

现代医学实验技巧全书

(下 册)

主编 方耀德 周昌 丁澹 张德昌

北京医科大学中国协和医科大学联合出版社

97
R3-33
2
2.2

现代医学实验技巧全书

(下 册)

主 编

方福德 周 吕 丁 濂 张德昌

XAP303P



3 0144 7287 6

北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社



C

550705

目 录

第六篇 生理与病理生理学

第一章	动物生理实验技术	(3)
第一节	动物实验的基本技术方法.....	(3)
第二节	颈外静脉、右心房插管术.....	(8)
第二章	神经生理与病理生理研究技术	(11)
第一节	玻璃微电极及微电泳技术	(11)
第二节	中枢和外周神经损伤在神经生理研究中的应用	(20)
第三节	神经干复合动作电位的记录方法	(23)
第四节	神经元锋电位序列中优势模式的检测	(29)
第五节	大鼠前爪运动能力的测定	(32)
第六节	乙酰胆碱的放射免疫测定法	(36)
第七节	同时测定血浆或组织中去甲肾上腺素肾上腺素及多巴胺放射酶法	(42)
第八节	P 物质放射免疫测定	(50)
第三章	循环生理与病理生理研究技术	(56)
第一节	人体动脉血压的测定	(56)
第二节	人体心脏听诊法	(57)
第三节	人体心电图的描记	(59)
第四节	心室肌收缩功能的测定	(61)
第五节	右心导管测定大鼠肺动脉压方法	(64)
第六节	血管张力测定法	(66)
第七节	血管内皮和平滑肌细胞培养技术	(81)
第八节	大鼠原位离体肺灌流方法	(84)
第九节	尿生成影响因素检测方法	(86)
第十节	血浆血管紧张素Ⅱ测定方法	(88)
第四章	微循环生理与病理生理研究技术	(95)
第一节	活体动物微循环血流动力学研究方法	(95)
第二节	临床微循环检测方法.....	(107)
第五章	消化生理与病理生理研究技术	(117)
第一节	胃肠道运动和电活动的记录方法.....	(117)
第二节	离体胃肌条电活动及运动的记录方法.....	(125)
第三节	血管灌流动物离体胃、胰器官制备方法.....	(129)
第四节	游离的胃肠单个平滑肌细胞运动记录方法.....	(136)
第五节	大鼠慢性胰痿制备方法.....	(139)

第六节	胃电图诊断胃动力疾病技术及 BSR-1 型胃电图仪的使用	(142)
第七节	胃泌素放射免疫测定法	(153)
第八节	荧光分光光度法测定 5-羟色胺和 5-羟吲哚乙酸	(158)
第九节	胃肠肽的免疫组织化学方法	(163)
第六章	内分泌生理与病理生理研究技术	(183)
第一节	大鼠去垂体手术方法	(183)
第二节	激素的放射免疫分析及催乳素、促肾上腺皮质激素、 β -内啡肽、 精氨酸加压素的测定	(186)
第七章	细胞膜离子通道及钙离子测定技术	(197)
第一节	膜片箝方法——细胞膜离子单通道记录	(197)
第二节	生物体内钙的测定方法	(211)
第三节	钙调素测定方法	(232)
第八章	人体疾病的动物模型	(248)
第一节	脑血管性学习记忆障碍模型	(248)
第二节	常压缺氧性大鼠肺动脉高压模型	(251)
第三节	肺水肿的分类及其相应的动物模型	(253)
第四节	慢性支气管炎动物模型	(268)
第五节	气管纤毛运动功能观察方法	(269)
第六节	肺气肿动物模型	(272)
第七节	肺纤维化动物模型	(275)

第七篇 免 疫 学

第一章	细胞免疫学方法	(279)
第一节	免疫活性细胞的制备	(279)
第二节	细胞毒技术	(289)
第三节	淋巴因子检测	(298)
第四节	T 淋巴细胞与其亚群检测及功能的测定	(316)
第二章	体液免疫方法	(326)
第一节	抗原的制备与抗体生成细胞的检测	(326)
第二节	血凝试验	(329)
第三节	酶联免疫测定技术	(332)
第四节	免疫沉淀技术	(340)
第五节	补体实验技术	(357)
第三章	杂交瘤和单克隆抗体技术	(371)
第一节	影响细胞融合的一些因素	(371)
第二节	制备 B 淋巴细胞杂交瘤的准备工作及其注意事项	(376)
第三节	细胞融合及制备单抗的具体方法	(380)
第四节	单克隆抗体特性的鉴定	(382)

第八篇 药 理 学

第一章	临床前毒理学研究技术·····	(387)
第一节	全身毒性试验和局部毒性试验·····	(387)
第二节	特殊毒性试验·····	(404)
第二章	行为药理学实验原理和技术·····	(440)
第一节	行为测量基本原则·····	(440)
第二节	行为药理基本方法·····	(443)
第三章	受体与跨膜信息传递机理研究技术·····	(454)
第一节	受体配基结合实验技术·····	(454)
第二节	G 蛋白的分离纯化技术·····	(490)
第三节	环核苷酸测定技术·····	(501)
第四节	腺苷酸环化酶测定技术·····	(512)
第五节	花生四烯酸代谢产物的测定方法·····	(516)
第六节	肌醇磷脂及其代谢产物测定技术·····	(530)
第七节	一氧化氮及其合成酶的研究方法·····	(537)
第八节	磷酸标记技术测定受体酪氨酸激酶·····	(543)
第九节	蛋白激酶 C 的纯化和活性测定 ·····	(548)
第十节	离体器官受体生物测定·····	(551)

第九篇 核 生 物 学

第一章	放射性核素示踪实验的设计·····	(559)
第一节	实验方法的选择·····	(561)
第二节	放射性核素的选择·····	(562)
第三节	放射性核素应用剂量的确定·····	(564)
第四节	对放射性药物的要求·····	(566)
第五节	测量方法的选择·····	(567)
第六节	动物实验注意点·····	(568)
第七节	对辐射防护的事先计划·····	(569)
第八节	示踪实验结果分析·····	(570)
第二章	放射性核素在蛋白质生物合成研究中的应用·····	(572)
第一节	引言·····	(572)
第二节	真核细胞蛋白质生物合成的研究方法·····	(572)
第三节	真核细胞蛋白质生物合成的起始作用·····	(574)
第四节	在细胞骨骼上进行的蛋白质生物合成·····	(577)
第五节	分泌性蛋白质的合成和分泌过程·····	(580)
第六节	真核细胞蛋白质生物合成调控·····	(587)

第七节	细胞蛋白质生物合成实验方法	(592)
第八节	嘌呤霉素反应在研究蛋白质合成抑制剂作用机制中的应用	(595)
第九节	研究蛋白质生物合成中第一个肽键形成的方法	(597)
第十节	鉴别蛋白质生物合成起始合成抑制剂和肽链延伸抑制剂的实验方法	(599)
第三章	放射性核素在核酸研究中的应用	(603)
第一节	核酸和蛋白质样品的制备	(603)
第二节	在发现逆转录酶中的作用	(605)
第三节	在基因表达及其调控研究中的应用	(606)
第四节	在建立核酸标记技术中的应用	(612)
第五节	在核酸代谢研究中的应用	(614)
第六节	在研究 DNA 修复中的应用	(615)
第七节	国内研究和应用概况	(616)
第八节	^3H -TdR 和 ^3H -UR 参入实验	(623)
第九节	核苷酸代谢的研究方法	(623)

第十篇 医学实验动物学

第一章	实验动物的种类和管理	(627)
第一节	常用实验动物的种类和品系	(627)
第二节	实验动物的分级、监测和饲养管理	(631)
第二章	实验动物学技术和标准值	(638)
第一节	实验动物学技术	(638)
第二节	常用实验动物的生物学基础数值	(654)

第十一篇 医学统计

第一章	医学统计中的基本概念	(659)
第一节	总体、样本	(659)
第二节	抽样误差	(659)
第三节	概率	(659)
第四节	自由度	(660)
第五节	显著性检验	(660)
第六节	正态分布曲线	(661)
第二章	医学实验中常用的统计指标	(664)
第一节	平均数	(664)
第二节	标准差	(668)
第三节	变异系数	(669)
第三章	显著性检验方法	(671)
第一节	t 检验	(671)

第二节	χ^2 检验	(674)
第三节	方差分析	(676)
第四章	回归与相关分析	(687)
第一节	直线回归	(687)
第二节	简单相关	(693)
第三节	多元线性回归	(694)
第五章	实验设计	(698)
第一节	实验设计原则	(698)
第二节	实验设计中样本含量的估计	(700)
第三节	实验设计方法	(701)

第十二篇 临床检验技术

第一章	尿常规、血常规及血液病学检验	(717)
第一节	临床尿液常规检验	(717)
第二节	临床血液常规检验	(721)
第三节	血液病学检验	(727)
第二章	临床生化及药理学检验	(749)
第一节	临床生化检验	(749)
第二节	治疗药物监测	(772)
第三章	微生物及寄生虫检验技术	(779)
第一节	临床细菌检验	(779)
第二节	衣原体检验	(794)
第三节	临床寄生虫检验	(800)
第四章	免疫荧光技术在临床检验中的应用	(809)
第一节	自身抗体检测的应用	(809)
第二节	免疫荧光在细菌学中的应用	(820)
第三节	免疫荧光在病毒学中的应用	(821)
第四节	免疫荧光在寄生虫学中的应用	(821)

附 录

附录 1	希腊文字母表	(822)
附录 2	原子量表	(822)
附录 3	常用计量单位	(824)
附录 4	试剂的配制及一些常用数据	(826)
附录 5	常用物理常数	(832)
附录 6	指示剂	(833)
附录 7	冷却剂和干燥剂	(835)

附录 8	颗粒大小及测定方法	(836)
附录 9	某些生物大分子、亚细胞器及微生物的沉降系数	(837)
附录 10	离心机转速与相对离心力的换算	(838)
附录 11	缩写表	(839)
附录 12	生物化学常用字尾表	(846)
附录 13	生物化学重要化合物的分子量及 pK 值	(846)
附录 14	主要生物物质的克分子消光系数	(848)
附录 15	氨基酸的物理常数	(850)
附录 16	某些蛋白质的物理性质	(852)
附录 17	核苷、核苷酸及其衍生物的物理常数	(852)
附录 18	常用层析数据	(858)
附录 19	核酸及蛋白质数据	(861)
附录 20	遗传密码图	(863)
附录 21	分子克隆使用的试剂和缓冲液	(863)
附录 22	常用贮存液	(868)
附录 23	常用酶的配制	(872)
附录 24	细菌培养基	(874)
附录 25	抗生素	(877)
附录 26	用于 λ 噬菌体操作的溶液	(877)
附录 27	细菌菌株一览表	(878)
附录 28	常见大肠杆菌菌株遗传标记一览表	(882)
附录 29	限制性内切酶的识别序列	(883)
附录 30	限制性内切酶反应缓冲液用表	(885)
附录 31	DNA 与 RNA 的定量	(887)
附录 32	玻璃和塑料器皿的硅化	(887)
附录 33	透析袋的处理	(888)
附录 34	葡聚糖的处理	(888)
附录 35	高分辨人类染色体的命名	(888)
附录 36	作为界标的染色体带	(894)
附录 37	RFLP 探针及所测 RFLP 位点的命名	(895)
附录 38	放射性核素数据	(896)
附录 39	生理性溶液的配制	

中英文索引

第 六 篇

生理与病理生理学

第一章 动物生理实验技术

第一节 动物实验的基本技术方法

一、实验动物的抓取和固定方法

实验人员为了完成实验任务，必须使动物保持安静状态。因实验动物大小种类都不一样，抓取和固定方法不尽相同。

(一) 小鼠 先用右手将鼠尾抓住并提起，放在较粗糙的台面或笼具盖上，用力拉尾，这时可以用左手拇指和食指抓住小鼠的头颈部皮肤，将鼠置于左手心中，并用无名指压紧尾和后肢，即可作注射或其它实验操作。熟练的人员可用左手一手抓取法，这样使用起来更为方便。需取尾血及尾静脉注射时可将小鼠固定在木制或金属制的固定器上。

(二) 大鼠 实验人员戴手套，右手抓住鼠尾向后拉，左手抓住头颈部皮肤，将鼠固定在左手，右手进行操作。如所需操作时间较长，可将其固定在大鼠固定板上。如需取尾血及尾静脉注射，可将大鼠固定在大鼠固定器上，将鼠尾留在外面供操作。

(三) 豚鼠 抓时先扣住背部，右手抓住颈部慢慢将其提起，怀孕或体重较大的动物，用左手托其臀部，按实验的要求固定。

(四) 家兔 常用手捕法是用右手把两耳轻轻压于手心内，抓住颈部的被毛与皮，然后用左手托住其臀部或兔体，按实验需要固定。作兔耳血管注射或取血时，可用兔盒固定。作腹部注射或各种手术时，可将兔麻醉后固定在手术台上，四肢用棉绳固定，头用兔头固定夹固定或用粗棉线固定门齿。

(五) 狗 抓取时需特制的钳式长柄夹夹住狗颈部，套上脖套和铁链。根据不同实验要求将狗固定。不管做何种实验，都一定要把狗嘴捆绑好，方法是：用较宽的纱布带从下颌绕到上颌打第一个结，再绕向下颌打第二个结，最后再绕到头颈后打第三个结，在这结上再打一个活结，麻醉后应及时解绑。麻醉后在进行各种实验及手术时应将头及四肢也固定好。

二、实验动物的麻醉

麻醉方法的正确选择对于保证实验的顺利进行和获得良好的实验结果十分重要。麻醉方法随实验目的和动物种类而异，可分为全身麻醉和局部麻醉两大类，前者又可分为吸入性麻醉与非吸入性麻醉。

(一) 麻醉方法

1. 全身麻醉

1) 吸入性麻醉：乙醚是最常用的吸入麻醉剂，各种动物均可使用（鸡除外）。使用乙醚麻醉优点是麻醉安全度大，麻醉深度易于掌握，麻醉后恢复比较快。缺点是对上呼吸道粘膜

有较强的刺激作用，粘膜分泌物增加，易发生呼吸道阻塞，使用时应小心。用乙醚麻醉小鼠、大鼠等小动物时，可将动物放入玻璃缸（或用玻璃干燥器代替）内，缸内预先放入浸过乙醚的脱脂棉，当动物倒下，四肢紧张性明显降低，角膜反射迟钝，皮肤痛觉消失时，表明动物已进入麻醉状态。用乙醚麻醉，较短时间可恢复，为维持长时间的麻醉可把浸有乙醚的脱脂棉装入标本瓶内，放在动物的口、鼻处，进行追加麻醉。

2) 非吸入性麻醉：非吸入性麻醉剂的种类很多，常用的有苯巴比妥钠、戊巴比妥钠、巴比妥钠、乌拉坦（氨基甲酸乙酯）、水合氯醛等，其优点是使用比较方便，一次给药可以维持较长的麻醉状态，手术或实验过程中都比较稳定，无需专人管理。缺点是苏醒较慢，麻醉深度和使用剂量较难掌握。

非吸入性麻醉的给药方法常用腹腔注射和静脉注射。对小动物（如小鼠、大鼠等）常用腹腔注射，大动物（如兔、猫、狗等）常用静脉注射。各种动物的静脉注射部位如下：

小鼠：由尾静脉注入。

大鼠：由尾静脉注入。

兔：由耳静脉注入。

猫：由耳静脉注入。

狗：由后肢静脉注入。

鸽：由翼腋下的静脉注入。

各种动物常用的非吸入性麻醉剂的剂量及途径如表 6-1-1-1。

表 6-1-1-1 各种动物常用的非吸入性麻醉剂的剂量及途径

动物	途径	剂量 (mg/kg 体重)					
		戊巴比妥钠	巴比妥钠	苯巴比妥钠	硫喷妥钠	氯醛糖	乌拉坦
小鼠	腹腔注射	50~80	200	/	15~20	/	/
大鼠	腹腔注射	40~50	200	/	40	550	/
	皮下注射	/	/	100~110	/	/	800~1000
豚鼠	腹腔注射	30	100	/	/	/	/
兔	腹腔注射	25	/	/	/	/	/
	静脉注射	20~30	225~300	/	15~20	80~100	1000
	腹腔注射	30	200	/	/	/	/
猫	静脉注射	30	/	/	16~24	/	1000
	皮下注射	/	/	/	/	15	1000
	腹腔注射	30	/	/	/	/	/
狗	静脉注射	30	225	50~100	15~20	60	1000
	口服	/	350	/	/	100	1500
鸽	腹腔注射	/	/	/	/	/	1000
	静脉注射	30	/	/	/	/	/

2. 局部麻醉：常用的局部麻醉剂有普鲁卡因和利多卡因。

1) 普鲁卡因：为无刺激性的快速局部麻醉药，常用 1~2% 溶液阻断神经纤维传导。

2) 利多卡因：二倍于普鲁卡因效力，作用时间也较长，阻断神经纤维传导及粘膜表面麻醉浓度为1~2%。通常用0.5~1%的浓度。

(二) 注意事项

1. 乙醚是挥发性很强的液体，有特殊气味，易燃，使用时应远离火焰。平时装在棕色玻璃瓶中，储存于阴暗干燥的地方，不应放在冰箱内，以免遇电火花而引起爆炸。

2. 准确按体重计算麻醉剂量，由于动物存在个体差异，此剂量仅作参考，所以要求注射要缓慢，并随时观察动物的肌肉紧张性、角膜反射、呼吸频率、痛反射等指标。

3. 动物麻醉后体温下降，要注意保温。

4. 麻醉过量后的处理方法：应根据不同情况，积极采取措施，如施行人工呼吸，给苏醒剂，注射强心剂、咖啡因、肾上腺素、可拉明等，也可静脉注射5%温热的葡萄糖溶液。

三、常用器械的使用

(一) 手术刀 用于切开皮肤和脏器。根据手术部位和性质的不同，可更换大小不同的手术刀片或手术刀柄。

(二) 手术剪（外科剪） 在手术中有两种作用，一是剪断软组织；二是分离，利用剪刀的尖端插入组织间隙，撑开、分离疏松的组织。

(三) 手术镊 主要用于夹住和提起组织，以便于分离、剪断或缝合。有齿镊用于夹持较坚韧的组织，如皮肤、筋膜、肌腱等；无齿镊用于夹持较脆弱的组织，如血管、神经、粘膜等。

(四) 止血钳 常用的有以下几种：

1. 直血管钳：有长短两种，用于夹住浅层血管止血，有时也用于分离组织、牵引缝线等。

2. 弯血管钳：也有长短两种，用于夹住深部组织或内脏的血管出血点。

3. 蚊式血管钳：为小型血管钳，有直弯两种。用于精细的止血和分离组织，而不宜钳夹大块组织。

(五) 注射器 注射器要洗净。针头要尖锐、不弯曲、通气、大小合适。针头的刀口光滑。注射针套在注射器的接头上，需要经过90°旋转使之套紧，并将针头孔对准刻度线。可用手指将针头的口堵住，轻轻抽拉针栓，检查是否漏气。先计算需用药量，再吸取药液。注射前需排除气泡。注射器一般应平拿，否则需用手指轻扶针栓，以防滑落打碎或进入空气。在刺入皮肤或血管壁时，针头孔应朝上。

四、基本操作

(一) 实验动物被毛的去除（备皮）

1. 拔毛法：在耳缘静脉注射时常用。

2. 剪毛法：将动物固定后，用剪刀紧贴其皮肤依次将所需部位的被毛剪去。不要用手提起被毛剪，以免剪破皮肤。

(二) 切开 根据实验要求确定手术切口的部位及大小。切开前要绷紧皮肤，切开时刀刃要与皮肤垂直，要用力得当，一次切开皮肤全层，要求切缝整齐而不偏斜。切开皮肤及皮下组织时，一般要求要按解剖层次逐层切开，注意止血，注意避免损伤深层的重要组织器官。

(三) 止血 止血是手术操作中的重要环节，要求准确、迅速、可靠。常用的止血方法有：

1. 压迫止血：手术中出血一般可先用纱布或拧干的温热盐水纱布按压片刻，切勿用纱布

擦拭，以减少组织损伤。

2. 钳夹结扎止血：常用于压迫无效或较大血管的出血，出血点用纱布压迫蘸吸后，用止血钳逐个钳夹，要夹准、夹牢、尽量少夹周围组织，结扎时先竖起止血钳，将结扎线绕过钳夹点之下，将钳放平后钳尖稍翘起，打第一个结时，边扎紧边轻轻松开止血钳，再打第二个结。

3. 止血剂止血：当内脏出血时，可用纱布吸净积血，然后将止血粉撒在创面上，稍加压5~10秒钟即可止血。

(四) 软组织分离 要求按解剖层次逐层分离，保持视野干净清楚。原则上以钝性分离为主，必要时也可使用刀剪。

1. 结缔组织的分离：用血管钳插入撑开，作钝性分离。对薄层筋膜，确认没有血管时可使用刀剪。对厚层筋膜，因其往往内含血管而不易透见，不要轻易使用剪刀。使用血管钳作钝性分离时，应慢慢地分层，由浅入深，避开血管。若需用锐器应事先用两把血管钳作双重钳夹（有时甚至结扎）再在两钳之间切断。

2. 肌肉组织的分离：应在整块肌肉与其他组织之间，一块与另一块肌肉分界处，顺肌纤维方向作钝性分离。肌肉组织内含小血管，若需切断，应先用血管钳作双重钳夹，结扎后，方可剪断。

3. 血管神经的分离：顺其直行方向，用玻璃分针小心分离，切忌横向拉扯。

五、基本手术

(一) 气管插管术

1. 动物：家兔。

2. 器材及药品：常用手术器械，丝线，棉球，“Y”形气管插管，兔手术台，20%乌拉坦等。

3. 步骤：

1) 动物麻醉（20%乌拉坦 1g/kg 体重 耳缘静脉注射），仰卧位固定，备皮。

2) 用解剖刀在颈部，自甲状软骨下缘，沿正中线作一长约5~7cm的皮肤切口，暴露胸骨舌骨肌。

3) 用血管钳插入左右胸舌肌之间，作钝性分离（也可用两食指分离）。将两块肌肉向两边拉开，暴露气管。用弯头血管钳将气管与背后的结缔组织分开，穿线备用。

4) 用解剖刀或手术剪在喉头下2~3cm处的气管前壁上作一“T”形切口。

5) 如气管内有血液或分泌物先用小棉球揩尽，用镊子夹住切口的一角，用适当口径的气管插管由切口处向胸端插入气管内。用备用线扎牢并固定于侧管上，以免脱落。

4. 注意事项：

1) 分离胸骨舌骨肌时血管钳不可插得太深，以免损伤气管和小血管。

2) 气管上的切口不宜大于气管直径的一半。

3) 插入气管插管前如气管内有血液或分泌物要用棉球揩尽，以保证呼吸道通畅。

(二) 颈迷走神经、交感神经及减压神经的分离

1. 动物：家兔。

2. 器材及药品：常用手术器械，丝线，棉球，玻璃分针，兔手术台，20%乌拉坦等。

3. 步骤：

1) 术前操作及切口同气管插管。

2) 用止血钳将胸骨舌骨肌与胸骨甲状肌分开, 即可找到颈动脉鞘 (内有颈动脉及颈部神经)。

3) 用镊子夹住颈动脉鞘周围的结缔组织膜, 并轻轻拉向外侧。使薄膜张开, 可见其中有数条粗细不同的银白色的索状神经。迷走神经最粗, 一般位于外侧。交感神经稍细。最细的为减压神经, 一般位于迷走和交感之间。

4) 认准后, 用玻璃分针顺其直行方向小心分离, 穿线备用。

(三) 颈动脉插管术

1. 动物: 家兔。

2. 器材及药品: 常用手术器械, 丝线, 棉球, 玻璃分针, 动脉插管, 兔手术台, 20% 乌拉坦, 肝素等。

3. 步骤:

1) 术前操作及切口同气管插管。

2) 用止血钳将胸骨舌骨肌与胸骨甲状肌分开, 即可找到颈动脉鞘 (内有颈动脉及颈部神经)。可见其中呈粉红色, 触之有搏动的粗大血管即是颈总动脉。

3) 用左手拇指及食指抓住颈皮及颈肌, 以中指顶起外翻。右手持纹式止血钳或玻璃分针顺着血管走向钝性分离颈总动脉约 3~4cm, 穿两根丝线备用。

4) 从耳缘静脉注射肝素 (1000U/kg 体重) 以防凝血, 选择粗细合适的动脉插管, 内充以肝素并排尽气泡备用。

5) 提起动脉下的一根丝线结扎动脉的远心端 (尽量靠近头端), 用动脉夹将动脉的近心端夹住, 其间动脉长度至少 3cm。

6) 在紧靠头端结扎线的稍下方, 用弯头眼科镊或小指轻轻托起动脉, 用锐利的眼科剪在动脉上作一斜切口 (约 45°), 切口大小约为管径的一半, 将准备好的动脉插管由切口处向心脏方向插入动脉内。用动脉下的另一根丝线结扎固定插管尖端, 上述头端的结扎线也固定在插管上, 再将这两组线系在一起以免动脉插管滑脱。

4. 注意事项:

1) 分离血管动作要轻柔, 不得使用刀剪等锐利器械, 以防损伤血管神经。

2) 切口不能大于血管口径的一半, 以防血管折断。

3) 固定要牢固, 以防插管滑脱。

4) 其它动、静脉插管方法类似。

(四) 输尿管插管术

1. 动物: 家兔。

2. 器材及药品: 常用手术器械, 丝线, 棉球, 玻璃分针, “Y” 形输尿管插管 (可同时插两侧的输尿管), 兔手术台, 20% 乌拉坦等。

3. 步骤:

1) 动物麻醉, 仰卧位固定, 剪去耻骨联合上腹部的部分被毛。

2) 做耻骨联合上缘向上的下腹部正中切口, 长 3~4cm。再用手术剪沿腹白线剪开腹壁及腹膜, 注意勿伤腹腔内脏器官。寻找膀胱, 并将其翻出腹外, 在膀胱底两侧找到输尿管。

3) 在输尿管靠近膀胱处用丝线扣一松结备用, 用弯头小镊或小指托起输尿管, 用眼科剪在其上剪一小斜切口。从小口处向肾脏方向插入输尿管插管 (事先充满生理盐水) 用备用丝

线固定之，防止滑脱。可见管内有尿液慢慢流出。

4) 同样方法插入另一侧输尿管插管。

4. 注意事项：

1) 打开腹膜时勿伤内脏。

2) 术中注意用温热盐水纱布覆盖手术野，以保持腹腔内温度与湿度。

3) 插管要轻，防止出血。

(朱高发)

参 考 文 献

1. 徐叔云，卞如濂，陈修主编. 药理实验方法学. 北京：人民卫生出版社，1982；1172~1175
2. 赵铁千，王雨若主编. 生理学实验指导. 北京：人民卫生出版社，1985；161~162

第二节 颈外静脉-右心房插管术

动物实验研究中，经常遇到对小动物采集血样品的难题。如果在一段较长的时间内需要对同一动物实施连续多次采血，困难更大；若有更高的要求，比如实验内分泌研究，有时需要研究某些激素释放的调控，而这些激素的分泌本身又极易受应激因素的影响，这就需要有一种特殊的取血方法，以保证动物在采血过程中不受麻醉剂或捆绑等可能产生应激效应的干扰，而一般常用的采血方法难以符合上述的要求。因此，本节介绍一种目前比较好的取血方法，它适应广泛要求，可在动物清醒、自由活动状态下单次或多次连续取血，便于静脉给药，取血时动物不受任何干扰，取血顺畅，取血量不限，如成年大鼠一次采血量可多达5ml以上，方法简便易行。以大鼠为例叙述采血方法，其它动物的采血方法可参照本法修改后执行。

一、硅橡胶导管的制备

按图 6-1-2-1A 所示，将一大张硅橡胶片裁剪为若干 $25\sim 30\text{mm}\times 5\sim 10\text{mm}\times 1\text{mm}$ (长 $\times$ 宽 $\times$ 厚度) 的小片，再把成捆的硅橡胶管(内径 0.05cm，外径 0.09cm) 截成若干小段，长度为 13cm。

如图 6-1-2-1B 将小段硅橡胶管穿插入硅橡胶小片中，把小片分为 a、b、c 三部分，前端小管伸出 2.5cm，后端小管伸出小片约 10cm。最后把胶片 a 部分用硅橡胶粘固于 B 段，并把胶片如图修剪为椭圆状。

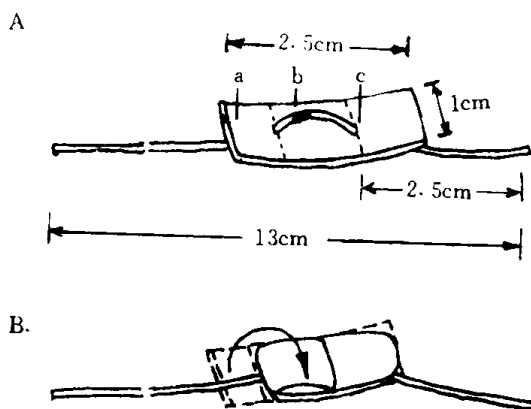


图 6-1-2-1 硅橡胶导管的制备

二、颈外静脉-右心房导管插管术

用乙醚麻醉动物后仰卧位固定，随时观察动物状况，以保证动物处于适度麻醉状态。

如图 6-1-2-2A 所示，在大鼠颈部切开皮肤，切口 1~2cm，分离皮下组织，显露颈外静脉。将硅橡胶导管的前端套入一特制的引针。引针为国产 7 号注射针头，截去套注射器部分，细心将针头前端 0.8~1cm 处弯曲 30 度角；针头后端插入一段约 1.5cm 的不锈钢细管。硅橡胶导管的后端连接 30~40cm 细塑料管，再接上 5ml 的注射器，内装生理盐水（含 250U/ml 肝素）。

用持针器将连接好的引针插入颈外静脉管腔内，并沿静脉管内往前至上胸肌肉处穿出（图 6-1-2-2B），引针穿出后必须带出硅橡胶导管，此时再把引针取下，用小镊小心将硅橡胶管的前端缓慢退入颈外静脉管内，并沿静脉管内把导管准确推入右心房内。通过导管后端连接的注射器注入小量肝素生理盐水，再由注射器回抽少量血液，如能见到顺畅抽回一定量的血液，说明导管已准确经颈外静脉导入右心房内。此时便可用缝合线把硅橡胶片 C 端缝在上胸肌肉上，以固定导管并防止导管滑出。最后把导管与连接的塑料管分开，经一内径大于导管的注射针头把导管由皮下从背颈部引出。向管内注入 0.5ml 肝素生理盐水，缝合切口，用 1cm 长的大头针或打结封住导管。经插管的大鼠需每只单独喂养，以防动物互相噬咬外露的导管。

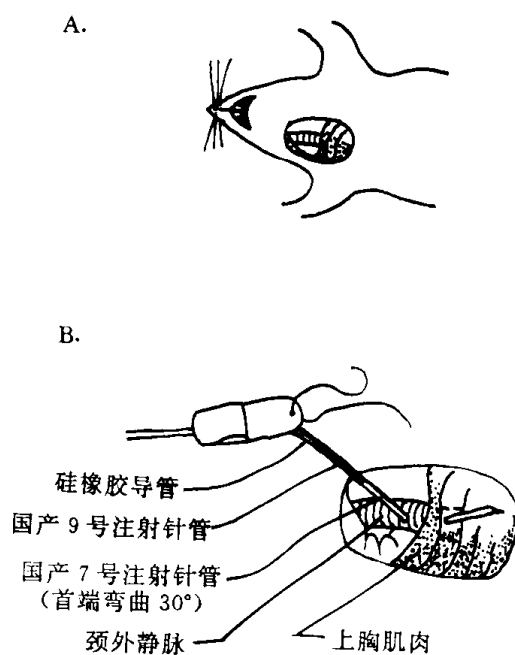


图 6-1-2-2 颈外静脉-右心房导管插管术示意图

三、收集血样品

大鼠经插管后需给足饲料和水。翌日，把动物移至无任何干扰的实验室内，启开导管，连接塑料管，检查取血通顺无阻后，再封住导管，静置动物 1 小时后即可进行药物注射、取血等操作。如果单纯为了取出比较大量的血样品、且对样品无特殊要求，则连接导管后便可采血。如需进行间断多次取血，每次取血后需补给动物等量含肝素（20U/ml）的生理盐水。若