

借

面向 **21** 世纪高等医药院校精品课程教材

高等医学院校实验实训系列教材

LINCHUANG JIANYAN SHIYAN XILIE JIAOCHENG

临床检验实验系列教程

—— 免疫学检验分册

主 编 陈佳玉 梁 勇

副 主 编 周 军 王海宝

王海平 李明成

赵传昌

本册主编 陈佳玉 刘池波



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

面向 21 世纪高等医药院校精品课程教材
高等医学院校实验实训系列教材

临床检验实验系列教程

——免疫学检验分册

主 编 陈佳玉 梁 勇
副主编 周 军 王海宝 王海平
李明成 赵传昌
本册主编 陈佳玉 刘池波
编 者 潘春琴 林 平 李明成



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS
浙江大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

临床检验实验系列教程. 免疫学检验分册/陈佳玉, 梁勇主编; 陈佳玉, 刘池波分册主编. —杭州: 浙江大学出版社, 2010. 7

ISBN 978-7-308-07480-3

I. ①临… II. ①陈… ②梁… ③刘… III. ①临床医学—医学检验—教材②免疫学—医学检验—教材
IV. ①R446.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 056898 号

编写说明

实验教学是高等学校实验室的基本任务,是训练学生掌握实验技能的一个重要实践性教学环节,是对学生进行最佳智能结构培养的必修课。为适应当今世界科技迅猛发展对传统实验教学提出的严峻挑战,适应 21 世纪高校医学实验教学改革,培养 21 世纪的实用型人才,提高学生的动手能力和实验教学质量,需要我们及时把新知识、新技术纳入到高等医学教育的教学内容之中。为此,我们坚持“加强基础、培养素质、发展个性、突出创新”的实验教学改革方针和“以学生为主体、以就业为导向、以职业实践为主线、以项目课程为引导”的实验教学改革理念,兼顾知识传授和能力培养、素质提高,使学生全面、协调发展,彻底改变传统的实验教学模式。按照学院人才培养模式,围绕学院实验教学学分制,结合实验课程体系、实验教学内容、教学方法、考核模式等诸方面改革的要求,注重素质教育和创新性与实践性的培养,为学生知识、能力、素质协调发展创造条件。为此,学院牵头组织相关医学院校共同编写了这套《高等医学院校实验实训系列教材》。

本系列教材在编写过程中,以着重培养学生动手能力和分析解决问题的能力为基础,把握实验教学改革思路,突出特色,确定了“四个三”的编写原则。首先要有思维新、知识新、结构新等“三个创新”。其次,把握好实验课程的系统性与创新性的关系,传统实验内容删减与实验知识完整性的关系,实验教学课程的独立开设与相关课程理论教学的协同关系等“三个关系”。再次,体现实践经验与经典技术的结合,技术创新与素质培养的结合,实验项目与科研工作的结合等“三个结合”。最后,实验内容要包括“三个层次”,即基础性实验、综合设计性实验、研究创新性实验,分别占 60%、30%、10%左右。对所选择的实验内容进行系统的优化组合,具有代表性、先进性、实用性和特色性。

本系列教材对每个实验的编写力求实用、简明、条理清晰,突出实验原理、实验方法的说明,并提供必要的图表,便于学生理解实验原理,方便教师指导实验操作。实验之后的思考题有助于学生理解、掌握实验原理和操作步骤,以期望提高分析问题、解决问题的能力。

本系列教材由陈佳玉(台州学院)、梁勇(台州学院)任主编,周军(台州学院)、王海宝(台州市立医院)、王海平(台州医药有限公司)、李明成(北华大学)、赵传昌(台州学院)任副主编。由于时间仓促,加之编写经验不足,本系列教材一定存在不尽如人意之处,敬请广大师生在使用过程中及时提出宝贵意见,以便再版时修订,使其更加完善。

周 军

2010 年 6 月

前 言

免疫学检验是高等医学院校医学检验专业的主干课程之一。为了适应当前免疫学检验实验教学的需求,我们在编写委员会组织下编写了这本实验指导教材。

本实验教材以全国医学高等院校医学检验专业本科规划教材为基础编写的,是对免疫学检验理论教材的补充。内容涉及免疫学检验的各个方面,力求使教学内容能更好地满足医学检验本科专业导向、实际应用能力的培养目标和就业定位的要求,使学生通过实验课边做边学的实训练习,理解和掌握免疫学实验技术的原理、技术要点和临床应用,提高学习效果。编排上,注重内容的系统性、新颖性和实用性,结合临床免疫学检验技术发展的需要,扩充介绍了部分新实验和新技术。本书共分 11 章,介绍了 62 个临床和科研实验室常用实验项目,每个实验包括实验目的、实验原理、实验材料、实验方法、实验结果、注意事项、临床应用、课后习题等层次。实验方法尽量详尽,争取做到贴近临床,并设附录,以便于学生、教师和实验技术人员操作和应用。

参加本书编写的老师有陈佳玉(台州学院)、刘池波(台州市立医院)、潘春琴(台州市立医院)、林平(台州学院)、李明成(北华大学),对他们付出的辛勤劳动表示衷心的感谢。

本书作为医学检验专业免疫学检验课程的实训教材,既可供全国医学检验专业师生学习使用,也可供医院检验科、防疫站等临床检验工作者在临床检验实际工作中的参考。

由于编者水平有限,时间仓促,书中难免有疏漏和不足,敬请专家和读者提出宝贵意见和建议。

陈佳玉

2010 年 6 月

实验室规则

免疫学实验的教学目的不仅是使学生验证部分理论知识和加深理解课堂讲授内容,更重要的是在掌握系统理论知识的基础上,学习及掌握免疫学实验的基本操作技术,培养学生观察、思考、分析和解决问题的能力,以及严肃认真的科学态度。为保证实验效果、避免实验室污染,进入实验室必须遵守以下规则:

1. 进入实验室必须穿好工作服,必要时戴上口罩。
2. 除与实验有关的材料外,其他个人材料一律不得带入实验室。
3. 实验室内禁止吸烟、饮食、用口湿润标签、大声喧哗。
4. 未经教师许可,禁止搬动显微镜、实验器材或其他设施。
5. 实验用过的器材,必须放在指定地点或按要求处理,不能随便乱丢乱放。
6. 实验中万一发生有菌材料污染桌面或衣服、菌液打翻、菌液误吸入口内等情况,报告老师及时处理,切勿隐瞒或不按规定处理。
7. 实验仪器使用异常或损坏,立即报告老师并登记。
8. 爱护实验仪器,对消耗性材料、药品、试剂等力求节约,禁止浪费,严禁将实验物品,特别是菌种带出实验室。
9. 按照实验要求仔细认真地进行实验操作,遵守无菌操作规程。
10. 实验完毕,各小组整理好各自的实验台,关好门、窗、水、电,脱下工作服洗手后离开实验室。
11. 每次实验的结果,应以实事求是的态度填写入实验报告本中,连同思考题,及时汇交教师批阅。

(陈佳玉、刘池波、林 平)

目 录

第一章 免疫血清的制备与鉴定	1
实验一 实验动物的一般操作 /1	
一、实验动物的抓取、固定和注射方法 /1	
二、实验动物的取血方法 /5	
附一 免疫学常用实验动物简介 /9	
附二 动物编号标记方法 /10	
附三 实验动物的处死方法 /11	
实验二 免疫血清的制备鉴定及保存 /12	
实验三 免疫球蛋白提取和鉴定 /17	
一、免疫球蛋白的提取 /17	
二、免疫球蛋白的鉴定 /23	
第二章 单克隆抗体的制备——杂交瘤技术	25
第三章 凝集反应	31
实验一 直接凝集反应 /31	
一、玻片凝集试验 /31	
二、试管凝集反应 /33	
实验二 间接凝集试验 /36	
一、间接血凝实验 /36	
二、胶乳凝集试验 /37	
实验三 凝集抑制试验 /39	
实验四 协同凝集试验 /40	
实验五 血型鉴定及交叉配血试验 /42	
实验六 抗球蛋白试验 /45	
第四章 沉淀反应	48
实验一 环状沉淀试验 /48	
实验二 单向免疫扩散实验 /49	
实验三 双向免疫扩散实验 /51	
实验四 免疫电泳 /54	

实验五	对流免疫电泳	/55
实验六	火箭免疫电泳	/58
实验七	交叉免疫电泳	/60
实验八	免疫转印技术	/61
第五章	免疫浊度法	65
实验一	免疫透射比浊	/65
实验二	速率散射浊度测定技术	/67
第六章	补体	69
实验一	溶血实验	/69
实验二	总补体活性(CH ₅₀)的测定	/70
实验三	补体介导的细胞毒试验	/72
第七章	免疫标记技术	75
实验一	酶标记技术	/75
	一、酶联免疫吸附试验——双抗体夹心法	/75
	二、斑点酶免疫结合试验(斑点 ELISA)	/77
	三、双抗体夹心 ABC-ELISA 法	/78
	四、酶标免疫组化技术间接法	/80
	五、ENA 多肽谱法检测抗核抗体	/81
实验二	免疫荧光技术	/82
	一、荧光抗体的制备	/83
	二、间接免疫荧光显微镜技术	/84
实验三	胶体金标记技术	/87
	一、胶体金的制备	/87
	二、胶体金标记蛋白的制备	/88
	三、胶体金标记技术常用方法	/89
实验四	放射免疫测定法	/92
实验五	发光免疫测定技术	/93
第八章	细胞免疫检测技术	96
实验一	免疫系统组织和细胞形态学观察	/96
	一、小鼠免疫器官解剖学观察	/96
	二、免疫细胞的形态观察	/97
实验二	吞噬细胞功能检测	/99
	一、中性粒细胞吞噬功能的测定	/99
	二、巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验	/100
实验三	淋巴细胞分离技术	/101

附一	淋巴细胞分离液中淋巴细胞形态观察	/103
附二	淋巴细胞抗原片制备	/103
实验四	流式细胞仪进行淋巴细胞亚群分析	/103
实验五	淋巴细胞转化试验	/105
	一、形态学检测法	/105
	二、 ^3H -TdR 掺入法	/107
实验六	直接免疫荧光法检测 B 细胞膜表面免疫球蛋白(Smlg)	/108
实验七	红细胞黏附功能测定	/109
	一、花环法测定红细胞 CD35 分子	/109
	二、红细胞对肿瘤细胞免疫黏附能力的测定	/110
实验八	E-玫瑰花环形成试验	/111
	一、E-玫瑰花环形成实验	/111
	二、EA 玫瑰花环实验	/112
	三、EAC 玫瑰花环实验	/113
实验九	空斑形成细胞试验	/114
实验十	血清可溶性白介素-2 受体(sIL-2R)的检测	/115
实验十一	MTT 比色法测定活细胞数量及功能	/116
实验十二	CTL 杀伤功能测定	/117
实验十三	白细胞黏附抑制试验	/119
实验十四	自然杀伤细胞活性检测	/121
第九章	细胞因子检测技术	123
实验一	白细胞介素-2 的检测	/123
实验二	肿瘤坏死因子的测定	/125
实验三	淋巴细胞内细胞因子的检测	/127
实验四	干扰素活性检测	/128
实验五	小鼠 IL-1 的诱生和活性检测	/129
第十章	超敏反应的检测	133
实验一	皮肤试验	/133
	一、皮肤过敏反应实验(青霉素过敏试验)	/133
	二、皮肤迟发型超敏反应试验(结核菌素试验)	/134
实验二	血清总 IgE 检测	/136
实验三	速发型超敏反应	/137
实验四	肥大细胞脱颗粒试验	/138
实验五	免疫复合物型超敏反应——Arthus 反应	/139
实验六	豚鼠结核菌素试验	/140
实验七	小鼠迟发型超敏反应试验	/141
实验八	补体依赖的微量细胞毒试验	/142

实验九 淋巴细胞交叉配合试验 /143	
实验十 循环免疫复合物检测(PEG 比浊法) /145	
实验十一 自身抗体的检测(抗心肌抗体检测) /146	
第十一章 细胞凋亡的检测	148
实验一 放线菌酮制备大鼠淋巴细胞凋亡模型 /148	
实验二 细胞凋亡的检测 /149	
一、活细胞悬液吖啶橙荧光染色法 /149	
二、琼脂糖凝胶电泳法 /150	
三、流式细胞仪观察——PI 染色法 /151	
四、电子显微镜检测法 /152	
五、苏木素—伊红染色法(HE 染色法) /153	
六、瑞氏染色法 /154	
实验三 凋亡指数和细胞活力的定量测定(荧光染色法) /155	
实验四 细胞凋亡的相关蛋白分析 /157	
一、Fas 抗原的检测 /157	
二、Bcl-2 原癌基因的检测 /158	
三、p53 蛋白检测 /159	
附 录	161
一、常见生物制品介绍 /161	
二、溶液配制 /162	
三、玻璃容器的洗涤及各种清洁液的配制 /166	
参考文献	168

第一章 免疫血清的制备与鉴定

实验一 实验动物的一般操作

在免疫学教学、科研工作中,经常要用实验动物来进行各种实验。通过对动物实验的观察和分析来研究和解决科研工作中的各种问题。因此,动物实验已成为免疫学、医学、生物学各学科研究工作中必不可少的一种实验技术。从事实验研究的科技人员,必须对各种常用实验动物的生物学特性、用途、健康要求等基本知识有确切的了解,才能正确地选择和使用实验动物,获得可靠而准确的实验结果。

动物实验技术的操作方法较多,包括实验动物的抓取和固定方法、麻醉方法、被毛的去除方法、注射方法、取血方法、血液常用指标的检查方法等等,在此不一一赘述。

本部分介绍免疫学实验常用的动物——小鼠、大鼠、家兔、豚鼠的生物学特性和在免疫学实验方面的用途、健康要求,并介绍动物实验中最基本的操作方法——实验动物的抓取、固定、注射方法、取血方法、编号方法等。

一、实验动物的抓取、固定和注射方法

【实验目的】

学习实验动物的抓取和固定方法;练习对实验动物的几种不同途径的注射方法;了解免疫学实验常用动物的生物学特性、用途及其健康要求。

【实验材料】

1. 实验试剂 无菌生理盐水。
2. 实验动物 家兔;小鼠;豚鼠。
3. 实验器材 注射器及针头;剪刀;碘酒棉球;酒精棉球;消毒干棉球;酒精灯;消毒煮沸器;电炉;纱布;镊子;灌胃针头(可用7号针头磨平,边缘磨光,磨圆代替)。

【实验方法】

1. 皮下注射法(subcutaneous injection, sc)

以豚鼠为例。

(1) 助手用左手夹持动物肩部,并用大拇指钩住下颌部,将动物提起,右手在下方将动物托起,手心向上,用食指、中指及无名指夹住后腿,如图1-1。

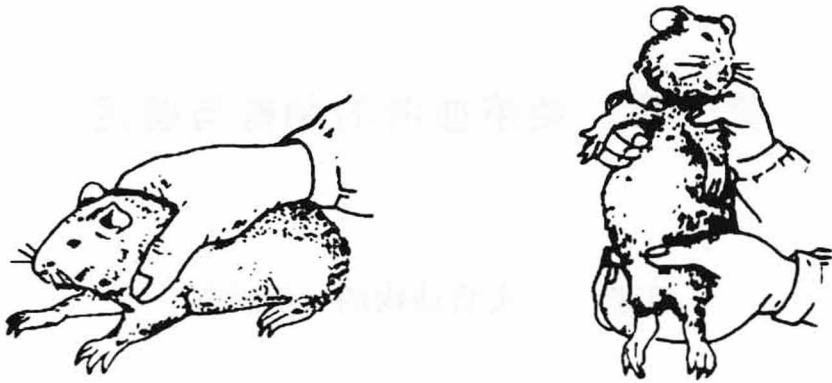


图 1-1 豚鼠的抓取方法

(2) 用碘酒和酒精棉球消毒豚鼠踝部。注射者将皮肤提起,以预先准备好的注射器针头(内装无菌生理盐水)刺入皱褶底部,注射 0.5mL。注入时阻力不大而放下皮肤后,皮下呈扩散状隆起者为注射正确,如图 1-2。

2. 皮内注射法(intracutaneous injection, ic)

以豚鼠为例。

(1) 助手按上法将豚鼠抓紧。

(2) 实验者在其腹部任选约 2cm² 的面积剪毛,消毒皮肤。

(3) 将 5 号针头连接在 1mL 的注射器上,吸取无菌生理盐水,针孔向上平刺入皮内,注入 0.1~0.2mL,如准确注射在皮内则注射部位形成坚实的水泡,如图 1-3。



图 1-2 皮下注射法

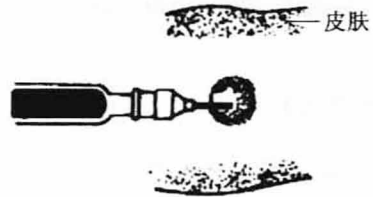


图 1-3 皮内注射法

3. 腹腔注射(intraperitoneal injection, ip)

以小鼠和家兔为例。

小鼠

(1) 用右手拖鼠尾,使其爬行于较粗糙之台面上(可用试管架倒扣于桌面代替),再突然用左手拇、食指抓紧小鼠颈项及其两耳,如图 1-4,翻转后,用左手无名指及小指夹住鼠尾及后肢。

(2) 消毒腹壁,以预先准备的材料(无菌生理盐水)注入腹腔 0.3mL。

注意:注射时应将小鼠的头部向下,以避免针头刺入内脏。



图 1-4 小鼠抓取方法

针斜刺入皮肤后,转直,再向下直刺少许即可进入腹腔,其目的是使两个针眼不在一条直线上,可避免拔出针头时注射材料流出污染皮肤及造成注射剂量不足,在注射传染材料时,应特别注意。另外,进针部位不宜太近上腹部或进针过深,以免刺破内脏。

家兔: 将家兔四肢固定在解剖台上,腹部朝上。在下腹部略靠外侧(腹部下约 1/3 处,避开肝脏和膀胱),消毒该处皮肤,将针头垂直刺入腹腔,将针筒略为回抽,如无血液或尿液,即可进行注射。注入 1mL 无菌生理盐水。

4. 肌肉注射(intramuscular injection, im)

以小鼠为例。

此法用得较少,常用于给动物注射混悬于油或其他溶剂的药物时。

肌肉注射部位,应选择丰满且无大血管通过的肌肉,一般采用臀部。亦常取大腿内(外)侧,颈椎或腰椎旁的肌肉进行注射。注射时,将注射部位的被毛剪去(小动物可不剪毛)。注射器连 6.5 号针头,由皮肤表面垂直刺入肌肉,略回抽如无回血,即可注射。

给小鼠作肌肉注射时,用左手抓住鼠两耳及头部皮肤,右手取连有 5.5 号针头的注射器,将针头刺入大腿外侧肌肉,注入 0.2mL 无菌生理盐水。

5. 静脉注射(intravenous injection, iv)

以家兔和小鼠为例。

家兔

(1) 捉兔时,轻开笼门,勿让兔受惊。将手伸入笼内,于兔头前面阻拦其跑动,当兔匍匐不动时,右手抓住颈部皮肤将兔提起,左手随之托住其臀部,见图 1-5。



图 1-5 抓兔方法

1、2、3 为不正确的抓取方法: ① 易伤两肾。② 易造成皮下出血。③ 可伤两耳。4、5 为正确的抓取方法,即抓住颈后皮肤,并用手托起。

(2) 持家兔固定于特制木箱中或由助手按在桌上(一手轻轻按其颈部,一手轻扶耳根,使耳向前)。剪去或拔去兔耳缘部被毛。

(3) 用棉球或少许纱布蘸取 45~50℃ 的温水于耳翼边缘的血管上,或用手指轻弹并轻揉兔耳,使静脉充血,助手以一手将耳根固定。

(4) 注射者以左手持该耳,右手将预先准备的材料(无菌生理盐水)由血管注入,针头刺入时与静脉几乎平行,注入 0.5mL。如注射正确,则针下阻力很小,亦可见血管变色;如阻力较大或皮下隆起即停止注射,重新刺入血管,或另选部位;注入液体时应将针头与耳同时固定,以免针头退出血管。

(5) 注射完毕用消毒干棉球压住注射部位,然后拔出针头,再压片刻以防出血。

小鼠

(1) 将小鼠置小试管架中,鼠尾自网眼中露出。

(2) 将鼠尾浸于盛 45~50℃ 温水的试管中 1~2min 或用棉花蘸温水揉擦尾部使尾静脉充血,可见三根暗红色的尾静脉。

(3) 选最明显的一条尾静脉,用左手三指捏住鼠尾,在距尾尖 2~3cm(此处皮薄静脉浅,易刺入)进针,针头与尾静脉几乎相平行,注入无菌生理盐水 0.3mL。其余操作同兔耳静脉注射。

6. 胃内注入法(灌胃法,ingestion,ig)

以小鼠为例。

(1) 用左手拇指及食指抓住小鼠两耳及头部皮肤,另三指抓其背部皮肤,翻转,使其腹部朝上,头部向上保持一定的倾斜度。

(2) 右手持连有灌胃针头的注射器,将针头对准正中中线插入口腔,沿咽后壁中线慢慢向后,向下插入。亦可沿鼠右侧嘴角插入,经食道进入胃内。若遇阻力则后退稍许再慢慢进针,插入 2~2.5cm 即可到达食道下端,注入 0.5mL 无菌生理盐水。注入时如通畅,表明针头已插入食道;如不通畅,动物有呕吐动作并挣扎,则表明针头未插入食道,应立即拔出,按上法重新操作。

灌胃法的要点在于小鼠要固定好,头和颈部保持同一水平;进针方向正确,一定要沿正中中线或右口角进针,再顺着食道慢慢插入,不可硬往里插,否则注入肺内,造成死亡(灌胃方法见图 1-6)。

各种动物不同给药途径的常用量见表 1-1。



图 1-6 小鼠灌胃方法

表 1-1 各种动物不同给药途径的常用量(mL/只)

动物	灌胃	皮下注射	腹腔注射	肌肉注射	静脉注射
小鼠	0.4~0.6 (0.8~1.0)*	0.2~0.4 (0.5)	0.2~0.4 (0.5)	0.1~0.2 (0.5)	0.2~0.4
家兔	20~30(100)	1~2	3~6	0.2~0.6	4~6
豚鼠	3~4(4~6)	0.5~1	2~5	0.2~0.5	2~4

* 括号内的数字为一次给予的能耐受的最大限度(mL/只)。

【注意事项】

1. 吸入注射材料后,应将注射器内的空气排尽,若注射材料具有传染性,则排气对应以酒精棉球包住针头,以免传染材料流出。
2. 注射完毕后,如注射材料具有传染性,应以消毒器中的水抽吸几次,然后取下针头,抽出筒芯放入消毒器中与抽吸洗过的水一并煮沸消毒。

【思考题】

1. 简述各种注射途径的操作要点。
2. 抓兔子时为何不能抓它的两耳?正确的抓取方法应抓其什么部位?
3. 若给动物注射传染性材料应注意些什么?

二、实验动物的取血方法

【实验目的】

学习各种动物不同部位的取血方法;了解常用的各种血液抗凝剂的配制与用法。

【实验材料】

1. 实验试剂 6%的火棉胶;血液抗凝剂。
2. 实验动物 小鼠;大鼠;兔;豚鼠;鸡;羊。
3. 实验器材 注射器;针头;剪刀;镊子;橡皮管;酒精棉球;碘酒棉球;酒精灯;固定板;刀片;无菌尖嘴滴管;无菌平皿和试管等。

【实验方法】

1. 尾静脉取血

以小鼠为例。

- (1) 将小鼠装入固定盒内,露出尾巴,或将鼠置倒扣于桌面的小试管篓内,鼠尾自网眼伸出。
- (2) 用纱布或棉花蘸取约 50℃ 的温水揉擦尾部,亦可将鼠尾直接浸入盛温水的试管中,使尾静脉充分充血,擦干水分,用剪刀剪去尾尖,静脉血即可流出。
- (3) 用手轻轻从尾根部向尾尖部挤,可取得数滴血。
- (4) 用无菌干棉球压迫止血,伤口处涂上 6% 的火棉胶以形成薄膜保护伤口。每次采血,可按上法剪去一小段鼠尾。

本法适用于需血量少但又需多次间隔采血的试验。也可采用交替切割三根尾静脉方法取血。即采血时用刀片切破一小段静脉,用无菌尖嘴滴管吸取由伤口流出的静脉血,每次可取血约 0.4mL。取血后用无菌干棉球压迫止血,一般经 3d 伤口可结痂痊愈,此法特别适用于大白鼠。

2. 眼眶动脉和静脉取血

以小鼠为例。

- (1) 用左手抓住小鼠,并用拇指和食指尽量将其头部皮肤捏紧使鼠的眼球突出。

(2) 右手用一小镊子于鼠的眼球根部将眼球摘去。

(3) 将血滴入容器内,达所需量时,用无菌干棉球压迫眼眶止血。

此法取血量较多,一只小鼠一次可取血 0.3mL 左右(大鼠每次可采血 0.5~1mL,这样采血动物可存活),数天后可从另一侧眼眶取血。

3. 眼眶后静脉丛取血

以小鼠为例。

(1) 左手捉住小鼠,并用食指和拇指握住颈部使眼球外突。由于对颈部的压力而使脑血管淤血,可使感觉暂时丧失(可滴入 10%的可卡因,使眼部痛觉麻痹)。

(2) 取一根长约 8cm 的无菌玻璃毛细吸管(内径约 1mm),用抗凝剂湿润其内壁,将毛细吸管尖端插入内测眼角并和鼻侧眼眶壁平行地向喉部方向推进约 4~5mm 即可达眼眶后静脉丛,血液自然进入吸管内。

(3) 达所需要量时,左手放松,出血即停止,拔出毛细吸管(图 1-7)。



图 1-7 小鼠眼眶后静脉丛取血方法

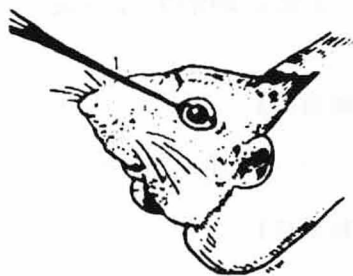


图 1-8 大鼠眼眶后静脉丛取血方法

此法一次可取较多血液(小鼠约 0.2mL,大鼠约 0.5mL),并可在数分钟内于同一穿刺孔内重复取血。白鼠眼眶后静脉丛取血方法方法见图 1-8。

4. 断头取血

以大鼠为例。

(1) 一人戴上棉纱手套,右手握住大鼠的头部,左手握其背部,将颈部露出。

(2) 另一人持剪刀剪掉鼠头,立即将鼠颈向下,提起动物,将血滴入容器内。

小鼠断头取血与大鼠同,但不必戴手套,且一人操作即可。用此法一只小鼠可采 0.8~1.2mL 血,大鼠 5~10mL。

5. 背中足静脉取血

以豚鼠为例。

(1) 一人抓住豚鼠,将其左或右后肢膝关节伸直。

(2) 另一人消毒豚鼠的脚背面并找出背中足静脉,以左手的拇指和食指拉住其趾端。

(3) 右手持注射器刺入静脉,徐徐抽取血液,达所需量时,用无菌干棉球压迫止血并拔出针头。

6. 心脏取血

以家兔、鸡为例。

家兔心脏取血:

(1) 将兔仰卧固定于手术台上,剪去左前胸相当于心脏部位的兔毛,剪下的兔毛放入一盛少量水的废液杯中。

(2) 用碘酒棉球和酒精棉球消毒局部皮肤。

(3) 用左手触摸左侧由下向上数第3~4肋间,选择心跳最明显处进针,进针部位一般为第三肋间隙,胸骨左缘3mm处。当针头接近心脏时,就会有心跳感觉,此时将针头向里插入少许即进入心室。

(4) 如确实刺入心脏,血液会因心肌的收缩力自然进入注射器,徐徐抽取血液,待取满一注射器后,拔出针头,并用干棉球按压针刺处,以防出血。

(5) 取下针头,将血轻轻注入无菌平皿或试管内。以免血细胞破裂引起溶血。

此法常用于制备抗血清及补体。豚鼠的心脏采血与家兔相同,但进针部位一般在胸骨左缘第4~6肋间隙。

鸡心脏取血:

(1) 用绳子扎紧鸡腿及翅膀。用棉花或纱布蘸取热水湿润左侧胸部,拔去相当于心脏部位的羽毛。

(2) 将鸡的左侧向上横卧于固定板上,鸡头向左侧固定。

(3) 寻找由肋骨到肩胛部的皮下大静脉,心脏约在该静脉的分支下侧,以食指触摸心跳。消毒该部位皮肤,用装有7号针头的注射器由该处垂直刺入。如触及胸骨则稍后退,将针头稍右偏以避免胸骨,切不可硬往里插。针头向里刺入后可感到心脏跳动,这时将针头直接刺入心脏,血液即流入注射器内。

(4) 待取满一注射器血液后,可不必拔出针头,只需迅速接上另一注射器继续取血。每只成年公鸡取血30mL不致死亡,经3~6个月可再次采血。

(5) 取下针头,将注射器内的血液轻轻注入容器中。

7. 耳中央动脉取血

以家兔为例。

(1) 将兔置于固定盒内,用手揉擦兔耳或用热水敷(敷后擦干水分),使兔耳充血。

(2) 在兔耳中央有一条较粗、颜色较鲜红的血管为中央动脉。用左手固定兔耳,右手持注射器,于动脉末端沿着动脉平行地向心方向刺入血管,即可见血液进入针筒。此法一次可抽15mL血。取血后应用无菌干棉球压迫止血。

因兔耳中央动脉易发生痉挛收缩,故抽血前必须使兔耳充分充血,使动脉血管扩张后立即进行抽血,否则时间一长血管发生痉挛收缩,取血困难。另外取血时针头不要太细,常用6号针头。进针部位不能太近耳根部,因耳根部软组织厚,血管较深,易刺穿血管造成皮下出血,一般从中央动脉末端开始进针。

也可当兔耳中央动脉充分充血后,于近耳尖中央动脉分支处,用刀片轻轻将血管切破,血立即流出,用装有抗凝剂的刻度试管接血,此法一次可取较多血液。取血后应注意用无菌干棉球压迫止血。

8. 耳缘静脉取血

以家兔为例。

操作基本与耳中央动脉取血方法相同。但所用的针头略小(一般用5.5号针头)。此法一次可取5~10mL血。

9. 翼根静脉取血

以鸡为例。