

高等学校教材

公共卫生实验教程

.....(供预防医学、营养学、卫生检验等专业使用).....

主 编 王应雄



人民卫生出版社



Abstract

全国高等学校教材

(供预防医学、营养学、卫生检验等专业使用)

公共卫生实验教程

主 编 王应雄

副主编 钟晓妮 李继斌 王 宏

秘 书 钟朝晖

编 者 (以姓氏笔画为序)

王 宏	王应雄	代兴碧	白群华
许 红	牟李红	李 革	李继斌
肖 虹	何俊琳	余秋波	汪 洋
张 艺	张 勇	陈 于	练雪梅
赵 勇	赵劲梅	钟晓妮	钟朝晖
唐晓君	龚 涛	彭 斌	程淑群
曾 庆	詹 平	窦贵旺	廖 丽
黎 刚			

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

公共卫生实验教程/王应雄主编. —北京:
人民卫生出版社, 2012. 3

ISBN 978 - 7 - 117 - 15335 - 5

I. ①公… II. ①王… III. ①公共卫生 - 实验 -
医学院校 - 教材 IV. ①R126. 4 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 009347 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

公共卫生实验教程

主 编: 王应雄

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010 - 59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010 - 67605754 010 - 65264830

010 - 59787586 010 - 59787592

印 刷: 北京人卫印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 29

字 数: 716 千字

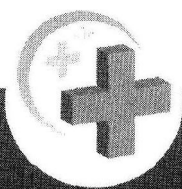
版 次: 2012 年 3 月第 1 版 2012 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978 - 7 - 117 - 15335 - 5/R · 15336

定 价: 52.00 元

打击盗版举报电话: 010 - 59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)



前言

实验教学是高校医学教学体系的重要组成部分,对培养学生的实际动手能力、创新思维、观察能力以及综合分析能力都具有重要作用,在提升学生综合素质方面具有理论教学不可替代的优势。尤其是预防医学作为一门实践性很强的学科,实验教学在医学生的培养体系中具有更为重要的地位和作用。

但是,传统的教育教学理念过分强调理论课的重要作用,只是将实验教学视为强化理论学习的手段和途径。实验教学长期以来一直依附于理论教学,此种教育教学模式不可避免地造成重理论、轻实验现象的形成,不利于对学生实践能力和综合能力的培养。

为此,加强实验教学体系的改革,提高实验教学的质量已经受到高等教育工作者的高度重视。近年来,国内不少高校都开展了实验教学体系的改革,相继建立了一批国家级、省市级实验教学示范中心,部分学校也将相关学科的实验内容整合形成一门独立课程。此教学模式从根本上改变了实验教学对理论教学的依附,有助于提高师生对实验教学的重视,更加系统化地培养学生实验操作和解决实际问题的能力。

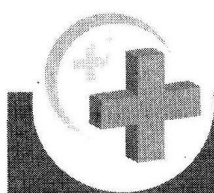
在实验教学模式发生深刻变革的今天,加强实验教学教程建设已是非常紧迫的现实需要。为此,我们在参阅国内外实验教程的基础上,结合当前实验教学改革的要求和发展趋势,撰写了这本《公共卫生实验教程》(供预防医学、营养学、卫生检验等专业使用)。本书紧密结合当前我国公共卫生所面临的现实问题和技术需求,根据预防医学类本科生的培养目标和要求,将公共卫生与预防医学类相关学科的实验内容整合为一体,力求为公共卫生实验教学的改革提供一本实际可用的教学用书。

由于实验教学改革是新生事物,综合实验教程的编写是一项探索性的工作,因而本书难免存在一些不足,敬请各位同行批评指正,提出宝贵意见。

衷心感谢人民卫生出版社在本书编写过程中给予的大力支持和帮助!

王应雄

2011年9月于重庆医科大学



目 录

第一篇 生物医学基础

第一章 卫生毒理学实验基础	1
实验一 动物实验基础	1
实验二 急性经口毒性评价试验	11
实验三 小鼠骨髓细胞染色体畸变实验	13
实验四 四氯化碳致肝损伤与评价	15
实验五 人染色体姐妹染色单体交换 (SCE) 标本制备与分析	18
实验六 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核实验	20
实验七 小鼠精子致畸实验	22
第二章 卫生微生物学检验	24
实验一 倾注平板法测定水中细菌菌落总数	24
实验二 多管发酵法测定水中大肠菌群	26
实验三 自然沉降法测定室内空气中细菌菌落总数	30
实验四 粮食中真菌的计数与鉴定	31
实验五 食品中金黄色葡萄球菌的分离与鉴定	33
实验六 大肠埃希菌的分离与鉴定	34
实验七 试管稀释法测定抗菌药物最小抑菌浓度	37
实验八 消毒剂的定量杀菌实验	38
实验九 细胞的传代培养与病毒接种	40
实验十 鸡胚的培养与病毒接种	41
实验十一 双抗原夹心法测定血清中乙肝表面抗体	43

第二篇 理化分析实验

第三章 生物材料的理化检验	47
实验一 示波极谱法测定头发中铅和镉	47
实验二 分光光度法测定尿中粪卟啉	49
实验三 分光光度法测定尿中 δ -氨基乙酸丙酸	51

实验四	血液荧光剂法测定血中锌原卟啉	53
实验五	离子选择电极法测定尿氟	54
实验六	分光光度法测定尿中马尿酸	56
实验七	分光光度法测定尿中硫氰酸盐	59
实验八	分光光度法测定血中碳氧血红蛋白	60
实验九	分光光度法测定尿中三氯乙酸	62
实验十	三氯化铁分光光度法测定全血胆碱酯酶活性	64
实验十一	气相色谱法测定呼出气中的苯	67
实验十二	高效液相色谱法测定尿中 1-羟基苈	68
第四章	食品的理化检验	71
实验一	食品样品的采集与制备	71
实验二	微量凯氏定氮法测定食品中蛋白质含量	77
实验三	索氏提取法测定食品中脂肪含量	78
实验四	硫氰酸钾法测定食品中铁含量	79
实验五	尿液还原性维生素 C 和肌酐测定	80
实验六	荧光分光光度法测定食品或尿中维生素 B ₂	82
实验七	牛奶卫生质量检验	85
实验八	食用油脂的卫生检验	88
实验九	薄层层析法测定食品中有机磷农药残留量	90
实验十	气相色谱法和品红亚硫酸法测定酒中甲醇	92
实验十一	纸层析法测定饮料中人工合成色素	95
实验十二	高效液相色谱法测定饮料中糖精钠、苯甲酸和山梨酸	98
实验十三	偶氮比色法测定鱼类组胺含量	100
实验十四	食品水分活度 (A _w) 的测定	102
实验十五	美拉德反应初始阶段的测定	105
实验十六	果胶的提取及果酱的制备	107
实验十七	卵磷脂的提取及鉴定	108
实验十八	蛋白质的功能性质	109
实验十九	绿色果蔬中叶绿素的分离及其含量测定	110
实验二十	高效液相色谱法测定血清中维生素 A、E 的含量	112
实验二十一	分光光度法测定食物中胆固醇的含量	114
实验二十二	分光光度法测定茶叶中茶多酚的含量	116
实验二十三	直接干燥法测定食品中水分的含量	117
实验二十四	直接滴定法测定还原糖	119
实验二十五	火焰原子吸收光度法测定食品中锌和铜	120
实验二十六	分光光度法测定海带中碘含量	122
实验二十七	酱油的卫生检验	124
第五章	水质的理化检验	127

实验一 铂钴标准比色法测定水的色度	127
实验二 pH 计测定水的 pH	128
实验三 电导率仪直接测定法测定水的电导率	130
实验四 EDTA 配位滴定法测定水的总硬度	133
实验五 碘量法测定水中溶解氧	136
实验六 水质理化检验综合实验——地表水高锰酸钾指数的测定	140
实验七 五日培养法测定水的生化需氧量	144
实验八 纳氏试剂分光光度法测定水中氨氮	147
实验九 N-(1-萘基)-乙烯二胺分光光度法测定水中亚硝酸盐氮	150
实验十 麝香草酚分光光度法测定水中硝酸盐氮	153
实验十一 4-氨基安替比林分光光度法测定水中挥发性酚	155
实验十二 高效液相色谱法测定水中 5 种邻苯二甲酸酯	159
实验十三 亚甲蓝分光光度法测定水中阴离子表面活性剂	161
实验十四 二苯碳酰二肼分光光度法测定水中总铬和六价铬	163
实验十五 冷原子吸收分光光度法测定水中汞	166
实验十六 石墨炉原子吸收分光光度法测定水中铅	169
第六章 空气理化检验	172
实验一 气体流量计的校正	172
实验二 环境中气温、气压、气湿、气流等气象条件的测定	175
实验三 滤膜质量法测定空气中总粉尘浓度	177
实验四 自然沉降法和滤膜溶解涂片法测定粉尘分散度	178
实验五 焦磷酸质量法测定粉尘中游离二氧化硅含量	181
实验六 滤膜质量法测定空气中呼吸性粉尘浓度	182
实验七 盐酸副玫瑰苯胺分光光度法测定空气中二氧化硫	184
实验八 盐酸萘乙二胺分光光度法测定空气中氮氧化物	188
实验九 环境空气质量评价	190
实验十 气相色谱法测定空气中苯、甲苯、二甲苯	191
实验十一 乙酰丙酮分光光度法测定空气中甲醛	193
实验十二 磷酸-高碘酸钾分光光度法测定空气中锰	195

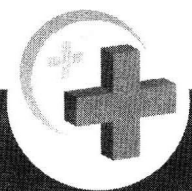
第三篇 流行病与现场调查分析

第七章 卫生统计实验	199
实习一 计量资料的统计描述	199
实习二 计数资料的统计描述	205
实习三 参数估计和 t 检验	211
实习四 方差分析	216
实习五 直线相关与回归分析	222
实习六 卡方检验	229

实习七 秩和检验·····	236
实习八 实验设计·····	247
实习九 寿命表分析·····	254
第八章 流行病学实习讨论·····	263
实习一 疾病频率指标·····	263
实习二 疾病的分布·····	266
实习三 现况研究·····	270
实习四 筛检试验评价·····	272
实习五 病例对照研究·····	274
实习六 队列研究·····	278
实习七 流行病学实验研究·····	281
实习八 偏倚及其控制·····	285
实习九 暴发调查·····	291
实习十 传染病报告系统·····	294
实习十一 医学文献评价·····	303
实习十二 EpiData 软件的特点及使用简介·····	307
 第四篇 公共卫生综合技能	
第九章 卫生学调查与评价·····	313
实验一 密闭空调环境内微小气候(气温、气湿、气流)的测定·····	313
实验二 室内空气中主要污染物测定[甲醛、可吸入颗粒物(PM ₁₀)、菌落总数]·····	315
实习三 大气污染案例讨论·····	319
实习四 突发环境污染事件案例讨论·····	321
实习五 食物中毒案例分析讨论·····	323
实习六 营养调查与评价·····	326
实习七 家具行业的职业卫生调查·····	329
实习八 职业中毒案例讨论·····	336
实习九 噪声测量及听力测定·····	339
实习十 尘肺 X 线胸片阅读·····	349
实习十一 神经行为功能测试·····	358
实习十二 儿童少年生长发育的调查与评价·····	363
实习十三 儿童少年健康筛查·····	377
实习十四 教育过程卫生的监测与评价·····	382
实习十五 教室的卫生调查与评价·····	389
第十章 社会医学调查与健康促进·····	396
实习一 A 型性格测评·····	396
实习二 心理健康测评·····	399

实习三	生活事件对健康影响的测评.....	405
实习四	健康相关生命质量的测量.....	409
实习五	社会调查问卷设计.....	415
实习六	深入访谈法定性研究实践.....	419
实习七	突发公共卫生事件社区应急预案设计.....	421
附录		425
附录一	实验室安全与质量管理.....	425
附录二	实验室各项守则.....	431
附录三	实验室安全防护.....	433
附录四	实验室紧急应变、急救措施及预防.....	440
附录五	实验室“三废”处理办法	442
附录六	生物材料样品的收集与保存.....	444
附录七	生物材料检测指标和检测方法的选择.....	448
附录八	生物材料样品的预处理.....	449
参考文献		452

第一篇 生物医学基础



第一章

卫生毒理学实验基础

实验一 动物实验基础

一、实验目的

掌握动物实验基本操作技术。

二、实验原理

1. 毒理学是研究外源因素(物理、化学、生物)对机体的有害作用及其规律的学科,动物实验是毒理学研究的重要手段之一。

2. 通过动物实验获得外源化学物的毒作用性质和强度、靶器官、毒作用规律、剂量-效应(反应)关系、毒作用机制等毒理学资料,是对外源化学物进行安全性或危险度评价的首要步骤,也是对化学品进行安全管理的依据。

三、实验材料

1. 实验动物 大鼠、小鼠、豚鼠、家兔。

2. 器材 大鼠或小鼠固定器、大鼠固定板、家兔固定盒/架、解剖器材(手术刀、剪、钳)、玻璃器材(离心管、玻璃毛细管、注射器、吸管、滴管、匀浆器)。

3. 试剂 苦味酸饱和溶液、0.5%中性红或品红溶液、抗凝剂(0.5%肝素生理盐水溶液)、生理盐水、磷酸缓冲液。

4. 仪器 离心机、搅拌器、大鼠代谢笼、动物秤。

四、实验方法及操作步骤

(一) 健康动物的选择

毒理学实验研究中,健康的实验动物是保障实验顺利进行和获得正确可靠的研究结果的重要条件,因此应选用健康动物进行动物实验。健康动物应该发育正常、体形丰满、无外观畸形、被毛光泽浓密而顺贴、眼睛明亮有神、行动迅速、反应灵活、食欲及营养状况良好。

选择健康动物时重点检查项目包括:

1. 眼睛 明亮有神,双侧瞳孔等圆,无分泌物。
2. 耳 耳道无分泌物溢出,耳壳无脓疮。
3. 鼻 无黏性或浆性分泌物,鼻端湿而凉。
4. 皮肤 无破损或感染,被毛无脱落、顺贴而不蓬乱。
5. 颈部 端正无歪斜。
6. 消化道 无呕吐、腹泻,口及肛门附近被毛干燥清洁。
7. 神经系统 无震颤、麻痹。

(二) 实验动物的性别鉴定

实验动物的性别对外源化学物的毒性反应可能不同。应根据实验要求和化学物的性质或用途选择性别。如对性别无特殊要求则雌雄动物各半。

1. 大鼠、小鼠的性别鉴定 根据肛门和生殖孔之间的距离区分。雄鼠间距大,雌鼠间距小且肛门与生殖孔之间有浅而无被毛的区域。成年雄鼠可见睾丸,雌性胸腹部可见乳头。

2. 豚鼠 根据生殖器孔的形态区分。雄性生殖器孔为圆形,可见性器官突起;雌性生殖器孔为三角形,无突起物。成年雌性豚鼠胸部有2个乳头。

3. 家兔 根据生殖器形态区分。雄兔生殖孔呈圆形,成年雄兔可见生殖孔中突起的圆锥形稍向下弯曲的阴茎;幼年雄兔阴茎不明显,可见圆孔中突起物。雌兔生殖器呈椭圆形,生殖器孔为一条长缝。

(三) 实验动物的抓取

为了保证实验顺利进行,必须正确地抓取和固定动物。抓取和固定实验动物的方法应该根据动物种类和具体的实验内容决定。

1. 小鼠的抓取和固定 右手抓取小鼠尾部将其提起后置于鼠笼或其他粗糙平面上,待其向前爬行时右手向后拉鼠尾将其固定,左手拇指和示指迅速捏住小鼠耳后背部皮肤,并用小指和手掌尺侧夹持其尾根部,将其固定于手中(图1-1-1)。此法用于小鼠的灌胃、腹腔注射、肌肉和皮下注射操作。如需进行尾静脉注射,则应抓取小鼠后用小鼠固定器固定(图1-1-2)。

2. 大鼠的抓取和固定 进行灌胃、腹腔注射、肌肉和皮下注射时,可采用与小鼠相同的抓取和固定方法。尾静脉注射时,采用大鼠固定器(图1-1-3)。对大鼠进行手术操作时,应将麻醉后的大鼠仰卧位置于大鼠固定板,将门齿和四肢用橡皮筋或棉线固定于固定板上。大鼠性情比小鼠凶猛,操作时最好戴上防护手套避免咬伤。

3. 家兔的抓取与固定 右手抓住家兔颈后皮肤将其提起,左手托住其臀部或腹部以承受其体重的大部分重量。不可抓取双耳、腹部或胯部。如图1-1-4、图1-1-5所示。

图1-1-4中1、2、3所示为错误的抓取方法,可造成实验动物的损伤。其中,第一种抓取法可损伤家兔的两侧肾脏;第二种可造成家兔皮下出血;第三种可损伤家兔双耳,并可能由于家兔挣扎时扭转身体造成颈椎脱臼而死亡。

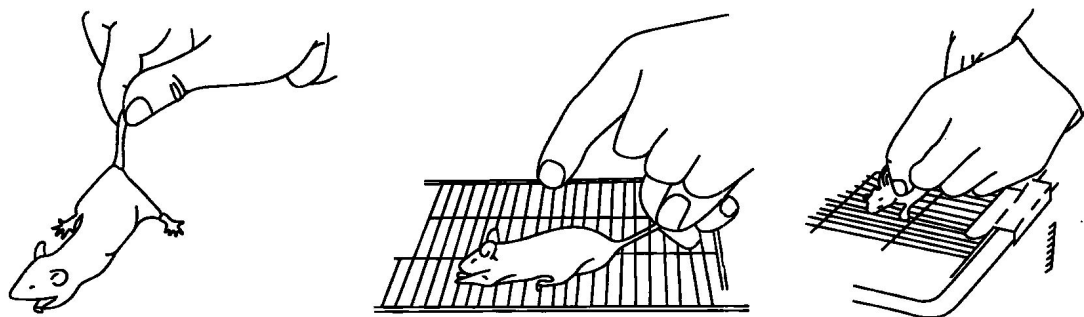


图 1-1-1 小鼠的抓取和固定

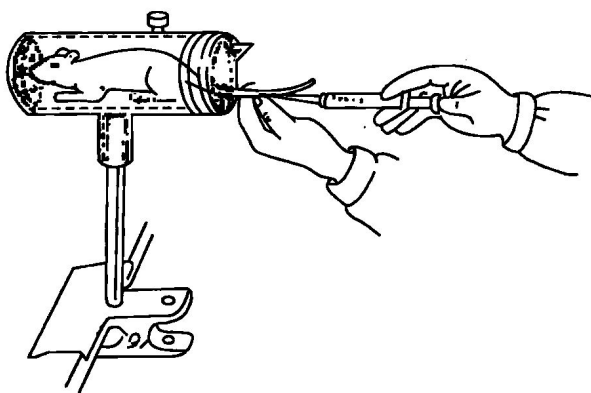


图 1-1-2 用小鼠固定器固定小鼠进行尾静脉注射

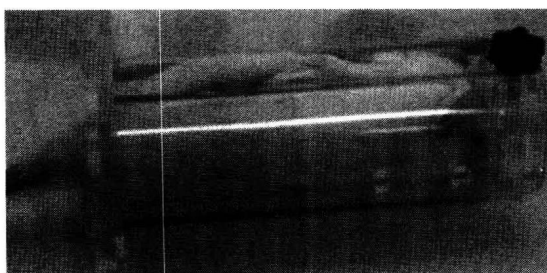


图 1-1-3 大鼠固定器

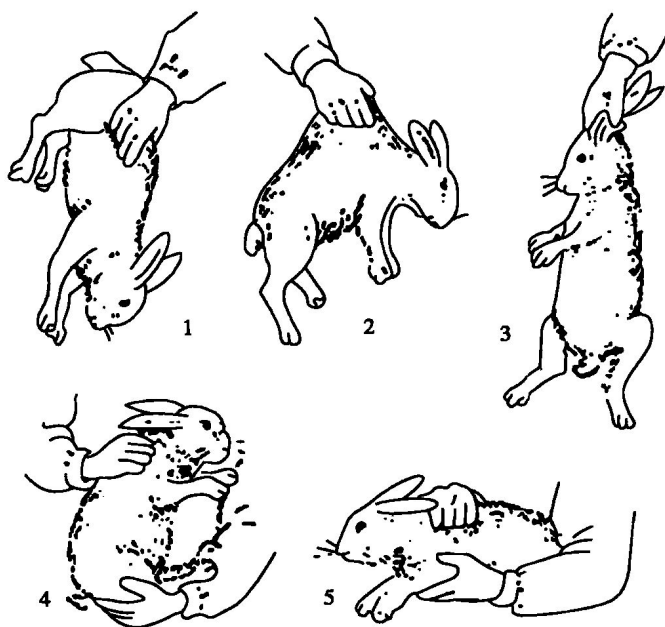


图 1-1-4 家兔的抓取

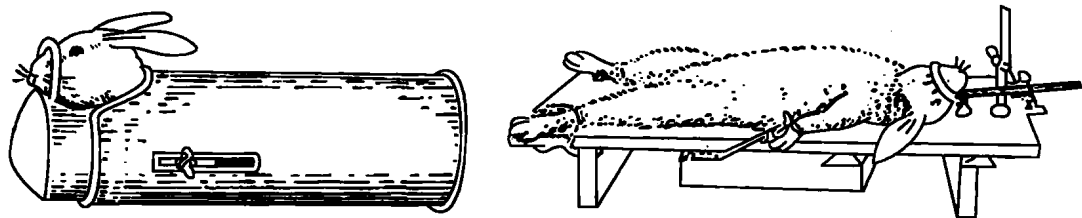


图 1-1-5 家兔的固定

兔的固定有固定盒和固定台两种方法。

4. 豚鼠的抓取和固定 手掌迅速覆盖于豚鼠背部将其稍微固定,拇指和示指从其肩胛上方绕过环握于其颈部,另一只手托住其臀部(图 1-1-6)。

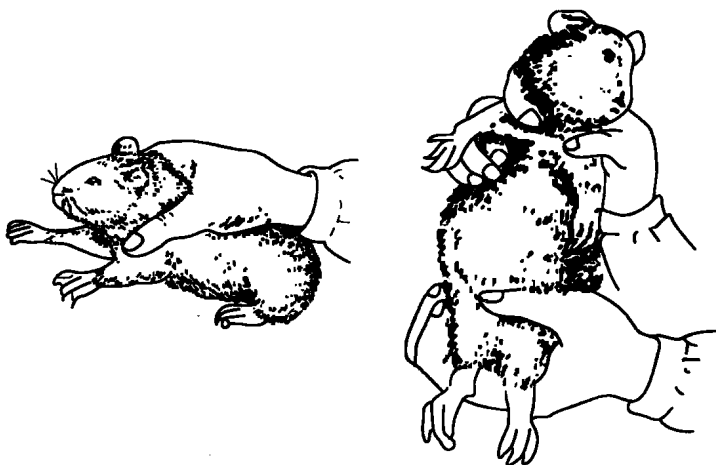


图 1-1-6 豚鼠的抓取与固定

(四) 实验动物的编号与标记

1. 染色法 对白色实验动物(如大鼠、小鼠、家兔等)标记常用染色法,将苦味酸或品红的饱和溶液涂抹于动物不同部位的被毛染色进行标记。

(1) 单染色法适用于每组动物数不超过 10 只或一个实验中动物数不超过 40 只的情况。按照从左到右、从上到下的原则进行涂染,即:1 号:左前肢;2 号:左侧腹部;3 号:左后肢;4 号:颈后部;5 号:背部正中;6 号:尾部;7 号:右前肢;8 号:右侧腹部;9 号:右后肢;10 号:尾根部。如图 1-1-7 所示。也可按照顺时针方向进行编号,即:1 号:额头或颈后部;2 号:右前肢;3 号:右侧腹部;4 号:右后肢;5 号:尾部;6 号:左后肢;7 号:左侧腹部;8 号:左前肢;9 号:背部正中;10 号:不染色。如图 1-1-8 所示。

(2) 双染色法是用 2 种颜色同时进行标记,适用于每组动物数不超过 100 只的情况。如用黄色(苦味酸)表示个位数,红色(品红)表示十位数,第 100 号以空白表示。

2. 耳缘孔口标记法 用专用耳孔器在动物耳朵不同部位打孔或用剪刀在耳廓剪口的方法以进行标记。原则是左耳代表十位,右耳代表个位,可标记 1~99 号。如图 1-1-9 所示。

3. 烙印法 烙印前去除动物耳部皮毛并对烙印部位进行乙醇消毒。先用刺数钳在动物耳部消毒区域刺上号码,然后用棉签蘸染溶解在乙醇中的黑墨,涂抹在刺上。

4. 标牌法 将动物标号标记于金属牌上,固定于动物耳或四肢,大动物可挂在颈部。

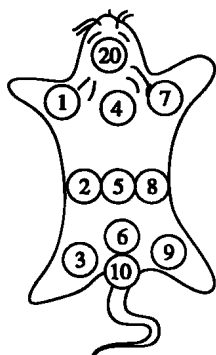


图 1-1-7 单染色法标记

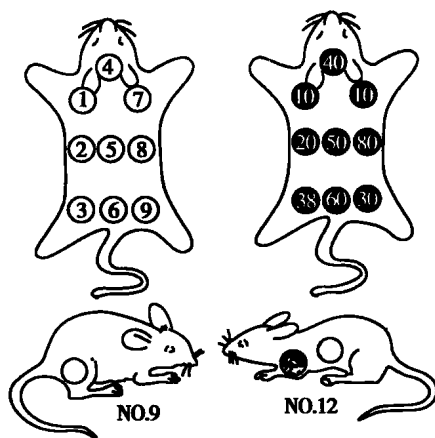


图 1-1-8 双染色法标记

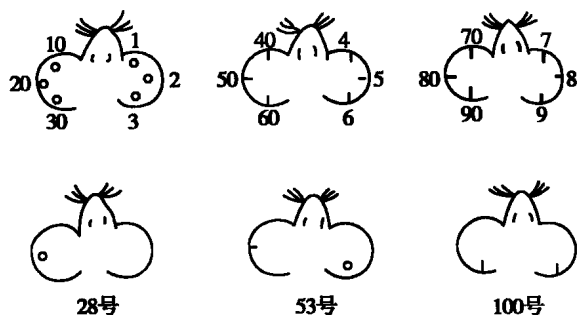


图 1-1-9 耳缘孔口标记

(五) 实验动物的随机分组法

实验动物必须按照随机的原则分配到处理组和对照组,以消除非处理因素对实验结果的影响。具体的步骤是:先按不同性别称重和编号,再按体重从大到小排序,根据《卫生统计学》中提供的随机数字表或随机排列表将动物随机分配到各组。

(六) 实验动物的被毛去除法

被毛的去除常用有机法(剪毛或剃毛)和化学法(硫化钡或硫化钠)。

1. 机械法 固定动物后,先用剪刀剪去所需部位的被毛,然后将剪刀贴紧该区域皮肤仔细剪去或剃除皮肤表面的被毛。避免剪破皮肤。

2. 化学法 用化学药品脱去动物的被毛,对家兔和啮齿类动物常用的脱毛剂配方是:硫化钠 8g 溶于 100ml 水中;或硫化钠与淀粉以 1:4 比例混合后加入适量水调成糊状。使用脱毛剂以前需先剪去脱毛部位的被毛,再用镊子夹取棉球或纱布后蘸取脱毛剂并将其涂抹在剪去被毛的部位,3~5 分钟后用温水洗去脱落的被毛和残留的脱毛剂。

3. 拔毛法 家兔经耳缘静脉注射或取血时以及对大、小鼠进行尾静脉注射时,用拇指和示指将局部被毛拔去,便于操作。

(七) 实验动物不同染毒途径和染毒方法

染毒途径和方法有多种,应尽可能选择与人类实际接触该外源化学物相同的方式。具体的染毒途径和方法要根据实验目的、实验动物的种类以及受试物的剂型确定。

1. 经口(胃肠道)染毒 常用灌胃法、喂饲法和吞咽胶囊法。

(1) 灌胃法:将受试物配制成溶液或混悬液,用注射器经导管注入胃内。灌胃前应禁食(大鼠隔夜禁食,小鼠禁食 4 小时),但饮水不禁。灌胃后 2~4 小时后方可提供饲料。如经口多次染毒可不禁食。此法适用于大鼠、小鼠、家兔、犬等实验动物,优点是剂量准确,缺点是工作量大,并有损伤食管或误入气管的可能。①大、小鼠灌胃法:左手拇指和示指捏住大鼠或小鼠耳后皮肤,无名指或小指将尾部紧紧固定于手掌中,使其腹部朝上。右手持连接灌胃管的注

射器,经口角将灌胃管插入口腔并向下轻压,使大、小鼠口腔和食管在一条直线上,此时将灌胃管沿上颌壁轻轻滑入食管,当插入深度大约为口腔至剑突下的距离时,可回抽注射器芯,如注射器中无气体出现,即可将受试物注入并将灌胃管轻轻退出。在插入过程中,如遇阻力或回抽注射器芯时出现气泡,则需抽出灌胃管后重新插入。大鼠灌胃管长约6~8cm,直径约1.2cm;小鼠灌胃管长约4~5cm,直径约1cm。②家兔灌胃法:由2人操作。持兔者端坐,两腿夹住家兔躯干及后肢,两手握住两耳及前肢,使家兔头部朝上且颈部拉直。灌胃者经兔口角空隙将开口器插入后放置在口腔正中并向下转动数次,使兔舌伸出,再将硬质的灌胃管通过开口器小孔插入食管,当插入深度为10~15cm时,灌胃管前端即到达胃腔。此时回抽注射器芯,如无气体出现,即可注入受试物,并再推入2~3ml水,将遗留在灌胃管中的受试物全部送入胃内。迅速抽出灌胃管,取出开口器。③犬灌胃法:由2人操作。将犬置入有活动栅的犬笼并移动活动栅使犬固定,持犬者握住犬耳后及颈部皮肤,使犬头部向上且颈部拉直。灌胃者将一木棒置于犬口中令其咬住,再将硬质灌胃管从木棍与上颌之间插入食管,当插入深度约20cm时,灌胃管前端即已达到胃腔。此时回抽注射器芯,如无空气出现,即可用注射器推入受试物。

(2) 喂饲法:将受试物掺入实验动物饲料或饮水中令其自行摄入。此法优点是符合人类实际接触受试物的情况,缺点是适口性差的受试物以及易挥发或易水解的受试物不适宜,且实验动物需单笼饲养,每只动物的实际染毒剂量应根据食物消耗量计算。

(3) 吞咽胶囊法:将一定剂量的受试物装入胶囊,置于动物的舌后部迫使其咽下。此法的优点是剂量准确,适于易挥发、易水解和有异味的受试物。

2. 经呼吸道染毒 分为吸入染毒和气管内注入,其中吸入染毒又分为静式吸入染毒和动式吸入染毒。呼吸道染毒适用于蒸发液体、气体、粉尘等状态的外源化学物。

(1) 静式吸入染毒:将一定数量的啮齿类动物置于密闭染毒柜中,加入易挥发的液态受试物或气态受试物,使受试物在染毒柜内达到一定浓度。观察实验动物的中毒症状和死亡时间,染毒结束后取出动物并清洗染毒柜。静式吸入染毒的时间一般为2小时,要求受试物在10分钟内蒸发完毕。静式染毒吸入的优点是染毒简便,缺点是随着染毒的进行,染毒柜中氧分压和受试物浓度不断降低而二氧化碳分压增加,且受试物可沾染实验动物皮毛后经皮肤吸收。

染毒的动物数应根据染毒柜容积和染毒时间确定,以保证动物最低需气量。不同染毒柜容积可放置的动物数如表1-1-1所示。

表1-1-1 实验动物的最低需气量及不同染毒柜容积应放置的动物数(染毒2小时)

实验动物	呼吸量 (L/h)	最低需氧量 (L/h)	静式染毒2小时可放置动物数				
			25L	50L	100L	300L	1000L
小鼠	1.45	4.50	3~5	6~10	12~15	36~40	120~150
大鼠	10.18	30.54	0	1	1~2	5~6	16~18
豚鼠	10.18	30.54	0	1	1~2	5~6	16~18
猫	19.30	57.90	0	0	0	3~4	9~10
家兔	42.25	126.80	0	0	0	1	4~5
猴	51.60	154.80	0	0	0	1	3~4
狗	312.60	97.80	0	0	0	0	1

染毒柜内受试物的浓度计算公式为: $c=(a \times d \times 1000)/V$

式中:

c ——设计的染毒浓度(mg/L);

a ——加入受试物的量(ml);

d ——受试物的比重(g/L);

V ——染毒柜容积(L)。

(2) 动式染毒吸入:动式染毒的装备由染毒柜、机械通风系统和配气系统构成。此法的优点是染毒过程中染毒柜内氧分压和受试物浓度较稳定,缺点是受试物消耗量大,且容易污染环境。

受试物浓度达到平衡后,每天染毒时间为6小时,温度维持在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度维持在40%~60%。每小时换气12~15次,保证氧气浓度19%和受试物的均匀分布。实验动物的总体积不超过染毒柜容积的5%。染毒时应进行气流速度、受试物实际浓度及温度的监测,使其维持恒定。

(3) 气管内注入:此法用于建立急性毒性中毒模型和尘肺研究。大鼠麻醉后用棉线将其门齿和四肢固定于解剖板上,无齿镊夹住舌头后拉出并用纱布包裹,以左手拉住固定。右手将耳镜置入大鼠口腔暴露气管开口,在光线下可见随呼吸开闭的V形白环即声带。此时,左手松开舌头并固定耳镜,右手持钝头穿刺针,待V形口张开时,将针头插入气管约1~1.5cm,由助手将吸好受试物的注射器接在穿刺针上,回抽注射器芯,如有气泡证明穿刺针位于气管内,即可将受试物注入气管。

3. 经皮肤染毒 测定外源化学物经皮肤染毒毒性以及外源化学物的局部刺激作用和皮肤致敏作用。毒性试验常用大鼠和小鼠,皮肤刺激和致敏试验常用家兔和豚鼠。

(1) 斑贴法:试验前首先在需要的部位去除被毛,脱毛后24小时方可给予受试物。将一定量的受试物涂抹在受试局部并盖上2~4层纱布,或将受试物滴于2~4层纱布覆盖于受试部位,在纱布上覆盖一层玻璃纸或塑料薄膜,再用无刺激作用的胶布固定。在规定的接触时间后拆去胶布,移除玻璃纸和纱布,用清水清洁染毒局部皮肤以免动物因刺激作用舔舐而经口摄入受试物。如需重复接触受试物,受试部位应该每隔一周去毛一次。

(2) 浸尾法:染毒前先将大鼠或小鼠置于特定的固定盒内,使鼠尾通过固定盒底部软木塞的圆孔露出。受试物置于有软木塞的小试管内,将鼠尾通过小试管软木塞小孔而插入装有受试物的试管,浸泡规定的染毒时间。观察中毒症状。

4. 注射染毒

(1) 皮下注射:以左手拇指和示指提起皮肤,将连有针头的注射器刺入皮下。注射部位在犬、猫一般为大腿外侧,豚鼠为大腿内侧或下腹部,大鼠和小鼠可在下腹部或背部,家兔可在耳根部或背部。

(2) 皮内注射:需将注射局部脱去被毛后消毒,用左手拇指和示指按住皮肤并使之紧绷,在两指之间用连有细针头的结核菌素注射器紧贴皮肤表层刺入皮内,向上挑起并再稍刺入,注入受试物。可见皮肤表面白色小丘突起。

(3) 肌肉注射:应选择肌肉发达、无大血管通过的部位,一般为臀部。注射时,先固定好动物,垂直迅速将针头刺入肌肉,回抽无血后即可注射。

(4) 腹腔注射:大、小鼠腹腔注射时,左手抓持动物并使其腹部朝上,头低位,右手持注射器,从左侧或右侧下腹部将针头刺入皮下并向前推进0.5或1cm,再以 45° 角穿过腹肌,