

现代实验室卫生设置、检验检测、认证 评估、审核与突发事件防范处理手册

主 编：刘国涛

XIANDAI SHIYANSHI WEISHENG SHEZHI JIANYAN JIANCE RENZHENG
PINGGU SHENHE YU TUFA SHIGU FANGFAN CHULI SHOUC



宁夏大地音像出版社

现代实验心理学原理、实验设计、数据 统计、实验与突发事件应急处置手册

王 健 主编

本书是心理学专业及相关专业的一门重要课程。本书以心理学实验设计、数据分析和实验操作为核心，系统介绍了心理学实验设计、数据分析和实验操作的基本原理、方法和技巧。本书可作为心理学专业及相关专业的教材，也可供从事心理学研究的科研人员参考。



中国美术学院美术考级教材

现代实验室卫生设置、检验 检测、认证评估、审核与突发 事故防范处理手册

主 编：刘国涛

第 二 卷

宁夏大地音像出版社

(3) 4~6 天后采血测定抗体滴度。

(4) 融合前 3~4 天, 再静脉注射剂量较大的抗原盐水溶液 (不加佐剂)。

3. 脾细胞的制备

处死小鼠, 用 70% 酒精消毒皮肤, 用无菌手术刀打开皮肤和腹膜, 取出脾脏并剪碎, 将腺细胞挤出来, 吸入一无菌试管中, 用无血清培养基洗涤脾细胞两次, 再悬浮于培养基中, 即得脾细胞悬液。

4. 细胞融合

(1) 收集处于对数生长期的骨髓瘤细胞, 计数、检查活力。

(2) 将洗涤过的小鼠脾细胞和骨髓瘤细胞按 5:1 的比例混和。

(3) 加入聚乙二醇 (PEG) 溶液, 使两种细胞粘在一起。

(4) 分装于 24 孔培养板 (用选择性培养基制备融合细胞悬液, 孔内预先加入一定量的饲养细胞)。

(5) 将培养板置于二氧化碳培养箱内, 37℃ 培养。

(6) 培养到 8~14 天, 就可看到杂交细胞的克隆, 并测定抗体的含量。

(二) 杂交瘤的克隆化、保藏和扩增

1. 杂交瘤的克隆化

杂交瘤的克隆化, 可采用有限稀释法和软琼脂法。

(1) 有限稀释法。把杂交瘤细胞用完全培养基稀释, 并分配到 96 孔培养板中。计算稀释度, 以使每个孔中只含有一个单细胞。置二氧化碳培养箱中, 37℃ 培养, 直至出现单细胞的集落。

(2) 软琼脂培养法。此法将杂交瘤细胞放入软琼脂培养基中生长, 等长出细胞集落后再把集落移入 96 孔培养板中培养, 供进一步分析。

2. 杂交瘤细胞的保藏

已克隆化的细胞需冷冻保藏以备用。一般把克隆化杂交瘤细胞加入冷冻保藏液中 (在基础培养液中加入 20% 胎牛血清和 10% 二甲基亚砷), 分装, 置于 -70℃ 冰箱中过夜, 再转到液氮罐中长期保藏。

3. 杂交瘤的扩大培养

(1) 离体扩大培养。当培养孔底部长满细胞时, 应及时转移到 25cm² 培养瓶中扩大培养。以后逐步转移到 80cm²、175cm² 的培养瓶中进行扩大培养, 以获得较多的单克隆抗体。

(2) 体内扩大培养。当需要大量抗体时, 通常用制备动物腹水的方法来制备。先给动物腹腔内注射液体石蜡使动物致敏, 然后给动物腹腔内接种 10⁶~10⁷ 个杂交瘤细胞。待动物腹部明显胀大后抽取腹水, 4℃ 或 -20℃ 冰箱保存。

(三) 单克隆抗体的纯化

1. 硫酸铵沉淀与阴离子交换层析法

(1) 从动物腹部抽取腹水, 然后加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 使其浓度达 40%, 以沉淀抗体, 离心分离沉淀, 上清液再加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 再分离沉淀, 如此重复 2~3 次。

(2) 将沉淀悬浮于磷酸缓冲液中, 并用 Tris-HCl 缓冲液进行透析, 以去除盐份。

(3) 透析后的抗体溶液再上 DEAE-Sephadex 离子交换柱, 进一步纯化抗体。

2. 蛋白 A-Sepharose 亲和层析法

将预处理的腹水或培养上清液或经 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀并通过透析的抗体溶液, 上蛋白 A-Sepharose 亲和层析柱。然后用磷酸缓冲液和用不同 pH 值的柠檬酸缓冲液分别洗柱, 可将不同种类的抗体分离开来。

(四) 单克隆抗体的保存

大多数单克隆抗体和血清一样是不宜反复冻融的。有很多 IgM 抗体反复冻融后, 会失去和抗原结合的能力。因此, 无论何种形式的单抗, 最好以小包装冻存。常用以下几种方式保存。

(1) 腹水与血清。-70℃ 或 -20℃ 下冻存。血清可加入等体积的硫酸铵, 4℃ 保存。

(2) 培养的上清液。-70℃ 冻存, 或加 0.01% 叠氮化钠 4℃ 保存。

(3) 纯化的 IgG 和 IgM 调 pH 为中性, 盐浓度为 100~200mM, 蛋白浓度 1~10mg/ml 以下, 加 0.1% 叠氮化钠 4℃ 保存, 或 -70℃ 冻存。

(4) 与生物素或荧光素偶合的抗体。4℃ 保存或加入 50% 甘油后 -20℃ 保存。

(五) 单克隆抗体的测定

抗体的测定常用固相试验系统和液相试验系统。

1. 固相试验系统

固相试验系统几乎适用于任何抗原与任何抗体。这些方法, 尤其是酶联免疫吸附试验 (ELISA), 由于具有灵敏、快速、经济、易行以及适于测试大量样品等优点, 已成为使用最普遍的检测手段。

(1) ELISA 或放射结合试验。其原理是将已知抗原结合于固相载体上, 然后加入含有单克隆抗体的样品, 一起保温后, 在固相载体表面形成抗原抗体复合物。再加入与酶或同位素偶联的第二抗体与上述抗原抗体复合物结合。最后通过免疫放射测定或用酶催化底物后测定光密度的方法来检测第一抗体。

(2) 夹心法或免疫放射测定试验 (IRMA)。这种测定试验是将抗体结合到固体支持物上, 再加入抗原, 保温后使形成抗原抗体复合物, 再加入用酶或放射性标记的、针对抗原的不同抗原决定部位的第二抗体, 以检测被结合的抗原。

最常用的固相载体是以聚苯乙烯或聚氯乙烯为材料的 96 孔微量滴定板。大多数可

溶性蛋白和核酸抗原都能吸附在这种板上。可溶性蛋白抗原常用 100 μ l 的 1 ~ 10 μ g/ml 溶液包被。包被过抗原的板可在 4℃ 下保存数周，不会失去免疫活性。

常用的第二抗体是绵羊（山羊）抗鼠或家兔抗鼠免疫球蛋白。用来标记第二抗体的酶常为辣根过氧化物酶，其相应的底物常用邻苯二胺。

2. 液相试验系统

此试验系统是放射免疫测定法，用放射性标记第二抗体而进行的放射结合试验。其优点是简单、灵敏、准确、本底低，缺点是需要大量同位素标记抗原。

第四章 实验室与医学检测技术操作

一、人体解剖一般技术

(一) 解剖条件

1. 解剖常用器械。12~15℃解剖镊、钢质探子、解剖刀(刀片长3.5~4cm)、尖头直剪(8~15cm)、弯剪等。

2. 解剖场地。须有良好的照明,避免背光操作。操作人员应选择合适的体位,以防疲劳。用木枕衬垫以固定尸体的解剖部位,保持稳定合适的位置,以利操作。

3. 标本的保管和保护。供解剖的尸体标本,须经防腐处理。动脉一般已注射红色橡胶,静脉大多充满淤血凝块,各组织器官应保持一定的含水量,才能使其饱满充实而富有一定的弹性。尸体标本的保管,要用湿布包裹或浸泡于保存液中,务必使标本始终保持湿润、解剖时,只暴露解剖区域,不时用保存液湿润。其他部分用湿布或塑料膜包好。面部、手、脚和外生殖器更易干燥变硬,要特别注意保护!任何部位一旦干燥变硬,就不能再使它恢复原状。

(二) 解剖方法

1. 熟悉解剖层次及方位

操作前,先必须了解人体复杂构造及繁多结构相互间的“三度空间”的关系,找出有关器官的骨性标志,以及熟悉某些组织结构的性质,如:皮肤、皮下组织、深筋膜、血管、淋巴结、腺体、神经、骨骼等。

解剖学方位是指人体取站立位时的部位,如:上(颅侧)、下(尾侧)、前(腹侧)、后(背侧)、冠状、矢状、横(水平)等等,见图3-4-1、3-4-2、3-4-4所示。

2. 剪刀分离法

用剪刀的二个刃尖作屡次地、重复地张开动作,分离疏松组织,把精细的结构解剖出来,见图3-4-3所示。

二、生理实验技术

(一) 生理实验常用仪器

1. 记录仪器

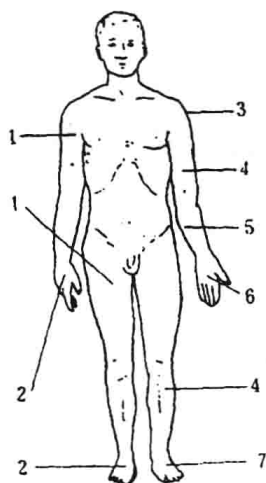


图 3-4-1 解剖学方位

1—近端或上端 2—远端或下端 3—外侧缘 4—前面
5—内侧缘 6—手的掌侧面 7—足背

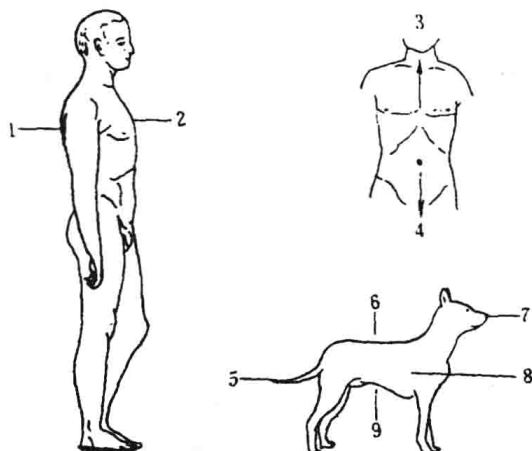


图 3-4-2 方位主要术语

1—背侧面或后面、背部 2—腹侧面或前面 3—颅侧或上端
4—尾侧或下端 5—尾侧或尾端 6—背侧面
7—颅侧或头端 8—右外侧面 9—腹侧面

(1) 记纹鼓。是生理活动记录的机械描记方法中的主要记录装置，见图 3-4-5 所示。有用弹簧作动力的弹簧记纹鼓和用电动机作动力的电动记纹鼓两类。

(2) 笔写记录仪。是用描记笔直接将放大后的生物电或各种能量经换能器转变而成的电能变化（波形）描记在记录纸上的仪器。

通常所用的 XY 函数记录仪、自动平衡记录仪、绘图仪等，配备适当的放大器均可作为生理笔写记录仪。心电图仪、脑电图仪及二道或多道生理记录仪等都是专用的生理书写记录仪。

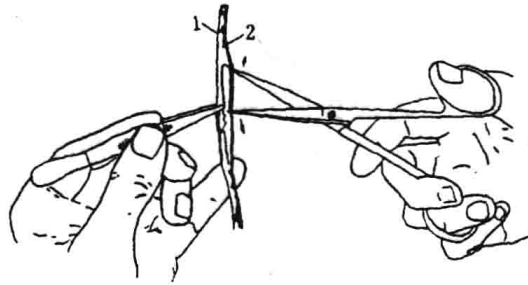


图 3-4-3 剪刀分离法
1--血管 2--神经

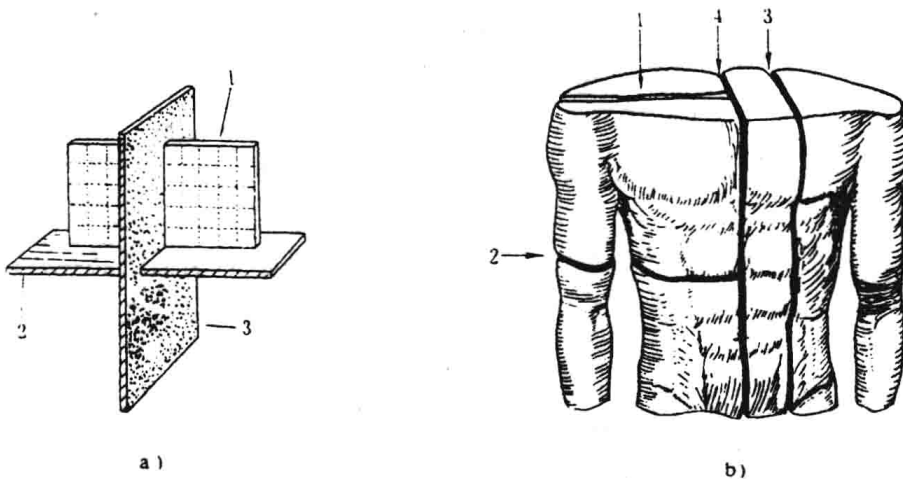


图 3-4-4 躯体的基本平面
1—冠状面 2—水平或横断面 3—矢状面 4—正中矢状面

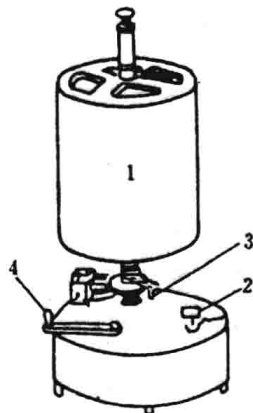


图 3-4-5 弹簧记纹鼓
1—圆鼓 2—扇片 3—钮子 4—发条把手

(3) 示波器。生理实验中为了记录快速变化的电信号，常用阴极射线示波器显示。

2. 放大器

电生理实验用的放大系统，其技术参数应为：频率约 10 ~ 15kf，噪声电平为 10 ~ 30 μ V，在直接耦合时慢漂移为 1 μ V/min，在 0 ~ 15kf 频带内能作无畸变的放大。

3. 阴极跟踪器

当采用高电阻记录电极（微电极或盐水浸渍的棉芯电极）时，须使用阴极跟踪器。

在使用粗电极时，也可利用阴极跟踪器，使记录信号不致因电极和组织接触不良而产生畸变。

4. 换能装置

换能装置是指将一种能量转变为另一种能量的装置。生理实验中用的是指将生物体自发或诱发产生的各种机械、声、光、温度等能量转变为电信号的生理换能装置，通常也称传感器。

5. 刺激器。

目前应用最多的是电刺激，它不易损伤活组织，并可以进行重复试验，容易控制刺激的强度、时间等参数。当需要进行非电性质的刺激（如光、声刺激）时，可以将电信号转换成光、声等，而且同样能调节刺激参数。常用的电刺激器有：

(1) 感应电刺激器。由两个线圈组成，改变原线圈与副线圈之间的距离，或调节两者之间的角度，变比感应磁通量，可改变刺激强度。

(2) 电子刺激器。是一种能产生一定波形的电脉冲仪，常用的刺激波形是方波。

6. 刺激电极

(1) 金属电极。最好用银丝，也有用白金丝、不锈钢丝或钨丝制成，不宜用铜丝。

(2) 乏极化电极。用金属丝直接接触生物组织进行长时间刺激，会产生极化作用，制成乏极化电极可避免产生极化。最常用的是用银丝（或银片）镀上氯化银制成的氯化银电极。

7. 引导电极

引导生物电而用，金属电极与氯化银电极也可作引导电极而用，其他还有：

(1) 甘汞电极。是一种比氯化银电极更稳定的乏极化电极，引导生物体内的直流电成分时，常用这种电极。

(2) 玻璃微电极。测量单细胞电活动时，用硬质玻璃管制成的玻璃微电极，尖端直径在 1 μ m 以内，里面灌有氯化钾溶液，它的电阻很大，制作、保存、使用都必需具有专门的技术。

(二) 动物实验基本方法

1. 动物实验常用方法

(1) 复制动物模型法。此法采用人工的方法使动物在一定致病因素（机械、化学、生物、物理）作用下，造成动物的组织、器官或全身的一定损伤，复制成与人类疾病相

似的动物疾病模型), 来研究各种疾病的发生、发展规律及防治方法。

(2) 切开、分离法。是以活体动物为对象的整体实验常用方法。在麻醉情况下, 采用一些方法(如活体解剖、分离暴露器官、组织或进行一些手术制备等措施)进行“急性动物实验”。其优点是对研究的器官, 可直接观察, 缺点是要麻醉、手术创伤及存活时间较短。采用此法应注意麻醉深度适中, 手术轻巧, 少出血、减少创伤, 并要熟悉手术部位的神经、血管等解剖。

(3) 切除和注入提取液法。常用于研究内分泌器官的生理和病理。

(4) 离体组织器官法。利用动物的离体组织、器官或生物性致病因子(微生物、寄生虫等), 置于一定的存活条件下(温度、营养成分、氧气、水、酸碱度等)进行观察的一种实验方法。动物组织、细胞的培养常用此法。其优点是方法比较简单, 不需要复杂的仪器设备, 实验条件比较容易控制。不足之处是模拟的存活条件毕竟与整体的实际情况有较大的出入, 其结果也往往与体内的变化有一定距离, 可作为整体研究的补充和参考。

(5) 瘻管法。用无菌手术方法给动物造成不同的人造瘻管, 收集内脏液体, 是消化生理研究的主要方法。常用于慢性动物实验, 其优点是被研究的对象体内外环境处于较自然的相对平衡状态, 条件比较稳定, 所得结果接近生理情况。但需要事先制备, 术后护理, 待动物恢复健康后才能从事实验, 费时较长, 工作量较大, 选用有限制。

(6) 移植法。是将动物的器官、组织或细胞进行相互移植的一种方法。

(7) 生物电、活性观察法。对动物体各种生物电用电生理记录仪进行观察记录, 或对动物组织中各种活性物质用生物化学方法测定。

(8) 病理解剖学、组织学观察法。采用肉眼观察, 光镜和电镜检查来分析动物各种疾病时, 病理组织学改变, 可从组织学的角度来探讨疾病的防治机理。随着电子显微镜技术的进展, 不仅可观察到病变细胞内细胞器等亚细胞结构的变化, 而且也可运用电子扫描方法对动物器官的微小结构进行完整的表层观察。

(9) 免疫学观察法。注入抗原使动物致敏, 制备各种抗血清, 采用免疫荧光技术、酶标记免疫技术、放射免疫测定技术、免疫电镜技术等对动物免疫后各种免疫变化进行检查。

2. 动物标记方法

(1) 颜料涂染法。良好的标记方法应满足标号清晰、耐久、简便、适用的要求。

使用的颜料一般有 3~5% 苦味酸溶液(黄), 2% 硝酸银溶液(咖啡色)和 0.5% 中性品红溶液(红)等。标记时, 在动物体的不同部位涂上斑点, 以示不同号码。编号的原则是: 先左后右, 从上至下。一般把涂在左前腿上的计为 1 号, 左侧腹部计为 2 号, 左后腿为 3 号, 头顶部计为 4 号, 腰背部为 5 号, 尾基部为 6 号、右前腿为 7 号, 右侧腰部为 8 号, 右后腿为 9 号。若动物编号超过 10 或更大数字时, 可使用上述两种不同颜色的溶液, 即把一种颜色作为个位数, 另一种颜色作为十位数, 这可编至 99 号。

(2) 烙印法。用刺数钳在动物耳上刺上号码, 然后用棉签蘸着溶在酒精中的黑墨在

刺号上加以涂抹，烙印前对烙印部位应预先用酒精消毒。

(3) 号牌法。用金属制的牌号固定于实验动物的耳上，大动物系于颈上。

3. 动物被毛去除法

除毛的方法有剪毛、拔毛和脱毛三种。

常用的脱毛剂配方：

(1) 硫化钠 3g、肥皂粉 1g、淀粉 7g、加水适量调成糊状。

(2) 硫化钠 8g、淀粉 7g、糖 4g、甘油 5g、硼砂 1g、加水 75ml。

(3) 硫化钠 8g、溶于 100ml 水中。

以上脱毛剂配方适用于家兔、大白鼠、小白鼠等小动物的脱毛。

(4) 硫化钠 10g、生石灰 15g、溶于 100ml 水内。此配方适用于狗等大动物的脱毛。

4. 动物注射方法

(1) 皮下注射。提起皮肤，用 $5\frac{1}{2}$ 号针头刺入皮下，注射部位，狗、猫多在大腿外侧；豚鼠在后大腿内侧或小腹部、大白鼠在侧下腹部；兔在背部或耳根部；蛙在脊背部淋巴腔。

(2) 皮内注射。注射部位脱去被毛并消毒，绷紧皮肤，用结核菌素注射器连 $4\frac{1}{2}$ 号针头，紧贴皮肤表层刺入皮内，然后向上挑起注射药液，见皮肤表面鼓起一小皮丘止。

(3) 肌肉注射。垂直、迅速将注射器针头刺入动物臀部肌肉，回抽针栓无回血，即可进行注射。大、小白鼠可用 $5\frac{1}{2}$ 号针头注射器，将针头刺入大腿外侧肌肉注射。

(4) 腹腔注射。用手抓住大、小白鼠背部，使腹部向上，将注射针头于左（或右）下腹部刺入皮下，使针头向前推 0.5 ~ 1.0cm，再以 45°角穿过腹肌，固定针头，缓缓注入药液，见图 3-4-6 所示。

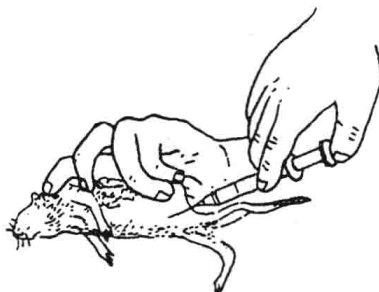


图 3-4-6 小鼠腹腔注射方法

为避免伤及内脏，可使动物处于低头位，使内脏移向上腹。

如是家兔，进针部位为下腹部的腹白线旁开 1cm 处。

(5) 静脉注射。依动物不同而方法不同。

①兔。兔耳中央为动脉，耳外缘为静脉。拔去被毛，用手指弹动或轻揉兔耳，使静脉充盈，夹住静脉的近心端，曲张静脉的远心端，从静脉的远端刺入针头，固定针头略见回血，放开夹住部位，将药物徐徐注入，见图 3-4-7 所示。

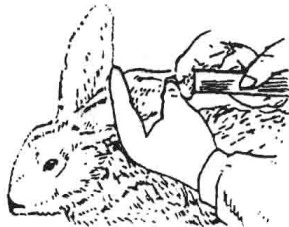


图 3-4-7 家兔耳缘静脉注射方法

②大、小白鼠。一般采用尾静脉注射。将动物固定在鼠筒内，露出尾巴，用 40 ~ 50℃ 的温水浸润尾巴半分钟。或用酒精擦拭使血管扩张，表皮角质软化，夹住尾根部位使静脉充盈，将注射器连 4 $\frac{1}{2}$ 号细针头，使针头与静脉平行（小于 30° 角），从尾端 1/4 处（约距尾尖 2 ~ 3cm）处进针，注射完毕，弯曲尾巴止血，见图 3-4-8 所示。

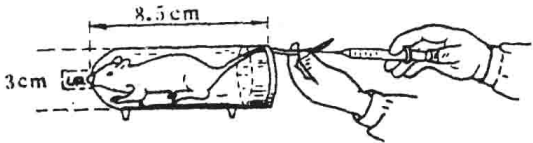


图 3-4-8 小鼠尾静脉注射方法

③狗。常选前肢内侧皮下头静脉注射，见图 3-4-9 所示，或后肢小隐静脉注射，见图 3-4-10 所示。将动物侧卧，剪去局部被毛，用胶皮带扎紧（或用手抓紧）静脉近心端，使血管充盈，注射器针头平行刺入血管，待有回血，松开绑带（或两手），缓缓注入药液。



图 3-4-9 狗前肢头静脉注射



图 3-4-10 狗后肢小隐静脉注射

④蛙（或蟾蜍）。破坏蛙或蟾蜍的脑脊髓，仰卧固定于蛙板上，沿腹中线稍左剪开腹肌，可见到腹静脉贴着腹壁肌肉下行，将注射针头沿血管平行方向刺入即可，见图 3-4-11 所示。

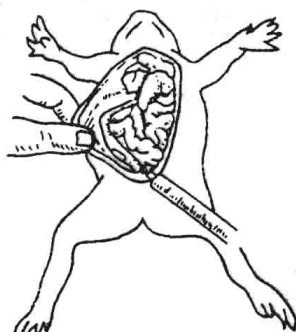


图 3-4-11 蛙腹壁静脉注射

几种常用动物不同给药途径的注射量，见表 3-4-1。

表 3-4-1 几种动物常用注射量 (ml)

注射途径	小鼠	大鼠	豚鼠	兔	狗
腹腔	0.2~1.0	1~3	2~5	5~10	5~15
肌肉	0.1~0.2	0.2~0.5	0.2~0.5	0.5~1.0	2~5
静脉	0.2~0.5	1~2	1~5	3~10	5~15
皮下	0.1~0.5	0.5~1.0	0.5~2	1.0~3.0	3~10

(6) 淋巴囊注射。蛙类皮下有数个淋巴囊，注入药物甚易吸收。腹部淋巴囊和头背淋巴囊常作为蛙类给药部位。注射时将针头从蛙大腿上端刺入，经大腿肌层入腹壁肌层，再进入腹壁皮下，即进入淋巴囊，注入药物。有时也可采用胸淋巴囊给药，方法是将针头刺入口腔，穿过下颌肌层入胸淋巴囊。蛙一次最大注射量为 1ml。

5. 动物的麻醉

(1) 常用的麻醉剂。有以下两类。

①挥发性麻醉剂。乙醚、氯仿等，乙醚适用于各种动物，安全度大，麻醉深度容易掌握，麻醉后苏醒较快，缺点是易于窒息。

②非挥发性麻醉剂。苯巴比妥钠、戊巴比妥钠、硫喷妥钠、氨基甲酸乙酯和水合氯醛等。使用方便，一次给药可维持较长的麻醉时间，麻醉过程较平稳，缺点是苏醒较慢。

(2) 麻醉方法。有以下两种。

①全身麻醉。又分两种。

A. 吸入法。将待麻醉的动物关入一个密闭的容器中，再投入几个浸有乙醚的棉球，约 4~6 分钟即可使动物麻醉。

B. 腹腔或静脉给药法。常用非挥发性麻醉剂作腹腔或静脉注射麻醉动物，小动物用腹腔给药法麻醉，大动物用静脉给药法麻醉，麻醉药物的浓度及注射量，见表 3-4-2。

表 3-4-2 常用麻醉剂的用法及剂量

麻醉剂	动 物	给药方法	剂量 (mg/kg)	常用浓度 %	维持时间
戊巴比妥钠	狗、兔 大、小鼠、豚鼠	静脉	30	3	2~4h 中途加上 1/5 量，可维持 1h 以上，麻醉力强，易抑制呼吸。
		腹腔	40~50	3	
		腹腔	40~50	2	
硫喷妥钠	狗、兔 大白鼠 小白鼠	静脉	15~20	2	15~30min，麻醉力强，宜缓慢注射
		腹腔	40	1	
		腹腔	15~20	1	
氯醛糖	兔 小白鼠	静脉	80~100	2	3~4h，诱导期不明显
		腹腔	50	2	
乌拉坦	兔 大、小白鼠 蛙 蟾 蜍	静脉	750~1000	30	2~4h，毒性小，主要适用小动物的麻醉
		下和肌肉	800~1000	20	
		淋巴囊注射	0.1ml/100g	20~25	
		淋巴囊注射	1ml/100g	10	

②局部麻醉。分三种。

A. 猫一般应用 0.5~1.0% 盐酸普鲁卡因注射，粘膜表面麻醉宜用 2% 盐酸可卡因。

B. 兔眼球麻醉，可在结膜囊滴入 0.02% 盐酸可卡因溶液。

C. 狗用 0.5~1% 盐酸普鲁卡因注射，眼、鼻、咽喉表面麻醉可用 2% 盐酸可卡因。

③麻醉注意事项。应注意三点。

A. 静脉注射必须缓慢，同时观察肌肉紧张性、角膜反射和对皮肤刺激的反应，当这些活动明显减弱和消失时，立即停止注射。

B. 麻醉时需注意对动物体保温，保温的程度以监察动物的肛门体温为准。常用实验动物正常体温：猫为 $38.6^{\circ}\text{C} \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ ，兔为 $38.4^{\circ}\text{C} \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ ，大鼠为 $39.3^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。

C. 作慢性实验时，在寒冷的冬季，麻醉剂在注射前应加热至动物体温水平。

6. 动物采血方法

动物采血时要注意：采血场所有充足的光线和室温；采血用具和采血部位需进行消毒；若需抗凝，在注射器或试管内需预先加入抗凝剂。

不同动物采血部位与采血量的关系，可见表 3-4-3。

表 3-4-3 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	采血量	采血部位	动 物 品 种
取少量血	尾静脉	大鼠、小鼠	取中量血	耳中央动脉	狗、猫、兔
	耳静脉	兔、狗、猫、猪、山羊、绵羊		颈静脉	豚鼠、大鼠、小鼠
	眼底静脉丛	兔、大鼠、小鼠		心脏	大鼠、小鼠
	舌下静脉	狗		断头	鸡、鸭、鸽、鹅
	腹壁静脉	青蛙、蟾蜍		翼下静脉	鸡、鸭、鸽、鹅
	冠、脚蹼皮下静脉	鸡、鸭、鹅		颈动脉	
取中量血	后肢处侧皮下小隐静脉	狗、猴、猫	取大量血	股动脉、颈动脉	狗、猴、猫、兔
	前肢内侧皮下头静脉	狗、猴、猫、兔		心脏	狗、猴、猫、兔
				颈动脉	马、牛、山羊
				摘眼球	绵羊、大鼠、小鼠

常用实验动物的最大安全采血量与最小致死采血量，见表 3-4-4。

表 3-4-4 常用实验动物的最大安全采血（量与最小致死）采血量

动物品种	最大安全采血量（ml）	最小致死采血量（ml）
小鼠	0.1	0.3
大鼠	1	2
豚鼠	5	10
兔	10	40
狼狗	100	500
猎狗	50	200
猴	15	60

7. 动物实验意外的急救方法

实验中发现动物血压急剧下降，甚至消失，呼吸极慢而不规则，甚至停止，角膜反射消失等临床死亡症状时，应立即进行抢救。

(1) 针刺。针刺人中穴对抢救家兔效果较好。对狗用每分钟几百次频率的脉冲电刺激膈神经效果也可。

(2) 注射强心剂。从静脉注射 0.1% 肾上腺素 1ml，必要时可直接作心脏内注射。注射肾上腺素后，仍感心脏搏动无力时，可从静脉或心腔内注射 1% 氯化钙 5ml 加强心肌收缩力。

(3) 注射呼吸中枢兴奋药。从静脉注射山梗菜碱或尼可刹米。

尼可刹米：每条大动物一次可注射 25% 浓度药剂 1ml，此药可直接兴奋延髓呼吸中枢，使呼吸加速加深。

山梗菜碱：每条大动物一次可注射 1% 浓度药剂 0.5ml，此药可使呼吸迅速加深加快，血压也同时升高。

(4) 快速注射高渗葡萄糖液。从动物股动脉逆血流加压、快速、冲击式注入适量 40% 的葡萄糖液，狗可按 2~3ml/kg 计。

(5) 人工呼吸。用手压迫动物胸廓或用人工呼吸机经气管插管进行人工呼吸。若动物呼吸已停止，心搏极微弱或刚停止，则可用 5% CO₂ 和 60% O₂ 的混合气体进行人工呼吸，效果更好。

使用人工呼吸机的参数为，大鼠为 50 次/min，每次 8ml/kg（即 400ml/kg/min）；兔和猫为 30 次/min，每次 10ml/kg（即 300ml/kg/min）、犬为 20 次/min，每次 100ml/kg（即 2000ml/kg/min）。

8. 动物的处死方法

(1) 蛙类

用金属探针插入枕骨大孔，破坏脑脊髓处死。

操作蟾蜍时，要防止毒腺分泌物射入眼中，如被射入，需立即用生理盐水冲洗眼睛。

(2) 大、小鼠

1) 脊椎脱臼法。用手拉断脊椎骨，使脊髓与脑髓分离，鼠立即死亡。

2) 断头法。用剪刀在鼠颈部将头剪掉。

3) 击打法。抓住鼠尾，用力摔击其头部，或用小木锤用力击打鼠头，即死。

4) 急性大出血法。使鼠眼眶动脉和静脉急性大量失血，使鼠立即死亡。

5) 化学致死法。把鼠放在浓度为 0.2~0.5% 的一氧化碳环境中，即可致死。另外，皮下注射士的宁；吸入乙醚、氯仿等均可致死。

6) 液氮冻死法。把鼠放入液氮中可急速致死，此法对分析体内活性物质较好。

(3) 狗、猫、兔、豚鼠

1) 空气栓塞法。在兔、猫等动物的静脉内注入 20~40ml 空气，即可致死，狗注入 80~150ml，可很快致死。

2) 急性失血法。先使动物轻度麻醉，切断股动、静脉，用水冲洗流血，3~5min 内即可死亡。

3) 延脑破坏法。用器具将动物延脑破坏，导致动物死亡。也可用木锤用力击其后脑，损坏延脑，造成死亡。

4) 开胸法。打开动物胸腔，造成开放性气胸，使肺萎缩，动物窒息而死。

5) 药物致死法。从兔耳缘静脉注入 10% 氯化钾溶液 5~10ml，或由狗前肢或后肢