食指抓住鼠两耳之间的皮肤使鼠固定，并轻轻压迫颈部两侧，阻碍静脉回流，使眼球充分外凸。右手持玻璃毛细采血管，将其尖端插入内眼角与眼球之间，轻轻向眼底方向刺入，小鼠刺入2~3mm，大鼠刺入4~5mm，当感觉有阻力时即停止刺入，放置取血管以切开静脉丛，血流即流入取血管。采血结束后，拔出取血管，放松左手，出血即停止。本方法在短期内可重复采血。
- ◇ 小鼠一次可采血0.2~0.3ml，大鼠一次可采血0.5~1.0ml。为防止血液在取血管中凝固，可将取血管进入1%肝素溶液，干燥后使用。



3. 心脏采血

该方法是用**注射针头刺入心腔**的一种采血办法，多用于兔、犬等中动物，小动物因心脏搏动很快，心腔小，位置较难固定较少使用。但可作为开腔一次性采血。

方法：采血时，用指尖探明**心搏动最明显之处**进针。针头宜长些。进针**角度与胸部垂直**，刺入胸腔后，仔细感觉针尖随心搏动在动，如事先将注射器抽成负压，血液可自动流入注射器。心脏采血时动作应迅速，缩短留针时间以防止血液凝固，若针头已刺入心腔但又抽不出血时，应将针头稍微轴向转动一下或稍后退一点，但**切不可使针头在心脏内横向摆动**。

心脏采血



动 物	犬	兔	豚鼠	大鼠	小鼠	猫	猴
针头规格	6号	6号	5号	5号	4号	6号	6号

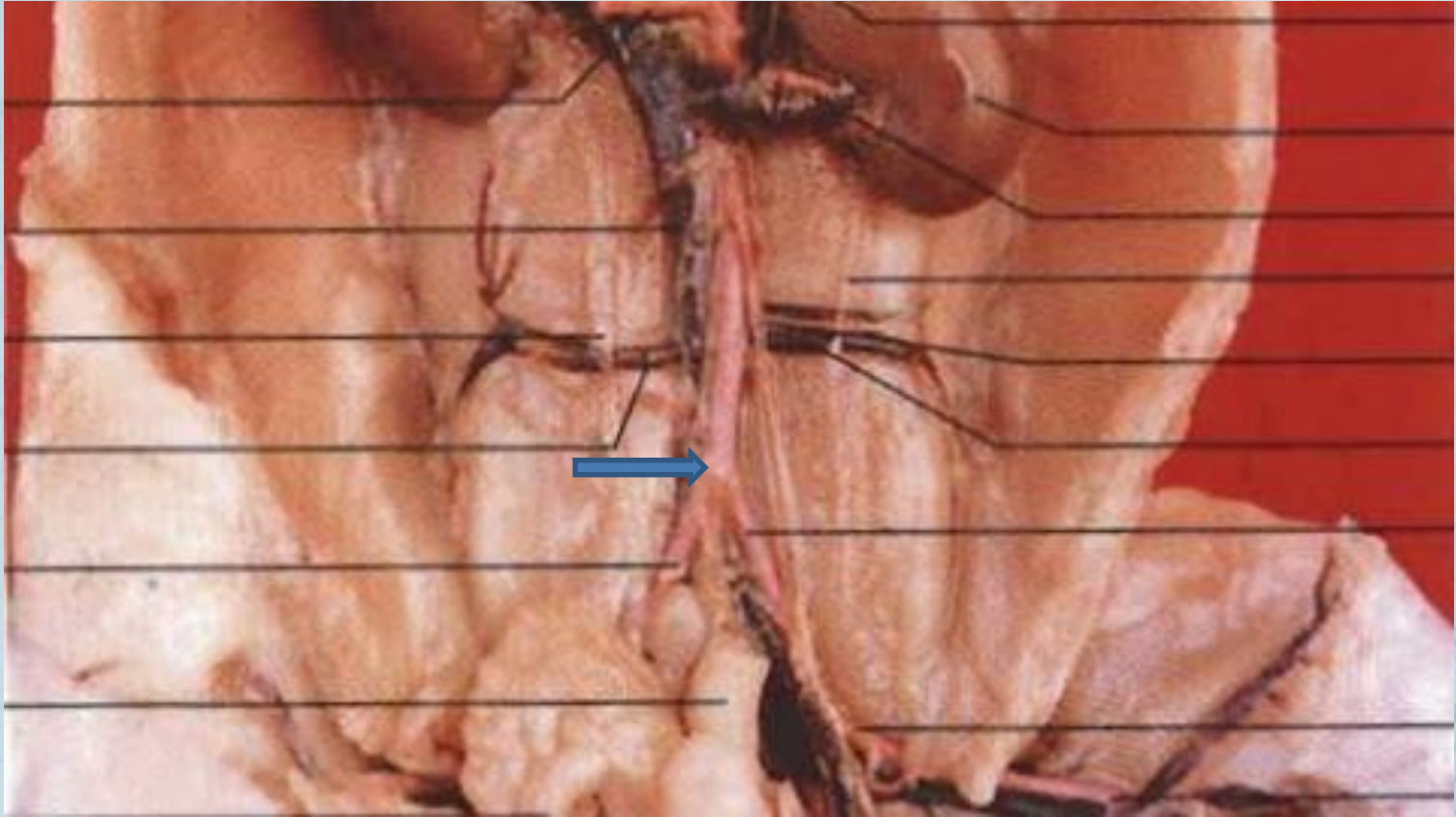
4. 小鼠摘眼球采血



此方法用于鼠类
大量采血。采血
时，用左手固定
动物，压迫眼球，
尽量使眼球凸出，
右手用**弯头镊子**
摘除眼球，眼眶
内很快流出血液。

◆ 5. 腹主动脉采血

- ◆ 将大鼠**注射麻醉剂**，直到身体全身变软，方可把大鼠仰卧**固定**在手术台上，背部可以放置一粗试管以充分暴露腹主动脉，常规消毒后用手术剪刀**沿腹正中线剪开腹腔**，用小镊子轻轻扒开血管周围脂肪，再用棉球把覆盖在血管的多余脂肪擦净，直达清晰看清血管为止（用棉球可以尽量减少小血管破裂出血，影响接下来进针时的视线）。
- ◆ **找腹主动脉**在脊柱上面，腹腔静脉血管（比腹主动脉粗，黑）旁，找到后，术者先固定血管，尽可能避免血管移位，左手拇指和食指固定住血管两旁的脂肪及其它脏器，无名指按住血管进针点的上端，降低血压，可以避免喷血，**右手持注射器，针尖斜面朝下**，入针角度约 15° 左右，朝向心端方向刺入，深度以5 mm左右为宜。
- ◆ 一般体重 200-300g的大鼠用真空管采血可采血8-10m L，同周龄的老鼠，雄鼠可采的血量多于雌鼠。此方法特点是采血量多，需多次练习方可熟练。



豚鼠采血方法

- (一) 耳缘切口采血
- (二) 背中足静脉采血
- (三) 心脏采血
- (四) 腹主动脉采血

兔的采血方法

- (一) 耳缘静脉采血
- (二) 耳中央动脉采血
- (三) 颈静脉采血
- (四) 心脏采血

◆ (一) 兔耳缘静脉采血

- ◆ 本法为最常用的取血法之一，常作多次反复取血用，因此，保护耳缘静脉，防止发生栓塞特别重要。
- ◆ 将兔放入仅露出头部及两耳的**固定盒**中，或由助手以手扶住。选耳静脉清晰的耳朵，将耳静脉部位的**毛拔去**，用75%酒精局部消毒，待干。用手指轻轻摩擦兔耳，使静脉扩张，用连有5（1/2）号针头的注射器在耳缘静脉末端刺破血管待血液漏出取血或将针头逆血流方向刺入耳缘静脉取血，取血完毕用**棉球压迫止血**，此种采血法一次最多可采血5-10mL。



犬与实验猴的采血方法

- ◆ (一) 后肢外侧小隐静脉采血
- ◆ (二) 前肢背侧皮下头静脉采血
- ◆ (三) 颈静脉采血
- ◆ (四) 股动、静脉采血





后肢外侧小隐静脉采血

股动、静脉采血

不同动物采血部位与采血量的关系

采血量	采血部位	动物品种
取少量血	尾静脉 耳静脉(穿刺) 眼底静脉丛 舌下静脉 腹壁静脉 冠、脚蹼皮下静脉	大鼠、小鼠 兔、狗、猫、猪、山羊、绵羊 兔、大鼠、小鼠 狗 青蛙、蟾蜍 鸡、鸭、鹅
取中量血	后肢外侧皮下小隐静脉 前肢内侧皮下头静脉 耳中央动脉 颈静脉 心脏 断头 翼下静脉 颈动脉	狗、猴、猫 狗、猴、猫 兔 狗、猫、兔 豚鼠、大鼠、小鼠 大鼠、小鼠 鸡、鸭、鸽、鹅 鸡、鸭、鸽、鹅
取大量血	股动脉、颈动脉 心脏 颈静脉 摘眼球	狗、猴、猫、兔 狗、猴、猫、兔、大、小鼠 马、牛、山羊、绵羊 大鼠、小鼠

其他体液的采集方法

- ◆ 1、消化液的采集
- ◆ 2、胸水的采集
- ◆ 3、腹水的采集
- ◆ 4、骨髓的采集
- ◆ 5、尿液的采集

1、动物消化液的采集

动物消化液的采集主要有唾液、胃液、胆汁、胰液的采集等。

(1) 唾液的采集

动物的唾液采集一般采用刺激法。通过食物的颜色，气味等刺激动物的视觉、嗅觉而致动物消化液分泌增加，当进食时刺激味蕾和消化道粘膜上的感觉器，使分泌增加，再通过引入导管采集。

1) 直接抽取法

在急性实验中，可用吸管**直接插入动物口腔或唾液腺导管**抽吸唾液，此法非常简单，但从**口腔抽吸**唾液会有**杂质混入**。

2) 制造腮腺痿法

在慢性实验中，收集狗的唾液，要用**外科手术方法**将腮腺导管开口移向体外，即以腮腺导管为中心，切成一直径约2~3cm的圆形粘膜片，将此粘膜片，与周围组织分开，穿过皮肤切口引到颊外，将带有导管开口的粘膜片与周围的皮肤缝合，腮腺分泌的唾液就流出颊外。这种方法可以收集到**较纯净的唾液**。

(2) 胃液的采集

同样通过刺激，使胃液分泌增加，再用**插胃管**的办法抽取胃液。

(3) 胆汁的采集

需要**手术**进行。将动物麻醉后仰卧于实验台上，自剑突下及正中中线做3~5cm的切口，切开腹膜，暴露腹腔，将肝脏向上翻起，找出**胆囊** (十二指肠与胃交界处，一暗绿色的囊，大鼠没有胆囊或由几只肝管汇集成肝总管并和胰管一起汇成胆总管，开口于十二指肠) 并**分离出胆或胆总管**，再用注射器抽取胆汁。

(4) 胰液的采集

基本方法**同胆汁的采集**，在总胆管和十二指肠交界处分离出胆总管，小心操作**勿刺激胰腺，以免影响胰液分泌**。分离后再靠肠端结扎，做为牵引线，用眼科剪在管壁上斜开一小口，插入准备好的胰液收集管(一般用聚乙烯塑软管，内径2 mm,长10 cm，并将其拉成内径0.05 mm的细管，剪成一端斜口，在粗细交界处绕 3—4 圈，0 号缝合)插入小口内，并用容器收集胰液。

◆ (5) 胸水采集:

主要利用胸膜腔穿刺术。动物取立位保定，准备好普通注射针头，穿胸套管针，注射器等器械。大、中动物应麻醉，小动物侧卧保定。术部剪毛消毒后，左手将术部皮肤向侧方移动，右手持穿刺套管针，在紧靠肋骨前缘处垂直皮肤慢慢刺入，穿刺肋间肌时产生一定阻力，当阻力消失有针落空感时，表明刺入胸膜腔，即可抽取胸水。穿刺部位，犬在左侧第八肋间，右侧第七肋间；羊在左侧第六或第七肋间，右侧在第五或第六肋间。穿刺时应避免损伤肋间血管和神经。

(6) 腹水的采集:

主要利用腹膜腔穿刺术。动物取**立位保定**，穿刺点在腹下剑状软骨后方，旁开正中线，小动物在脐稍后方正中线上或正中线侧方 1~2cm 处。穿刺时，先将穿刺部位剪毛消毒，再将皮肤稍向一侧移，用注射器或穿刺套管针与腹壁**垂直刺入**。针尖有落空感后，腹水将自行流出。如若腹水量较大的，应缓慢地间歇地放出，以免腹内压突然下降而致使动物发生循环功能障碍。采完腹水后用碘酊棉球涂布。

(7) 动物骨髓的采集

大动物骨髓的采集通常用活体穿刺法。多为胸骨、肋骨、股骨等骨的骨髓。小动物因骨骼小，不易穿刺采集，多用处死后采集的办法。一般采集胸骨和股骨骨髓。

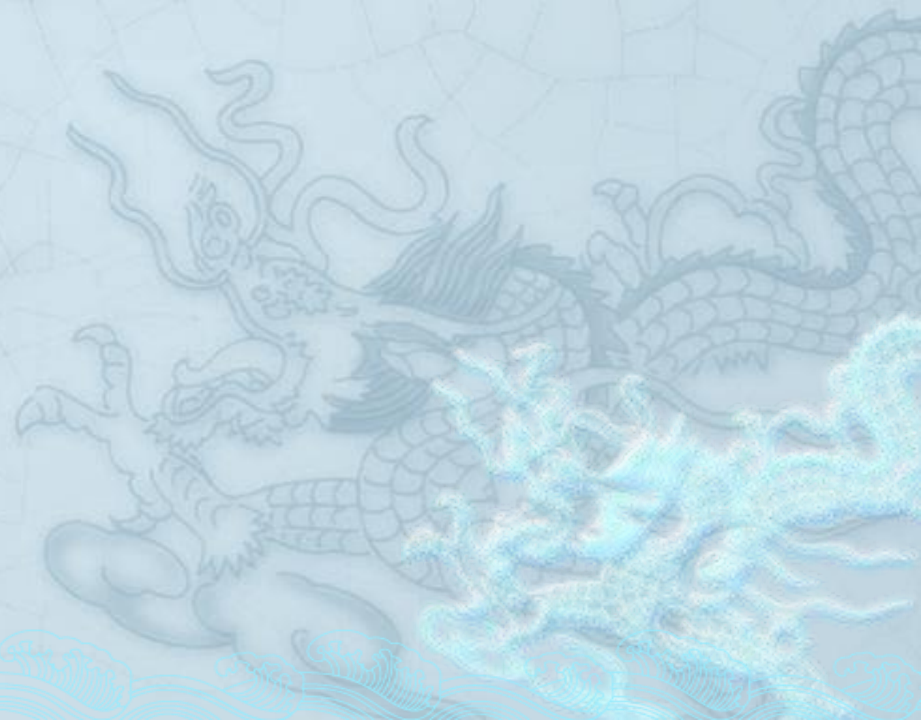
(8) 尿液的采集

- ▶ **导尿法采集** 用导尿管插入尿道，在消毒和无菌操作情况下，可采到无污染的尿液。或者将动物麻醉后，使膀胱和尿道括约肌松弛，再插入导尿管收集尿液。



其他

- ◆ 精液
- ◆ 乳汁
- ◆ 粪便



四、实验动物的麻醉方法

实验动物的麻醉就是用**物理的或化学药品**的方法，使动物**全身或局部**暂时痛觉消失或痛觉迟钝，以利于进行动物实验。

随着医学、兽医学麻醉技术的日臻完善，为动物实验的顺利进行提供了保证，在安全、无痛和肌松的麻醉情况下在动物体实施各种因素的范围亦越来越广泛。

在进行各类动物实验时，各种**强刺激**(疼痛)持续地传入大脑皮质，会引起大脑皮质的抑制，使其对皮质下中枢的调节作用减弱或不存在，致使**机体生理机能发生障碍**，甚至发生**休克及死亡**，另一方面，许多实验动物**性情凶暴**，容易**伤及操作者**，因此，实施动物实验时，动物的麻醉是必不可少的。同时也能为无菌实验操作创造一个**安静**的条件。

动物的麻醉与人类的麻醉又有不同之处，麻醉对动物的毒性、副作用影响，使用剂量等方面是与人类有差别的，因此，正确地掌握**麻醉方法和麻醉剂量**，是保证麻醉的安全。

动物麻醉的方法有**全身麻醉、局部麻醉、针刺麻醉、复合一强化麻醉、低温麻醉**等。一般实验室所采用的**大部分是全身麻醉**，这里重点介绍一下动物的全身麻醉的有关技术。

麻醉剂主要是**抑制中枢神经系统，减除或减轻动物的痛感，但仍保持延髓(呼吸、血管运动中枢)和平滑肌组织的功能。**

单纯麻醉法：对动物仅使用一种麻醉剂进行全身麻醉的方法。

综合麻醉法：在全身麻醉的同时又使用局部麻醉的方法。

混合麻醉法：用两种或两种以上麻醉剂混合在一起，用一种方法达到麻醉目的。

复合麻醉法：间隔一定时间，先后采用不同的方法应用两种或两种以上麻醉剂的方法。进行复合麻醉时，一般还有基础麻醉和追加麻醉的方式，以达到使动物麻醉所需的深度和期限。

- ◆ 应用麻醉药物使动物入睡、反射活动降低或部分消失，肌肉微松弛者称**浅(不完全)麻醉**；而使动物呈深睡状态，反射消失及肌肉松弛，则称为**深(完全)麻醉**。后者多用于身体状况良好，手术实验复杂的情况。

(1) 全身麻醉前的准备

在实施全身麻醉有以下几个问题不容忽视：

- ①动物**禁食**10—12 h，不能少于8 h，
- ②麻醉前**不能使用泻剂**。
- ③麻醉后的动物必须保持**气道的通畅和组织(眼球、舌、肠等器官)的营养**；
- ④做长时间犬实验前1h应**灌肠**排除积粪；
- ⑤检查麻醉剂质量、数量，麻醉保定器具是否有破绽(漏气后堵塞)，有关麻醉中毒**急救药品**和器材是否准备齐妥，以应急需。

(2) 全身麻醉的方法

常采用全身麻醉的方法主要有吸入麻醉和非吸入麻醉。

吸入麻醉：是将挥发性麻醉剂或气体麻醉剂经呼吸道吸入动物体内，从而产生麻醉效果的方法，吸入麻醉剂常用的有乙醚、氟烷、甲氧氟烷、氯仿等，气体麻醉剂常用氧化亚氮、环丙烷等。

现主要介绍乙醚吸入的麻醉方法：

乙醚：无色透明，极易挥发，特殊气味，**易燃易爆**，与空气中的氧接触能产生刺激性很强的乙醛及过氧化物。保存于暗色容器中置阴凉处。

乙醚的麻醉作用主要是抑制中枢神经系统，但对其它系统影响不明显，使用时能刺激呼吸道粘膜使分泌物增加，使用乙醚麻醉时应注意使用阿托品来拮抗这一作用。有呼吸道病变的动物禁用乙醚麻醉。

麻醉前准备好一密封，透明的容器(大、小鼠、豚鼠可用大烧杯代替)，再将乙醚与动物容器相通。

大、小鼠、豚鼠吸入麻醉可用浸润乙醚的棉球或纱布放在密闭的容器内，再将小动物放入，注意小动物的行为。开始时小动物出现兴奋，即而出现抑制，自行倒下，当小动物角膜反射迟钝、肌紧张降低，即可取出小动物，观察1—2 min。若动物逐渐开始恢复肌紧张(重新挣扎)则重复麻醉一次，待小动物平静后即可进行实验。若实验时间长，可先保定小动物在实验台上，将乙醚棉球或纱布靠近其鼻部即可开始实验。实验过程中，应注意动物的反应，适时追加乙醚吸入量，维持其麻醉深度和时间。

有些非吸入麻醉的实验在动物出现苏醒行为时，可施乙醚麻醉吸入，维持实验的顺利进行。



非吸入麻醉

非吸入麻醉的给药途径常用**消化道(口服、灌胃)**和**注射**等方法，如**静脉注射、肌肉内注射、皮下注射、腹腔内注射**等。由于给药途径的不同，麻醉开始和呈现的麻醉程度也不一样。经长期实验摸索证明，非吸入麻醉方法是一种既**简便**，又能使动物**很快进入麻醉期**而无明显的兴奋期的方法。

① 常用的麻醉药

1) 常用局部麻醉剂：**普鲁卡因**，此药毒性小，见效快，常用于**局部浸润麻醉**，用时配成0.5%~1%；**利多卡因**，此药见效快，组织穿透性好，常用1%~2%溶液作为大动物神经干阻滞麻醉，也可用0.25%~0.5%溶液作局部浸润麻醉。

2) 常用全身麻醉剂：盐酸氯胺酮；乙醚；异氟烷（Isoflorane）；

- ◆ 苯巴比妥钠，此药作用持久，应用方便，在普通麻醉用量情况下对于动物呼吸、血压和其它功能无多大影响。
- ◆ 戊巴比妥钠 此药麻醉时间可延续3-5小时，所以十分适合一般使用要求。
- ◆ 速眠新（长春兽大）

常用于动物麻醉的药物法及剂量

名 称	适用动物	用药途径	剂量(mg/kg)	常用浓度	给药量	注意事项
戊巴比妥钠	犬、猫、兔	静脉	30	3%	1.0mg/kg	维持时间约2—4h追加量为1/5总量，可维持1h以
		腹腔、皮下	40—50	3%	1.4—1.7	
	豚 鼠	腹腔	40—50	2%	2.0—2.5	
	大、小鼠	腹腔	45	2%	2.3	
	禽 类	肌肉	50—100	2%	2.5—5.0	
氯胺酮	犬、猫	腹腔	10—40	10%		2—3h
	大小鼠	腹腔	100—200	10%		
氨基甲酸乙酯 (乌拉坦)	犬、猫、兔	腹腔、静脉	750—1000	25%	3—4mg/kg	麻醉维持2—4h。
	豚 鼠	肌肉、皮下	1000	20%	7.0	
	大、小鼠	腹腔	800—1000	20%	2.5—3.0	
	禽 类	肌肉	1200	20%	6.3	
	蛙 类	淋巴囊	2000	20%	2ml/只	
异戊巴比妥钠	犬、猫、兔	静脉	40—500	2%	0.8—1.0	维持时间为4—6h。
		腹腔、肌肉	50—100	1%	0.8—1.0	
	大、小鼠	腹腔	100	10%	1.0	
硫喷妥钠	大 鼠 小 鼠	腹腔	40	1%	5.0—10.0	30分钟。
		腹腔	15—20	1%	2.5	
乙 醚	各种动物	吸入			随吸入时间来定	
氯 仿	各种动物	吸入			随吸入时间来定	

人与各类动物间用药量剂量的换算

人与动物对同一药物的耐受性是相差很大的。一般说来，动物的耐受性要比人大，也就是单位体重的用药量动物比人要大。

人的各种药物的用量在很多书上可以查得，但动物用药量可查的书较少，而且动物用的药物种类远不如人用的那么多。

因此，必须将人的用药量换算成动物的用药量。一般可按下列比例换算：人用药量为 1，小白鼠、大白鼠为25-50，兔、豚鼠为 15-20，狗、猫为 5-10。此外，可以采用人与动物的体表面积计算法来换算：

(1) **人体体表面积算法** 计算我国人的体表面积，一般认为许文生氏公式（中国生理学杂志12： 327,1937）尚较适用，即：

体表面积（ m^2 ）= $0.0061 \times \text{身高（cm）} + 0.0128 \times \text{体重(kg)} - 0.1529$

例：某人身高168cm，体重55kg，试计算其体表面积。

解： $0.0061 \times 168 + 0.0128 \times 55 - 0.1529 = 1.576\text{m}^2$

(2) **动物的体表面积算法** 有许多种，在需要**由体重推算**体表面积时，一般认为**Meeh-Rubner氏公式**尚较适用，即：

$$A(\text{体表面积, 以m}^2\text{计算}) = K \times \frac{W(\text{体重, 以g计算})^{2/3}}{10000}$$

式中的**K为一常数**，随动物种类而不同：小白鼠和大白鼠 9.1、豚鼠 9.8、家兔 10.1、猫 9.8、狗 11.2、猴 11.8、人 10.6 (上列 K 值各家报导略有出入)。应当指出，这样计算出来的表面积还是一种**粗略的估计值**，不一定完全符合每个动物的实测数值。

例：试计算体重 1.50kg 家兔的体表面积

$$\text{解 } A = 10.1 \times \frac{1500^{2/3}}{10000}$$

$$\log A = \log 10.1 + \frac{2}{3} \log 1500 - \log 10000 = \overline{1}.1218$$

$$A = 0.1324 \text{m}^2 \text{ (体重1.50kg家兔的体表面积)}$$

(1) 直接计算法

$$A = K \frac{W^{2/3}}{10000} \text{ 计算}$$

例：某利尿药大白鼠灌给药时的剂量为250mg/kg，试粗略估计狗灌胃给药时可以试用的剂量。

解：实验用大白鼠的体重一般在200g左右，其体表面积（A）为：

$$A = 9.1 \times \frac{200^{2/3}}{10000} = 0.0311 \text{ m}^2$$

(2) 按mg/kg折算mg/m²转换因子计算

解：按

$$\frac{\text{剂量 (mg/kg)} \times \text{甲动物转移因子}}{\text{乙动物转移因子}}$$

计算出狗的适当试用剂量。mg/kg的相应转移因子可由表1查得。（即为按mg/m²计算的剂量）。

$$\frac{250 \times 6 \text{ (大白鼠的转移因子)}}{19 \text{ (狗的转移因子)}} = 79 \text{ mg/kg}$$

250mg/kg的剂量如改以mg/m²表示，即为：

$$\frac{250 \times 0.2}{0.0311} = 1608 \text{mg/m}^2$$

实验用狗的体重一般在10kg左右，其体表面积（A）为：

$$A = 11.2 \times \frac{10000^{2/3}}{10000} = 0.5198 \text{m}^2$$

$$\text{于是} \frac{1608 \times 0.5198}{10} = 84 \text{mg/kg} \text{（狗的适当试用剂量）}$$

(3) 按每kg体重占有体表面积相对比值计算

各种动物的“每kg体重占有体表面积相对比值
(简称体表面积比例比值)”见表。

$$250 \times \frac{0.16 \text{ (狗的体表面积比值)}}{0.47 \text{ (大白鼠的体表面积比值)}} = 85 \text{ mg/kg}$$

(4) 按人和动物间接体表面积折算的等效剂量比值表计算

12 kg狗的体表面积为 200g 大白鼠的 17.8 倍。该药大白鼠的剂量为 250 mg/kg，200 g 的大白鼠需给药 $250 \times 0.2 = 50\text{mg}$ 。于是：

$$\frac{50 \times 17.8}{12} = 74\text{mg/kg}$$

进行不同种类动物间剂量换算时的常用数据

动物种类	Meeh-Rubner公式的K值	体重 (kg)	体表面积 (m ²)	Mg/kg-mg/m ² 转移因子		每kg体重占有体面积相对比值
小白鼠	9.1	0.018	0.0066	2.9	粗略值3	1.0 (0.02kg)
		0.02	0.0067	3.0		
		0.022	0.0071	3.1		
		0.024	0.0076	3.2		
大白鼠	9.1	0.10	0.0196	5.1	粗略值6	0.47 (0.20kg)
		0.15	0.0257	5.8		
		0.20	0.0311	6.4		
		0.25	0.0761	6.9		
豚鼠	9.8	0.30	0.0439	6.8	粗略值8	0.40 (0.40kg)
		0.40	0.0532	7.5		
		0.50	0.0617	8.1		
		0.60	0.0697	8.6		
家兔	10.1	1.50	0.1323	11.3	粗略值12	0.24 (2.0kg)
		2.00	0.1608	12.4		
		2.50	0.1860	13.4		
猫	9.0	2.00	0.1571	12.7	粗略值14	0.22 (2.5kg)
		2.50	0.1324	13.7		
		3.00	0.2059	14.6		
狗	11.2	5.00	0.3275	15.3	粗略值19	0.16 (10.0kg)
		10.00	0.5199	19.2		
		15.00	0.6812	22.0		
猴	11.8	2.00	0.1878	10.7	粗略值12	0.24 (3.0kg)
		3.00	0.2455	12.2		
		4.00	0.2973	13.5		
人	10.6	40.00	1.2398	32.2	粗略值35	0.08 (50.0kg)
		50.00	1.4386	34.8		
		60.00	1.6246	36.9		

人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表

	小白鼠 (20g)	大白鼠 (200g)	豚鼠 (400g)	家兔 (1.5kg)	猫 (2.0kg)	猴 (4.0kg)	狗 (12kg)	人 (70kg)
小白鼠(20g)	1.0	7.0	12.25	27.8	29.7	64.1	124.2	378.9
大白鼠(200g)	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
豚鼠 (400g)	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	4.2	31.5
家兔(1.5kg)	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2
猫(2.0kg)	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
猴(4.0kg)	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
狗(12kg)	0.008	0.06	0.10	0.22	0.23	0.52	1.0	8.1
人(70kg)	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.078	0.16	0.82	1.0

(5) 按人与各种动物以及各种动物之间用药 剂量换算

已知A种动物每kg体重用药量，欲估算B种动物每kg体重用药剂量时，可先查表，找出折算系数（W），再按下式计算：

$$\text{B种动物的剂量(mg/kg)} = W \times \text{A种动物的剂量(mg/kg)}$$

例如，已知某药对小鼠的最大耐受量为20mg/kg（20g小鼠用0.4mg），需折算为家兔量。查A种动物为小鼠，B种动物为兔，交叉点为折算系数W=0.37，故家兔用药量为 $0.37 \times 20\text{mg/kg} = 7.4\text{mg/kg}$ ，1.5kg家兔用药量为11.1mg。

动物与人的每公斤体重剂量折算系数表

折算系数W		A 组 动 物 或 成 人						
		小鼠 0.02kg	大鼠 0.2kg	豚鼠 0.4kg	兔 1.5kg	猫 2kg	犬 12kg	成人 60kg
物 种	小鼠20g	1.0	1.6	1.6	2.7	3.2	4.8	9.01
	大鼠0.2kg	0.7	1.0	1.14	1.88	2.3	3.6	6.25
	豚鼠0.4kg	0.61	0.87	1.0	1.65	2.05	3.0	5.55
	兔1.5kg	0.37	0.52	0.6	1.0	1.23	1.76	2.30
	猫2.0kg	0.30	0.42	0.48	0.81	1.0	1.44	2.70
	犬12kg	0.21	0.28	0.34	0.56	.068	1.0	1.88
	成人60kg	0.11	0.16	0.18	0.304	0.371	0.531	1.0

全身麻醉并发症及预防和急救

实验过程中因**麻醉深度或其它因素影响**，可导致一些可见的临床表现，实验人员应及时加以处理。除一些抢救无多大价值的实验动物外，一般麻醉意外的抢救具体方法如下

呼吸停止：可出现在麻醉的任何一期，如在兴奋期，呼吸停止具有**反射性质**，在深麻醉期，呼吸停止是由于**延髓麻醉**的结果，或由于麻醉剂中毒时**组织血氧过少**所致。

呼吸停止的表现是**胸廓呼吸运动停止**，**粘膜发绀**，**角膜反射消失或极低**、**瞳孔散大**等。呼吸停止的初期，可见呼吸浅表、频数、不整而且间歇，此时必须停止供给麻醉剂。先张开动物口腔，拉出舌尖到口角外，输氧或人工呼吸，同时，应用心脏和呼吸兴奋药，**0.1%肾上腺素**，可拉明、科第阿明等。

心跳停止：吸入氯仿、乙醚有时于麻醉初期出现反射性心跳停止，通常是由于剂量过大的原因，还有一种情况，就是手术后麻醉剂所致的心脏急性变性，心功能急剧衰竭而停跳。

心跳停止的到来可能无预兆。呼吸和脉搏突然消失，粘膜发绀。心跳停止应迅速采用人工呼吸特别是心脏按摩术。即用掌心(小动物可用指心)在心脏区有节奏地敲击胸壁，其频率相当于该动物正常心脏收缩次数。同时心室注射强心剂0.1%肾上腺素。

六、急救措施

动物实验过程中，可因麻醉药过量、出血过多、分泌物或血块堵塞气管造成窒息以及某种药物原因引起动物血压、呼吸不规则等现象，此时应立即进行急救处理措施。

急救处理措施首先要迅速排查原因，并中断诱因（如止血、停药、排除分泌物等），然后对症实施急救措施。

一、呼吸、心跳（血压）的改变

动物实验过程中，需密切**观察**实验动物的**呼吸、心跳及血压**的变化，一者它们是实验反应的数据指标，二者是实验动物状态的主要指征。**尤其对呼吸的观察**，因为动物的死亡首先是呼吸的停止。

（一）诱发原因

1. **麻醉给药速度过快或过量**：实施静脉给药麻醉，可因给药速度过快或过量导致呼吸停止。因此，为防止麻醉剂过量，注射速度一定不要过快，严密观察动物状况，若需追加麻醉剂，一次不宜超过总量的1/5

2. **气道不畅或堵塞**：常见于麻醉后，因为气管分泌物增多或气管切开的出血凝块堵塞气管，动物呼吸不规则、呼吸困难甚至引起的窒息
3. **大失血**：如因大动脉插管的松脱所造成的大失血。
4. **实验药物的作用**：如静脉注射乙酰胆碱过量或动物对其反应过强，引起心搏减弱减慢，继而出现呼吸、心跳的停止。

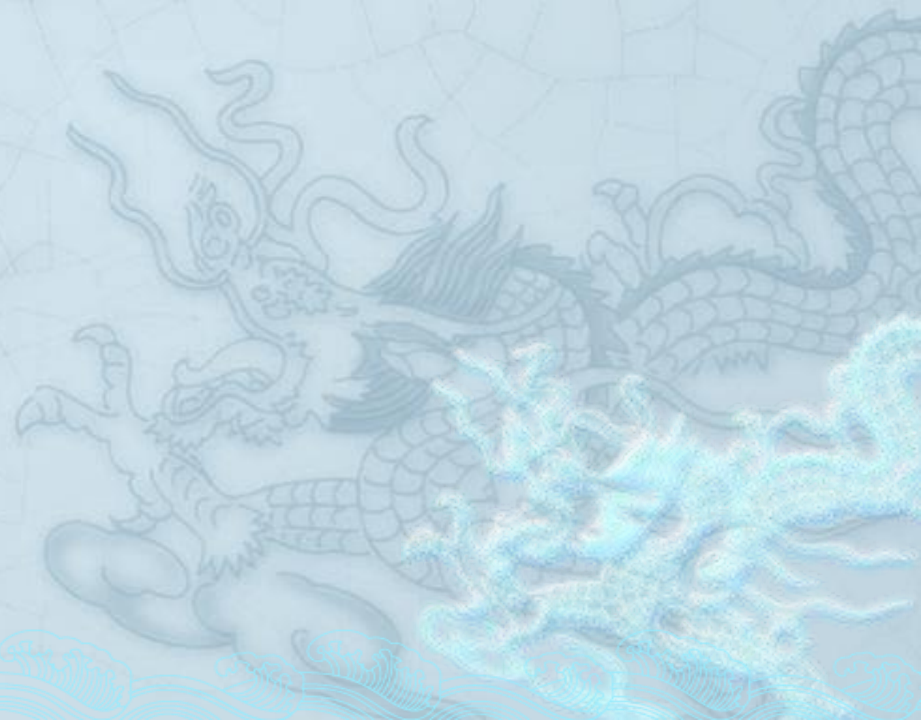
局部

- ◆ 表面麻醉
- ◆ 局部浸润麻醉
- ◆ 区域阻滞麻醉
- ◆ 脊髓麻醉
- ◆ 其他：针刺麻醉、复合麻醉

动物实验基本技术

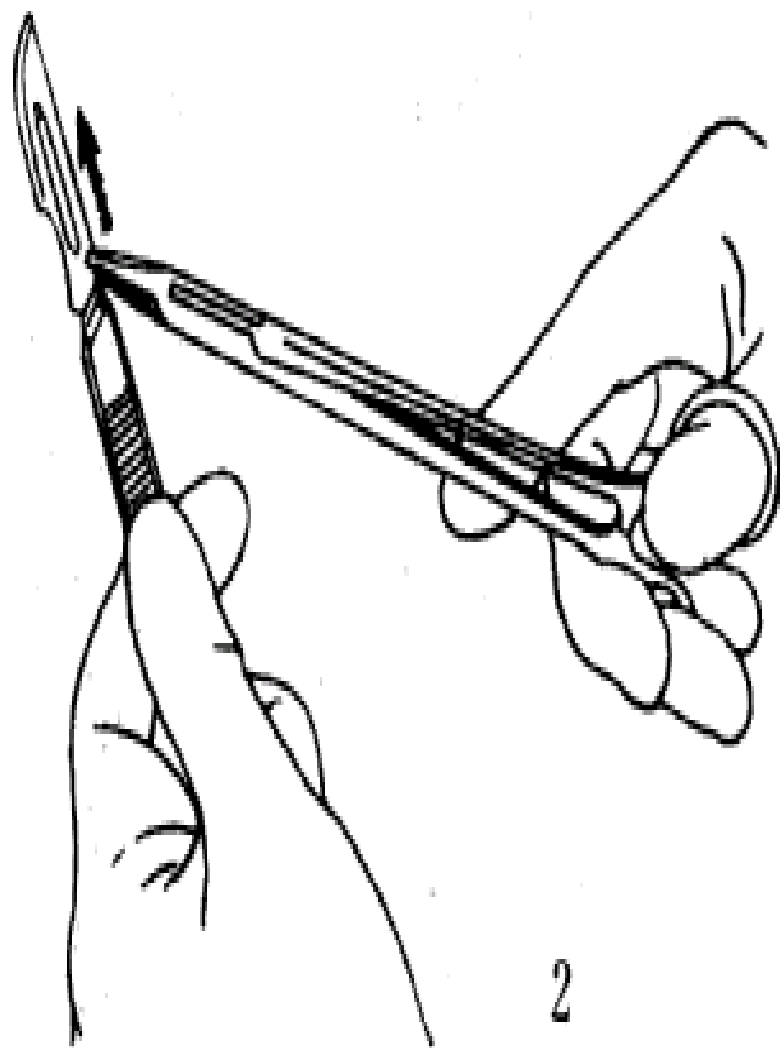
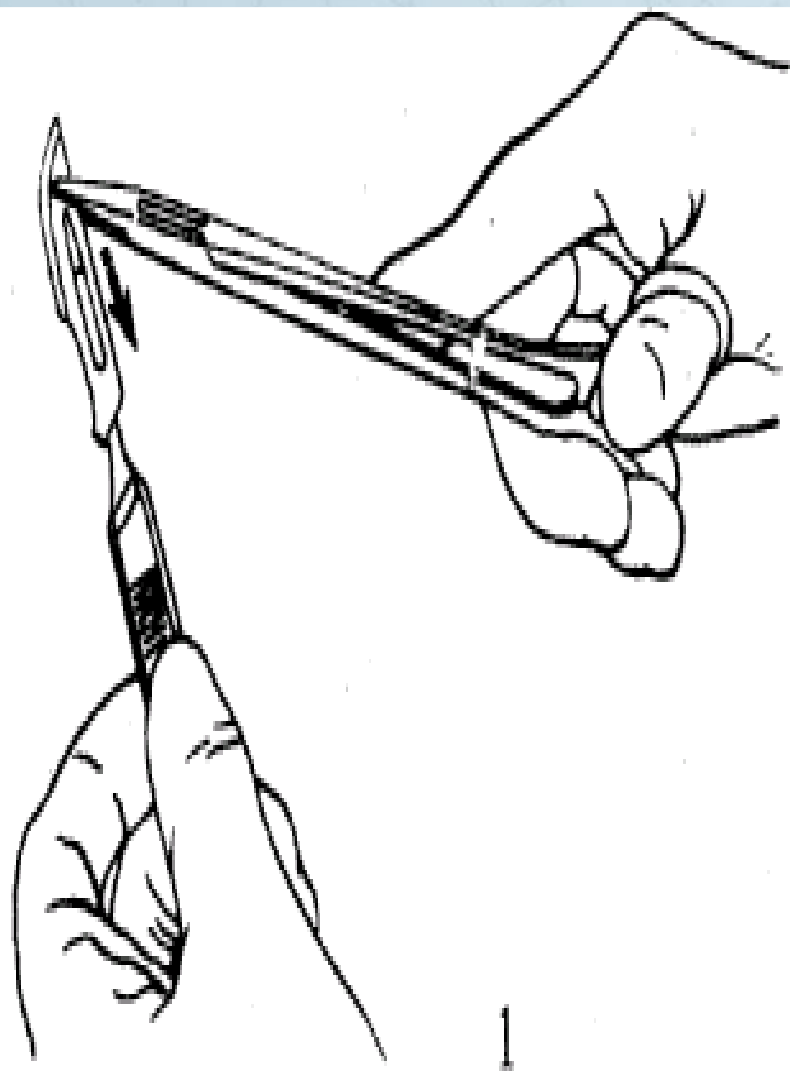
——常见外科技术

- ◆ 手术器械的使用
- ◆ 常见组织切开和缝合
- ◆ 止血技术

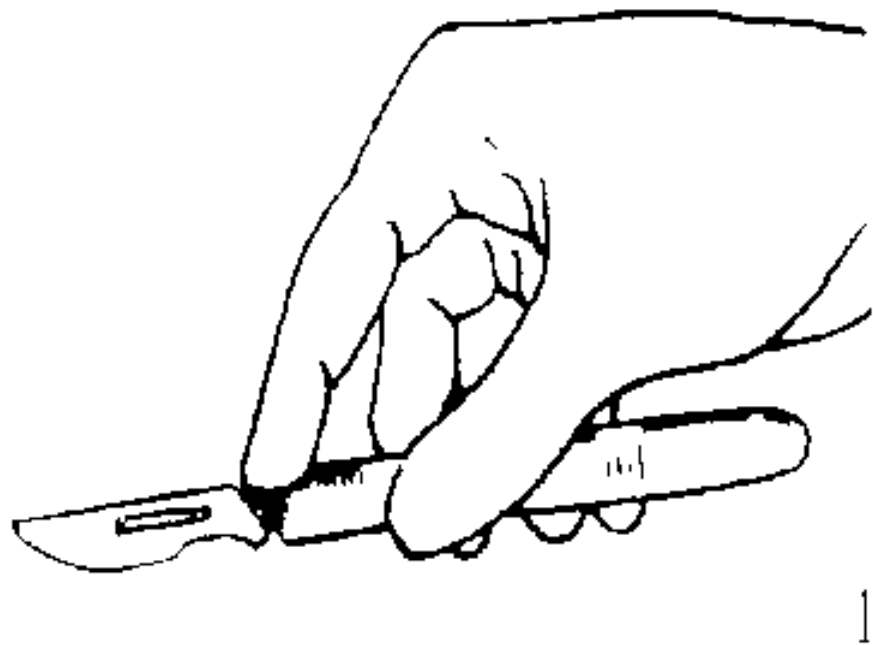


外科手术刀

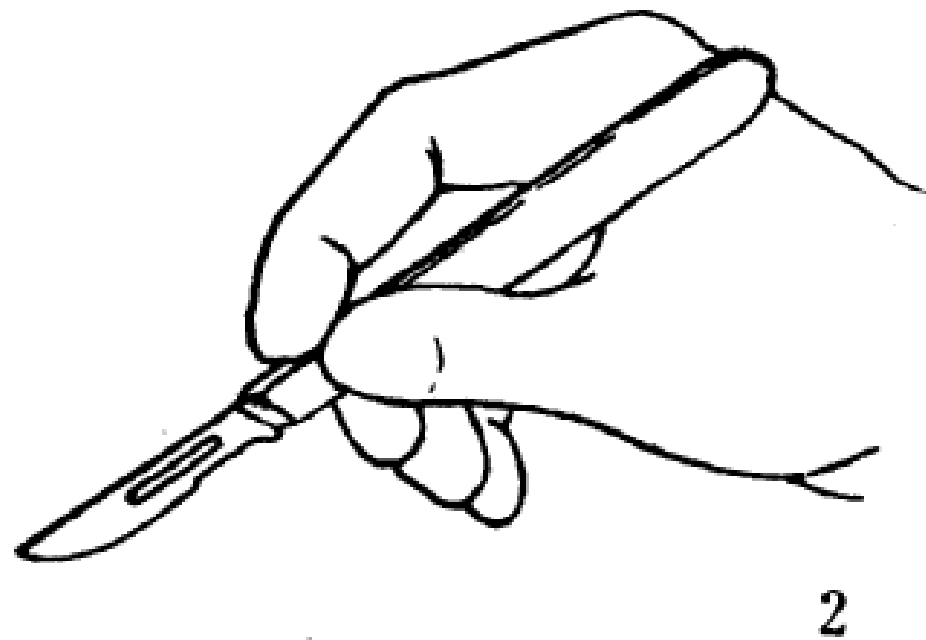
- ◆ 主要用于切开和分离组织，有固定刀柄和活动刀柄两种，活动刀柄手术刀，是由刀柄和刀片两部分构成。



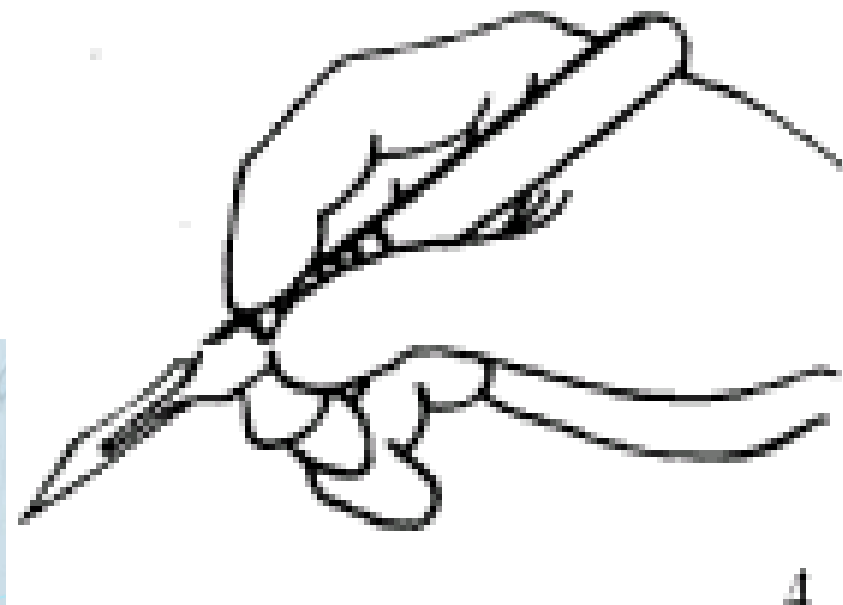
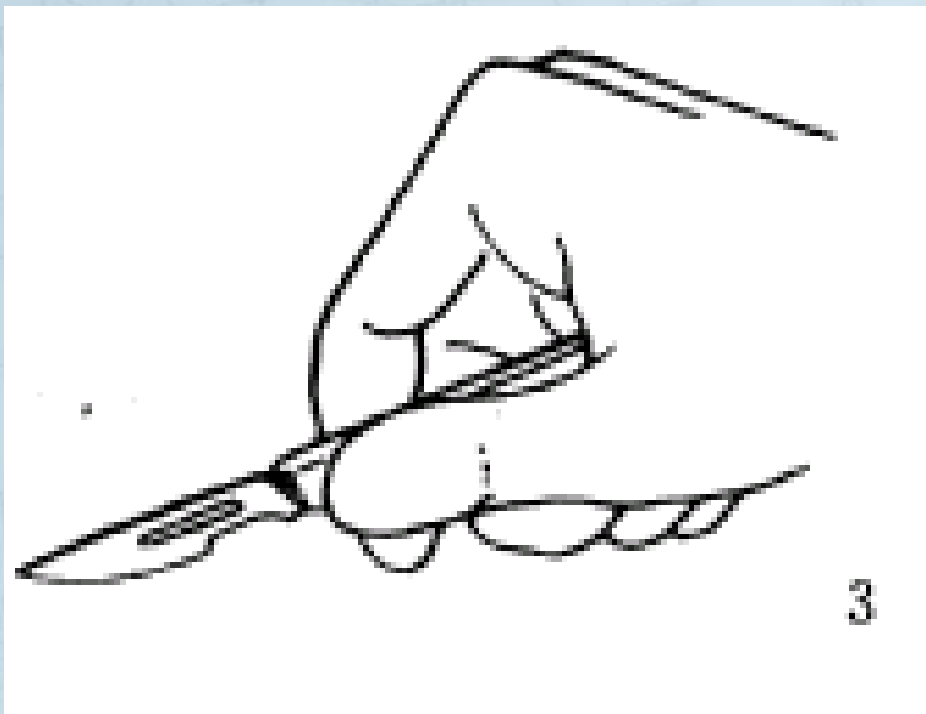
1 指压式



2 执笔式



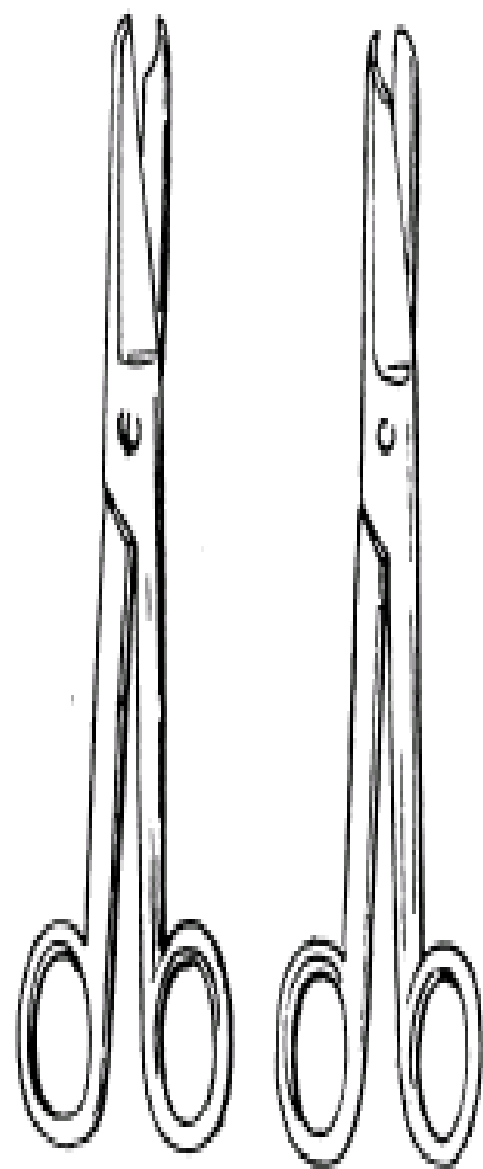
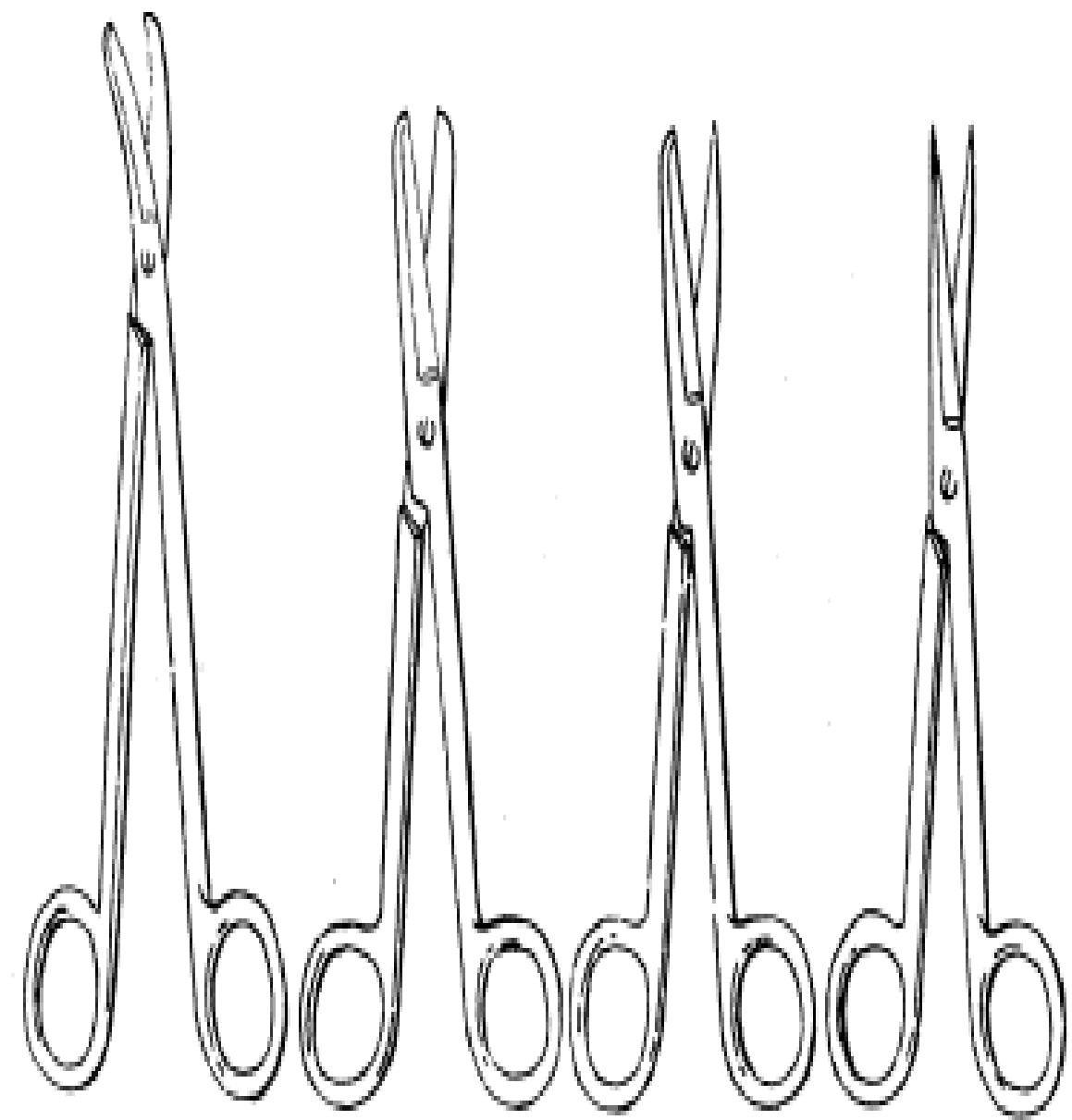
◆ 3 全握式 4 反挑式



手术剪

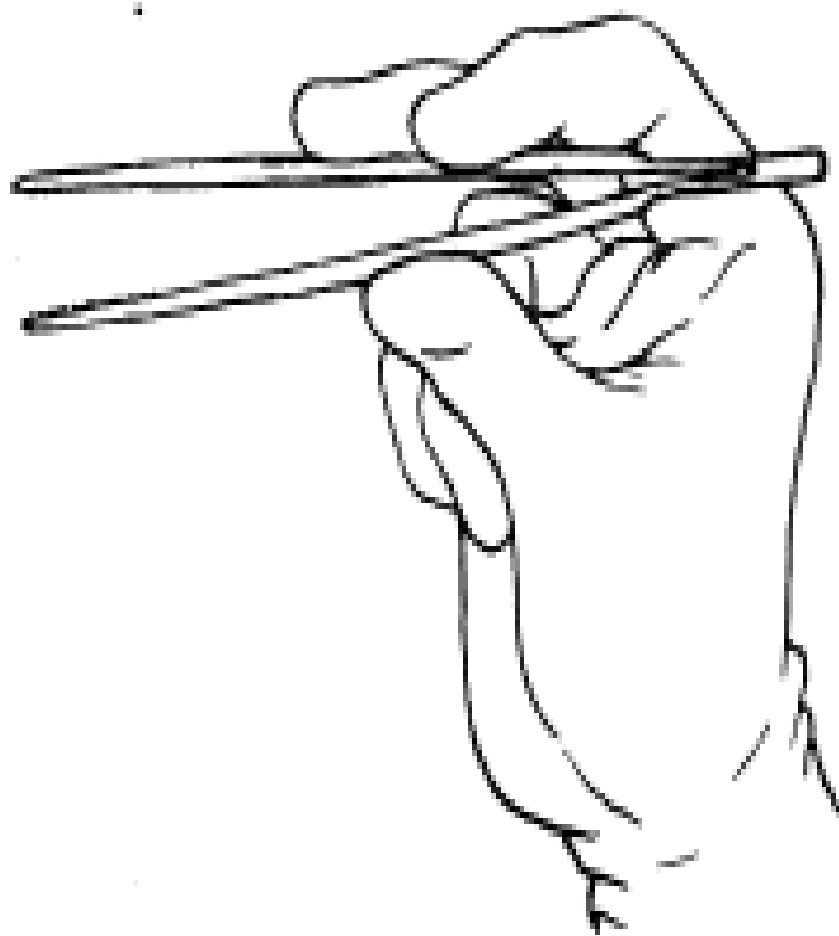
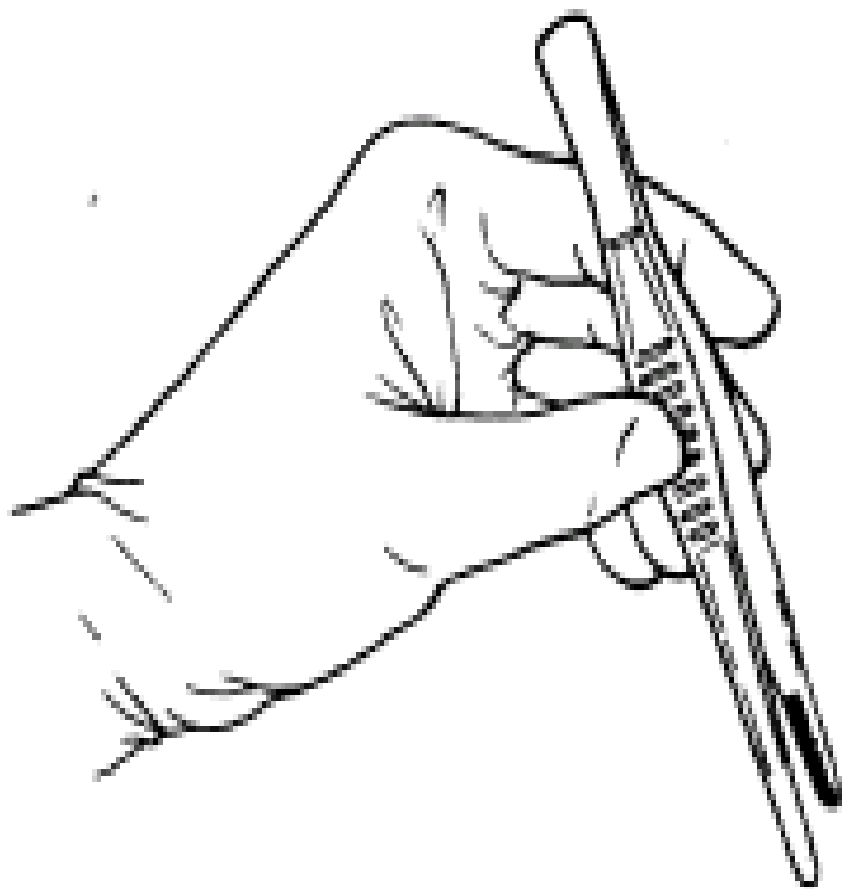


依据用途不同，手术剪可分为两种，一种是沿组织间隙分离和剪断组织的，叫组织剪，组织剪的尖端较薄，剪刀要求锐利而精细（图）。另一种是用于剪断缝线，叫剪线剪，剪线剪头钝而直，刃较厚（图）。



手术镊

用于夹持、稳定或握起组织以利切开及缝合。有不同的长度。镊的尖端分有齿及无齿（平镊），又有短型与长型、尖头与钝头之别，可按需要选择。有齿镊损伤性大，用于夹持坚硬组织。无齿镊损伤性小，用于夹持脆弱的组织及脏器（图）。



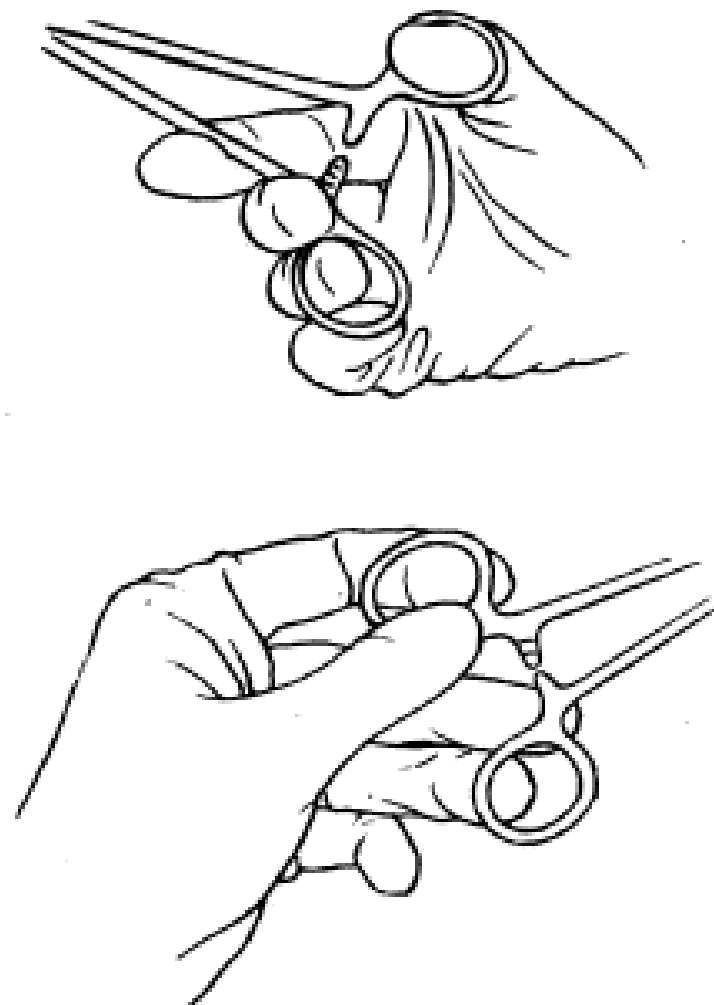
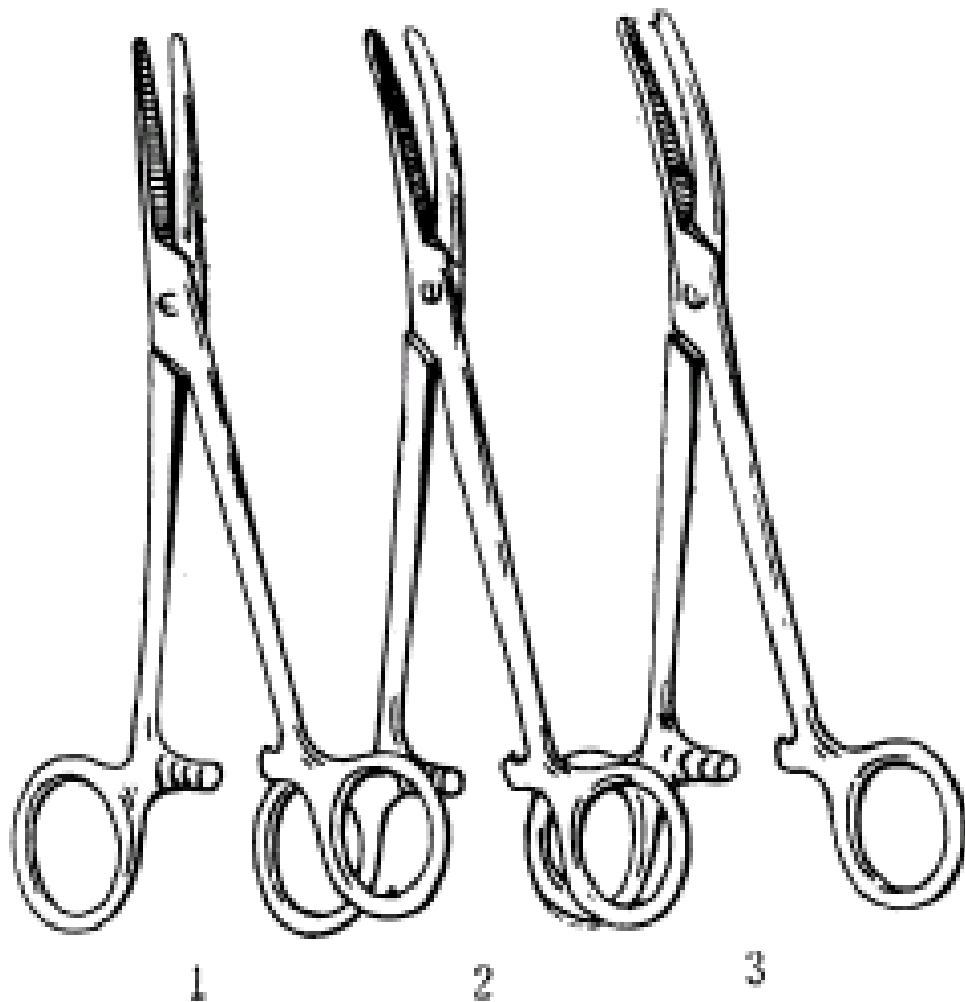
止血钳

又称血管钳，主要用于夹住出血部位的血管或出血点，以达到直接钳夹止血，有时也用于分离组织、牵引缝线。止血钳一般有弯、直两种（图）。

1 直止血钳 2 弯止血钳

3 有齿止血钳

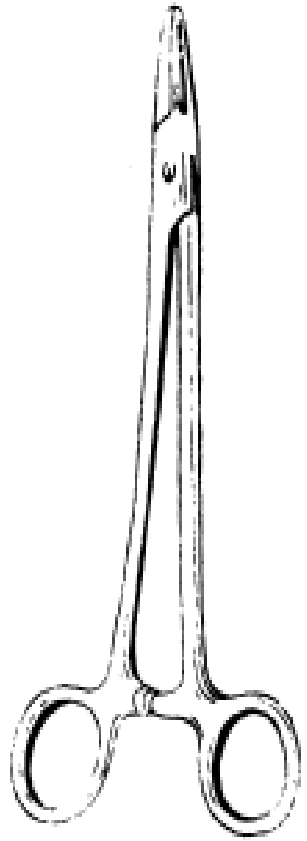
右手及左手松钳法



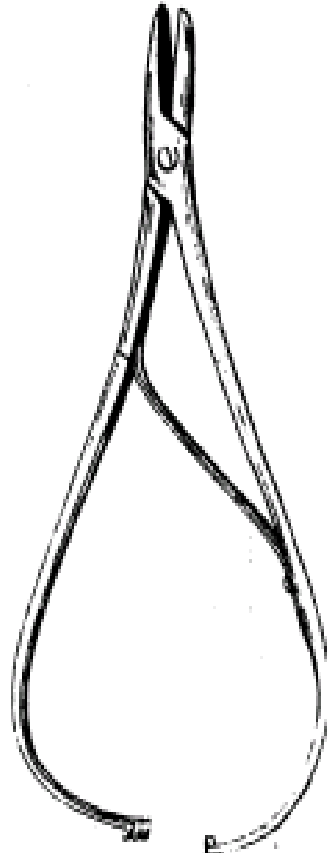
持针钳

- ◆ 又称叫持针器，用于夹持缝针缝合组织。普通有两种形式，即握式持针钳和钳式持针钳（图），兽医外科临床常使用握式持针钳。

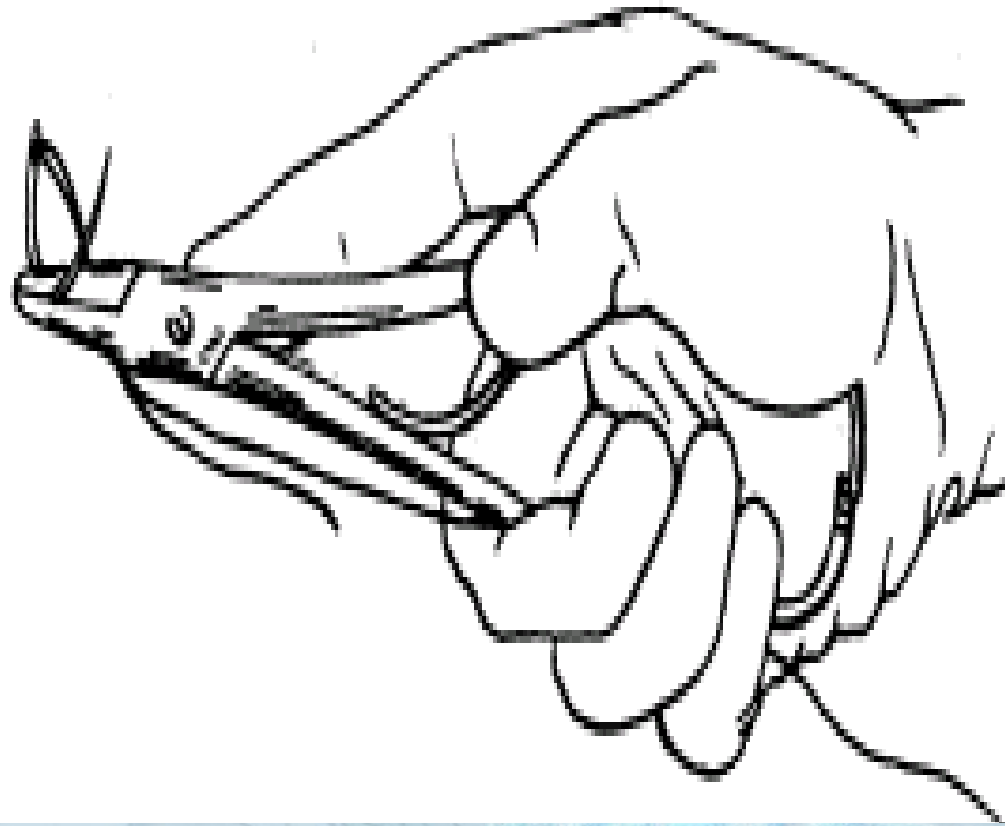
持针钳与握式持针钳的方法



1



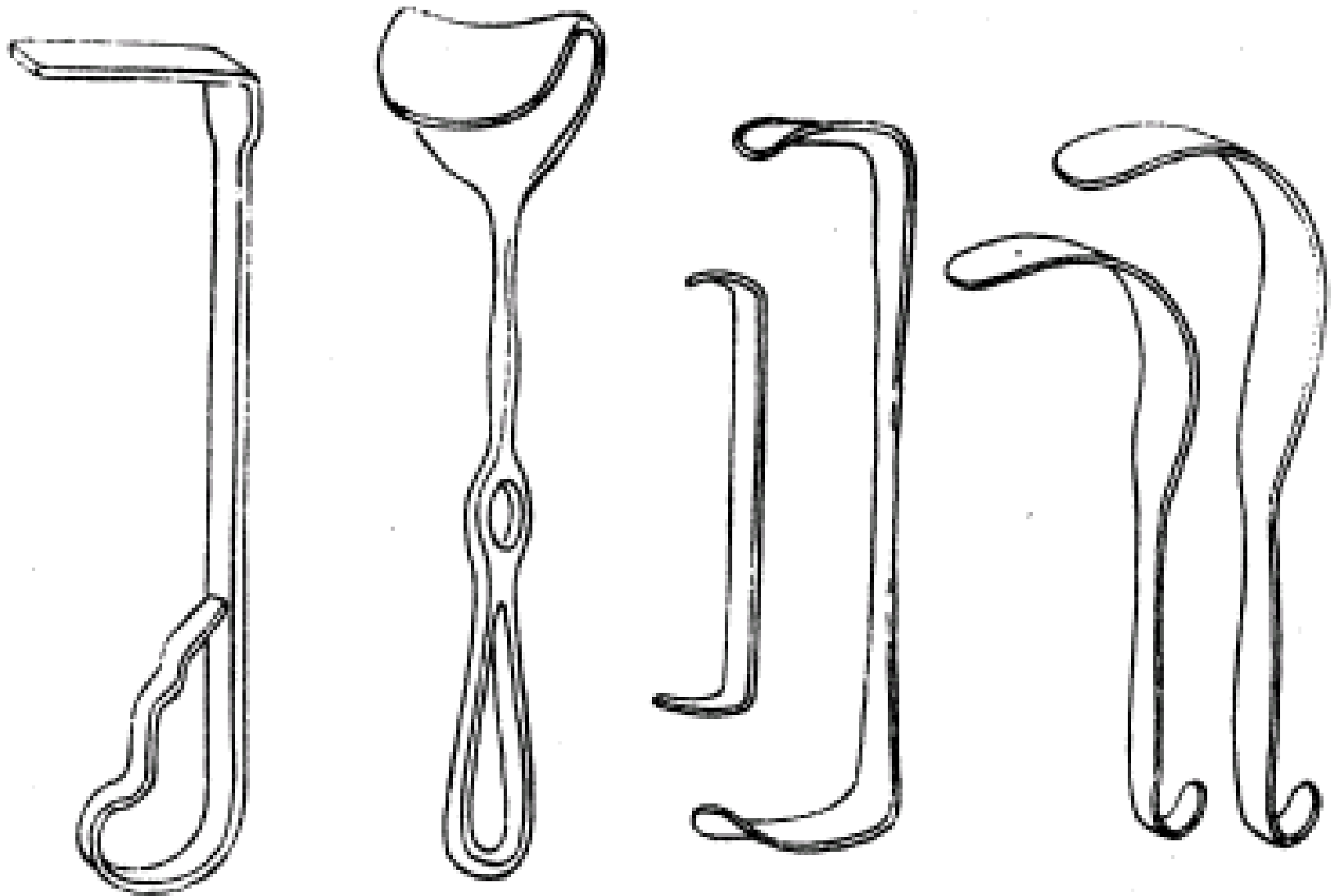
2



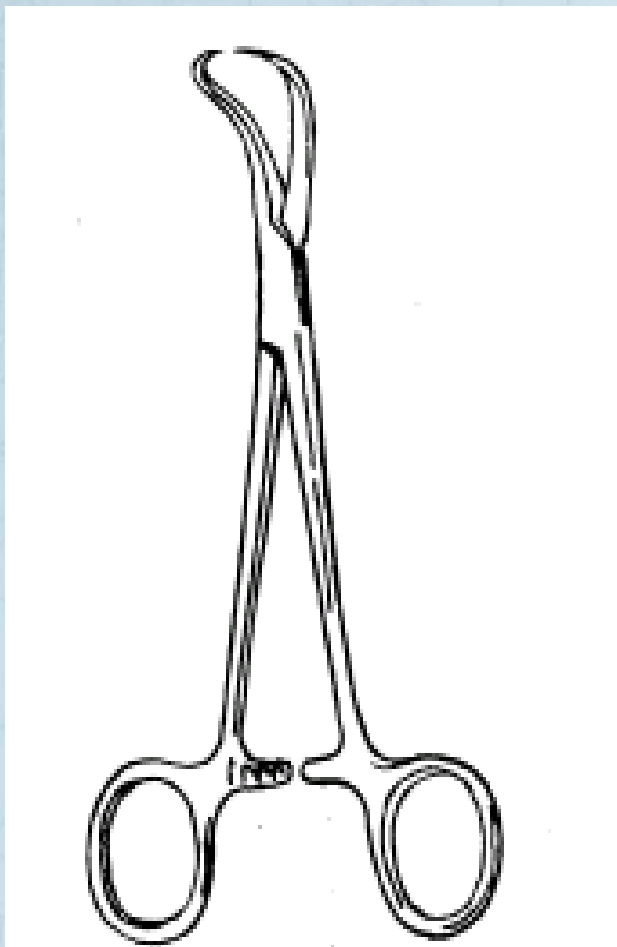
缝针、牵开器

- ◆ 又称拉钩，用于牵开手术部表面组织，加强深部组织的显露，以利于手术操作。根据需要有各种不同的类型牵开器（图）

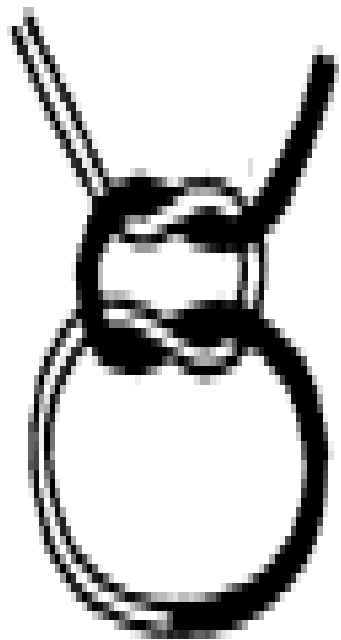
各种牵开器



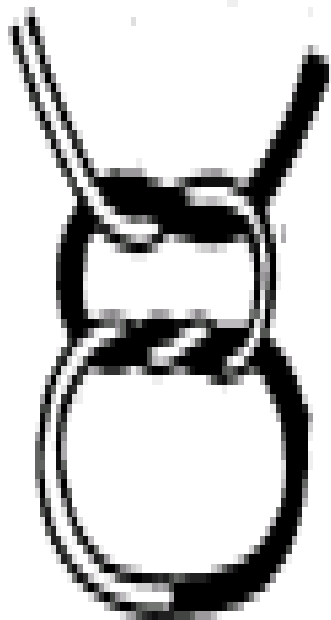
◆ 巾钳 与 肠钳



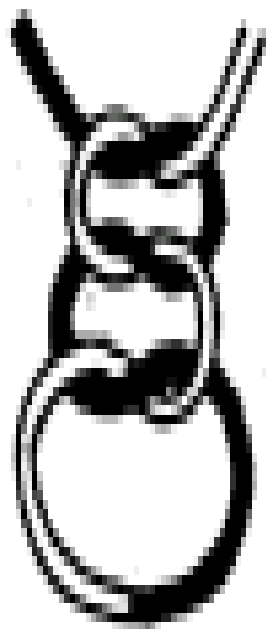
1 方结 2 外科结 3 三叠结 4 假结 5 滑结



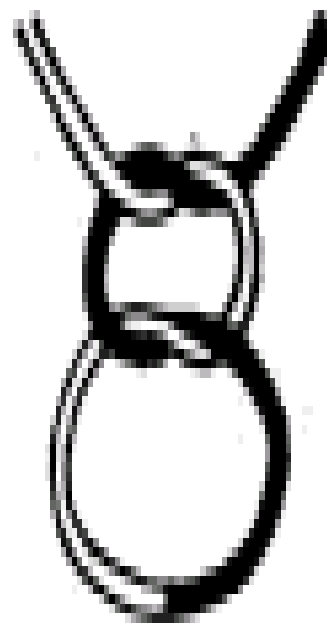
1



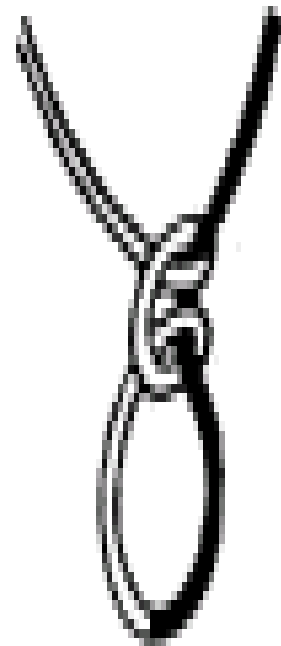
2



3



4



5

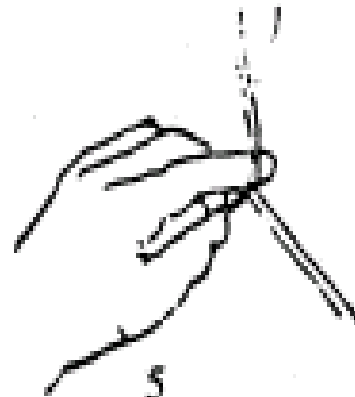
单手打结法



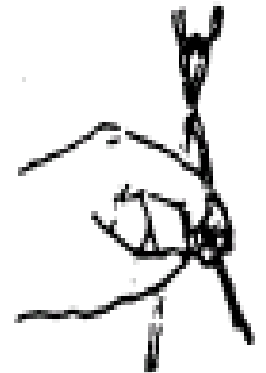
1



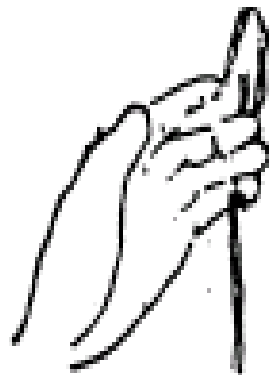
2



3



4



5



6

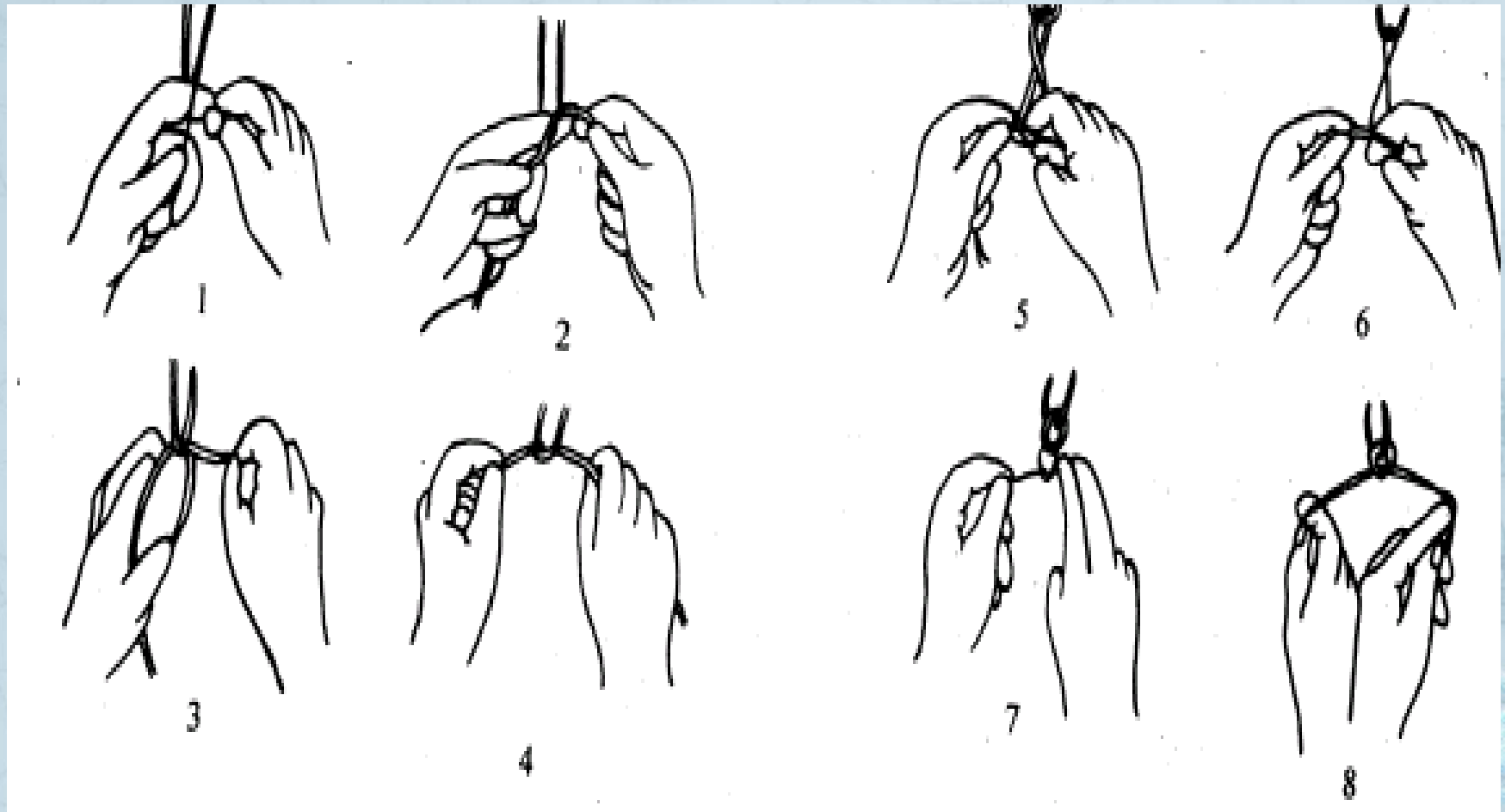


7

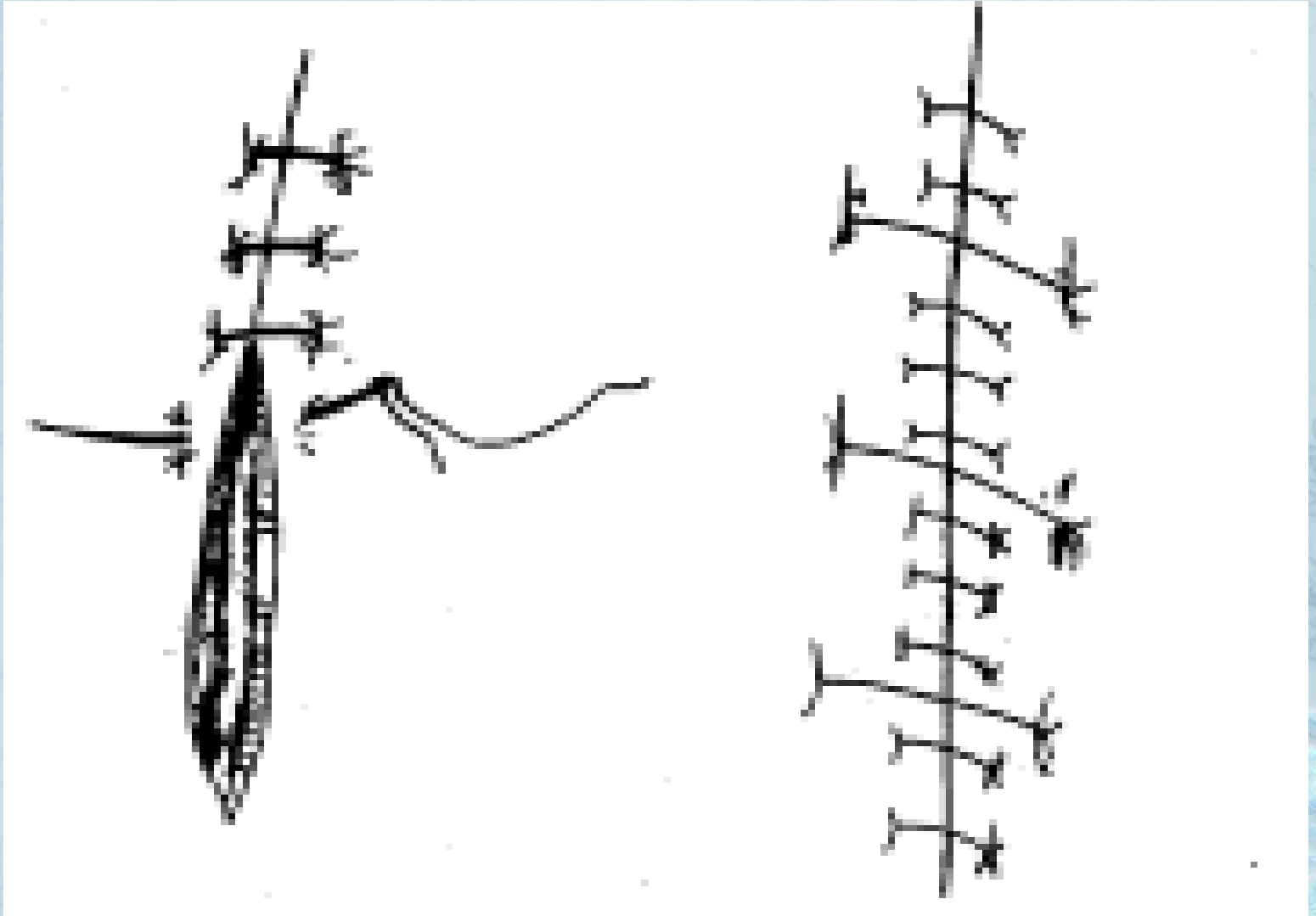


8

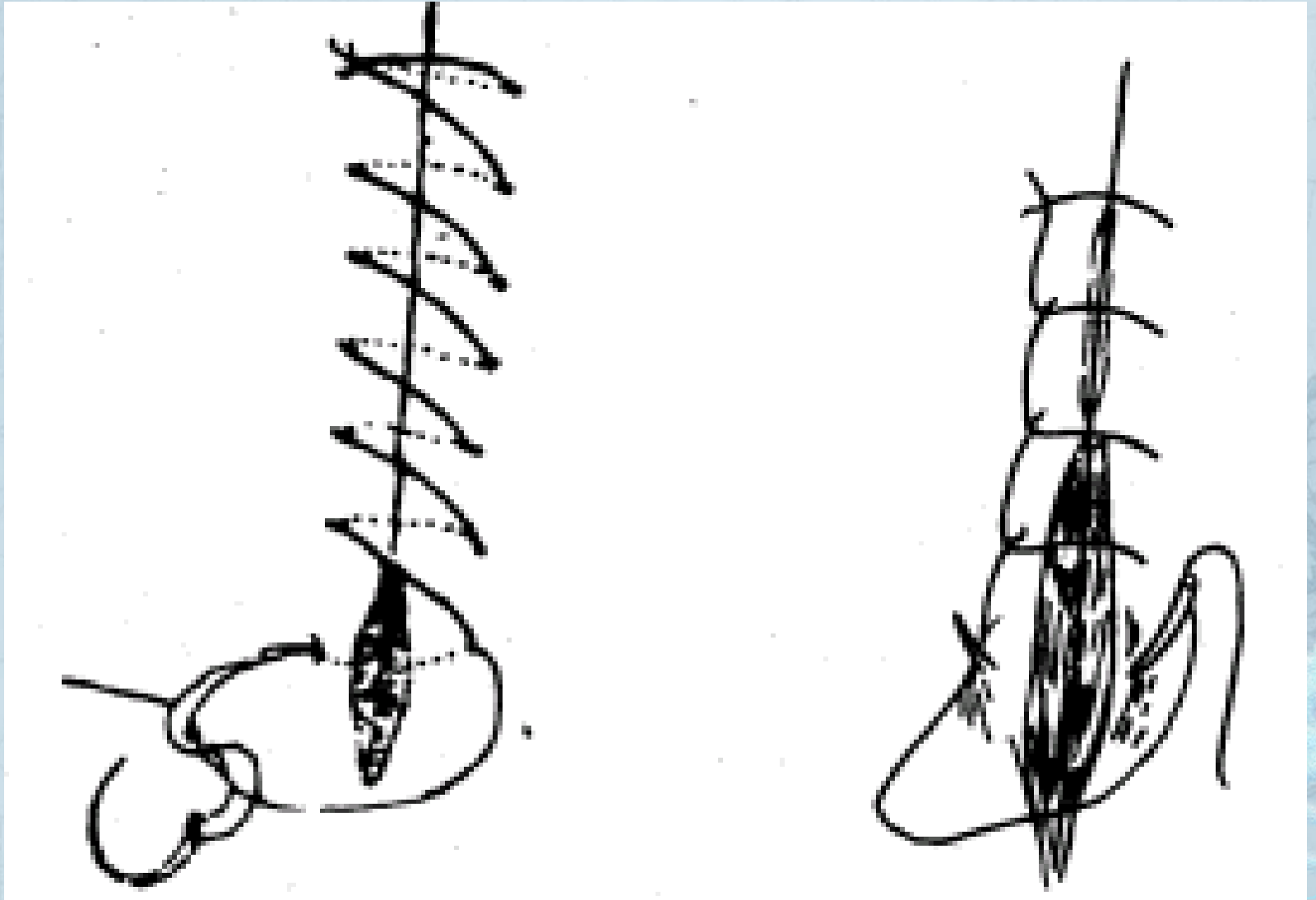
双手打结法



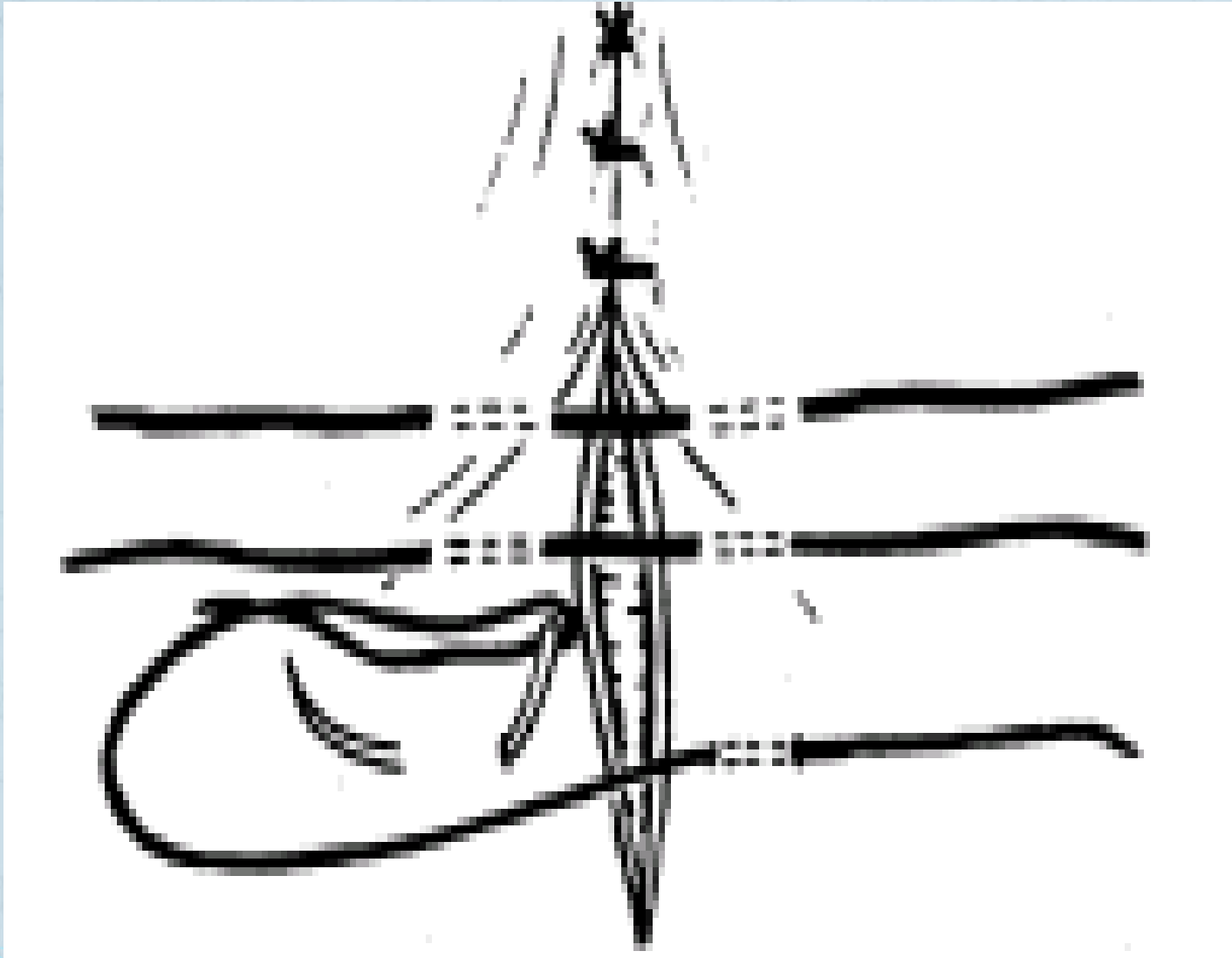
结节缝合与减张缝合



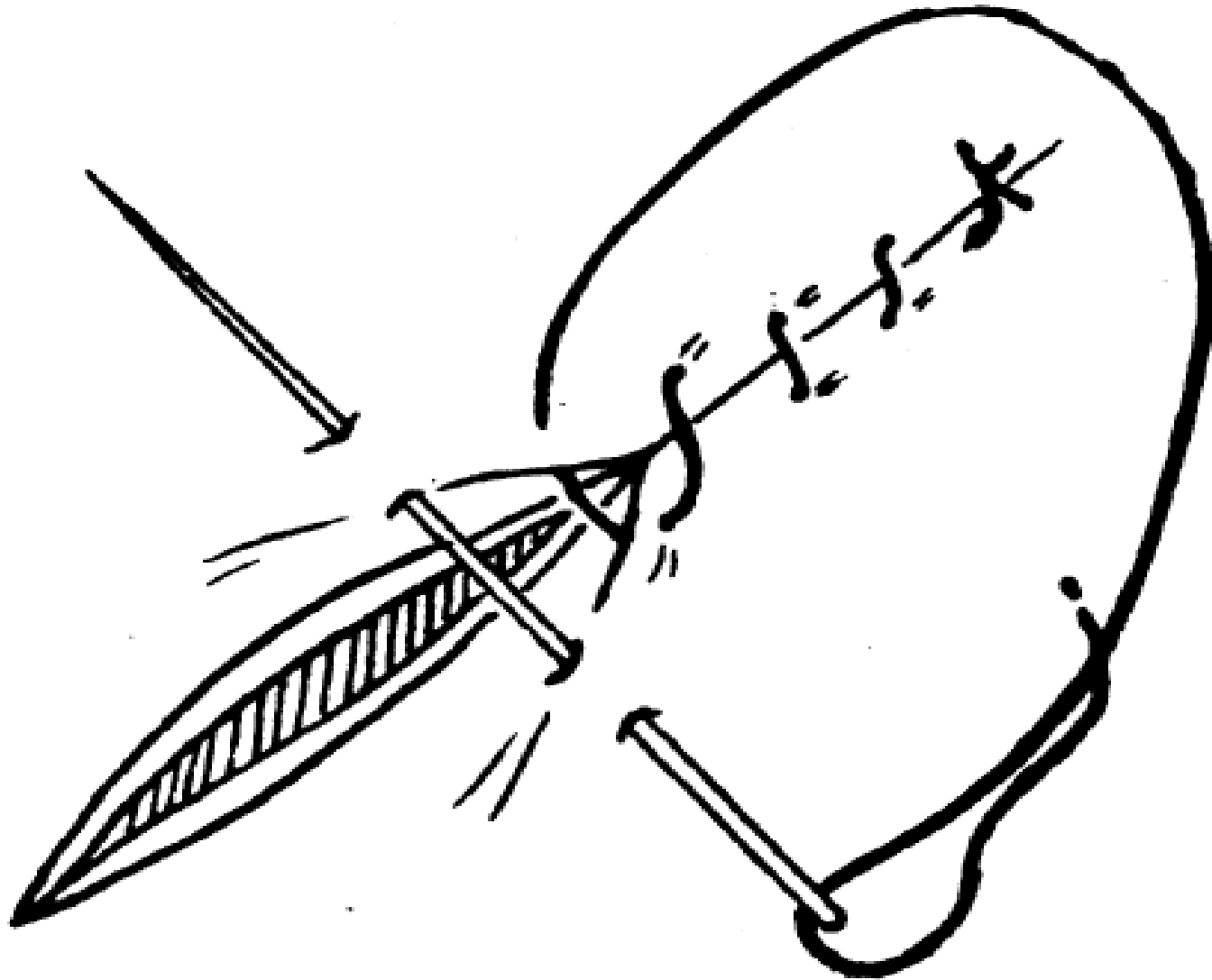
螺旋缝合与锁扣缝合



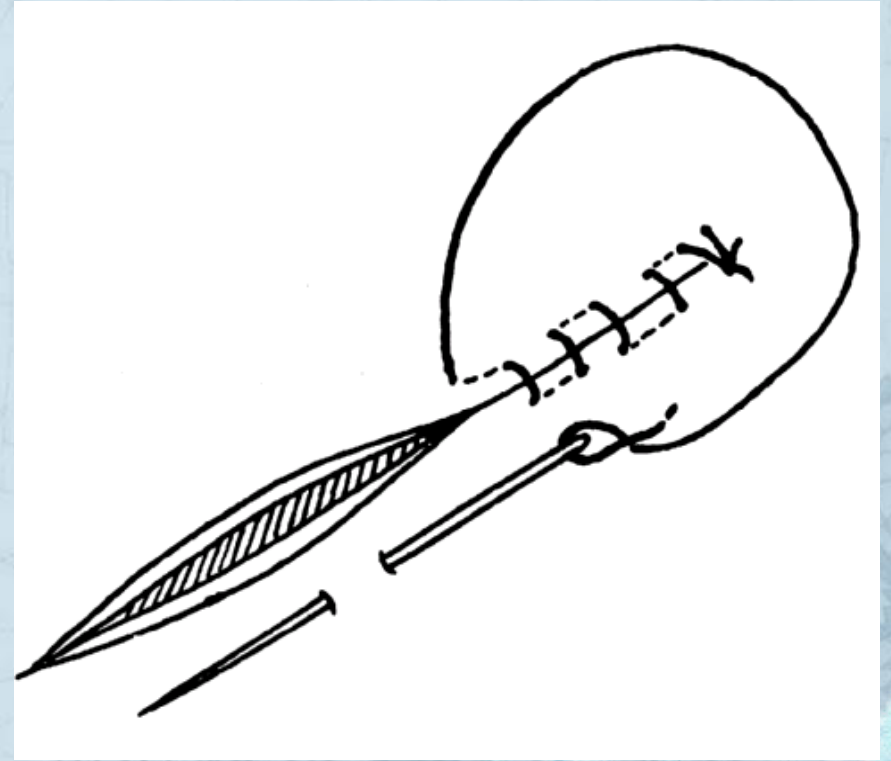
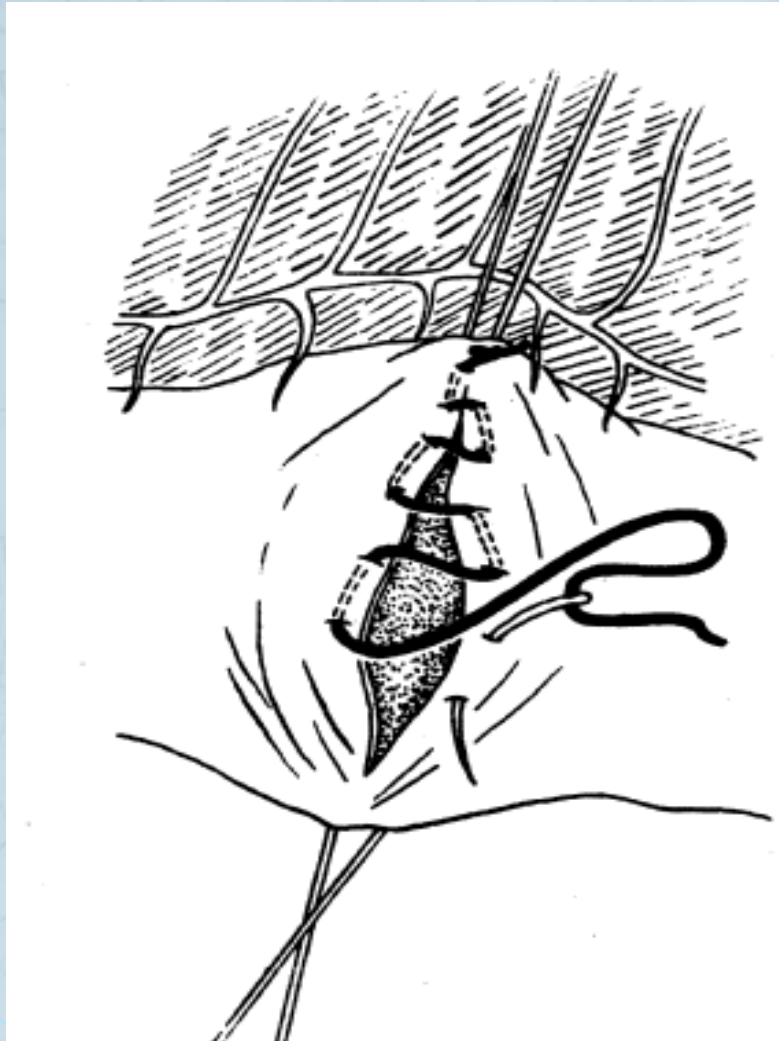
伦勃特氏间断缝合法



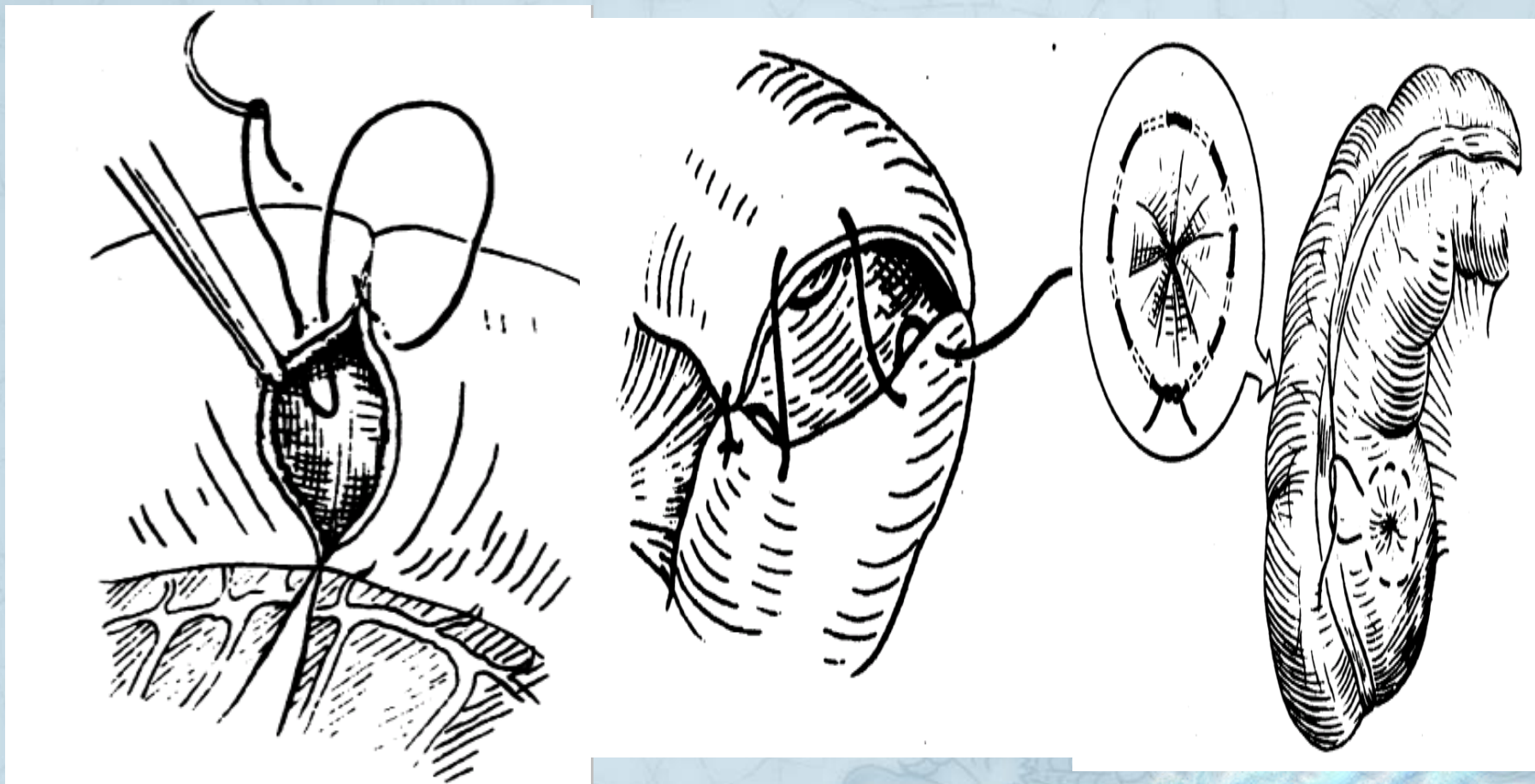
伦勃特氏连续缝合法



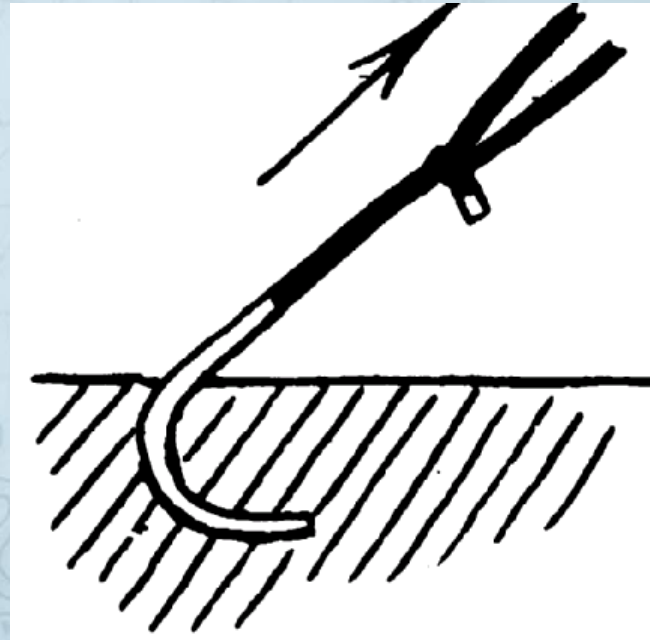
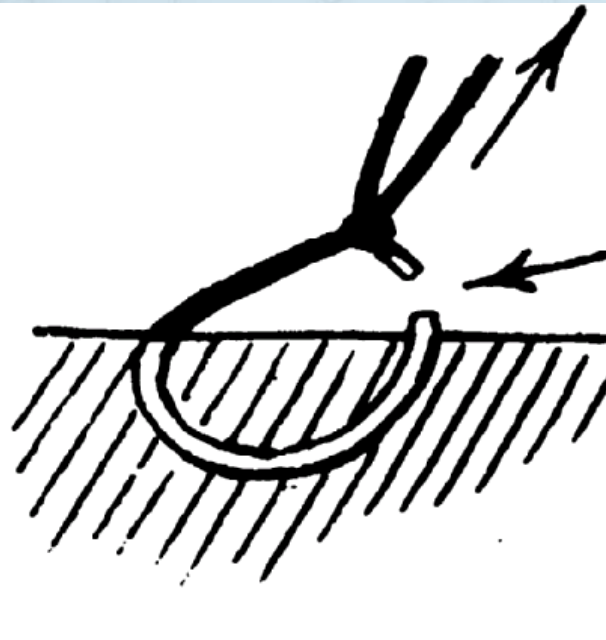
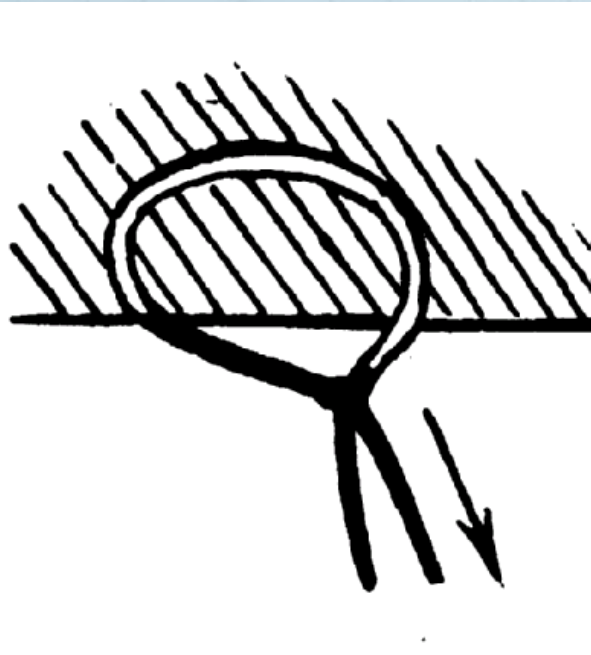
库兴氏缝合



康乃尔氏缝与荷包缝合



拆线



器械识别与打结缝合训练注意问题

- 1、能认识各类外科手术器械
- 2、掌握各类打结的方法
- 3、初步掌握常规缝合的方法



手术通路

- ◆ “切口”是手术通路,不宜过小,以一次完成切口,若补作切口,切口易不平,呈锯齿状,要避免。
- ◆ 另外,切开皮肤时要注意止血方法,大血管出血采用结扎止血;毛细血管出血采用压迫止血。

紧张皮肤切开法和皱襞切开法



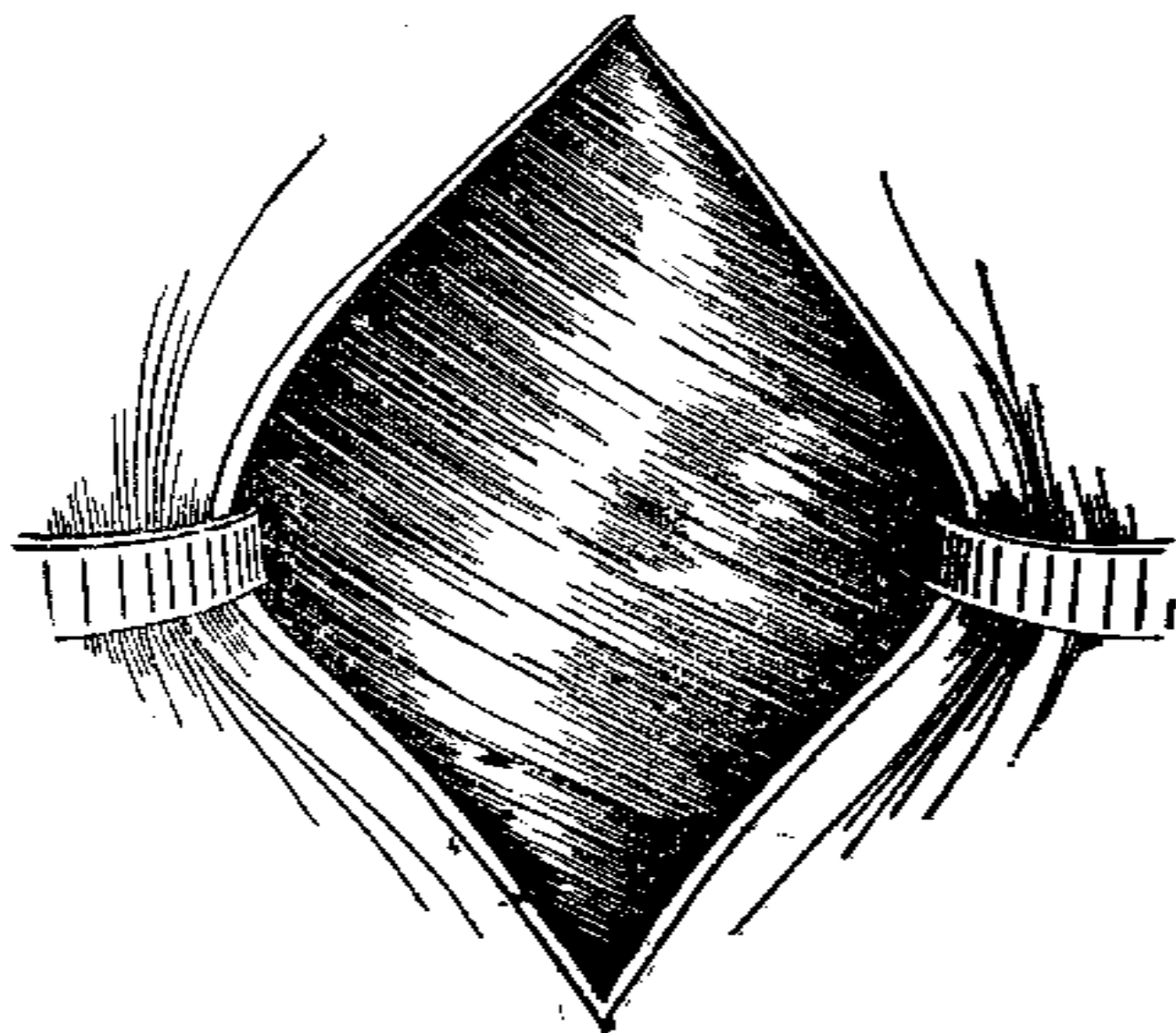


图 8—2 分离皮下组织，显露腹外斜肌

肌肉组织的分离

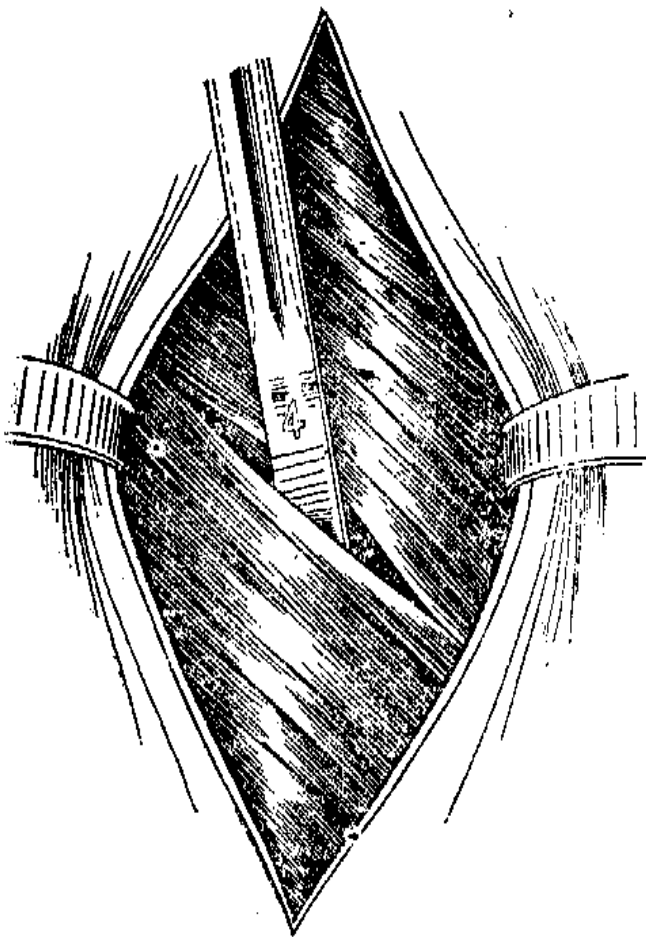


图 8—3 将腹外斜肌分离一小口

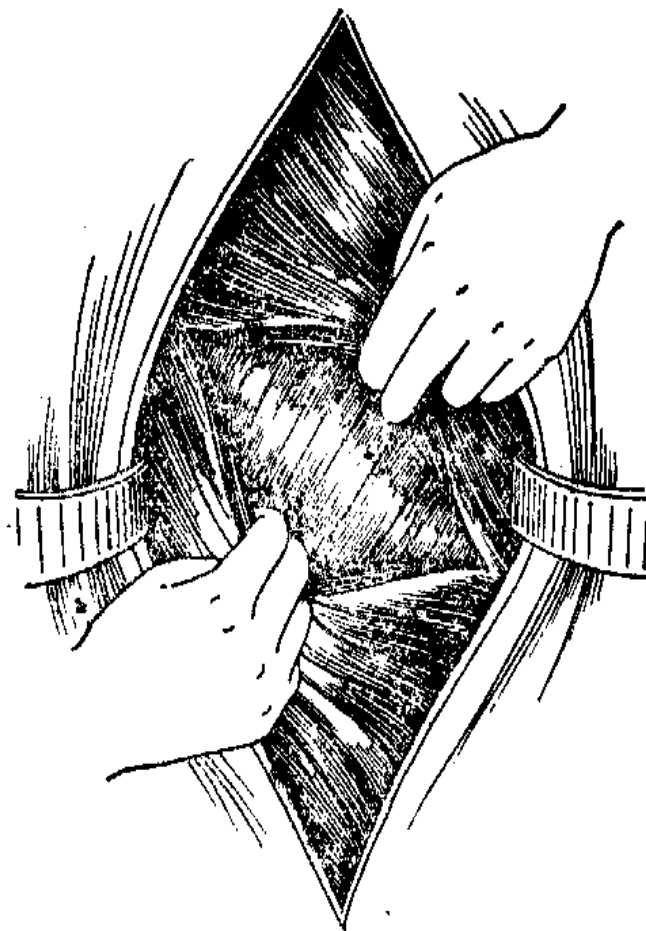


图 8—4 腹外斜肌全层一次钝性分离

腹膜切开法

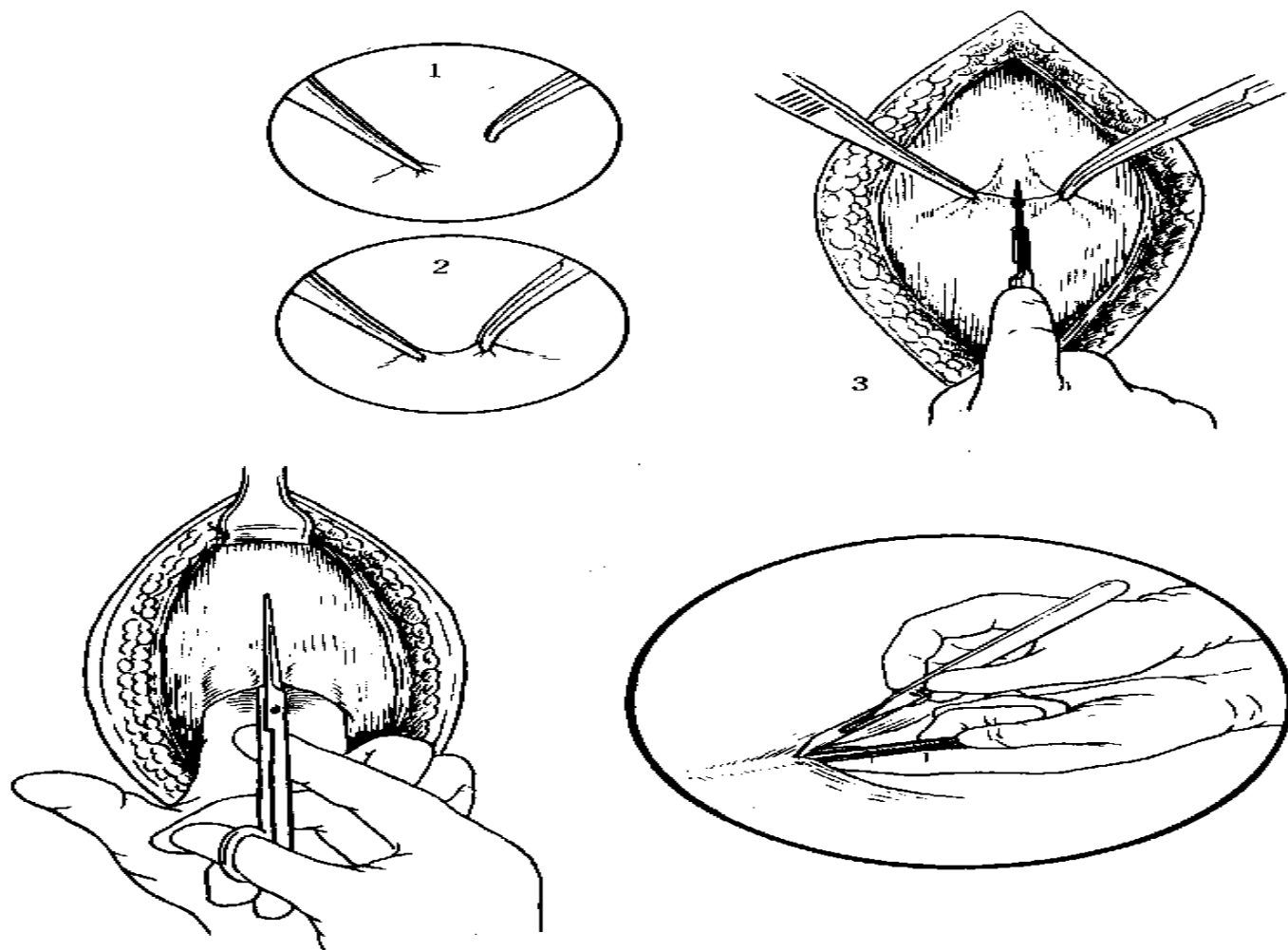
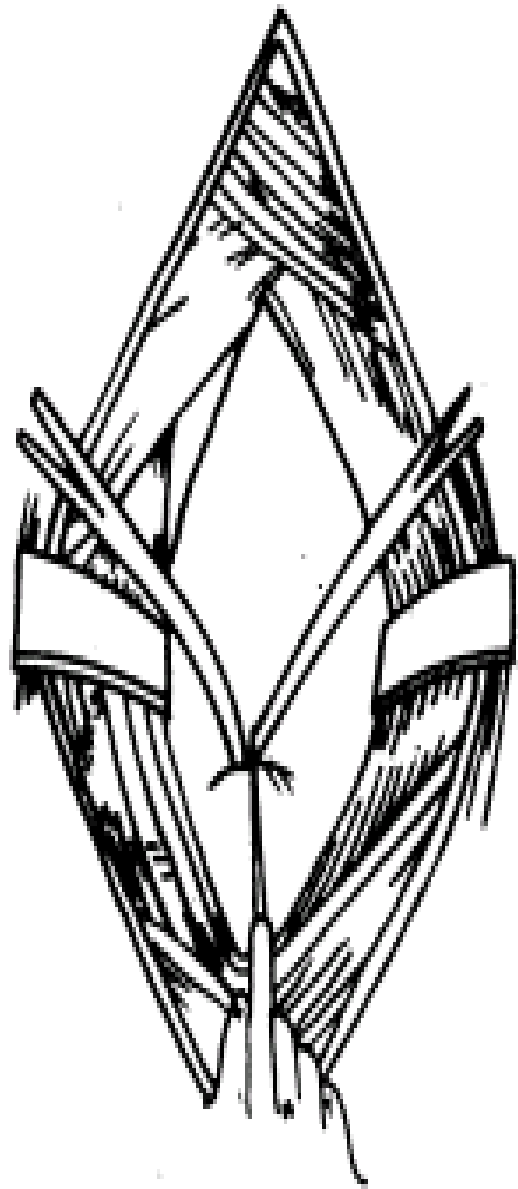


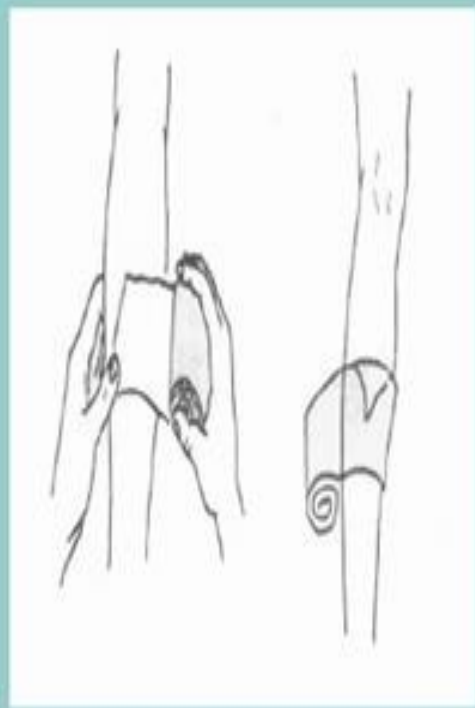
图 5-25 腹膜切开法



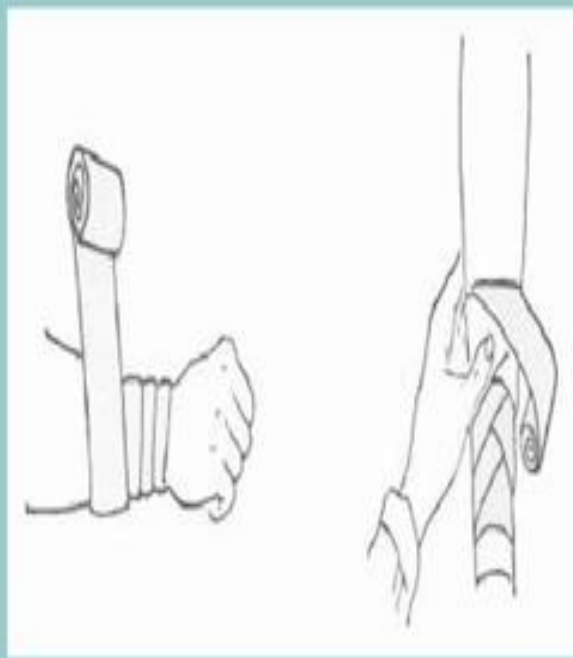
动物实验基本技术

——包扎技术

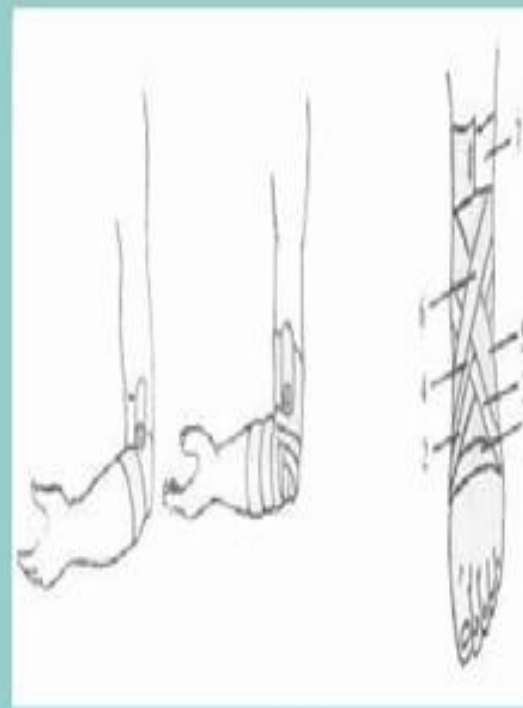
- ◆ 包扎的类型：绷带法
- ◆ 包扎材料：柔软物质、硬固物质、硬化物质、胶固物质、弹性物质
- ◆ 包扎技术：复绷带、结系绷带、夹板绷带、支架绷带、石膏绷带



螺旋包扎

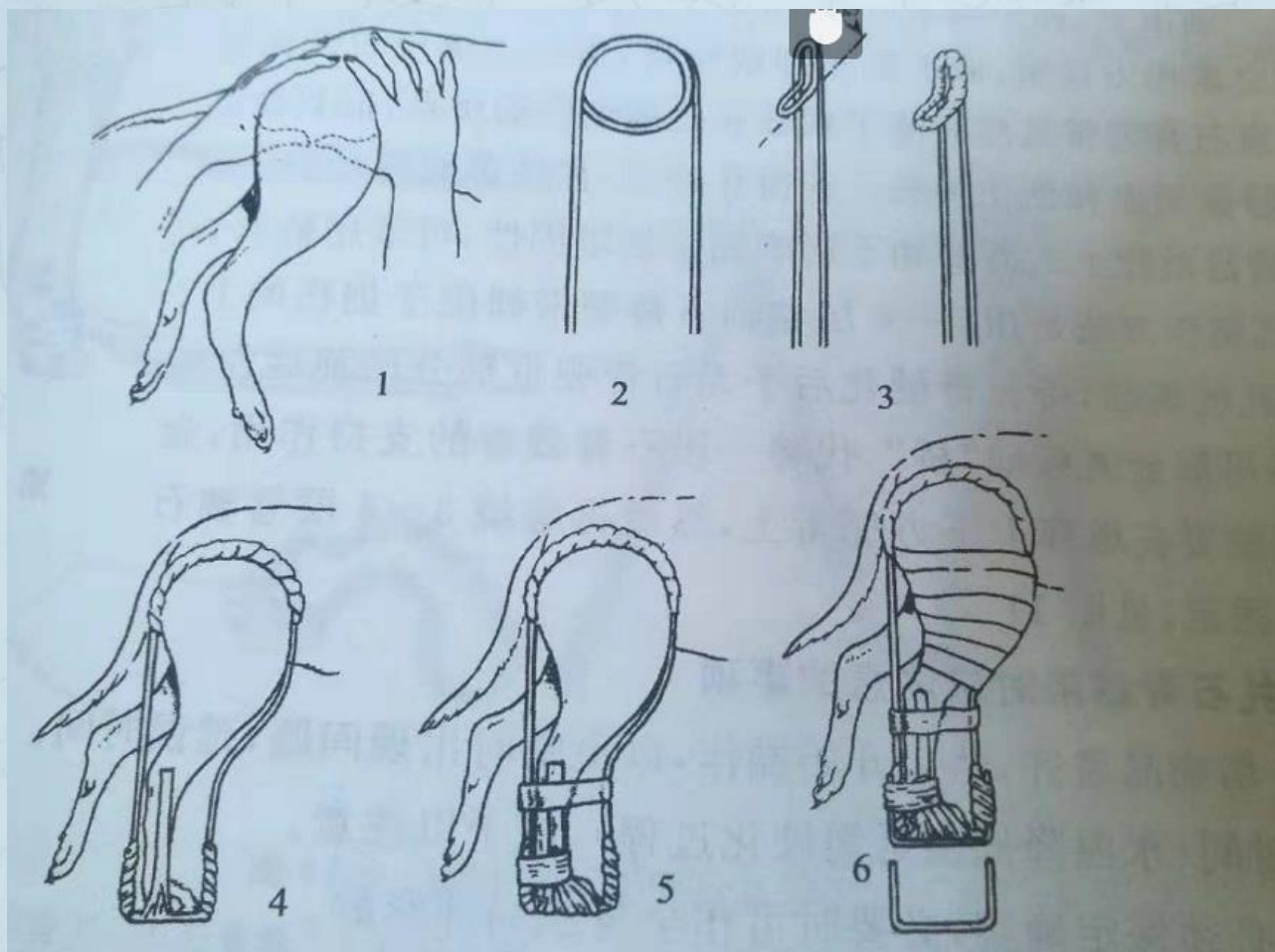


环形包扎

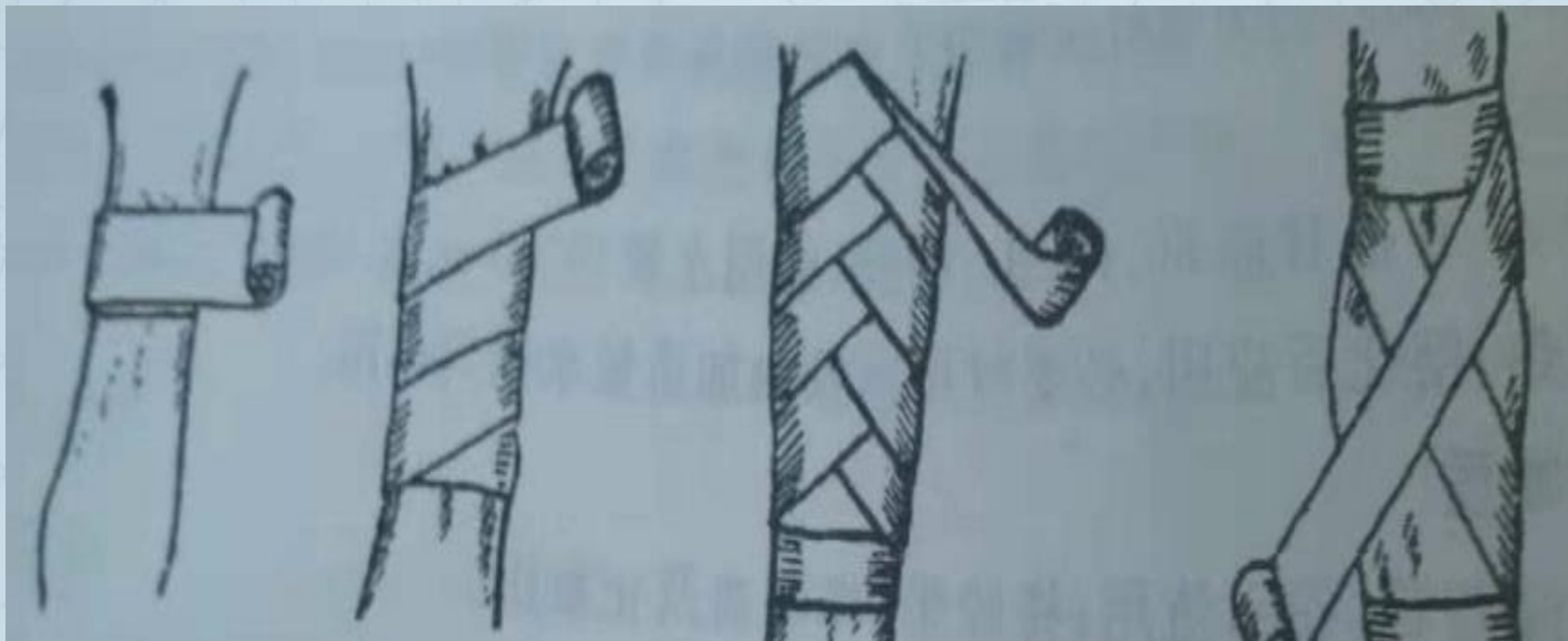


8字包扎

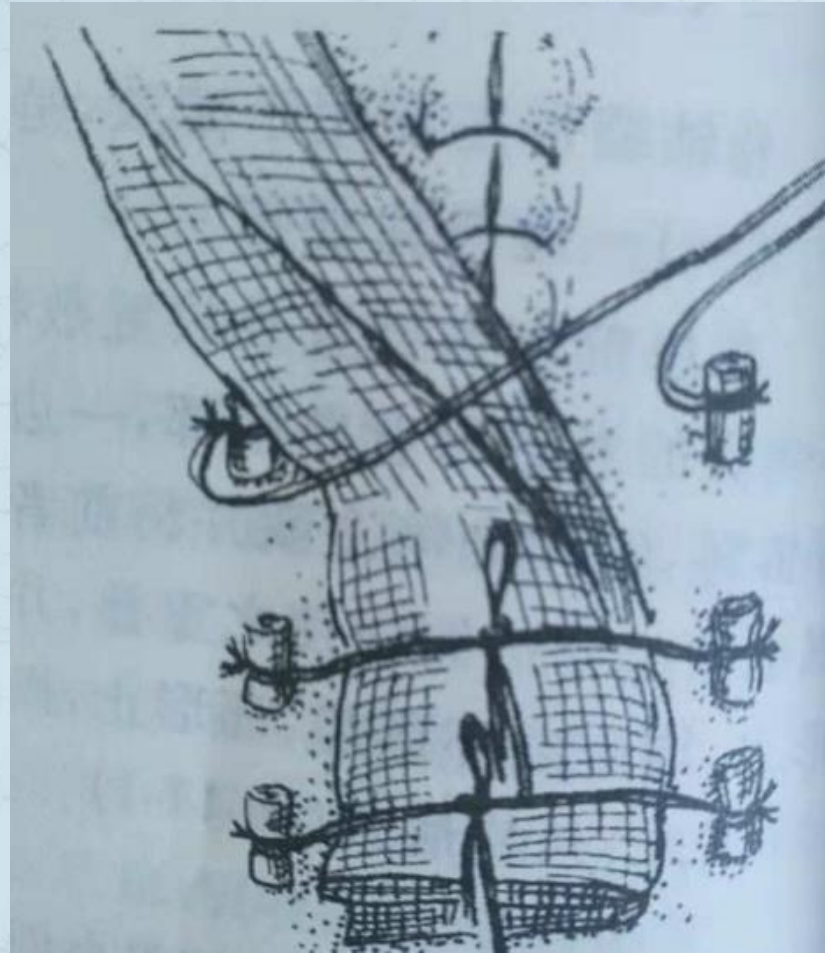
支架绷带



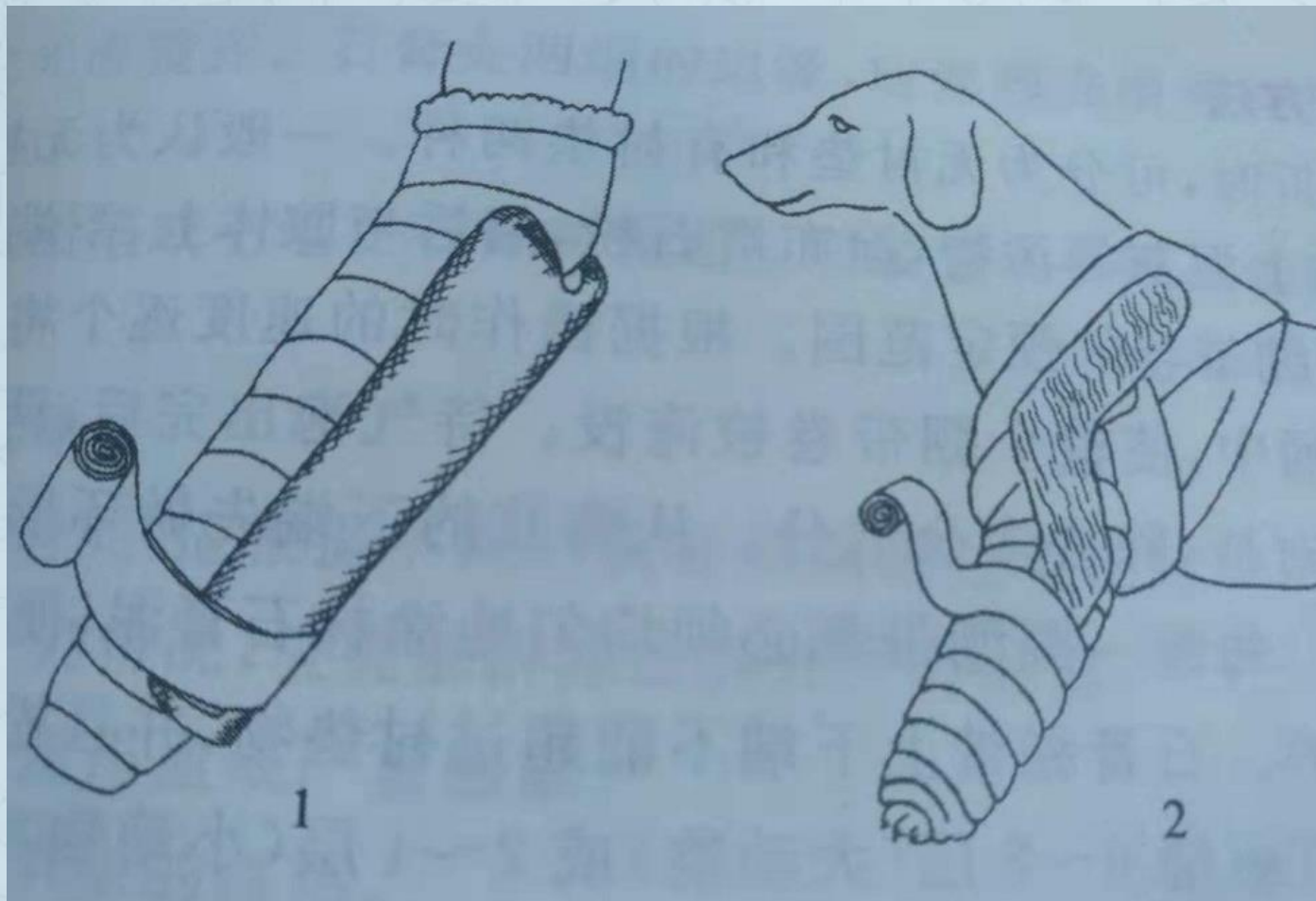
绷带的各种包扎形式



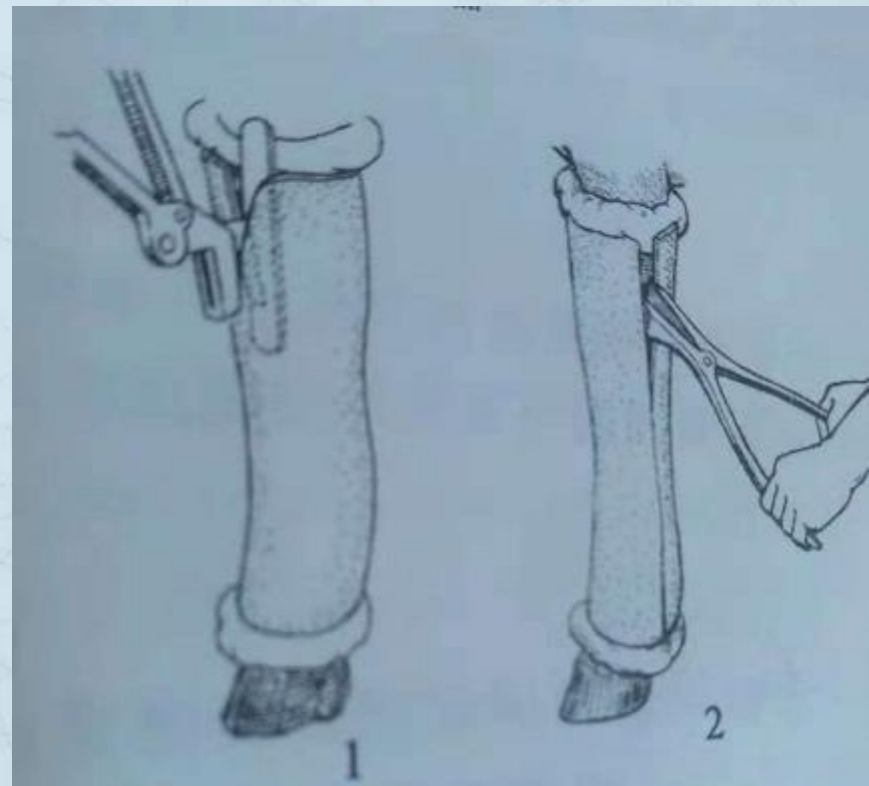
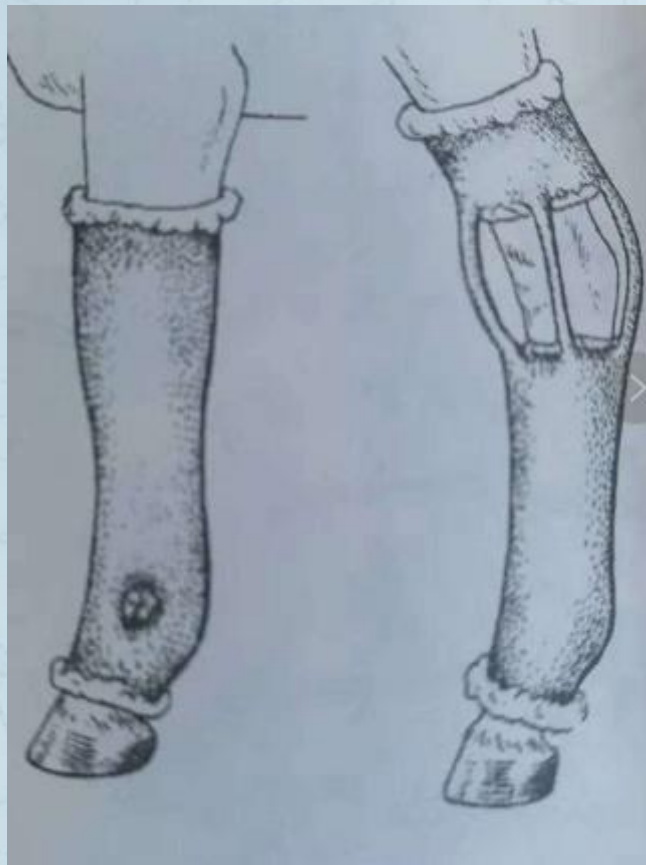
结系绷带



夹板绷带



石膏绷带



止血技术

对组织切开、分离过程中所造成的出血必须及时止血。常用的止血法有：

- 1、压迫止血：多适用于毛细血管渗血。
- 2、钳夹止血：小血管
- 3、结扎止血：可靠的止血方法。适用于较大的血管。
 - (1) 单纯结扎止血法
 - (2) 贯穿结扎止血法
- 4、其他方法：
 - (1) 药物止血法
 - (2) 烧烙止血法

止血技术

- ◆ 全身性止血：输血、给药
- ◆ 局部止血：压迫止血、给药
- ◆ 手术过程中的止血：器械止血、电烙止血
激光止血和高频电刀的使用

◆ 大失血

◆ (一) 诱发原因

- ◆ 多因动脉插管结扎不牢、动物挣扎，导致大动脉插管的松脱，或在进行动脉插管手术时，因未放置动脉夹或动脉夹夹闭不全而剪切动脉引起。

◆ (二) 急救措施

- ◆ 1. 立即止血：应迅速手指压迫或捏住出血点（尽量不要用止血钳，以防损伤动脉和神经），然后仔细检查分离出血点，于近心端放置动脉夹，再行动脉插管术。
- ◆ 2. 补充血容量：若失血太多，适当加快输液（生理盐水）速度，增加血容量。
- ◆ 3. 注射强心剂：静脉注射1:10000肾上腺素0.5ml

术后适应性观察管理

动物经外科手术、药物或放射线等实验因素处理后，机体受到不同程度的操作**损伤或刺激**，有些系统功能失调。若管理不当，会发生不利于实验目的的变化，**干扰实验结果**。有的甚至会**导致死亡，严重影响实验**。因此，加强实验后观察管理十分重要，实验后观察管理应注意以下几点：

(1) 环境条件的管理

① **温度和湿度** 温度和湿度对实验后动物影响明显，特别是外科手术刚结束时，动物往往仍处于麻醉状态。动物因麻醉后代谢减慢，体温降低，应注意及时调整好室内温度，应**比正常室温提高 $3\sim 5^{\circ}\text{C}$** 。对于仍处于麻醉状态的动物，应**铺盖**1层棉织物，以利于动物**保温**，防止感冒。观察室内禁止温度急剧变化，冷热温差应控制在 $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 以内。观察室内湿度也应控制在70%以下，以减少潮湿刺激。

② **洁净度** 观察室内洁净度对受试动物也有很大影响。有些实验，如器官移植同时使用大剂量的免疫抑制剂，导致动物免疫功能严重下降，受试**动物极易感染**，特别是**呼吸系统**极易受空气中病菌侵袭。空气中的浮游菌含量越高，感染程度越大。创伤部位也一样。因此，实验观察室应设置**通风净化系统**，且应运转良好，保证室内达到标准的洁净要求。动物的**铺垫物也应经常更换**，每天最好更换1次。更换时减少尘埃飞扬。铺垫物应柔软、吸水、无尘粒，同时应消毒、灭菌。

③ **光照和噪音** 术后观察室内应控制光照，一般宜暗淡些，减少刺激，切忌强光照明。为便于观察可借助手电筒或局部光源。观察室应保持安静，实验人员在室内观察的动作宜轻，不能喧哗或制造突发的噪声。

（2）防止继发感染和意外损伤

继发伤口感染是动物术后极易发生的情况，严重的可致**败血症**引起死亡。

除严格消毒器械和创口、控制污染源外，每天注射一定量的**抗生素**。

术后动物大多都因麻醉仍处于昏睡状态，实验人员应尽可能使之平卧，**防止因舌、咽部肌肉松弛而引起窒息**。并注意保护动物角膜、舌、鼻、口腔粘膜等易损伤部位。

有些动物经实验处理后，兴奋状态持续时间较长，应尽可能使之安静。在不影响试验的情况下，可使用一定量的**镇静剂**，使之尽快恢复正常状态，防止过度兴奋而发生挫伤或骨折等意外损伤。

(3) 营养和卫生的管理

动物由于受到外界刺激或损伤，食欲降低，甚至丧失，应细心观察动物的食欲状态，**尽可能使动物恢复食欲**，通过食入**高营养食物**来弥补机体的损耗。开始可调剂动物喜食的饲料来刺激食欲。对于**严重影响采食功能**的动物应通过**人工的方法进行肠外营养补给**，特别应注意水、无机盐的补充。

动物笼具、笼架及附属用品要经常清洗、消毒、避免污染。

一般每天上班后要用**消毒液擦拭**笼器具，下班前要用消毒液擦地板。用于更换的笼具一定要消毒，应保证有消毒好备用。更换下的笼器具应及时清洗消毒，换下的垫料应集中送焚烧炉烧毁，决不能乱丢乱放。动物排泄物应每天冲洗干净。用过的实验器械应及时清洗、分类、消毒。消耗品一次性物品用后应集中在污物袋内统一焚烧处理。

(3) 实验记录的管理

对实验观察动物，除继续进行有关实验处理和体液标本采集检查外，还应做好与实验有关的**情况记录**。记录的重点是动物对实验施加因素的反应情况。

对动物的**生理状态、饲养环境指标变化**等也应做好记录。记录应详细而完整。记录者、记录时间等均应填写清楚。拍照往往是实验后观察记录中的一种重要方式。

因实验处理死亡的动物以及在观察期内无症状死亡的动物均应作**剖检**，并及时作**病理诊断**、记录。动物剖检时，应在无菌操作下采取微生物学检查材料。然后，进行病理学检查，并采取病理组织检查材料。

八、脊椎实验动物适用及禁用的安乐死方法

(1) 实验动物安乐死概况

实验动物安乐死的目的是以人道的方式使动物死亡，它以最低程度的疼痛、最短的时间使动物失去知觉和痛觉。在2000 Report of the AVMA Panel on Euthanasia 中详细介绍了动物安乐死的各种方法和优缺点，本章仅对脊椎实验动物的应用范围内提供建议。

① 以安乐死作为解除疼痛的选择

如无法以其它方式解除动物的疼痛(pain)或窘迫(distress)时，建议施予安乐死。在科学研究中，如动物的死亡是可预期或必然的实验结果，则研究者应依据病理、生理或行为详加叙述动物实验的终点(end points)，除非安乐死确实影响实验结果，否则应在动物呈现垂死、死后组织自体溶解、或死后被笼内其它同类相食前以人道的方式解决。安乐死不但可以解决动物遭受严重疼痛，并可透过完整的尸体解剖更近一步了解动物的状态，有助于实验之进行。

② 执行安乐死的时机

一般而言选择安乐死的**考虑因素**有：实验结束后需要**获取动物体液、器官**等；或者动物体重下降、消瘦、成长期动物未增重、**无法有效控制的疼痛**、过度的肿瘤增长或腹水产生、持续性的**自残**行为、**疾病**造成的全身性脱毛、因实验因素无法治疗的长期下痢、严重呼吸道感染、持续性的倦怠伴随粗糙的皮毛、拱背、腹围扩大、四肢无法行走、严重贫血、黄疸、异常的中枢神经反应(抽搐、颤抖、瘫痪、歪头等)、无法控制的出血现象、排尿异常(无尿、多尿等)、影响进食饮水的病症、传染性疾病末期、严重低温、**明显的功能损伤**、动物遭受长期窘迫时的行为及生理现象等。

③ 安乐死：技术以及对执行者的冲击

由于动物失去知觉与死亡的时间点不尽相同，且有些如静脉注射或断头等方法需较高的技巧，难以由未接受训练的人员立刻操作、或者决定动物是否遭受疼痛或失去知觉。各机构的动物实验管理委员(IACUCs)与兽医师应建立人员训练计划，使人员学习正确的安乐死技术、了解动物安乐死的目的，并安排人员间的相互讨论，以舒缓可能的心理紧迫。

④ 避免造成其它动物的恐惧感

窘迫的叫声、恐惧的行为、惊吓动物的费洛蒙气味等，皆引起其它动物的**焦虑和不安**，这些因素会影响存活动物的身心平衡与福祉，干扰实验结果。因此，动物安乐死时，最好选择**远离同种动物的非公开场所来执行**。

⑤ 辅助执行安乐死

动物安乐死首要考虑为解除动物的疼痛与窘迫，因此面对神经质或难以驾驭的动物，可先给予镇定剂或止痛剂等药物，以便降低动物的紧迫与恐惧。

⑥ 确认死亡

确认动物是否死亡是非常重要的事项。执行安乐死后人员需检查动物的心跳是否完全停止。停止呼吸不能作为判断死亡的依据，动物往往先停止呼吸，数分钟之后才停止心跳，尤其是使用二氧化碳进行安乐死时，需特别注意。

(2) 选择安乐死的药物与方法

动物安乐死的方法取决于品种，大小，温顺程度，兴奋程度，对疼痛、窘迫、疾病的感受性，保定方法，实验是否需组织采样及其它因素。适当的物理性保定不仅可减低动物的恐惧、焦虑及疼痛，并可保障操作人员的安全。另外，人员的技术、动物的数量亦为安乐死程序是否顺利完成的重要因素。

(3) 选择安乐死药物与方法的准则

使动物无疼痛、窘迫、焦虑、不安的失去知觉至死亡的能力；

失去知觉至死亡花费的时间；

可靠性；

对操作人员的安全性；不可逆性；

对操作和观察人员的情绪影响；

对其后的评估、检验、组织应用的适合性；

选择安乐死药物与方法的准则

对品种、年龄、健康状况的适合性；
价格与可利用性；
效能与操作方便性；
对环境的冲击；
人滥用药物的潜在性。

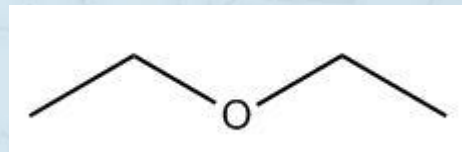
(3) 安乐死的药物与方法种类

安乐死的药物与方法有三类：吸入性药剂、非吸入性(化学性)药剂、物理性方法。

安乐死时最好先抑制动物的中枢神经而使其失去知觉，解除疼痛感。因此，**首选为使用过量的化学性麻醉药剂**。动物一旦被施予深度麻醉，之后使用的安乐死方法选择性较多，也较人道。如因科学研究所需无法使用麻醉剂，则使用物理性安乐死方法。

① 常见吸入性药剂药物

乙醚：(ethyl ether)



别名：二乙(基)醚；国标编号：31026；分子式： $C_4H_{10}O$ ； $(CH_3CH_2)_2O$ ；外观与性状：无色透明液体，有芳香气味，极易挥发。分子量：74.12；蒸汽压：58.92kPa/20℃ 闪点：-45℃；熔点：-116.2℃ 沸点：34.6℃；溶解性：微溶于水，溶于乙醇、苯、氯仿等多数有机溶剂；密度：相对密度(水=1)0.71；相对密度(空气=1)2.56；危险标记：7(低闪点易燃液体)

乙醚动物安乐死法

- (1) 乙醚为易挥发,易燃,易爆炸,具致癌性,有眼鼻刺激性之危险物品,其保存及使用皆应有适当之场所设备及标准操作程序或指示方法 (如防燃之安全抽风柜,密闭容器等)。
- (2) 施行于少量,小型实验动物 (如大鼠,小鼠等) 为可以接受之安乐死方法。
- (3) 动物尸体之处理仍有安全顾虑,置放于冰箱冰柜焚化器中皆应特别注意 (动物尸体应于安全抽风柜中暴露至少30分钟,确认死亡后再置于密封之塑料袋中;动物尸体应尽快清除,不宜置放过久)。
- (4) 乙醚易溶于血中,其引发之安乐死较为耗时。

氟烷

【别名】 三氟溴氯乙烷，三氟乙烷。所属类别：麻醉药及其辅助用药/全身麻醉药/吸入麻醉药。

【性状】 本品为无色、易流动的重质液体；有类似氯仿的香气，味 甜。本品能与乙醇、氯仿、乙醚或非挥发性油类任意混合，在水中微溶。相对密度 本品的相对密度为1.871~1.875。

【类别】 吸入全麻药。

【剂量】 吸入全麻的吸气内浓度按蒸气计。

甲氧氟烷 (Methoxyflurane (Penthrane))

【别名】二氟二氯乙基甲醚。所属类别：麻醉药及其辅助用药/全身麻醉药/吸入麻醉药。【性状】无色澄明液体，不燃烧爆炸，有水果气味。略溶于水，可与氯仿、乙醚、乙醇和丙酮混合。【作用】本品MAC为0.16%，全麻效能最强。镇痛效果好，在浅麻醉时即有明显的镇痛作用。血/气分配系数为13，诱导期长，约20min左右，常伴有兴奋期。停吸后，苏醒也较慢。全麻较深时，骨骼肌明显松弛。本品不引起子宫肌松弛。对循环的抑制比氟烷轻，对呼吸的抑制与氟烷相似，引起心肌对肾上腺素的敏感性比氟烷弱，合用时仍应注意。对呼吸道无刺激性。全麻时皮下血管收缩，皮肤苍白，手术区渗血少。【注意】在一般应避免高浓度、长时间的甲氧氟烷麻醉。

安氟醚 (Enflurane)

【别名】安氟液 恩氟烷 氟醚麻醉剂； 【性状】：液体。

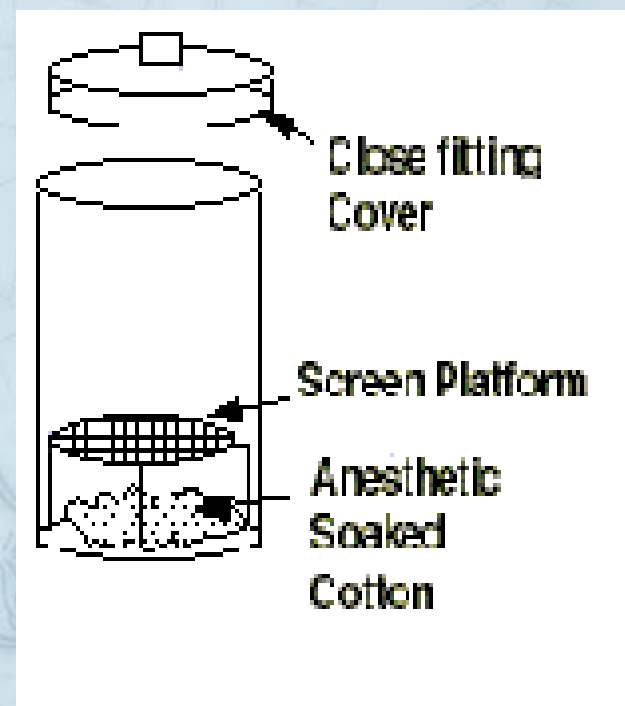
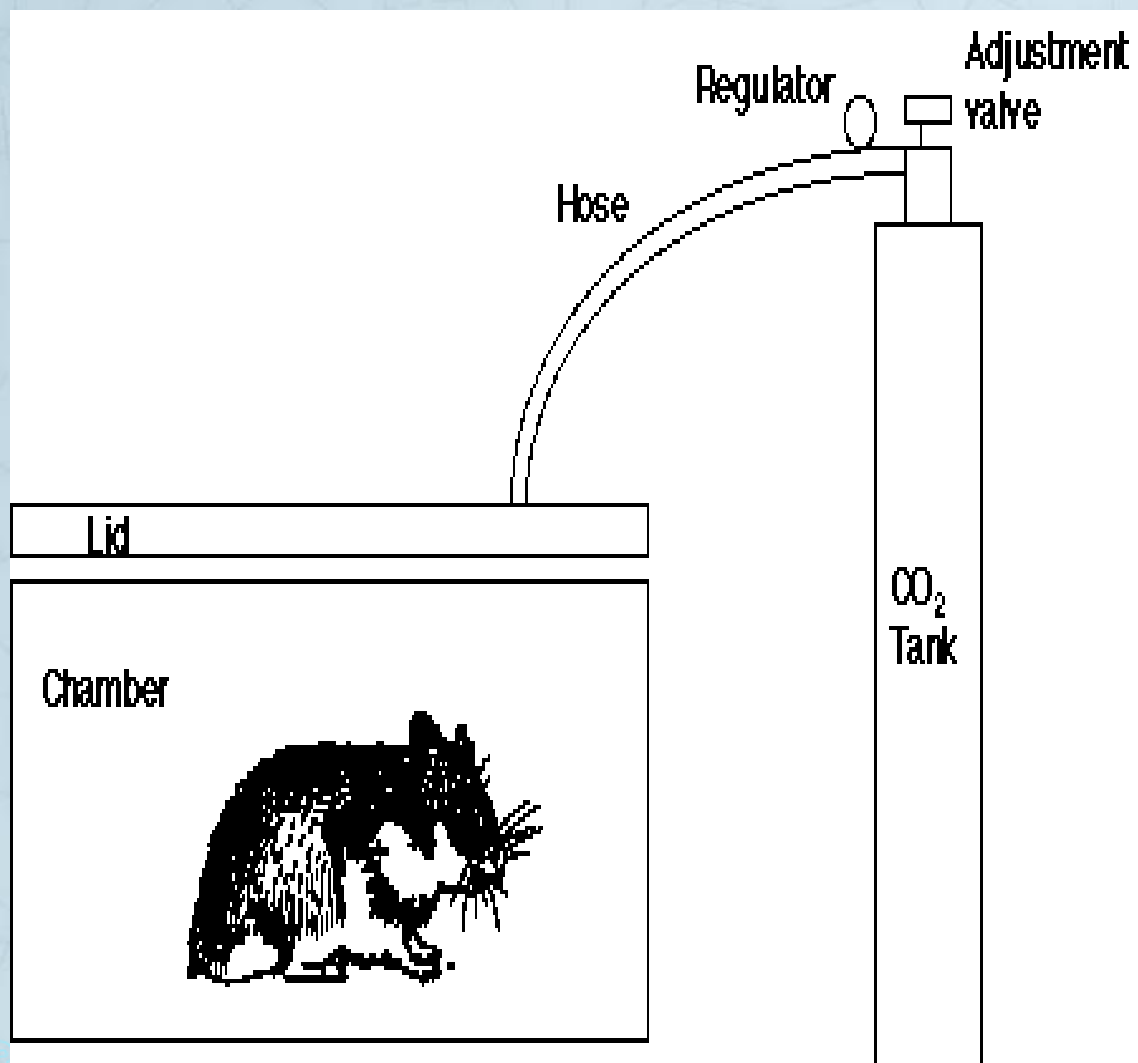
【作用】：本品作用比乙醚弱，一般用于复合全身麻醉，可与多种静脉全身麻醉药和全身麻醉辅助用药联用或合用。用法及用量：吸入：一般情况下，维持麻醉用 0.5 %- 3 % 浓度。 【注意】： 1.全麻后偶会出现后遗性中枢神经兴奋。在脑电图上偶见癫痫样波。 2.可导致严重的呼吸抑制。呼吸频率基本保持不变或略有加快，但潮气量减少，以致降低了每分钟通气量。

缺 点

大部分的吸入性药剂对机体有害，因此需在通风良好场所执行。乙醚具有**易燃、易爆**的性质，通常不建议使用。如因特殊需求而使用乙醚进行动物安乐死，则全程需在**抽气柜内操作**，动物尸体需置于**防爆冰柜内**。氯仿对人具有肝毒性和致癌性，一氧化碳对人员有害，因此不建议使用。

另外近年还多使用氮气、一氧化碳气、二氧化碳气等麻醉药剂。通常借由气麻机或可透视的密闭容器执行体重低于 7 公斤的小型哺乳动物与鸟类安乐死，由于仔兽对缺氧状态耐受性高，吸入药剂的时间需延长 3-5 倍，亦可配合其它方法共同进行。

二氧化碳动物安乐死法



(1) 放入动物之前，先灌注CO₂于亚克力箱内20-30秒。（压力阀已调好20 PSI，请勿随意旋转）关闭CO₂。

(2) 放入动物，或直接使用动物PC盒，盖上亚克力盖。当动物开始想睡，再灌注CO₂于亚克力箱内约1-5 分钟(兔子需较久时间)等待约3-5 分钟，确定动物不动、不呼吸、瞳孔放大。关闭CO₂，再观察2分钟，确定死亡。

(3) 动物尸体包装：少量动物（数只mice、1-2只rats）装入透明PE袋内、绑紧袋子、称重、登记、尸体放入-30℃冰箱内的红色感染性废弃物专用塑料袋内。勿让动物尸体暴露袋外。

大量或大型动物尸体：装入红色感染性废弃物专用塑料袋内（需要时请包两层塑料袋）、绑紧袋子、称重、登记、放入-30℃冰箱或大型卧式冰箱内。解剖过的动物尸体需先用报纸包好，再放入塑料袋内。少量动物用小PC盒或小箱子进行安乐死，大量动物或兔子等则使用大PC盒进行安乐死。

② 非吸入性药剂

多数为注射性药物，此类药剂有多种投予方法，但是**静脉注射**是最佳选择。如需给予心脏注射，需先学习相关技术，否则如因操作不当而使药物泄漏至胸腔或肺脏时，会导致动物痛苦、并延长死亡时间，因此**只有在动物已呈现垂死、休克、或深度麻醉中**才给予**心脏注射**。**腹腔注射**需使用**较高剂量的药物**，而且可能使动物死亡时间延长及死前挣扎。

巴比妥盐及其衍生物：

戊巴比妥钠； 5-乙基-5-(1-甲基丁基) 巴比土酸钠。

【性状】为白色结晶性颗粒或白色粉末；无臭，味微苦；有引湿性；水溶液遇酚酞指示液显碱性反应。本品在水中极易溶解，在乙醇中易溶，在乙醚中几乎不溶。【作用与用途】催眠药和抗惊厥药。用于失眠及惊厥。【注意】可致依赖性。严重肝功能不全者禁用。

戊巴比妥钠是动物安乐死的首选药物。它人道、安全、正确投药时效果迅速，静脉注射时可使动物安详的沉睡至死。巴比妥盐及其衍生物中sodium pentobarbital 的效果最佳，目前广泛使用于大部分动物的安乐死。使用此类药剂的缺点为必需每只动物个别保定后投予，且操作人员须具有动物静脉注射技术，由于可能造成人类滥用，此类药剂需经管制药品管理局申请核准后取得及使用。对于难以驾驭或过度神经质的动物，须先给予适当的镇定后注射。经药物镇定后的动物由于循环及心跳变慢，对于pentobarbital药物注射后的反应时间比直接投药来的慢，需特别注意。

巴比妥盐类(Barbiturate)之安乐死剂量(mg/kg):

Species 种别	静脉注射(mg/kg)	腹腔注射(mg/kg)
小鼠(Mouse)	150	150
大鼠(Rat)	150	150
兔(Rabbit)	100	150
豚鼠(Guinea Pig)	120	150
仓鼠(Hamster)	150	150
绵羊(Sheep)	90	
山羊(Goat)	90	
家禽(Chicken)	150	150
猫(Cat)	80	80
犬(Dog)	80	80
猪(Swine)	90	
貂类(Ferret)	120	120
灵长类(Primate)	80	

深度麻醉中的动物可利用快速静脉注射KCl（2mmol/kg）来完成安乐死，但未麻醉动物禁止直接注射KCl。其它如KetamineHCl、xylazine、opioids等注射性药物，虽然高剂量注射时亦可使动物死亡，但由于死亡前动物常呈现疼痛及抽搐现象，因此建议仅使用于动物的一般性保定、镇定、止痛及麻醉，勿做为动物安乐死用药剂。

③ 物理性方法

包括颈椎脱臼、断头、放血、枪击、电击等。

物理性安乐死法在下列三种情形下评估使用：

其解剖性状适合使用此法的小型脊椎动物；

大型农场动物；其它安乐死方法会影响实验

结果时。

颈椎脱臼法常使用于体重低于 200g 的啮齿类动物、禽类、以及体重低于1000g的仔兔。

透过正确的训练技巧，人员可迅速将动物的颈椎与脊椎脱离，使动物死亡。除非有特殊实验需求，执行颈椎脱臼前动物**应先给予镇定或吸入二氧化碳**，以减低动物的窘迫。对于小型啮齿类动物，利用杆子或拇指食指压住头颈部，用另一只手抓住尾巴，迅速用力向后拉扯后躯，使颈椎脱离头颅；对于禽类，双手抓取脖子扭断；对于仔兔，一手抓头，另一手抓后肢，将身体迅速拉长，使颈椎脱离头颅。



适用实验动物安乐死的方法

安乐死法	小于 125 g啮齿动物	125 g~ 1 kg啮齿动物/兔	1 kg~ 5 kg啮齿动物/兔	狗	猫	非人灵长类	反刍动物. 马.猪.
二氧化碳	○	○	○	×	×	×	×
Barbiturate注射液, 静脉注射 (麻醉剂量的3倍剂量)	○	○	○	○	○	○	○
Barbiturate注射液, 腹腔注射 (麻醉剂量的3倍剂量)	○	○	○	×	○	×	○
先麻醉, 之后采血(放血)致死	○	○	○	○	○	○	○
先麻醉, 之后静脉注射 KCl (1-2 meq/kg)	○	○	○	○	○	○	○
先麻醉, 之后断头	○	○	△	×	×	×	×
先麻醉, 之后颈椎脱臼	○	○	×	×	×	×	×
动物清醒中直接断头	△	△	△	×	×	×	×
动物清醒中直接颈椎脱臼	△	×	×	×	×	×	×
乙醚	△	×	×	×	×	×	×
电昏后放血致死	×	×	×	×	×	×	○

说明：

1. ○：建议使用的方法； ×：不得使用的方法； △：一般情况不推荐使用，除非实验需要（需说明于动物实验申请表，由IACUC审核通过后使用）。
2. **Barbiturate** 巴比妥盐类注射剂属管制药品，需事先洽行行政院管制药品管理局申请核可后购买使用。**Ketamine** 不得作为 **Barbiturate** 巴比妥盐的替代品注射于动物安乐死。
3. 出生仔鼠对二氧化碳（缺氧）耐受性高，建议安乐死方法为将仔鼠装入塑料袋，灌满二氧化碳，绑紧塑料袋，置入-15℃冰柜内。

九、其它脊椎动物

鱼 类	Barbiturate 注射液，静脉注射（麻醉剂量的3倍剂量） 吸入性麻醉药 二氧化碳 TMS MS222 (肉用鱼类不得使用 TMS 和 MS222) Benzocaine HCl 脊髓穿刺 砍头
两 栖 类	Barbiturate 注射液，静脉注射（麻醉剂量的3倍剂量） Barbiturate 注射液，腹腔注射（麻醉剂量的3倍剂量） 吸入性麻醉药(部分两栖类会憋气，须注意) 二氧化碳 TMS MS222 (肉用两栖类不得使用 TMS 和 MS222) Benzocaine HCl 脊髓穿刺 砍头

爬 虫 类	Barbiturate 注射液，静脉注射（麻醉剂量的3倍剂量） Barbiturate 注射液，腹腔注射（麻醉剂量的3倍剂量） 吸入性麻醉药(部分爬虫类会憋气，须注意) 二氧化碳 脑部近距离射击 砍头
鸟 类	Barbiturate 注射液，静脉注射（麻醉剂量的3倍剂量） Barbiturate 注射液，腹腔注射（麻醉剂量的3倍剂量） 吸入性麻醉药 二氧化碳 麻醉后颈椎脱臼 脑部近距离射击
野生动物	Barbiturate 注射液，静脉注射（麻醉剂量的3倍剂量） Barbiturate 注射液，腹腔注射（麻醉剂量的3倍剂量） 吸入性麻醉药 二氧化碳 麻醉后静脉注射KCl 脑部近距离射击

十、脊椎动物**禁止使用**之死亡方法

方 法	说 明
空气注射	此法导致动物痉挛、角弓反张和哀叫
打烂头部	大多数动物皆不被接受
烧死	化学式或加热烧死大多数动物皆不被接受
水合氯醛Chloral hydrate	狗、猫以及小型哺乳动物皆不得使用
氯仿Chloroform	具有肝毒性且可能有致癌性，有害于人
氰化物Cyanide	极有害于人
减压法Decompression	(1) 导致动物痛苦、垂死时间拉长 (2) 年幼动物耐缺氧状态，因此需较长时间才能达呼吸停止 (3) 偶发动物苏醒的意外状况 (4) 会导致动物出血、呕吐、痉挛、排尿或排便等现象
溺毙	溺毙不是安乐死的方法，亦不人道

方 法	说 明
放血(采血)致死	大量失血导致动物焦虑及暴躁，放血(采血)致死仅适用于动物已镇静、晕倒或麻醉
福尔马林	直接将动物浸泡于福尔马林，是非常不人道的方法
家庭用产品或溶剂	丙酮类(如去光水), CCl_4 、泻剂、丁香油、四级胺类产品、胃药、等，皆不得使用
低温致死	此法不适用于动物安乐死
神经肌肉阻断剂	如尼古丁、硫酸镁、KCl、以及其它curariform类南美箭毒制剂。此类药物单独使用时，皆造成动物呼吸抑制(暂停)后才失去意识，因此动物在无法动弹后亦遭受一段时间的痛苦和压迫
快速冷冻	此法不人道，如因实验所需选用此法，动物需先深度麻醉
马钱子素 (番木鳖)Strychnine	此药剂造成动物的剧烈痉挛和痛苦的肌肉抽续
打晕	此法不是动物安乐死法
三卡因Tricaine	methane sulfonate (TMS, MS 222)，食用动物勿用此药剂

十一、实验动物尸体的剖检与取样

(1) 尸体外部检查

- ◆ **营养状况**检查：根据肌肉和皮下脂肪的蓄积、被毛的光泽整洁程度判断。
- ◆ **可视黏膜和天然孔道**的检查：检查黏膜是否淤血、出血、黄疸和溃疡等；检查天然孔道的分泌物、排泄物的性状等。
- ◆ **皮肤**以及全身性水肿发生情况的检查：
- ◆ **尸僵**：动物死亡后最先出现的状态，四肢僵直。
- ◆ **尸冷**：动物死亡后尸体温度逐渐降低至环境温度，通常每小时降低1℃。
- ◆ **尸腐**：腐败菌增殖，发生腐败分解。
- ◆ 尸体应该**尽早剖检**，避免尸体腐败后影响结果。

(2) 实验动物的剖检、取样

- ◆ 1、剖检原则：遵循系统解剖学和局部解剖学要求。
- ◆ 2、取样程序：
 - ◆ **先表后里**：先取浅表淋巴结和腺体，后取腔体内脏器。
 - ◆ **由下到上**：打开胸腔和腹腔后由下到上取脏器。
 - ◆ 由实质器官到血液丰富的器官：防止出血过多，影响其他脏器。
 - ◆ **先重后轻**：先取对实验而言重要的器官，后取次要器官。
 - ◆ **先无菌后开放**：如需要做组织微生物培养，取样时优先，并且严格要求无菌操作，取样完毕后再取其他用途的样品。



(3) 尸体、废弃物的处理

- ◆ 1、受试动物尚未死亡，应采用安乐死处理。
- ◆ 2、动物尸体与废弃物处理：
 - ◆ 无毒性受试验物或无重大疫病的动物尸体，集中收集放入尸体袋冷冻，待焚烧处理。
 - ◆ 有毒性受试验物的动物尸体，应做毒性消除或中和处理。
 - ◆ 重大疫病的动物尸体，应该在达到相应生物安全的灭菌消毒器中进行消毒处理后，再冷冻保存焚烧处理。