

高等医药院校基础医学实验教学系列教材

医学机能学实验教程

孔德虎 主编



科学出版社

www.sciencep.com

高等医药院校基础医学实验教学系列教材

医学机能学实验教程

主 编 孔德虎

副主编 郑 红 陈志武 岑德意 汪思应 柯道平 张 瑾

编 委 (按姓氏笔画排序)

王烈成	孔德虎	卢海妹	刘巧琼	李忠稳
李菲菲	李维祖	岑德意	余科科	汪思应
张玉侠	张骏艳	张 瑾	陈志武	范一菲
周兰兰	郑 红	赵乐章	胡金兰	柯道平
倪 芳	郭 岩	黄 武	董六一	

科学出版社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

内 容 简 介

本书结合国内高等医药院校机能学实验教学的特点和发展趋势,在总结多年实验教学经验的基础上,较为详细地介绍了医学机能学实验教学的基本方法,技术,目的,基本的教学内容,综合性、创新性和设计性实验,操作步骤和实施方案,把生理学、病理生理学和药理学等学科的实验课教学内容有机地结合起来,既体现学科的特点,又注意学科间的相互融合,力求条理、层次清楚,内容循序渐进。

本书作为一本规范的实验教科书,适合医学、生物学及相关专业本、专科学生实验教学使用,也可作为综合性大学相关学科教师及研究生从事教学和科研的参考。

图书在版编目(CIP)数据

医学机能学实验教程/孔德虎主编. —北京:科学出版社,2009

(高等医药院校基础医学实验教学系列教材)

ISBN 978-7-03-023572-5

I. 医… II. 孔… III. 机能(生物)-人体生理学-实验-医学院校-教材
IV. R33-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 192202 号

策划编辑:胡治国 / 责任编辑:胡治国 / 责任校对:钟 洋
责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号
邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009年2月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2009年2月第一次印刷 印张:11 3/4

印数:1—5 000 字数:279 000

定价:20.00 元

如有印装质量问题,我社负责调换

前 言

医学机能学实验是集生理学、病理生理学和药理学等相关学科实验教学内容为一体的综合性实验课程。自2000年以来,国内多数医学院校按照本科教学的要求,并结合自身教学特点,在整合各方资源的基础上,相继开出这门实验课程,并取得了良好的效果。

和其他院校一样,近十年来,我们积极地进行实验课程教学改革,不断借鉴并吸取兄弟院校的成功做法和经验,组织医学机能学各相关学科的教师,对实验教学大纲进行反复多次的修订,结合各学科的特点和优势,针对不同层次的教学对象,选择性地规划、设计实验课教学内容,并适当地增加综合性实验课的比例,使课程结构和教材内容趋于规范和合理。同时,我们在省部共建高校基础实验室和省教育厅高校实验室示范中心建设项目的支持下,合理配置性能较为优越的教学设施,并适当地兼顾对长学制学生培养的要求,部分地建立了创新性实验的技术平台,目的是适应不同层次的实验教学,着力培养思路宽阔、实践能力较强的创新型人才。《医学机能学实验教程》一书正是在我们对实验教学不断总结经验的基础上应运而生的,它既是我们致力于实验课程改革的点滴心得体会,也是一次思想创新和部分教学方式创新的实践过程。

全书分五章,包括总论、基础实验、综合实验、创新实验和机能学实验设计。从内容的编排上,既考虑学科的特点,又注意保持课程内容的衔接和有机的融合,并从有利于不同层次、不同专业学生学习的实际考虑,力求使教学内容循序渐进,尽量做到局部和整体的统一,我们希望本书能成为一本较为规范的实验教学用书。参加本书编写的所有作者均是长期从事本门课程教学的中青年骨干教师,其中计算机生物信号采集分析系统我们约请四川大学的黄武老师编写;他们将自身的教学实践和心得体会不同程度地渗透在教材的各个章节中,可以说老师们是非常用心地将教学内容和体会在书中反映出来,并以此奉献给每一位读者。

本书的统稿和编排分别由张瑾、余科科、郭岩博士和胡金兰副教授承担,她们为书稿的顺利完成付出了艰辛的劳动;本书的筹划和编纂一直得到安徽医科大学的领导和各相关学科老师们的高度重视;国内同行专家为本书的撰写提供了重要的参考资料;科学出版社为本书的出版严格把关,精心编审并做出了卓有成效的贡献。值此出版之际,谨向各级领导和专家、同行们表示衷心的感谢!

我们也由衷地希望本书的出版能为高等学校医学及生物学基础实验教学实践、课程教学改革提供一些帮助,即便在编写过程中我们一直尽心尽力,但限于学术水平以及作者的撰写风格难以统一,书中尚有疏漏和不尽如人意之处,真诚地期望同行、专家和广大读者不吝赐教。

孔德虎

2008年11月于安徽医科大学

目 录

第一章 总论	(1)	实验七 呼吸运动的调节	(50)
第一节 医学机能学实验概述	(1)	实验八 减压神经和膈神经放电	(51)
一、医学机能学实验的学习目的和要求	(1)	实验九 消化道平滑肌的一般生理特性	(52)
二、实验数据和结果的处理	(2)	实验十 尿生成的影响因素	(54)
三、实验报告写作要求	(2)	实验十一 耳蜗微音器电位	(55)
四、实验室守则	(3)	实验十二 大脑皮层运动机能定位	(56)
第二节 实验动物的基本操作技术	(4)	实验十三 去大脑僵直	(57)
一、动物实验的一般知识	(4)	实验十四 去小脑动物运动功能的观察	(59)
二、实验动物的选择	(5)	实验十五 大脑皮层诱发电位	(59)
三、实验动物的编号、捉拿与固定方法	(7)	第二节 病理生理学基础实验	(61)
四、实验动物的给药途径和方法	(10)	实验一 实验性肺水肿	(61)
五、实验动物的麻醉	(15)	实验二 高钾血症及其抢救	(63)
六、实验动物的采血和处置	(18)	实验三 缺氧	(64)
七、急性动物实验的基本操作技术	(20)	一、正常对照组	(65)
第三节 常用动物离体标本制备	(21)	二、低张性缺氧	(65)
一、两栖类动物离体组织标本的制备	(21)	三、等张性缺氧	(66)
二、哺乳类动物离体组织标本的制备	(23)	四、组织性缺氧	(66)
第四节 机能学实验常用仪器	(24)	实验四 酸碱平衡紊乱	(71)
一、常用手术器械	(24)	实验五 弥散性血管内凝血	(73)
二、基本设备	(25)	实验六 急性右心衰竭	(76)
三、生物信号换能器	(32)	实验七 实验性氨中毒	(77)
四、生物信号采集和分析系统	(33)	第三节 药理学基础实验	(78)
第二章 医学机能学基础实验	(39)	实验一 酚磺酞药动力学参数的测定	(78)
第一节 生理学基础实验	(39)	实验二 小鼠戊巴比妥钠 LD ₅₀ 和 ED ₅₀ 的测定	(80)
实验一 骨骼肌的单收缩和复合收缩	(39)	实验三 哌唑嗪的拮抗参数(pA ₂)测定	(82)
实验二 神经干动作电位传导速度和不应期的测定	(41)	实验四 药物对麻醉家兔动脉血压的影响	(84)
实验三 期前收缩与代偿间歇	(43)	实验五 家兔有机磷中毒及解救	(86)
实验四 离体蛙心灌流	(44)	实验六 地西洋预防和和治疗兔惊厥作用	(88)
实验五 心输出量的影响因素	(46)	实验七 尼可刹米抗吗啡的呼吸抑制作用	(89)
实验六 心血管活动的神经体液调节	(48)	实验八 药物的镇痛作用	(90)
		一、小鼠热板法	(90)

二、小鼠扭体法	(91)	实验十一 急性弥散性血管内凝血 ...	(139)
实验九 药物的体内抗凝血作用 ...	(92)	实验十二 动物学习记忆及影响因素的 研究	(141)
实验十 药物对离体豚鼠气管环的 影响	(93)	实验十三 海马损毁对大鼠学习记忆的 影响	(143)
实验十一 利多卡因抗心律失常作用	(94)	实验十四 病例讨论与分析	(144)
实验十二 呋塞米、高渗葡萄糖对 家兔的利尿作用	(96)	第四章 医学机能学创新实验	(146)
实验十三 氢化可的松对大鼠踝关节 水肿的作用	(98)	实验一 应用膜片钳技术观察电压依赖 性离子通道电流和部分配体 门控电流	(146)
实验十四 地塞米松的抗炎作用	(99)	实验二 心血管功能无创性研究方法 与设计	(147)
实验十五 硝酸甘油抗心绞痛作用 ...	(100)	实验三 急性低钾血症动物模型的制备 及干预	(149)
实验十六 药物对四氯化碳诱发小鼠 急性肝损伤的保护作用 ...	(101)	实验四 左旋多巴治疗实验性肝性 脑病的探索	(150)
实验十七 药物对消化道平滑肌的作用	(103)	一、实验组	(151)
第四节 人体机能基本实验	(105)	二、对照组	(151)
实验一 心音听诊	(105)	实验五 抗抑郁治疗的方法及其疗效 验证	(152)
实验二 人体动脉血压测定	(106)	一、小鼠悬尾实验	(152)
实验三 人体心电图描记	(108)	二、强迫大鼠游泳实验	(153)
实验四 人体脑电的观察	(110)	实验六 心理行为因素影响心血管功能 的研究	(154)
实验五 视敏度测定	(111)	实验七 成瘾行为的病因学研究 ...	(155)
实验六 视野测定	(113)	实验八 疼痛模型及镇痛方法的设计	(156)
实验七 盲点测定	(114)	一、化学刺激法	(156)
实验八 人体肺通气功能测定	(115)	二、热刺激法	(158)
实验九 出血时间及凝血时间测定	(117)	三、慢性疼痛模型	(161)
第三章 医学机能学综合实验	(119)	实验九 动脉粥样硬化及其防治技术	(162)
实验一 急性呼吸衰竭	(119)	实验十 脑缺血损伤及其防治技术	(163)
实验二 家兔血流动力学的观察及影响 因素	(121)	第五章 医学机能学实验设计	(166)
实验三 心肌缺血再灌注损伤及药物的 保护作用	(123)	第一节 实验研究的一般程序	(166)
实验四 室性心律失常及利多卡因的 治疗作用	(125)	一、选题	(167)
实验五 失血性休克及抢救	(126)	二、实验设计	(167)
实验六 血管内皮细胞舒张因子-NO的 研究	(128)	三、实验和观察	(167)
实验七 代谢性酸中毒对呼吸及心血管 活动的影响	(128)	四、实验结果的处理分析与结论 ...	(168)
实验八 胰液和胆汁分泌的调节 ...	(130)	第二节 实验设计的原则与要素	(169)
实验九 循环、呼吸、泌尿综合实验 ...	(131)		
实验十 急性中毒性肾功能衰竭 ...	(135)		

一、实验设计的原则	(169)	六、正文	(175)
二、实验设计的三大要素	(170)	七、结论	(175)
第三节 实验资料的统计分析	(173)	八、致谢	(175)
第四节 科技论文的撰写	(173)	九、参考文献	(176)
一、题名	(173)	十、附录	(176)
二、署名	(174)	第五节 科研标书的填写及探索性 实验	(176)
三、摘要	(174)	一、科研标书的填写	(176)
四、关键词	(174)	二、探索性实验	(177)
五、引言	(174)		
主要参考资料	(178)		
附录	(179)		
附录一 实验动物及其主要生理数据	(179)		
附录二 常用生理溶液的配制	(180)		

第一节 医学机能学实验概述



一、医学机能学实验的学习目的和要求

医学机能学实验是融合基础医学与理学相关的生理学、病理生理学和药理学等学科的实验方法、技术,在综合并适当地吸收各相关学科经典的方法和新的技术的基础上所形成的一门独立的实验系统。机能学实验课的目的旨在培养学生通过实验验证已知的理论知识,培养理论联系实际的能力,使所学的基本知识和基本理论进一步巩固和提高;了解获得知识的科学方法和手段,初步掌握动物实验设计的方法步骤;通过实验初步掌握常用仪器的使用,学会观察、记录、分析实验结果及书写实验报告的基本方法;培养学生严肃认真的科学态度、严谨的科学作风、实事求是和团结协作的精神,在此基础上不断地增强学生创新意识和科学思维的能力,为今后接触临床和从事科学研究奠定坚实的基础。

为了学好本门课程,要求学生必须做到以下几点:

【实验前】

- (1) 抽出一定的时间预习实验内容,了解实验的目的、要求、方法、操作步骤和注意事项。
- (2) 结合实验内容,复习相关的理论知识,加深印象提高实验课的学习效果。
- (3) 预测实验各个步骤可能出现的结果,并应用所学的理论知识加以分析和理解。
- (4) 预测实验过程中可能出现的问题,提出解决的办法,做到心中有数。

【实验时】

(1) 自觉遵守实验室规章制度,不迟到,不早退;保持实验室的安静,不得进行与实验无关的其他活动。

(2) 认真听取老师讲解并仔细观察老师的示教,特别注意指导教师强调的实验过程中的学习要点和操作注意事项。

(3) 实验仪器和药品的摆放力求整洁有序,爱护实验器材;对贵重仪器,在尚未熟悉性能之前,不可擅自使用;如遇仪器出现故障,应及时报告实验指导教师,进行排除。

(4) 实验过程中应严格按照实验步骤,认真操作,并注意保护实验动物和标本,规范使用仪器,节省实验器材和药品。

(5) 仔细、耐心地观察实验中出现的现象,及时客观地用文字、图、表的形式记录实验结

果,原始的实验记录不可随意修改,培养严谨求实的科学作风。

(6) 理论联系实际,对实验结果进行认真分析:①获得了什么结果?②为什么会出现这种结果?③这种结果有何理论和实际意义?④出现非预期结果的原因是什么?

(7) 对老师授课的内容和实验小结进行认真地记录和整理。

【实验后】

(1) 将实验用器材整理就绪,所用的器械清洗干净,清点无误后归还技术室,如有丢失或损坏应及时报告实验指导老师妥善处理。

(2) 实验中产生的残留物、杂物、组织标本、动物尸体及其他废弃物,不能随意乱丢乱放,应该集中放到指定的地点,严禁倒进水池和存放在实验室周边的走廊内。

(3) 值日生负责实验室清洁卫生工作,离开实验室前应关好水、电、门、窗。

(4) 整理实验记录,对实验结果进行全面细致的分析讨论,并给出客观的结论。

(5) 认真撰写实验报告,并按时交实验指导老师评阅。



二、实验数据和结果的处理

实验过程中应该用科学的方法和技术将观察到的结果转变为可测量的指标,研究其变化的过程和规律,以判断和客观评价实验结果的可靠性,分析其产生的原因或机制并得出正确的结论。

1. 实验数据处理 实验中得到的结果数据,一般称为原始资料。原始资料通常分为测量资料和计数资料两类,测量资料是以具体的数值表示某事物变化的过程和规律,如心率、血压、呼吸、尿量、血流量、血糖浓度等指标,这类资料可以从测量仪器中读出,也可通过测量实验的曲线而得到。计数资料是清点实验样本数所得到的结果,如实验中记录存活或死亡动物的数目,在取得一定数量样本的原始资料后,选择一定的方法进行统计学处理和分析。

2. 实验结果显示 方法和形式多样,凡能用曲线记录的结果,尽量用曲线记录显示。将实验中描记的曲线经过剪贴、编辑、附图名、图注(如刺激的强度、时间、频率或给药剂量等),可直接贴在实验报告上;对于计量或计数资料可以用列表的方式显示;对于来自于原始图形的测量结果一般采用表格显示。制表时最常使用的是三线表,包括表名、样本数和测量指标等,一般将观察项目列在表的左侧,由上而下逐项填写,将实验中出现的变化或结果,按时间顺序由左至右逐一填写;实验结果也可用坐标图表示,图的内容可以是较为典型的原始结果,也可以是经过分析统计的客观数据。在绘制坐标图时,应在纵坐标和横坐标上列出数字,标明单位,一般以纵坐标表示结果的变化程度和趋势,横坐标表示时间或实验条件(如给药剂量),并在图的下方标注图名,并附简要的图注。



三、实验报告写作要求

实验结束后要求每位学生写出自己的实验报告,它应是实验全过程的操作、观察、分析的总结,也是引导学生从事科研工作的一项基本功训练。实验报告应按指导教师的要求书写并按时递交老师评阅。它作为综合评定学生实践能力的重要依据之一,要求学生以科学

的方法、严肃认真的态度独立完成而不应盲目抄袭书本或他人的实验报告。实验报告要求书写规范,文字讨论阐述清楚,要点突出,结论客观明了,书写工整。

(一) 医学机能学实验报告的格式及内容

医学机能学实验报告

姓名_____学号_____班组_____实验室_____日期_____

实验题目

实验目的

实验对象

实验方法和步骤(如与实验指导相同,只需简略地叙述主要方法和步骤)

实验结果

实验讨论

实验结论

(二) 撰写实验报告应注意以下几点

1. 实验结果 实验结果是实验报告重要的组成部分。应客观、真实、准确、详细地叙述。关于实验结果的表达有文字、图形、表格三种形式,可以把由记录系统描记的曲线剪贴在实验报告上或自己绘制简图,并附以图名、标号及必要的文字说明,也可将部分实验的原始数据经处理后,绘制成表格并附以必要的文字说明来表示。

2. 实验讨论 实验讨论是实验报告中的核心部分,根据已知的理论知识对结果进行解释和分析。推理、分析要有依据,符合逻辑。如果出现非预期的结果,应分析其可能的原因,并写入讨论中。讨论部分的书写应客观严谨、清晰真实,切忌盲目照搬书本或抄袭他人的实验报告。

3. 实验结论 实验结论是从结果和讨论中归纳出的一般、概括性的判断,即通过本次实验所能验证或基本形成的概念或理论的简明总结。结论部分的文字要言简意赅,不要罗列具体的结果或重复讨论的内容,未能验证的内容一般不要列入结论中。



四、实验室守则

(1) 实验前认真预习实验内容,熟悉并明确实验目的、原理、方法、步骤,对拟进行的实验应心中有数。

(2) 实验时严格遵守实验室规章制度和仪器设备的操作规程,听从老师和实验技术人员的指导。

(3) 爱护仪器设备,节约使用实验材料,实验前应严格履行仪器领用手续并详细检查,使用后要归位,发现丢失或损坏应及时如实地报告指导教师或实验室工作人员。未经许可不得擅自动用与本实验无关的仪器设备及其他物品,不得将实验室任何物品带出。

(4) 实验时注意安全,防止人身和设备事故的发生。一旦发生事故应及时报告指导教师,立即采取相应的措施,切断电源,并保持现场,不得自行处置,待查明原因,排除故障后,

方可继续实验。

(5) 保持实验室安静,不得高声喧哗,不准抽烟和随地吐痰,不准乱抛纸屑杂物,要保持实验室和仪器设备的美观整洁。

(6) 实验结束后,实验用品按原样摆放整齐,检查所有的水、电等设施是否关闭,并经实验工作人员检查无误后方可离开。

(7) 增强环保意识,实验中的废液、废渣、废气、残留的标本及含病菌的其他材料按规定的要求处理,不得随意丢弃。实验动物于实验结束后统一送指定的地点集中处理。

(8) 实验后,认真完成实验报告,包括处理数据、分析结果等,对不符合要求被退回的实验报告应重写。

(9) 对违反实验室规章制度及操作规程,擅自拆卸或动用与实验室无关的仪器设备而造成损失或事故的必须写出书面检查,并酌情按章处理。

(10) 进入实验室前,务必做好个人卫生,统一穿白大衣,不得将脏物带入室内,有净化要求的实验室进入时必须换拖鞋或戴鞋套。

(孔德虎 张 瑾)

第二节 实验动物的基本操作技术

机能学实验是专门研究正常动物的机能活动、疾病发生机制和药物作用规律的综合性实验课程。机能学实验通过观察实验动物的基本生理生化反应,研究疾病发生的病理生理学机制,分析干扰因素的影响或药物的作用与效应,学习和验证其基本规律。学生通过基本机能学实验和实验研究性训练,掌握机能学实验的基本操作技术,建立科学的实验手段,提高自己观察问题、分析问题和动手解决问题的能力。



一、动物实验的一般知识

(一) 动物实验的种类和特点

1. 急性实验 就是用活体解剖的方法,将在全麻或局麻情况下失去知觉的动物的某器官或组织,暴露于直视之下,或置于实验仪器中;或用适当的方法把所需的器官或组织从动物体内取出,置于人工环境中进行离体器官实验方法,然后观察其活动与反应,以研究其功能或其对某种外加因素的反应。

急性实验的优点是,通过对实验条件的严格控制,可排除一些复杂因素的影响,在较短时间内获得较多的有价值的分析材料。其缺点是,由于动物处于非正常状态,如麻醉、创伤、失血等,使实验结果不能完整反映整体动物在生理条件下功能活动的规律。

2. 慢性实验 是指在无菌的条件下,给动物施行一定的实验外科手术(例如各种造瘻术、脏器的切除或移植),待其恢复健康后再行实验和观察;或者将一定的物理性、化学性和生物性等致病因素作用于动物,复制成各种疾病模型,详细研究和观察疾病的发生、发展规

律或各种药物治疗的效果。

慢性实验的最大优点是保持了实验动物机体的完整性及其与外界环境的统一性,动物处于比较接近自然的生活状态。因此,所观察到的实验结果比较符合客观实际,也比较正确可靠,但由于观察时间长、对实验设备和技术要求高、影响因素较多、费用也比较高等,因而难度较大。

(二) 实验前动物的准备

一般动物在实验前禁食 12h,自由饮水。进行慢性实验时,在手术前数天便应对动物进行训练,以了解该动物是否适合做此实验,并使其熟悉环境与实验者,同时应加强营养的补充。

(三) 如何正确使用注射器

(1) 使用注射器时,应右手持注射器,左手拿起注射针,将注射器的乳头对准注射针的栓处,按上注射针。按好注射针的针头,必须使针头的斜面和注射器的刻度在同一平面上。

(2) 抽取药液时,右手持注射器,左手持药品,针头斜面向上,缓慢抽取药液。

(3) 抽吸药液完毕,将注射器针头朝上,右手持注射器,左手食指轻轻敲针筒数下,将针筒内空气集中到针筒之上,将注射器内空气排尽。

(4) 根据“两快一慢”(进针快、拔针快、推药慢)原则,在一定的部位注射药物。注射药物时,以左手固定针头位置,右手推活塞柄,速度宜慢,推注至所需药量时即停。

(5) 注射完毕,迅速拔出针头,局部用消毒棉球稍加按压即可。



二、实验动物的选择

(一) 选择实验动物的基本原则

(1) 选用与人的机能、代谢、结构和疾病特点相似的动物。

(2) 选用解剖、生理特点符合实验目的要求的实验动物,充分利用不同品种、品系实验动物存在的某些特殊反应的特点。如:发热、解热和检查致热原实验,适宜选用兔做实验。变态反应、维生素 C 缺乏症的研究,适宜选用豚鼠。

(3) 根据课题研究目的内容选用相匹配的标准化动物。

(4) 选用与实验要求相适应的实验动物

1) 年龄:年龄不同,其生物学特性往往不同,一般选择性成熟后的青壮年动物。太小的动物的生理功能未达到成年水平;太老的动物的各器官老化,代谢功能下降,只在老年医学研究中使用。体重:在正常营养状态和饲养条件下,体重与年龄有一定的相关性。

2) 性别:许多实验证明,同一品种(系)不同性别的动物对外界刺激的反应不一致。某些实验对性别有特殊的要求,如:镇痛实验(热板法)必须使用雌性小鼠。

(5) 选用人兽共患疾病的实验动物和传统应用的实验动物。

(6) 实验动物的选择和应用需注意符合相应的国际规范,国际上普遍要求动物实验应

符合实验室操作规范(GLP)和标准操作程序(SOP)。

(二) 分级

根据实验动物微生物控制标准,可将实验动物分为四级:

1. 一级 普通动物,系指微生物不受特殊控制的一般动物。要求排除人兽共患病的病原体 and 极少数的实验动物烈性传染病的病原体。为防止传染病,在实验动物饲养和繁殖时,要采取一定的措施,应保证其用于测试的结果具有反应的重现性。

2. 二级 清洁动物,要求排除人兽共患病及动物主要传染病的病原体。

3. 三级 无特殊病原体动物,除要求达到二级以外,还要排除一些规定的病原体。其除菌与灭菌的方法,可使用高效空气过滤器除菌法、紫外线灭菌法、三甘醇蒸气喷雾法及氯化锂水溶液喷雾法。

4. 四级 无菌动物或悉生动物。无菌动物要求不带有任何用现有方法可检出的微生物。悉生动物要求在无菌动物体上植入一种或数种已知的微生物。

(三) 教学常用的实验动物

机能学实验以动物实验为主,采取何种动物是决定实验成功与否的一个重要因素。一般应针对实验目的,根据实验动物的生物学特性以及复制动物疾病模型的经验来选择实验动物。所以,了解动物的生物学特性具有极重要的意义。目前用于教学研究的实验动物种类很多,并且随着生命科学的发展、生物技术水平的提高和野生动物资源被大量开发和实验动物化,不断培育出了新的实验动物品种。目前常用于教学实验的动物主要包括:青蛙、蟾蜍、小鼠、大鼠、豚鼠、家兔、猫、狗等。具体如下:

1. 青蛙和蟾蜍 蟾蜍和青蛙属两栖纲,蟾蜍属蟾蜍科,青蛙属蛙科。在生理、药理实验中较为常用。蛙类的心脏在离体情况下仍有节奏地搏动很长时间,所以常用来研究心脏的生理功能、药物对心脏的作用等。蛙类的腓肠肌和坐骨神经可用来观察外周神经的生理功能,药物对外周神经、横纹肌或神经肌肉接头的作用。蛙的腹直肌可用于鉴定胆碱能药物。蛙常用来做脊髓休克、脊髓反射和反射弧的分析实验,肠系膜上的血管现象和渗出现象实验,常利用蟾蜍下肢血管灌注方法观察肾上腺素和乙酰胆碱等药物对血管作用的实验等。

2. 家兔 家兔性情温顺,胆小易惊。体温的正常范围为 38.5~39.5℃,静态时以腹式呼吸为主,每分钟 20~120 次。兔耳大,表面分布有清晰的血管。嘴小,喉部狭窄,气管插管困难,在进行吸入麻醉时易导致喉痉挛。胃常处于排空状态,不会呕吐。心脏传导组织中几乎没有结缔组织,主动脉窦无化学感受器,仅有压力感受器。减压神经即主动脉神经与迷走神经、交感神经干完全分开。单乳头肾,易于插导管。

3. 小鼠 小鼠是啮齿目中体型较小的动物。新生小鼠 1.5g 左右,周身无毛,皮肤赤红,21 天断乳时体重为 12~15g,1.5~2 月龄体重达 20g 以上,可供实验使用。小鼠发育成熟时体长小于 15.5cm,雌小鼠成年体重 18~35g,雄小鼠成年体重 20~40g。小鼠成熟早,繁殖力强,寿命 1~3 年。

4. 大鼠 大鼠体型较大,遗传学和寿龄较为一致,对实验条件反应也较为近似。新生大鼠重约 5~6g,成年雄鼠体重 300~400g,成年雌鼠体重 250~300g。大鼠受惊吓或捕捉方法粗暴时,很凶暴,常咬人。大鼠成熟快,繁殖力强,寿命依品系不同而异,平均为 2.5~3

年,40~60 天性成熟。

大鼠(包括小鼠)心电图中没有 ST 段,甚至有的导联测不到 T 波。

5. 豚鼠 豚鼠性情温顺,胆小,听觉灵敏,对外界刺激极为敏感。豚鼠的生理生化值,常随年龄、品系、性别、环境和测定方法的不同而有很大差异;动物的体温调节能力较差,对环境温度的变化较为敏感,饲养豚鼠的最适温度为 18~20℃;体内缺乏维生素 C 合成酶,自身不能合成维生素 C,需完全从外界补给;豚鼠尤其是对青霉素以及杆菌肽、红霉素、金霉素等抗菌类药物敏感。用药不当,轻者导致豚鼠发生肠炎,重者造成死亡。

6. 狗 狗善近人,易于驯养。对环境适应能力较强,能耐热、耐冷,狗具有发达的血液和神经系统以及和人相似的消化过程。狗的嗅觉和听觉都相当灵敏,但视觉不如人,狗是红绿色盲,故不能以红绿色作为条件刺激来进行条件反射实验。狗习惯不停地运动,故要求饲养场地有一定的活动范围。健康狗鼻尖湿润,触之有凉感,如遇鼻尖干燥,触之有热感,即提示该狗有病。

7. 猫 猫主要用于神经学、生理学和毒理学的研究。猫可以耐受麻醉与脑的部分破坏手术,在手术时能保持正常血压。猫的反射机能与人近似,特别适宜做观察各种反应的实验。药理学研究:观察用药后呼吸系统、心血管系统的功能效应和药物的代谢过程。循环功能的急性实验:选用猫做血压实验优点很多,血压恒定,较大鼠、家兔等动物更接近于人体,对药物反应灵敏,且与人基本一致;心搏力强,能描绘出完好的血压曲线;用作药物筛选试验时可反复应用等。特别指出的是它更适合于药物对循环系统作用机制的分析,因为猫不仅有瞬膜便于分析药物对交感神经节和节后神经的影响,而且易于制备脊髓猫以排除脊髓以上的中枢神经系统对血压的影响。



三、实验动物的编号、捉拿与固定方法

(一) 编号

实验动物常用编号或标记以示区别。编号的方法很多,根据动物的种类数量和观察时间长短等因素来选择合适的标记方法。

1. 挂牌法 将号码烙压在金属牌上,或将号码按实验分组编号烙在栓动物颈部的皮带上,将此颈圈固定在动物颈部。该法适用于狗等大型动物。

2. 打号法 用刺数钳(又称耳号钳)将号码打在动物耳朵上。打号前用蘸有 75%乙醇溶液的棉球擦净耳朵,用耳号钳刺上号码,然后在烙印部位用棉球蘸上溶在食醋里的黑墨水擦抹。该法适用于耳朵比较大的兔、狗等动物。

3. 针刺法 用 7 号或 8 号针头蘸取少量碳素墨水,在动物耳部、前后肢以及尾部等处刺入皮下,在受刺部位留有一黑色标记。该法适用于大、小鼠,豚鼠等。

4. 化学药品涂染动物被毛法 经常应用的涂染化学药品有以下几种。

(1) 涂染红色:0.5%中性红或品红溶液。

(2) 涂染黄色:3%~5%苦味酸溶液。

(3) 涂染黑色:煤焦油的乙醇溶液。

根据实验分组编号的需要,可用一种化学药品涂染实验动物背部被毛。如果实验动物数量较多,则可以选择两种染料。该方法对于实验周期短的实验动物较合适,时间长了染料易褪掉。

5. 剪毛法 该法适用于大、中型动物,如狗、兔等。方法是用剪毛刀在动物一侧或背部剪出号码,此法编号清楚可靠,但只适于短期观察。

6. 打孔或剪缺口法 可用打孔机在兔耳打一小孔来表示一定的号码。如用剪子剪缺口,后用滑石粉捻一下,以免愈合后看不出来。该法可以编至1~9999号,此种方法常在饲养大量动物时作为终身号采用。

(二) 分组

1. 分组的原则 进行动物实验时,经常需要将选择好的实验动物按研究的需要分成若干组。动物分组应遵循随机分组的原则:使每只动物都有同等机会被分配到各个实验组与对照组中去,以避免各组之间的差别,影响实验结果。特别是进行准确的统计检验,必须在随机分组的基础上进行。

2. 建立对照组 分组时应建立对照组。

(1) 自身对照组:实验动物本身在实验处理前、后两个阶段的各项相关数据就分别是对照组和实验组的实验结果,此法可排除生物间的个体差异。

(2) 平行对照组:有阳性对照组和阴性对照组两种。给实验组动物某种处理,给阳性对照组用同样方法进行处理,但并不采用实验所要求的药物或手段,而阴性对照组不做任何处理。

(3) 具体分组时,应避免人为因素,随机把所有的动物进行编号,然后令其双数为A组(实验组)、单数为B组(对照组)即可或反之。如果要分若干个组时,应该用随机数字表示进行完全随机分组。

(三) 捉拿与固定

在机能实验中,正确捉拿与固定动物是实验工作的基础,也是实验顺利进行的保证。最常用的动物有小鼠、大鼠、豚鼠、蟾蜍、蛙、家兔和犬,现分别就其捉拿与固定方法依次予以介绍。

1. 小鼠 捉拿时先用右手将鼠尾提起,放在较粗糙的台面或鼠笼上,在其向前爬行时,右手向后拉尾(图1-1),用左手拇指和食指抓住小鼠的两耳和头颈部皮肤,将其置于左手心中,拉直四肢并用左手无名指压紧鼠尾和后肢(图1-2),右手即可做注射或其他实验操作。取尾血及尾静脉注射时,可将小鼠固定在金属或木制的固定器上。

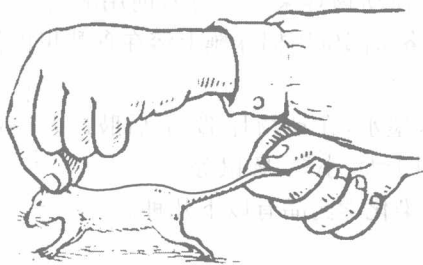


图 1-1 捉拿小鼠(1)

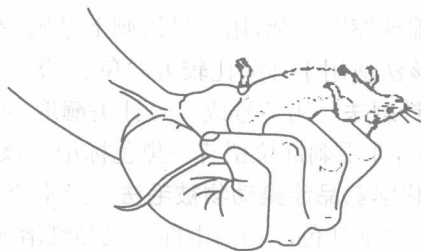


图 1-2 捉拿小鼠(2)

2. **大鼠** 方法基本与捉拿小鼠相同,但实验者事先应戴帆布防护手套。用右手将鼠尾抓住提起,放在较粗糙的台面或鼠笼上,抓住鼠尾向后轻拉,左手拇指和食指抓紧两耳和头颈部皮肤,余下三指紧捏鼠背部皮肤,如果大鼠后肢挣扎厉害,可将鼠尾放在小指和无名指之间夹住,将整个鼠固定在中手中,右手进行操作。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,将鼠尾留在外面供实验操作。

3. **豚鼠** 豚鼠具有胆小易惊的特性,因此抓取时要求快、稳、准。一般方法是:先用右手掌迅速、轻轻地扣住豚鼠背部,抓住其肩中上方,以拇指和食指环握颈部,对于体型较大或怀孕的豚鼠,可用另一只手托住其臀部(图 1-3,图 1-4)。



图 1-3 捉拿豚鼠(1)



图 1-4 捉拿豚鼠(2)

4. **蛙和蟾蜍** 用左手将动物贴紧在手掌中,并以左手中指、无名指、小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。根据实验需要,可用图钉,采取俯卧位或仰卧位固定在大鼠板上。抓取蟾蜍时,禁忌挤压两侧耳部毒腺,以免毒液射入实验者眼中。

5. **家兔** 用右手把兔两耳轻轻地压于手心内,同时抓住其颈部的被毛与皮肤。用左手托住其臀部,使其躯干的重量大部分集中在左手上(图 1-5),然后按实验要求固定。做家兔耳血管注射或取血时,可用家兔盒固定。做各种手术时,可将家兔麻醉后固定在手术台上。固定方式分仰卧位和俯卧位,仰卧位固定时,四肢用粗棉线固定,头用家兔头固定夹固定或用棉线钩住家兔门齿后再固定在家兔台头端柱子上(图 1-6)。进行头颅部手术时,多采用仰卧位固定配合马蹄形固定器进行。



图 1-5 捉拿家兔

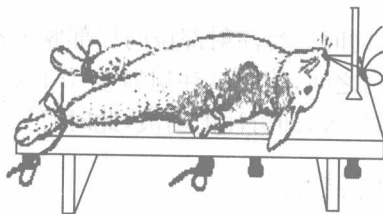


图 1-6 固定家兔

6. **狗** 抓取犬时,需要用特制的长柄钳夹夹住其颈部,套上犬链,然后根据不同的实验要求将其固定。犬嘴的捆绑方法是:取一圆形铁柱管(直径约 1cm,长 25cm,可用万能支架

上的铁柱管代替)横贯置于犬齿后部的上下颌之间,用较宽的纱布从下颌绕到上颌打第1个结扣后,纱布的两端在铁柱管的两端靠犬的头部绕两圈固定。待固定牢靠后,纱布再绕向下颌打第2个结扣,在铁柱管的两端靠犬的头部绕2圈固定,最后再绕到头颈后打第3个结扣。固定好后,可用手试着拉动或移动铁柱管,如铁柱管牢固,则证明犬嘴捆绑正确,否则需重新捆绑。如实验需要静脉注射时,可先使动物麻醉后再取下长柄夹,解绑,把动物放在实验台上,按实验要求固定。

(四) 注意事项

(1) 大鼠牙齿锋利,为避免咬伤,捉拿动作要轻,不可鲁莽,如果大鼠过于凶猛,可待其安静后,再捉拿或用卵圆钳夹鼠颈部抓取。

(2) 捉拿动物过程中要以规范性的方法抓取和固定动物,要避免因动作粗暴而造成动物的损伤。例如家兔这样的动物,不能采用抓双耳或抓提腹部的错误捉拿方法。

(3) 抓取大鼠或小鼠尾部时动作要轻,防止拉断鼠尾。不可提起动物玩耍!提起动物后,应迅速放在粗糙台面上。

(4) 捉拿动物过程中应防止被动物咬伤。若不慎被动物咬伤、抓伤,视伤势轻重,一般应及时用碘酒、乙醇消毒,严重情况下要去医院做进一步的处理。



四、实验动物的给药途径和方法

在动物实验中,为了观察药物对机体功能、代谢及形态引起的变化,常需将药物注入动物体内。给药的途径和方法是多种多样的,可根据实验目的、实验动物种类和药物剂型等情况确定。

(一) 皮下注射

注射时以左手拇指和食指提起皮肤,将连有5(1/2)号针头的注射器刺入皮下。皮下注射部位一般狗、猫多在大腿外侧,豚鼠在后大腿的内侧或小腹部,大白鼠可在左侧下腹部,兔在背部或耳根部注射,蛙可在脊背部淋巴腔注射。

(二) 皮内注射

皮内注射时需将注射部位的局部脱去被毛,消毒后,用左手拇指和食指按住皮肤并使之绷紧,在两指之间,用1ml注射器连4(1/2)号细针头,紧贴皮肤表层刺入皮内,然后再向上挑起并再稍刺入,即可注射药液,此时可见皮肤表面鼓起一白色小皮丘。

(三) 肌肉注射

肌肉注射应选肌肉发达,无大血管通过的部位,一般多选臀部。注射时垂直迅速刺入肌肉,回抽针栓如无回血,即可进行注射。给小白鼠、大白鼠等小动物做肌肉注射时,用左手抓住鼠两耳和头部皮肤,右手取连有5(1/2)号针头的注射器,将针头刺入大腿外侧肌肉,将药液注入。