

EXPERIMENTAL BURN
SURGERY

实验烧伤外科学

梁 璠 杨宗城 萧光夏 汪仕良 主编

重庆大学出版社

实验烧伤外科学

黎 鳌 杨宗城 主 编
萧光夏 汪仕良
责任编辑 崔 祝 杨大启

*

重庆大学出版社出版发行
新华书店经销
重庆新华印刷厂印刷

*

开本:787×1092 1/16 印张:28.25 插页:14 字数:710千
1997年9月第1版 1997年9月第1次印刷
印数:1-1200

ISBN 7-5624-1307-X /R·105 精装定价:80.00元

主编 黎鳌 杨宗城 萧光夏 汪仕良

主编助理 刘志远

撰稿人(按姓氏笔划排列)

王天乙	王旭	安静	刘友生	刘志远	陈发明
陈宗荣	陈意生	汪仕良	吴振忠	杨宗城	周向东
张雅萍	赵阳兵	赵雄飞	萧光夏	夏淑芳	黄文华
黄跃生	程天民	谢尔凡	彭代智	路淑珍	黎鳌

插图 张定尧

序

烧伤外科学实际上是一部“外科学基础”。严重烧伤引起的休克和继之发生的感染,以及切痂和异体(种)皮肤移植等操作,都会引起病人一系列的应激反应,导致病人全身各系统在各方面的复杂变化。要认识这些复杂变化,就必须密切结合基础医学,进行烧伤的病理、病理生理、生物化学、免疫、代谢等方面的研究。因此可以说,研究烧伤外科学也就等于提高外科学基础的全部知识。

要深入研究烧伤全过程的机理,必须进行动物实验,因此一部《实验烧伤外科学》就显得非常需要了。鉴于国内外尚未见有这样的书籍出版,第三军医大学烧伤研究所,应各方面的要求,根据自己近10余年来的实验研究,撰写了这本《实验烧伤外科学》。其著述内容全面,既丰富又新颖,诸如对选择实验动物,建立烧伤动物模型,研制各种不同致伤因素引起的不同烧伤类型和不同病理变化,烧伤休克,烧伤感染,烧伤免疫,烧伤代谢营养以及皮肤储存、移植等问题,都进行了系统的深入研究,且理论结合实际,起到实验指导临床的良好作用。全书共分17章,洋洋70余万字,配以多幅插图,是一本极有指导价值的科学参考书。阅读了这本书,不但对烧伤外科学有了进一步的认识,也充实了外科学基础的大量知识。

我国在治疗大面积严重烧伤方面,在国际上占有较高的地位,而这本《实验烧伤外科学》的问世,将使我国在烧伤外科的研究成就上“锦上添花”。我热忱地推荐这本《实验烧伤外科学》给所有的外科医生,它特别对青年外科医生在提高外科学基础方面的知识帮助很大。

裴法祖

1995年仲春

目 录

第一章	概述	1
第二章	烧伤实验动物	4
第一节	实验动物的基本概念	4
第二节	烧伤实验动物的选择	5
第三节	常用烧伤实验动物的生物学特性	12
第四节	烧伤实验动物生理解剖特点	14
第五节	烧伤动物实验的基本操作技术	15
第六节	无菌动物、无特定病原体动物在烧伤实验研究中的应用前景	21
第七节	裸鼠	23
第三章	烧(烫)伤动物模型的研制	27
第一节	实验动物体表面积的计算	27
第二节	实验动物体表烧伤模型的研制	33
第四章	烧伤病理的实验研究	43
第一节	实验烧伤病理的研究任务和观察方法	43
第二节	相关细胞因子在烧伤病理过程中的作用	47
第三节	皮肤组织烧伤病理的实验研究	54
第四节	呼吸道蒸汽烧伤病理的实验研究	61
第五节	烟雾吸入性损伤病理的实验研究	63
第六节	凝固汽油烧伤病理的实验研究	65
第七节	磷烧伤病理的实验研究	68
第八节	烧伤内毒素血症病理的实验研究	72
第五章	烧伤休克的实验研究	82
第一节	烧伤休克实验模型的选择	82
第二节	烧伤休克常用实验研究	83
第六章	烧伤感染的实验研究	102
第一节	烧伤感染实验动物模型的制作	102
第二节	烧伤感染的细菌学检测	106
第七章	烧伤焦痂毒素的实验研究	117
第一节	焦痂实验方法	117
第二节	烧伤毒素理化性质	118

第三节	焦痂毒素对小鼠的毒性作用	120
第四节	焦痂毒素对机体免疫功能的作用	121
第八章	烧伤免疫的实验研究	125
第一节	概述	125
第二节	烧伤免疫的动物实验模型	127
第三节	烧伤后免疫细胞的实验研究	128
第四节	烧伤后免疫分子的实验研究	145
第五节	烧伤后免疫功能紊乱发生机理的实验研究	160
第六节	改善免疫功能的实验研究	167
第九章	烧伤代谢营养的实验研究	175
第一节	烧伤代谢营养研究的动物模型	175
第二节	烧伤后热卡需量的研究	181
第三节	烧伤后糖、脂肪、蛋白质代谢的研究	193
第四节	烧伤后早期肠道营养的研究	202
第十章	吸入性损伤的实验研究	208
第一节	概述	208
第二节	吸入性损伤的实验研究模型	224
第三节	吸入性损伤实验研究的观测指标	233
第四节	吸入性损伤主要并发症的研究	298
第五节	支气管肺泡灌洗液的研究	303
第六节	吸入性损伤治疗的实验研究	305
第十一章	磷烧伤的实验研究	312
第一节	磷烧伤动物模型的制作	312
第二节	黄磷烧伤全身作用的实验研究	313
第三节	磷烧伤消化系统变化的实验研究	317
第四节	磷烧伤肾脏、生殖系统改变以及内分泌系统反应的实验研究	330
第五节	磷烧伤创面清洗剂的实验研究	331
第十二章	光辐射烧伤与放射性烧伤的实验研究	337
第一节	光辐射皮肤烧伤	337
第二节	视网膜烧伤	339
第三节	闪光盲	341
第四节	放射性烧伤的实验研究	342
第十三章	血管内皮细胞在烧伤发病中作用的研究	346
第一节	VEC 的结构和功能特点	346
第二节	血管内皮细胞的培养	356

第三节	血管内皮细胞损伤的实验研究	361
第十四章	表皮细胞培养的实验研究	375
第一节	表皮细胞培养技术	375
第二节	培养表皮细胞异体移植及移植后的转归	383
第三节	培养表皮细胞异体移植后的客观判定方法	384
第四节	复合皮的制备与使用	397
第十五章	皮肤储存实验研究	406
第一节	生物组织低温储存的冷冻损伤和低温保护	406
第二节	皮库常用技术方法	408
第三节	皮肤深低温储存实验研究	410
第四节	皮肤 4℃ 储存的实验研究	421
第五节	皮肤常温储存	424
第十六章	延长异体皮存活时间的实验研究	428
第一节	氟氢松醋酸酯(fluorocinolone acetonide,FA)处理皮片	428
第二节	环孢素 A(CsA)处理皮片	430
第三节	抗淋巴细胞血清(ALS)类制剂	431
第十七章	实验设计	434
第一节	选题	434
第二节	动物实验	438
第三节	实验设计方法	440
附录	照片	

第一章 概述

人们常说,火是人类文明进步的催化剂。利用了火,人类才摆脱了茹毛饮血的原始生活;利用了火,人类才有可能进行铸造,从石器时代迈步到铜器时代、铁器时代,使物质文明大大提高。现代的文明推进更是有赖于火,无论内燃机、蒸汽机还是喷气机、火箭推进器等等的动力,大都有赖于物质(煤、石油、液体或固体燃烧剂等)燃烧所产生的力量。然而火也给人类带来灾害,如大片森林火灾、房屋失火、交通事故所致的燃烧、易燃易爆物品的燃烧爆炸等,不仅烧毁了大量物资、资源和财富,而且往往使人类被烧伤。

应该说人类在利用和/或与火作斗争的伊始,就伴随着烧伤。中外最古老的医书,如《黄帝内经》、《Hippocrate 医案》,即已记载了烧(烫)伤。数千年来,人类在医治烧(烫)伤方面已累积了许多经验,认为烧伤既是外伤,还有内伤——烧伤火毒内攻,主张内外兼治。因而不仅在外治方面总结了许多行之有效的单方、验方,而且在内治方面也记载了许多医治方案和理论。更重要的是“内外兼治”的学说,为现代医治烧伤奠定了基础,明确了方向。

然而数千年来,在全世界范围内,烧伤作为外伤和创伤,多归属于外科或皮肤科,一直到第二次世界大战后期,由于烧伤伤员骤增,才受到人们重视,并被作为独立学科进行研究。在我国则是在 1958 年以后,才在全国范围内相继建立了烧伤科、烧伤中心和烧伤研究所,开展了正规的烧伤防治研究工作。

纵观半个世纪以来,烧伤作为外科的一个分支,发展是迅速的,主要有如下原因:

1) 烧伤伤员增多,促使人们重视与研究。无论平时还是战时,烧伤都是一种常见伤。第二次世界大战以来,它的相对发生率和绝对数均不断增加。第一次世界大战时,根据后方医院的不完全统计,烧伤发生率为 1% 左右;第二次世界大战时,由于燃烧武器的广泛使用,烧伤发生率增至 2%~3%,加之投入的兵力远较第一次世界大战为多,故烧伤的人数(绝对数)明显增多;1975 年,中东战争时,在一次坦克战之后,据以军某后方医院的统计,烧伤发病率为 10%,仅次于弹片伤。应予指出的是,由于战争的需要和工业的发展,无论冶炼工业、石油工业还是化学工业、电力工业、交通运输业等的增长速度均相应增快,因此它们发生事故的机会也相应增多。上述这些工业或交通业一旦发生事故,烧伤比例是很高的。例如飞机失事、油库火灾、锅炉爆炸等常常是烧伤伤员占主要比例。还由于现代城市建筑已日益趋向高空发展,高楼大厦鳞次栉比,这些建筑本身系钢筋水泥结构不易燃烧,但其内装修和设备,如地毯、墙纸、涂料、天花板、窗帘、床上用品以及许多装饰品和室内设备多系易燃的塑料、化纤等材料制成,一旦着火,蔓延很快,往往迅速酿成大的火灾;而且这些高大建筑大都为密闭空调楼宇,着火后,室内空气中氧气迅速消耗,导致含氧量降低,CO 浓度增高,室内居住人员,虽一时尚未被烧伤,但由于吸入烟雾、低氧空气或/和 CO,以致发生 CO 中毒、低氧血症或昏迷,失去辨别方向能力,逃不出火灾现场范围,最终被烧伤。因此这类火灾的烧伤人员是成批的,常常数以百计,国内外不乏这类例子的报道。就当前而言,现代文明的进步并没有使烧伤发病率降低,反而使之有增无减。据估计,当前创伤是人类主要死亡原因之一,仅次于肿瘤、心血管疾患,列第三位。而烧伤又居创伤死亡中首位,年耗资以百亿美元计。据美国全国卫生调查统计,每年美国有烧伤病人约

200 万名,其中住院的约占 5%~10%。我国尚无全国范围的统计,但就我们医院(第三军医大学西南医院)而言,每年烧伤门诊病人占门诊病人总数的 1%~2%;烧伤住院病人占住院病人总数的 2%~3%,当然此数字尚不包括小面积烧伤和伤后立即死亡以及不需门诊或住院治疗的病人。

2)严重烧伤病情复杂、多变,治疗困难,需要多科协作攻关。严重烧伤不单是体表的损伤和皮肤的缺失,而是涉及和影响到机体几乎各个系统的功能变化,诸如免疫、神经内分泌、营养代谢、体液、各脏器功能等等。因此,它的治疗复杂多变,涉及到许多临床和基础学科的技能 and 知识,要求多学科的大协作来完成。近二三十年来,整个医学事业从宏观到微观均发展迅速,研究手段也已日臻进步,从细胞水平、亚细胞水平到分子水平逐步深入。这对烧伤防治研究产生了很大的促进作用。烧伤医学不仅从治疗水平上,而且从基础理论上均上升较快。反过来,烧伤研究的成果对其他医学学科的发展和对问题的认识,也起到了相辅相成的推动作用。例如烧伤后肠道细菌移位的研究对免疫学、细菌学、营养代谢、病理生理学、内外科等某些疾病发生与发展上的认识,不仅有了深化,而且在某种或一定程度上致使概念更新。又例如吸入性损伤的研究对呼吸功能的认识、其他呼吸疾病的发生发展与防治;创面脓毒症的提出对免疫学、细菌学、药理学等均有类似上述的作用。

3)烧伤,特别是严重烧伤,不同于一般创伤,其病程漫长,并发症多,住院时间长,残废率高,无论对个人、家庭,还是社会都带来了巨大的精神和经济负担。因此无论医疗上还是社会上均要求烧伤防治、研究工作的迅速进步,以减轻全社会的负担。烧伤病人平均住院时间一般为 25~30 天,有Ⅲ度烧伤者一般为 40~60 天,如果是大面积深度烧伤,住院时间可延至数月或一年以上。深度烧伤愈合后,往往由于瘢痕及瘢痕挛缩,造成功能障碍或容貌变形,需要长时间反复整形,累积住院时间更长。这类病人无论精神上、肉体上,还是经济上均蒙受很大的痛苦或损失。据统计,烧伤病人中约 1/3 有Ⅲ度烧伤,愈合后常有不同程度的功能障碍甚至残废。缩短住院时间,减少功能障碍或/和残废率,也是促使烧伤防治研究工作迅速发展的一重要因素,或称为社会因素。

4)烧伤是研究创伤的较理想的模型。战(创)伤的治疗,一直是外科研究重点之一,尤其是第二次世界大战以后,许多严重战(创)伤,由于复苏、抗感染的进步,早期伤员得免于死亡。但严重战(创)伤对机体的损害或/和过度炎症反应等并未因此减轻,甚至有所加重,随后可出现免疫、体液、营养代谢、内脏功能等一系列的改变,治疗困难。病人往往因严重脓毒症、内脏并发症等而死亡。因此觅寻一适合战(创)伤研究的较理想的模型,是许多战(创)伤专家曾经孜孜以求的,但其结果均不满意。主要原因是战(创)伤模型,特别重型战(创)伤,伤情很难一致,也就是说模型不稳定,难以重复;其次是动物重战(创)伤后,经治疗后不是治愈,就是死亡,较少出现临床上所见的迁延过程,或出现各类并发症或脓毒症而死亡,即动物模型难以模拟临床重度战(创)伤后期出现的上述一系列变化。应用重度烧伤作为研究严重战(创)伤的模型,是当今各国较普遍采用的途径。因为烧伤的面积、深度较易控制,故模型的严重程度多较一致,即稳定性好;其次是动物经复苏后,烧伤不十分严重者可不死亡,但由于创面的存在,不断刺激和感染等,可加重机体的全身反应,削弱机体本身抗病能力,从而可导致出现上述一系列的病理生理变化和/或并发症,便于研究和观察分析。这些利用烧伤模型的研究,大多是观察严重创伤的全身反应及其转归,但无疑地首先是促进了对烧伤病本身的了解,其次才是创伤。当然,这些实验研究也推动了烧伤本身的实验研究和发展。

我国自从 1958 年开展烧伤防治研究以来,大致可以分为两个阶段:1958—1978 年,主要是临床研究;1978 年粉碎“四人帮”后,迎来了科学的春天,实验研究也逐渐开展与推广。据粗略统计,全国重点研究烧伤的科、中心和研究所,均已有一定规模的实验室和设备,即便是基层单位也有不少拥有一定的实验条件并开展了烧伤实验研究。我们指的实验研究包括:在体的动物实验研究;离体的实验研究;临床前瞻性研究。所谓临床前瞻性研究即结合临床的实验研究,可用于:①有些研究不宜先用动物实验研究过渡到临床的,例如烧伤病人每日热量需要量(含公式)的研究。动物实验研究的数字是不能直接换算到人进行临床过渡,因为不同的因素太多,如动物的饮食结构、基础需要量(BMR)与人的大不相同。②有些研究目前尚难研究出一适合的动物模型。例如,烧伤后的急性肾功能衰竭,特别是非少尿型,当前尚未研究出一适合的动物模型,因此只能直接进行临床观察。③尚有一些研究,本身即可以直接在临床进行,例如药代学的研究、烧伤创面细菌的流行病学、变迁等等。原则上讲,能直接在临床进行观察研究,就不宜先做动物(体内、体外)实验研究,只有那些影响临床结果的因素太多,而条件又不易控制;或动态观察某一特殊改变,临床无法实现的;或实验的本身对人体有害的(如某些新药的试验等)才考虑动物实验研究(体内或体外)。总之,首先是考虑临床前瞻性的研究。但应指出,由于影响临床前瞻性研究结果的因素太多,不像动物实验,条件较易控制,故难度较大。因此前瞻性研究的设计更应周密、严谨,尽量使病人条件接近一致,以增加科学性,如年龄、烧伤面积与深度、入院时间、复苏方法等等。故观察的指标也不宜过多,一个实验选择性地观察几个指标,以及少数有利于结果分析的辅助指标,不能毕其功于一役。可变条件越多,指标越多,结果越复杂,越不易清理、分析,结论的可信系数就可能越低或难以做出科学严谨的结论。

我国自 1958 年开展烧伤防治研究工作以来,治愈率一直处于世界领先水平。最近作者对全国 29 个单位 1980—1992 年期间收治的 64 320 烧伤病人进行了统计分析,总 LA₅₀ 已达到 96.99%;有Ⅲ度烧伤的 LA₅₀ 也达到了 90.87%,即烧伤面积 90%以上的病人,无论有无Ⅲ度烧伤均可治愈一半。应予指出,虽然我们的实验理论研究水平,自粉碎“四人帮”以后,已迎头赶上,有的研究项目已步入世界先进行列或达到了领先水平,但总体上讲,与国外先进水平比还有一定差距,有的研究项目差距还很大,特别在前瞻性研究方面,做得还很不够。但是凭借我们社会主义的优越性、大协作的优良传统、深化改革的好势头,我们深信我国的实验研究理论水平是能在较短的时间内跨入世界最先进的行列,尤其是前瞻性研究。由于我们拥有雄厚的临床实力基础,只要予以重视,由小至大,由浅入深,再经过 10 年或再多一点时间的努力,到下世纪初,我们的烧伤医学不难屹立于世界领先水平。

(黎 鳌)

第二章 烧伤实验动物

在烧伤医学研究中,经常通过动物实验来解决和验证烧伤医学中存在的各种问题。因此,正确选择实验动物对从事烧伤研究的科技人员来说至关重要。随着烧伤实验外科的发展,涉及的研究领域越来越广,研究越来越深入,因此,对实验动物的需求广泛,质量要求严格。有关实验动物的标准,国家已经颁布,本章则据此进行介绍。

第一节 实验动物的基本概念

以动物作为科学研究的对象已有几千年的历史,但实验动物学作为一门独立的学科是近半个多世纪才建立起来的。它是关于实验动物和动物实验的一门新兴学科。前者是研究实验动物本身的育种、饲养管理、生理解剖、疾病的防治等方面的问题;后者是通过各种手段,研究动物实验过程的反应、表现及其发生的问题。概括地说,所谓实验动物学,就是指使用优质的实验动物和精确的实验方法,通过动物实验以获得反应并具有可重复性的科学。

从广义上讲,凡是用于实验的动物,统称为实验动物,但这种概念是含糊的。目前已将实验用动物分为3类,即:实验动物、家畜和野生动物。实验动物是根据科研的需要,经过人工饲养,对其携带的微生物实行定性和定量的控制,遗传背景明确或来源清楚,用于科研、教学、生产、鉴定等,并能获得可重复性的效果。除少量家畜和野生动物,经人工繁殖,已培育达到实验动物标准者外,大部分未按实验动物的目标进行培育,其品质不高,不能用作实验动物。

将实验用动物区分为实验动物、家畜、野生动物是有实际意义的,也是必要的。因为在动物实验问题上,特别重视实验的可重复性。所谓实验的可重复性,是指不同的研究者,在不同的实验场所,不同的时间,以相似的环境控制条件,使用相同品系的动物做实验,应该得到近似的或大体相同的实验结果。这就要求实验动物具有像化学试剂那样的纯度。为此必须对实验动物进行严格的遗传学和微生物学控制。不加选择地以家畜和野生动物作实验,是不可取的。

实验的可重复性作为科学研究的手段直接影响到科研成果的科学性和可靠性,也是衡量科研水平的重要标志。

在生物科学研究中,以下4个因素是必不可少的,即AEIR。A是指Animal(动物);E是指Equipment(设备);I是指Information(信息);R是指Reagent(试剂)。实验动物位居首位,几乎可以说,近代生命科学的每一项重大成果都要涉及实验动物。

美国国家卫生署(NIH)每年投入大量资金从事关于实验动物的工作。1982年美国共用小鼠8000万只,大鼠7000万只,豚鼠和兔60~70万只。日本1970年用去小鼠1115万只,大鼠160万只。我国使用实验动物未完全统计,仅北京地区卫生系统近年来每年使用小鼠15~17万只,大鼠5~6万只,兔1500~1800只,犬500只。以上情况表明,实验动物与科学技术的发展有密切关系。

为了确保实验动物的质量,获得高水平的科研成果,一些工业化国家和我国均制订了有关实验动物的法规,使实验动物的研究、生产、使用都走上了正轨。实验动物学作为一门独立的科学也得到了较大的发展。1957年美国成立了实验动物医学会,1967年成立了实验动物协会。日本的实验动物研究会是1961年建立的。1958年联合国教科文组织与医学国际组织及生物学协会共同建立了国际实验动物学委员会(ICLA),每3年召开一次关于实验动物的国际学术讨论会。美、英、法、日等国于60年代相继建立了生产标准化实验动物的专业中心及辅助用品规格化的生产公司,生产出种系众多的实验动物。

1982年及1985年我国国家科委主持召开了两次实验动物工作会议,国家卫生部1983年及1988年分别召开了医学实验动物工作会议,使实验动物的标准化逐步走向正轨。1985年国家卫生部重大科技成果奖励标准中明确规定,实验动物未达到标准化者,不能作为部级成果。1988年由国务院批准发布的《实验动物管理条例》正式施行,使我国的实验动物工作有了自己的法规可循。《条例》明确规定:应用实验动物应当根据不同的实验目的,选用相应的合格动物。申报科研课题和鉴定科研成果,应当把实验动物作为基本条件。应用不合格动物取得的鉴定或安全评价结果无效,所生产的制品不得使用等。

第二节 烧伤实验动物的选择

目前烧伤实验研究的课题涉及到医学和生物学的很多领域,研究和探索的目标众多,加之实验动物种类繁多,各类动物的特点又各不相同,因此,选择好实验动物就成为烧伤科研工作者在实验前要做的一项必不可少的重要工作。这就要求对实验动物的进化特点、生物学特性、生理解剖、饲养管理等有基本的了解,才能在动物的选择上有所取舍。

一、根据实验目的和要求选择实验动物

烧伤实验研究的根本目的是要解决人类烧伤疾病的治疗和预防问题,因此,在选择动物时,实验动物的种系发展阶段应为优先考虑的问题,在可能条件下,尽量选择进化阶段高,其机能、代谢、结构等和人类相似的实验动物。一般说来,实验动物愈高等,进化愈高级,结构愈复杂,愈接近人类。除猩猩、长臂猿等灵长类动物外,狗是比较接近人类的实验动物。狗具有发达的血液循环系统、神经系统,皮肤和呼吸系统也和人类近似,是体表烧伤和呼吸道烧伤实验研究比较理想的实验动物。由于狗的血管弹性适中,心脏结构和人相同,血压稳定,是进行心导管测压,连续观察血液动力学改变的适宜动物。狗的皮肤脱毛后,可根据实验要求随意制造各种烧伤面积和深度的实验动物模型。在观测项目较多时,狗可提供较多的血液、皮肤和内脏器官组织的标本,可以通过一次实验,取得较多观测指标的目的。由于狗体型大、体表面积大,能为烧伤实验研究的众多目的提供便于操作的手术,如大面积早期切痂的实验研究;特殊实验目的需要的开胸、开腹手术等;也有在狗身上进行同种或异种皮肤移植实验研究的。狗有和人基本相同的气管、支气管结构,麻醉后插管能制造蒸汽或烟雾吸入损伤实验研究的模型。狗亦是烧伤营养研究的适宜动物。

原产于英国的常用小猎兔犬(Beagle)是相当理想的标准化的纯种犬,世界很多国家都引进了该品种。我国引进Beagle犬已有10多年的历史,目前在北京、上海、四川等地均有繁殖。

西北和华北地区的牧羊犬体型高大,作为烧伤实验研究也是比较理想的,曾作为核爆炸时的闪光烧伤的实验研究对象。

猪的皮肤和人的皮肤近似,加之猪较笨拙,便于固定,喂养方便等,作烧伤的慢性实验比较合适。人工皮的粘敷力和抗感染的实验研究在猪身上取得了满意的预期效果。烧伤营养的实验研究,要求观测时间较长,猪是很好的实验对象,不管是作胃造瘘术、门静脉或颈静脉置导管以及通过导管补充营养和抽取血标本等,猪都能较好地配合。贵州小型香猪,体重20~30kg,是新开发的一种被认为是标准化的实验动物。第三军医大学烧伤研究所在烧伤营养方面的实验研究中有大量应用贵州小型香猪,效果满意。

兔也是烫伤、体表烧伤、呼吸道烧伤的常用动物。兔的皮肤薄嫩,致伤时要控制好致伤时间与温度,否则容易导致伤情过重。兔和豚鼠用作烧伤药物的筛选、药敏实验、效价测定等都是必不可少的。在烧伤免疫的实验研究中,兔的最大用处是产生抗体,制备高效价和特异性强的免疫血清。目前我国用作实验的兔种有:中国白兔、日本大耳兔、青紫蓝兔和新西兰兔等。

大、小鼠由于容易获得、价格低廉,是烧伤实验研究大批量使用的实验动物。大鼠比小鼠体重重10倍,能够取得比小鼠更多的实验材料,而小鼠比大鼠繁殖率高,可以更大批量地应用。在烧伤免疫、磷烧伤、烧伤感染、放射烧伤等的实验研究中,大量选用大鼠和小鼠。不过,火焰烧伤、强热力烧伤(强光照射)等多选用大鼠;热水烫伤、热蒸汽烧伤多选用小鼠;烧伤免疫、放射烧伤、烧伤感染(包括肠源性感染)、磷烧伤等视情况可任意选用,都能满足实验所需要达到的伤情。

烧伤实验研究常用的大、小鼠品种如下:

1. Wistar 大鼠 Wistar 大鼠系封闭群动物,由美国 Wistar 研究所培育,是我国和世界各国使用最广泛,使用数量最多的实验动物。Wistar 大鼠主要特征是,纯白色、产仔多,繁殖率高,性早熟、性周期稳定。

2. Sprague-Dawley Sprague-Dawley,简称SD大鼠,系封闭群动物,毛白色,是美国 Sprague 和 Dawley 培育而成的,世界各国广泛应用,比 Wistar 大鼠生长发育快,产仔也较多。

3. 昆明种小鼠 昆明种小鼠系封闭群动物,毛色白化,1946年由印度引入昆明,后输送到全国各地,具有抗病力强、适应性强和高产的特点。

4. BALB/C 小鼠 BALB/C 小鼠是近交系动物,白毛,是目前国内使用最多的近交系品种,是烧伤感染实验研究常用的动物之一。

5. C₅₇小鼠 C₅₇小鼠,系近交系动物,野鼠样毛色,从国外引进,我国培育,是烧伤免疫常用的动物之一。

二、根据动物的种类、品系特点选择实验动物

(一)烧伤常用实验动物在动物学中的分类

烧伤常用实验动物在动物分类学上的位置如表 2-1。

烧伤常用的实验动物大多是哺乳纲动物。这是因为哺乳纲动物具有高度的适应能力,胎生哺乳,有发达的神经系统、循环系统、消化系统,与人类结构相似,可供烧伤科研工作者制造烧伤实验的各种动物模型,对烧伤实验研究有重要的实用意义。

表 2-1 烧伤常用实验动物在动物分类学上的位置

纲	目	实 例
鸟纲	鸡形目	鸡
哺乳纲	兔形目	兔
	啮齿目	大鼠、小鼠、豚鼠
	食肉目	狗
	偶蹄目	猪、羊

(二)烧伤实验动物在遗传控制方面的分类

化学试剂有不同的纯度,测试仪器有不同的精度。实验动物被称为“活的试剂”、“活的检测器”。在动物实验时,需要有纯度高、敏感性强的,适应各种烧伤实验目的、要求的健康的品系动物。为此目的,与其它医学、生物学一样,从遗传控制的角度把实验动物分为 4 个品系,即:近交系动物(inbred strain animal);突变系动物(mutant strain animal);封闭群动物(closed colony animal);杂交群动物(hybrid animal)。现分述如下:

1)近交系动物,亦称纯系动物,是指连续兄妹交配或亲子交配 20 代以上的动物。纯系动物具有遗传上的均质性,用于实验研究能够获得精确度高的实验结果,其重复性、可比性极好。但由于长期近亲交配,导致衰退、抵抗力下降等。这类动物以啮齿类的小鼠、大鼠为典型代表。大动物由于培育时间长等原因,目前还比较少见。

2)突变系动物,指正常染色体基因发生变异的动物。该类动物具有明显的遗传缺陷,目前仅限于大、小鼠,如无胸腺裸鼠。这类动物培育要求较高,适用于对皮肤移植、烧伤感染、烧伤免疫等有特殊要求的研究项目。

3)封闭群动物系一个在 5 年以上不从外部引进新个体,仅在固定场所保持繁殖的动物种群,即为封闭群动物。这种动物相对维持了一定的血缘关系,又有一定纯度的遗传学差异。该类动物大量应用于烧伤的实验研究中。Wistar 大鼠、昆明小鼠、青紫蓝兔、新西兰兔、大耳白兔、豚鼠等均为封闭群动物。这类动物对实验研究的稳定性、敏感性都比较好。

4)杂交群动物是指两个近交品系之间进行有计划交配所获得的第一代动物。这类动物具有杂交优势,生命力强,有与纯系动物基本相同的均质性,重复性好的优点。烧伤免疫实验所用的 C₅₇BL/6J 小黑鼠就是这类动物。

(三)按微生物控制的实验动物分类

动物身上存在着种类繁多的微生物和寄生虫,它们会干扰实验结果,甚至会使实验结果变得不可靠,因此,如何控制微生物显得特别重要。目前,通过对动物身上微生物的监测手段,按对微生物控制的净化程度,将实验动物分为 4 级。即普通动物(1 级);清洁动物(2 级);无特殊病原体动物(3 级);无菌动物(4 级)。有的国家在 3 级与 4 级之间又分出一级称为“悉生动物”。

(四)动物种类的特点

不同种类的动物既有共同性,也有特殊性,在烧伤实验研究中,动物对药物反应的特殊性是重要的。所谓特殊性,就是不同种的动物,对同一种药物反应的差异性。吗啡对神经系统的作用,在狗、兔、大鼠主要表现为中枢抑制,而小鼠则可能引起中枢兴奋;苯胺类药物及其衍生

物对狗、豚鼠能产生变性血红蛋白症,而兔则不易产生,小鼠则完全不产生。有时动物用药,也不能按人的 kg/W 计量套用到动物身上,如氯氨酮麻醉实验狗,有时超过人的剂量的三四倍,仍不能达到预期目的。不同种类动物对接受致敏物质的反应程度亦不一样,其顺序大致如下:豚鼠 $>$ 兔 $>$ 狗 $>$ 小鼠。热源反应宜选用兔,因为兔的体温变化敏感,其次是豚鼠。不宜选用大、小鼠,因为大、小鼠的体温调节不稳定。烧伤实验动物作心功能测压宜选用狗、兔,其次是大鼠。在放、烧复合伤的实验研究中,常选用狗、大鼠和小鼠,而不选用兔,因为兔照射后常引起休克而死亡。

(五)动物品系的特点

烧伤免疫和烧伤感染实验研究所使用的小鼠 $C_{57}BL$,对肾上腺皮质激素的敏感性比 $BALB/C$ 小鼠高 12 倍; DBA 小鼠对电铃声的刺激可能使其产生发作性的痉挛,甚至死亡,而 $C_{57}BL$ 小鼠则根本不会出现这种反应。这些说明同种而不同品系的动物对包括药物在内的各种反应有明显的差异,使用前应作调查研究,了解品系间的差异,不可盲目从事。

三、实验动物健康条件的选择

烧伤实验研究要求健康的实验动物,以求得到可靠的实验结果。一般情况下,健康动物对药物的耐受量比有病的动物要大,所以有病的动物易中毒死亡。用处于饥饿、寒冷、炎热、疾病等情况下的实验动物,其所获得的实验结果不稳定。如狗食量不足,体重减轻 10%~20%时,麻醉时间显著延长,容易发生休克;动物发烧时代谢率增加,体温升高 1°C ,代谢率增加 7%左右;处于衰竭状态的动物,各器官机能反应减弱,实验时容易死亡;隐性感染时亦影响实验结果。动物在组织发炎的情况下,对肾上腺素的血管收缩作用不敏感。

现将烧伤实验动物的健康条件选择阐述如下:

1. 一般目测 被毛光泽平顺,动作灵活,骨骼结实,肌肉发达,身体匀称,眼睛有神;全身无咬伤、划痕、溃疡;鼻、口无分泌物,呼吸无声息;雄性动物两侧睾丸对称,雌性动物外阴清洁,乳头发育良好;肛门紧闭,无稀便、血便等。

2. 胸部听诊 特别对大动物,如狗、羊等听诊应无干、湿性罗音,呼吸音清晰,心音响亮,频率适中,无明显杂音。

3. 其他检查 烧伤实验健康动物主要检测指标见表 2-2。

表 2-2 烧伤实验健康动物的主要检测指标

动物	心率/(次· min^{-1})	肛温/ $^{\circ}\text{C}$	WBC/(个· mm^{-3})	血红蛋白/($\text{g}\cdot 100^{-1}\text{ml}^{-1}$ 血)
狗	100~130	38~39	15 000 \pm	>11
山羊	70~80	38~39	10 000 \pm	>8
绵羊		39 \pm	7 500 \pm	>10
猪	55 \pm	37 \pm	7 000~20 000	>13
兔	120~300	38.5~39.5	10 000 \pm	>8
豚鼠	280 \pm	38.5 \pm	10 000 \pm	>11
大鼠	210~600	39 \pm	10 000 \pm	>12

四、实验动物性别、年龄的选择

(一)狗

1. 性别的选择 狗和其它大动物性别鉴定很容易,只要观察暴露在体表的生殖器官就可以分辨雄雌。如雄狗有睾丸和阴茎,雌狗有突起的乳头和外露的阴道口。

如果实验狗不是正规的实验动物,而是驯养的家畜(这是不应提倡的),应特别注意雌狗有无怀孕,雄狗睾丸有无阉割。怀孕的雌狗生理指标变化较大,一般用雄性狗作实验为宜。

2. 年龄的选择 年龄不同其机体抵抗力、生理指标均有所不同,并影响实验结果的准确性。年龄幼小的狗和老狗,在实验时容易死亡。狗的年龄判断,主要是根据牙齿的生长情况,磨损程度,脚趾甲长短及外露情况,全身毛色等综合考虑(表 2-3、4)。

表 2-3 狗年龄与牙齿特点

年 龄	牙 齿 特 点
10 月	全部长齐,洁白有光泽
1 岁	齿白,门齿尖锐无磨损
2 岁	齿白,轻度磨损,门齿尖端部分消失
3 岁	齿白或微黄,中等程度磨损,上、下门齿尖端消失
4 岁	齿黄,齿根可见棕黑色齿石,门齿明显变钝
5 岁	齿黄黑色,有较多齿石,严重磨损
6 岁以上	黄黑牙齿,满口齿石,严重磨损,有的只剩残根

表 2-4 狗年龄与趾甲、毛发特点

年 龄	趾 甲、毛 发 特 点
1~3 岁	趾甲短,微露,被毛浓密柔顺,有光泽
3~5 岁	趾甲较长,部分或大部外露,被毛蓬乱,丧失光泽
5 岁以上	趾甲长,大部或全部外露,毛稀少,竖起,部分皮肤外露

作者曾把狗腕骨拍成 X 光照片,观察骨骺的沉着情况。其原理是骨骺沉着越多,年龄越大,反之则年龄越小。以此方法判断狗的年龄,准确性较高。

有人模仿人的年龄分段,把狗分为青年、壮年、老年。日本一学者还利用外推法,把狗与人的年龄相对应(表 2-5),可供参考。

表 2-5 狗与人的年龄对应关系

狗的年龄/岁	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
人的年龄/岁	15	24	28	34	36	40	44	48	52	56	60	64	68	72	76	80

(二)山羊

1. 性别鉴定 山羊体型较大,外生殖器暴露明显,不用特殊鉴别。

2. 年龄判断 山羊为食草反刍类动物,上颌无齿,仅有光滑突起的齿板。下颌有 4 对切齿,其名称由内向外分别为:钳齿、第一中间齿、第二中间齿、隅齿。根据这 4 对切齿的变化,来判断

其年龄的大小(表 2-6)。

表 2-6 山羊年龄与牙齿变化的关系

年 龄	牙 齿 改 变 情 况
1 岁前	4 对乳切齿,短小洁白
2 岁	钳齿更换为永久齿,短而大,稍黄
3 岁	第一中间齿更换为永久齿
4 岁	第二中间齿更换为永久齿
5 岁	隅齿更换为永久齿
6 岁	齿间出现明显裂隙
8 岁	齿间裂隙增大,牙齿磨短

(三)兔

1. 性别鉴定 用手轻轻拉起兔的尾巴,分开毛发,暴露出外生殖器。雄兔可见一圆孔中露出的呈圆锥形的向下弯曲的阴茎,幼兔可能不明显,但可看到圆孔中的突起物,即是阴茎。天冷时,雄兔的睾丸位于腹腔,天热时,位于阴囊中,明显可见。雌兔的外生殖器处可见一裂隙,即为阴道口。雌兔有乳头 8~12 个。此外,一般情况下雄兔的头较雌兔为圆。

2. 年龄判断 主要观察其趾甲、牙齿、体重、毛发、眼神等。白色兔趾甲呈白色,深色兔趾甲呈暗褐色。一年兔趾甲与趾根部长短大致相等,且隐在脚毛之中,无明显外露。一年以内的兔趾甲短于趾根部,一年以上的长于趾根部。老年兔趾甲长而黄且弯曲。幼年兔门齿洁白、短小、整齐,老年兔门齿粗、长而暗黄,甚至有破损。幼年兔被毛有光泽且紧贴身体,老年兔被毛稀疏无光泽。幼年兔眼睛圆亮有神,行动敏捷,老年兔被毛疏松、眼睛朦胧,行动迟缓。兔龄与体重的大致关系如表 2-7、表 2-8。

表 2-7 青紫蓝兔兔龄与体重的关系

兔龄/d	雄性/g	雌性/g
60	870±	850±
120	2 200±	1 850±
150	2 900±	2 300±
180	3 300±	3 000±

表 2-8 大耳白兔兔龄与体重的关系

兔龄/d	雄性/g	雌性/g
90	1 700±	1 750±
120	2 350±	2 300±
150	2 700±	2 800±
180	2 800±	3 100±

(四)大鼠

1. 性别鉴定 大鼠通常都是雄雌分开饲养管理的。但在领用、分笼、抓取、逃逸等时,为避免放错笼位,需要实验者辨别雄雌。

大鼠的性别主要是目测肛门距外生殖器之间的距离,即距离远的为雄性,反之为雌性。雌