doi:10.11659/jjssx.09E017016

·技术方法·

三线定位法在大鼠心脏采血中的应用

周灵通[1],宋 敏[1],刘小钰[1],蒋林博[1],黄 凯[1],董万涛[2],康万荣[1] (1.甘肃中医药大学,甘肃 兰州 730000;2.甘肃中医药大学附属医院关节外科,甘肃 兰州 730020)

[摘 要] **目的** 介绍一种改良的大鼠心脏穿刺采血方法。**方法** 采用90只SPF级Wistar大鼠,雌雄各半,以10%水合氯醛溶液,按0.3 mL/kg体质量行腹腔注射麻醉,三线定位确定穿刺位点,使用采血针采血,利用采血管负压收集血液,记录每只大鼠采血量。**结果** 以单只大鼠采血量达5 mL或以上为终末次采血成功计算成功率,90只大鼠共计采血90次,成功率约为82.2%,离心后血清总量约为260 mL,平均每只大鼠分离血清约为2.8 mL。**结论** 改进后的心脏采血技术定位方法直观易学,且采血量多、血液质量高,同时创伤小、效率高,值得向广大同行推广应用。

[关键词] 三线定位法;心脏采血;技术改良;大鼠

[中文分类号] R331.1 [文献标识码] B [收稿日期] 2017-09-07

Application of three-line positioning method in blood collection by cardiac puncture from rats

ZHOU Ling-tong[1],SONG Min[1],LIU Xiao-yu[1],JIANG Lin-bo[1],HUANG Kai[1],DONG Wan-tao[2],KANG Wan-rong[1] (1.Gansu University of Chinese Medicine,Lanzhou Gansu 730000,China;2.Department of Jonit Surgery,the Second Affiliated Hospital of Gansu University of Chinese Medicine,Lanzhou Gansu 730020,China)

[基金项目] 甘肃省自然科学基金计划(1506RJZA048);甘肃省中医药管理局科研课题(GZK-2016-17);甘肃省财政厅基本科研业务课题(BH2010-428);甘肃省中药现代制药工程研究院项目(YWW2015049);甘肃中医药大学研究生创新基金(CX2017-01)

[通信作者] 宋 敏,E-mail:597482778@qq.com

装置太阳能电池与LED灯分别与蓄电池连接,可利用太阳能发电。其设计的目的都是为了给操作者提供一个更好的视野,一个是从亮度的调节上着手设计,一个是从亮度的来源着手设计,这些设计在一定程度上改进了镊子的功能,但只是在具体装置的设计上有不同,改进的目的都大同小异。

在镊子夹取方面,有将上镊身和下镊身的镊身弯曲并将镊身端头交叉设计的方法,保证了镊子在自然状态下能够处于夹紧状态,其使用的时候利用不锈钢的弹性使其镊头分开[6]。康玲等[7]设计了夹持片样结构的方法,目的是防止夹持物的掉落。而笔者所设计的结构为两个磁体,其磁性控制适当,在夹持组织时可有效防止组织掉落。

根据笔者对国内文献的查找,发现能实现有齿镊与无齿镊转换的文献报道并不多,故笔者设计了通过在镊臂内侧设置刀片旋转件和镊齿旋转件。在需要使用无齿镊子时,通过转动刀片旋转件,使刀片固定板朝向两个镊臂之间,实现无齿镊子的功能;在需要使用有齿镊子时,可通过转动镊齿旋转件,使得镊齿朝向两个镊臂之间,实现有齿镊子的功能。为了进一步发挥镊子对组织进行切割的作用,笔者设计了可通过转动刀片旋转件,使刀片朝向两个镊臂之间,实现切割功能。

笔者设计的这把多功能医用镊子具有防止在夹持东西时,因夹持不稳而掉落。既可实现切割组织的作用,又能够实现有齿镊和无齿镊的转换。但本设计尚处于专利设计申请阶段,还需要等模型成型后,在对比现阶段已有镊子功能基础上,进一步分析在是否能节省更换医疗器械的时间,并一定程度上提高了手术时的效率。

[参考文献]

[1] 陈光俊.多功能医用镊子的设计与应用[J].护理学杂志,2015,30(15):54-55.doi:10.3870/hlxzz.2015.15.054.

[2] 乔海霞.一种具有放大功能的医用镊子[P].中国专利:201620607926.1.2017-03-01.

[3] 张 雅.一种医用镊子[P].中国专利:201520839230.7.2016-03-23.

[4] 胡正新.一种带有照明装置的医用镊子[P].中国专利:201620606416.2.2017-01-18.

[5] 李臣玲.一种医用镊子[P].中国专利:201520784204.9.2016-02-10.

[6] 张 雅.医用自动夹紧镊子[P].中国专利:201520963088.7.2016-03-30.

[7] 康 玲,李 静,严 红,等.夹持加固型医用镊子[P].中国专利:201620785722.7.2017-01-18.

(编辑:魏 源)

Abstract: **Objective** To introduce an improved method for collecting the blood of rat by cardiac puncture. **Methods** The study selected 90 Wistar rats, half male and half female, and then the rats were anesthetized by intraperitoneally injecting 10% chloral hydrate solution according to 0.3 mL/kg body weight. Then using three-line positioning method to determine the puncture site, the blood collection needle and blood collection tube were used to collecting the blood, Finally, the blood volume of each rat was recorded. **Results** The success rate was calculated according to the single blood collection of 5 mL or more, and our 90 rats were collected 90 times, the success rate was about 82.2%. After centrifugation, the total serum was about 260 mL, the average serum separation of each rat was about 2.8 mL. **Conclusion** The improved positioning method of heart blood collection is intuitive and easy to learn, and the total volume and quality of blood is high, besides, the new method has a small surgical trauma and a high efficiency, which is worth to extend.

Keywords: three-line positioning method; blood collection from the heart; improved method; rat

大鼠作为实验动物学中应用非常广泛的动物模型,体质量较小,成年大鼠总血容量仅为 10 ~ 16 mL,目前主要的血液采集方法有尾尖采血、眼眶后静脉丛采血、腹主动脉采血、眼球摘除采血、股动脉采血等,这些方法有的操作步骤复杂,难以在大样本的实验中高效进行;有的采血量小,使研究人员不得不增加动物数量来获得足够血样;有的操作血腥粗暴,使大鼠处于应激状态[1-2]。而大鼠血液生化成分呈动态性变化,不同采血时间、方法、粗暴程度等均能影响血液生化改变,造成实验结果的误差[3]。本文介绍的"三线定位"为我校动物实验中心康万荣老师的经验定位方法。该心脏穿刺采血方法无需固定大鼠,依据大鼠体表标志准确定位,使用采血针采血,利用采血管负压收集血液,兼具了以往报道中心脏采血方法的优点,同时最大限度避免了以往方法中的不足,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及器材

健康 SPF 级 Wistar 大鼠 90 只,雌雄各半,体质量(250 ± 15)g,由中国农业科学院兰州兽医研究所实验动物中心提供。普通大鼠颗粒饲料喂养,饮用水为高压灭菌的自来水。实验器材包括:水合氯醛、一次性静脉血样采集针(以下简称采血针)、一次性人体静脉血样采集容器普通管(以下简称采血管)。

1.2 方法

1.2.1 麻醉 用无菌生理盐水将水合氯醛配制成 10% 水合氯醛溶液,按体质量 0.3 mL/kg 行腹腔注射麻醉。

1.2.2 三线定位 大鼠麻醉成功后,无需固定,仰卧位放于铺巾上,使其处于自然状态。沿大鼠腋窝下皱襞向大鼠腋前线与前正中线做一条垂线(前正中线为平行于胸骨正中方向所做的垂直线,腋前线为通过腋窝前皱襞,沿前侧胸壁向下的垂直线),分别与两条线相交,在两个交点的中点区域,术者可用食指指腹扪及心脏搏动最强烈的位点即为进针点(图 1a)。

1.2.3 采血针采血 在进针点区域脱毛后用碘伏消毒,术者右手持采血针针柄,于进针点处沿垂直于大鼠胸腔弧度切线的角度缓缓进针。进针过程中感觉到针体随着大鼠心脏搏动出现摆动感时即表明接近心脏,此时应注意观察采血针软管与金属针体交接处有无回血,无回血则继续进针寻找心脏,如有回血则表明针尖已刺入心脏,此时常常可见采血针软管与金属针体交界处的血液液面随着大鼠心脏搏动的力量上下起伏波动(图 1b)。

1.2.4 利用采血管的负压收集血液 穿刺成功后,术者左手持采血管,右手轻轻放开采血针针柄,迅速将采血针尾部穿入采血管中,血液借助采血管的负压被吸入采血管中(图 1c ~ d)。颈椎脱臼处死大鼠,统一进行无害化处理。记录每只大鼠采血量并进行统计分析。



a:应用三线定位法确定进针位点;b:利用采血针穿刺采血,注意观察回血;c:穿刺成功后迅速将采血针尾部穿入采血管中;d:利用采血管负压收集血液

图 1 三线定位法采血流程图示

2 结果

单只大鼠采血量最高达6 mL以上,以单只大鼠采血量达5 mL或以上为终末次采血成功计算成功率,90只大鼠共计采血90次,成功率约为82.2%,离心后血清总量约为260 mL,平均每只大鼠分离血清约为2.8 mL(图2)。近两年,本课题组将该心脏采血方法应用于多项需要采集大鼠血清进行相关指标检测的实验中,总计采血500余次,成功率均较高,采血量完全满足实验需求,手法熟练后,平均每分钟可完成2只大鼠的采血。

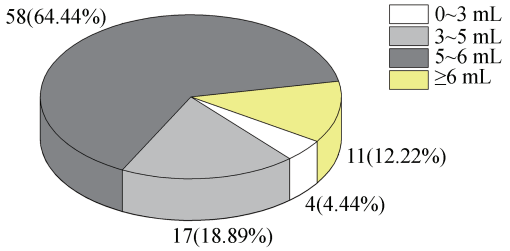


图2 各采血量大鼠数量及所占比率[只(%)]

3 讨论

大鼠作为医学研究中使用最普遍的实验动物,其血样采集方法已成为实验研究人员最基本、最重要的技能之一。不同的采血方法各有优缺点[4],心脏穿刺采血较其他血液采集方法,如尾尖采血、眼眶后静脉丛采血、腹主动脉采血、眼球摘除采血、股动脉采血等,具有创伤小、采血量大、血液标本质量高、不易发生溶血等优点,其定位方法有心尖部垂直穿刺、剑突下缘进针等。但由于正常成年大鼠心率极快,可达每分钟216~600次[5],这使得大鼠心脏搏动点和进针位点难以准确定位,严重降低了心脏穿刺采血的成功率。本文介绍的心脏采血技术操作简便,"三线定位"的方法直观易学,且采血量多、血液质量高,同时创伤小、效率高,在倡导动物福利方面也有积极意义。

要掌握好本方法需注意以下几点:①麻醉不必太深。麻醉是决定手术成败、动物存活与远期观察能否实现的关键,同时麻醉也会引起实验动物本身机能的变化[6],麻醉药物浓度过高易引发实验动物呼吸系统、循环系统功能障碍,甚至导致机体形态、功能的不可逆性损伤[3]。因此正确选择麻醉药物、准确选定麻醉剂量对确保实验动物度过复杂手术危险期进而成功完成实验目的有举足轻重的作用[7]。目前常用于大鼠麻醉的药物有速眠新、水合氯醛、戊巴比妥钠等,研究表明速眠新组大鼠进入麻醉期后,呼吸及心率均变慢[8-10],可能是速眠新Ⅱ所含二甲苯胺噻唑对呼吸、心脏传导系统的抑制作用导致。戊巴比妥钠组大鼠在麻醉潜伏期内可见较剧烈的四肢强直、痉挛等表现,虽然进入深度麻醉期后上述情况消失;但其恢复期长,易导致大鼠死亡。水合氯醛组大鼠麻醉过程平稳,虽然在麻醉早期对大鼠呼吸频率有一定抑制,但随着麻醉时间延长,其抑制作用逐渐减弱。本方法操作迅速,只需保证实验动物在短时间安静不动即可,因而无需深度麻醉,我们采用10%水合氯醛0.3 mL/kg腹腔注射麻醉,现配现用,方便快捷。②采血体位自然。经解剖观察,采用"三线定位"采血成功的大鼠其进针位点对应的解剖位置为大鼠心尖部略上方。采血时务必使大鼠处于仰卧位自然体位,如大鼠体位不正引起胸廓牵拉,则容易定位不准,导致穿刺失败。③使用采血针及采血管收集血液。有研究报道使用注射器收集血液[1,11-12],我们发现在实际操作中,注射器针头进入心脏后常常为了验证是否准确穿刺而边进针边反复回抽,这时注射器不仅不利于调节针头方向而且容易损伤心脏,而使用采血针穿刺、利用采血管负压收集血液则较容易避免此类问题。

此外,据报道,大鼠红细胞每45~68 d更新一代,一次性失血总血容量的30%,1~2周内可以恢复[13]。在需要多次重复采血的实验中,我们控制单只大鼠每次采血量在3~5 mL,则大鼠一般在麻醉后2 h左右苏醒,正常活动、饮食,2周后可重复采血。

[参考文献]

[1] 金 玮,杨安怀,邢怡桥. 大鼠心脏穿刺采血方法的改进[J]. 微循环学杂志,2006,16(2):53-55.
[2] 贺争鸣. 实验动物福利与动物实验科学[M]. 北京:科学出版社,2011:3-105.
[3] 邹移海. 实验动物学[M]. 北京:科学出版社,2012:85-86.
[4] 王明丽,张 晶,王耀辉,等. 大鼠多次采血常用的三种方法探讨[J]. 实验动物科学,2013,30(4):43-45.
[5] 方宜业. 医学实验动物学[M]. 北京:人民卫生出版社,1995:223-225.
[6] 胡同增. 实验外科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:88-102.
[7] 赵玉军,王云鹤,崔成子. 速眠新与异戊巴比妥钠对大鼠的麻醉试验[J]. 黑龙江畜牧兽医,1993,11:35-37
[8] 钟 渝,孙丹宁. 不同麻醉方法对SD大鼠麻醉效果的比较[J]. 西南国防医药,2014,24(11):1161-1163.
[9] 吴曙光,钱 宁. 速眠新在实验动物麻醉中的应用[J]. 贵阳中医学院学报,2007,29(1):58-60.
[10] 李志勇,孙建宁,张硕峰. 水合氯醛和戊巴比妥钠对SD大鼠麻醉效果的比较[J]. 四川动物,2008,27(2):299-302.
[11] 周 利,万文俊,刘灵光,等. 改良大鼠心脏穿刺采血方法[J]. 湖北中医学院学报,2009,11(6):46-47.
[12] 金 玮,金化民,盛 晖,等. 剑突下入路的大鼠心脏穿刺采血法[J]. 中华实验外科杂志,2005,22(12):1589.
[13] 施新猷. 医用实验动物学[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1989:461-462.

(编辑:周小林)