技术与方法 文章编号:0253-3626(2011)09-1077-04

小型猪用生物拉链的生物相容性评价

余琛琳,刘志学,马 雷,蔡丽萍,徐 晨,崔淑芳
(第二军医大学训练部实验动物中心,上海 200433)

【摘 要】目的:研究设计小型猪腹壁拉链动物模型用生物拉链,并检测、评价其生物相容性。方法:结合小型猪体型和生活习性特点、以及动物外科手术实验要求,设计生物拉链外形,并依据国家标准(GB/T 16886.10-2005/ISO 10993-10:2002),采用皮肤刺激性试验和皮肤致敏试验测定其生物相容性。结果:生物拉链具备操作简便、节省手术操作时间、减少创口感染等诸多优点,并成功获得国家知识产权专利(专利号:200920207646.1);皮肤刺激性试验未出现皮肤刺激反应;皮肤致敏试验未出现皮肤致敏反应。结论:生物拉链设计合理,具有良好的生物相容性,为小型猪腹壁拉链模型动物在教学、科研和临床中的推广应用奠定了良好的基础。

【关键词】生物拉链;皮肤刺激;皮肤致敏;生物相容性
【中国图书分类法分类号】R-332 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-04-11

Evaluation for biocompatibility of the biological zipper for the miniature pig

YU Chen-lin, LIU Zhi-xue, MA Lei, CAI Li-ping, XU Chen, CUI Shu-fang
(*Laboratory Animal Center, Training Department, the Second Military Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To design the biological zipper for the animal model of abdominal wall zipper of the miniature pig and test its biocompatibility. *Methods*: The shape of the biological zipper was designed in line with the size and living habits of the miniature pig, and the demands for animal surgery. According to the series standards of GB/T16886.10-2005, the skin irritation and the skin sensitization experiments were carried out on miniature pigs. *Results*: The constructed biological zipper was easy to operate, could save operation time and reduce wound infections, and it has successfully obtained the state intellectual property patent (patent number: 200920207646.1). No irritation on the integral or damaged skin of miniature pig was observed. Sensitization effect on the skin of miniature pig was not found. *Conclusion*: The biological zipper with reasonable design and satisfactory biocompatibility lays a good foundation for the animal model of abdominal wall zipper of the miniature pig in teaching, research and clinical application.

【Key words】biological zipper; skin irritation; skin sensitization; biocompatibility

小型猪作为一种实验动物,在医学教学和科学研究中的应用越来越受到重视。小型猪同人类在解剖学、生理学等方面极其相似,广泛应用于皮肤[1]、心血管系统[2]、消化系统[3]、泌尿系统[4]、免疫系统[5]等的研究,在药物毒理学和异种脏器移植领域的应用也在迅速增长。与其他实验动物相比,小型猪多种生理指标均与人类相似,是进行人类疾病研究的一种良好的模型动物。

在医学教学和科学研究中,经常进行实验动物的反复开腔手术;操作结束后,以传统的方法如丝线缝合创面,会引起动物疼痛,也容易引起感染,对动物造成极大伤害,不利于教学和科研的进行,影响教学效果和科研结果。目前,有关实验动物用生物型拉链鲜有相关技术的研究和应用,因此,很有必要进行相关的基础研究。本研究拟定制作生物拉链用于制备小型猪腹壁拉链模型,以期为连续治疗和某些医学科研及教学中需要进行反复开腔手术提供理想的解决方法,提供较传统的有创皮肤闭合方法更为合理、有效的解决方案,也为以小型猪为实验动物进行的人类脏器相关研究创造更为广阔的前景。

作者介绍:余琛琳(1981-),女,讲师,硕士,
研究方向:人类疾病动物模型。
通信作者:崔淑芳,女,教授,Email:sfcui@smmu.edu.cn。
基金项目:上海市科技发展基金资助项目(编号:08140901400,09140903100)。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 生物拉链材料 医用无菌纱布、医用无菌硅胶、聚酯纤维、医用粘合剂、医用缝线、塑料拉链和拉锁等。

1.1.2　实验动物　普通级巴马小型猪 15 只，雌雄各半，由上海妙迪生物科技有限公司[合格证号：SCXK（沪）2005-0002]提供，体重 15 kg 左右，4 月龄，饲养于第二军医大学实验动物中心普通级饲养室内[合格证号：SYXK（沪）2007-0003]。

1.2　生物拉链外形设计

结合小型猪的体型和生活习性特点进行生物拉链外形的设计，包括拉链和拉链固定翼的外形、分层和固定方法；在拉链外侧添加侧流孔，用于引流渗出液，将有助于减少动物的感染几率。

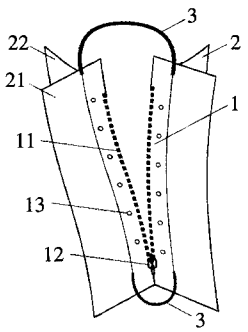


图 1　生物拉链外形模式图

1.3　生物拉链皮肤刺激性试验

1.3.1　单次接触试验[6]　取 6 只小型猪，雌雄各半，随机分为完好皮肤组和破损皮肤组，每组 3 只，采用同体左右侧自身对比法设实验组和对照组。试验前 24 h 将小型猪背部脊柱两侧被毛对称除去 2 块，每块去毛面积 5 cm × 5 cm，确定皮肤健康无损伤方可用于试验。破损皮肤组用砂纸磨至渗血为度用于试验。将生物拉链各组成部分包括纱布、硅胶、拉链和拉锁等受试物剪成小块铺于小型猪一侧皮肤表面，并以 2.5 cm × 2.5 cm 的一层灭菌玻璃纸和两层灭菌医用纱布覆盖接触部位，再以医用无刺激性胶布和绷带加以封闭、固定，使受试物能很好地接触皮肤。另一侧皮肤不做任何处理，仅以 2.5 cm × 2.5 cm 的一层灭菌玻璃纸和两层灭菌医用纱布覆盖皮肤，再以医用无刺激性胶布和绷带加以封闭、固定。动物持续接触受试物 6 h 后，除去敷贴物用温水清洁接触部位并拭干，按照皮肤刺激反应评分标准[7]（见表 1），分别观察记录除去敷贴物后 1、24、48 h 和 72 h 各接触部位皮肤红斑和水肿反应情况并评分，确定原发性刺激指数；并按照刺激反应评分标准[7]（见表 2）进行刺激强度评价。

表 1　皮肤刺激反应评分标准

红斑和焦痂	分值	水肿	分值
无红斑	0	无水肿	0
极轻微红斑（勉强可见）	1	极轻微水肿（勉强可见）	1
清晰红斑	2	清晰水肿（肿起，不超出区域边缘）	2
中度红斑	3	中度水肿（肿起约 1 mm）	3
重度红斑（紫红色）至焦痂形成	4	重度水肿（肿起超过 1 mm，并超出接触区）	4

表 2　皮肤刺激强度评价标准

平均分值	评价
0~0.4	极轻微
0.5~1.9	轻度
2.0~4.9	中度
5.0~8.0	重度

1.3.2　多次接触试验[8]　单次接触试验结束后 72 h，6 只小型猪受试物封闭、固定等操作同上处理，连续 7 d，于末次接触后，按照表 1 观察记录除去敷贴物后 1、24、48 h 和 72 h 各接触部位皮肤红斑和水肿反应情况并评分，确定累积刺激指数；按照表 2 进行刺激强度评价。

1.4　生物拉链皮肤局部致敏试验

9 只小型猪随机分为 3 组，即试验组 3 只、阳性对照组 3 只、空白对照组 3 只。试验前 24 h 将小型猪背部脊柱左侧被毛去除，去毛面积为 5 cm × 5 cm。

诱导：将生物拉链各组成部分包括纱布、硅胶、拉链和拉锁等受试物剪成小块铺于试验组动物左侧皮肤表面；将 1% 2,3-二硝基氯苯 0.2 ml 敷于阳性对照组左侧皮肤表面；空白对照组动物左侧皮肤不做任何处理。3 组均以 2.5 cm × 2.5 cm 的一层灭菌玻璃纸和两层灭菌医用纱布覆盖接触部位，再以医用无刺激性胶布和绷带加以封闭、固定，使受试物能很好地接触皮肤。小型猪与受试物持续接触 6 h 后除去敷贴物，每周重复操作 3 次（周一、三、五），持续 3 周。

激发：最后 1 次诱导贴敷后 13 d，将小型猪背部脊柱右侧被毛去除，去毛面积各 5 cm × 5 cm。第 2 天，试验组、阳性对照组和空白对照组操作同上进行激发。动物与受试物均持续接触 6 h，去除敷贴物后 48 h，按照 Magnusson 和 Kligman 分级标准[9]（见表 3）评价试验部位皮肤红斑和水肿反应程度。

表 3　Magnusson 和 Kligman 分级

致敏敷贴试验反应	等级
无明显改变	0
散发性或斑点状红斑	1
中度融合性红斑	2
中度红斑和水肿	3

2　结　果

2.1　生物拉链外形设计

生物拉链（见图 1）由拉链（1）和拉链固定翼（2）组成，还包括固定拉环（3）。拉链由左右拉链片（11）和拉锁（12）组成，通过拉锁将左右拉链片闭合或打开，左右拉链片上各设有若干引流孔（13），用于引流腹壁创面渗出液以防感染并有利于伤口愈合；拉链固定翼固定于左右拉链片的外侧，包括左、右两侧上翼（21）和下翼（22）各一对，其用于与切口两侧的腹壁缝合将拉链固定于腹壁切口处；固定拉环位于拉链的两端，用于配合拉锁将左右拉链片闭合或打开。

2.2 生物拉链皮肤刺激性试验

生物拉链对小型猪皮肤刺激单次接触试验结果见表 4。经试验观察，生物拉链单次接触刺激后 1、24、48 h 和 72 h，受试局部皮肤没有红斑、水肿等刺激变化，经计算原发性刺激指数为 0.0；对照组原发性刺激指数为 0.0。试验结果表明生物拉链对小型猪皮肤无刺激反应。

表 4 生物拉链对小型猪皮肤刺激单次接触试验结果（n=3）

组别		1 h 评分		24 h 评分		48 h 评分		72 h 评分	
		红斑	水肿	红斑	水肿	红斑	水肿	红斑	水肿
试验组	完好皮肤组	0	0	0	0	0	0	0	0
	破损皮肤组	0	0	0	0	0	0	0	0
对照组	完好皮肤组	0	0	0	0	0	0	0	0
	破损皮肤组	0	0	0	0	0	0	0	0

生物拉链对小型猪皮肤刺激多次接触试验结果见表 5。经试验观察，生物拉链多次接触刺激后 1、24、48 h 和 72 h，受试局部皮肤没有红斑、水肿等刺激变化，经计算累积刺激指数为 0.0；对照组累积刺激指数为 0.0。试验结果表明生物拉链对小型猪皮肤无刺激反应。

表 5 生物拉链对小型猪皮肤刺激多次接触试验结果（n=3）

组别		1 h 评分		24 h 评分		48 h 评分		72 h 评分	
		红斑	水肿	红斑	水肿	红斑	水肿	红斑	水肿
试验组	完好皮肤组	0	0	0	0	0	0	0	0
	破损皮肤组	0	0	0	0	0	0	0	0
对照组	完好皮肤组	0	0	0	0	0	0	0	0
	破损皮肤组	0	0	0	0	0	0	0	0

2.3 生物拉链皮肤局部致敏试验

生物拉链对小型猪皮肤局部致敏试验结果见表 6。在激发接触试验中，2,4-二硝基氯苯阳性对照组，3 只动物均发生不同程度的红斑和水肿，致敏率为 100%，提示对小型猪皮肤有高度致敏性。试验组和空白对照组动物在整个试验期内饮食、饮水等日常行为和外观正常，受试局部皮肤在诱导期和激发期没有红斑、水肿等过敏反应，Magnusson 和 Kligman 等级为 0 级。试验结果表明生物拉链对小型猪皮肤没有局部致敏反应。

表 6 生物拉链对小型猪皮肤局部致敏试验结果

组别	动物编号	Magnusson 和 Kligman 等级
试验组	1	0
	2	0
	3	0
空白对照组	1	0
	2	0
	3	0
阳性对照组	1	2
	2	2
	3	3

3 讨 论

3.1 生物拉链外形设计

本生物拉链外形设计结合了实验动物小型猪的体型和生活习性特点、以及动物外科手术实验要求，基本能满足一般教学、科研和临床试验的需求，并已成功申请国家知识产权专利（专利号：200920207646.1）。

本生物拉链外形设计具有以下优点：拉链操作使用简便，节省了手术操作时间[9,10]；拉链两侧引流孔可随时引流渗出液等，减少了创口感染的发生，有利于创面愈合；拉链的使用，减轻了动物痛苦，确保了实验动物的福利，降低了伤口疼痛引起动物应激而导致的实验结果偏差；同时，减少了实验人员被尖锐手术器械刺伤的意外，降低了手术人员感染人畜共患病的危险；安装了本拉链的小型猪腹壁拉链模型动物，通常在 40 d 内可以反复拉开拉链对其腹腔及腹腔内脏器施行各种手术操作，不仅减少了动物的使用数量，提高了动物的利用率，而且遵循了实验动物福利的"3R"原则，降低了实验成本；本生物拉链还可以根据实验动物的种类、体型和大小的不同制成不同的规格型号，灵活适用于不同实验动物的试验要求。

3.2 生物拉链皮肤刺激性试验

生物相容性是生命体组织对非活性材料产生反应的一种性能，包括组织相容性和血液相容性，应遵循生物安全性和生物功能性原则。生物拉链对宿主小型猪是异物，在体内必定会产生某种应答，或出现排异现象，生物拉链要应用于生命机体小型猪，应使发生的反应被之接受，不产生有害作用，因此，要对生物拉链进行生物相容性评价，以保证实际应用的安全性。在选择生物相容性评价项目时，结合生物材料本身的理化特性、最终在实际应用中的植入部位、使用时间以及使用特点等，选择适当的试验方法是至关重要的。本研究根据生物拉链之用途参照国家标准医疗器械生物学评价第10部分刺激与迟发型超敏反应试验的要求（GB/T 16886.10-2005/ISO 10993-10:2002），进行皮肤刺激性试验测定其生物相容性，观察该拉链对动物的刺激作用，评价其生物相容性，为实际应用提供实验依据，以确保该生物拉链小型猪腹壁拉链动物模型能合理的推广应用。

刺激是不涉及免疫学机制的一次、多次或持续与实验材料接触所引起的局部炎症反应[11]。皮肤刺激是皮肤接触受试物后产生的可逆性炎性病状，其试验目的是评价生物材料受试物在实验条件下产生刺激反应的潜在性。本试验所选用的皮肤刺激试验检测是一种快速而简捷的方法，其试验原则为受试物以一次剂量或多剂量分别涂敷于健康的无破损皮肤和破损皮肤上，试验采用自身对照，根据皮肤反应的特征如红斑（焦痂）和水肿程度来进行评价。试验结果表明本生物拉链对小型猪无皮肤刺激反应，具有较好的生物相容性，为生物拉链在医学领域的进一步应用提供了依据。

3.3 生物拉链皮肤局部致敏试验

致敏反应是机体受同一抗原再刺激后产生的一种表现

技术与方法 文章编号:0253-3626(2011)09-1080-04

颅内埋置绝缘电极的制作和应用

吴广延[1],姚 娟[2],张浪千[2],李 轩[2],方 舟[3],隋建峰[2]
(第三军医大学 1. 学员旅三队;2. 基础部教学实验中心;3. 学员旅四队,重庆 400038)

【摘 要】目的:介绍一种颅内埋置绝缘电极,并应用它建立豚鼠的经典眨眼条件反射和记录豚鼠的小脑间位核场电位。方法:设计和制作了一种颅内埋置绝缘电极,通过手术将其尖端置于豚鼠右侧前额叶和左侧小脑间位核内。分别采用以右侧前额叶电刺激(电刺激组,n=6)或声音作为条件刺激(Conditioned stimulus,CS;声音刺激组,n=6)与角膜氧气流作为非条件刺激(Unconditioned stimulus,CS)配对训练豚鼠 10 d,并记录左侧小脑间位核场电位活动。结果:电刺激组和声音刺激组豚鼠都成功建立了经典眨眼条件反射,并成功记录了小脑间位核场电位活动,另外所有固定在豚鼠颅骨上的电极在实验阶段都没有脱落。结论:该电极尖端和电极夹持部有良好的导电性,电极体具有良好的绝缘性,并能稳定地固定,另外电刺激前额叶作为 CS 也与角膜氧气流配对训练豚鼠也能建立经典眨眼条件反射。

【关键词】电极;电刺激;前额叶;间位核;场电位
【中国图书分类法分类号】Q811.21 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-04-12

Manufacture and application of the intracranial embedded insulated electrode

WU Guang-yan[1], YAO Juan[2], ZHANG Lang-qian[2], LI Xuan[2], FANG Zhou[3], SUI Jian-feng[2]
(*1. the Third Team of Cadet Brigade; 2. Central of Basic Teaching; 3. the Fouth Team of Cadet Brigade, the Third Military Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To recommend a kind of intracranial embedded insulated electrode, and to use it to acquire classical eyeblink conditioning and record field potential of the cerebellar interpositus nucleus in guinea pigs. *Methods*: A kind of intracranial embedded insulated electrode was designed and made. It was fixed into the skull by surgery and the tip of it was in the

作者介绍:吴广延(1988-),男,
研究方向:学习与记忆的神经生物学。
通信作者:隋建峰,男,教授,Email:jfsui2003@yahoo.com.cn。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81070875)。

为组织损伤或生理功能紊乱的特异性免疫反应,是异常或病理性免疫反应。本试验根据生物拉链之用途参照国家标准医疗器械生物学评价第 10 部分刺激与迟发型超敏反应试验为指南,进行皮肤局部致敏试验,具有足够的敏感性,能检测出大部分微弱致敏物,并能准确的预测出中度至重度致敏物,根据受试皮肤反应的特征包括红斑和水肿程度来评价过敏等级。试验结果表明本生物拉链对小型猪无皮肤致敏反应,具有良好的生物相容性。

参 考 文 献

[1] Yabuki A, Kamimura R, Setoyama K, et al. Skin morphology of the Clawn miniature pig[J]. Exp Anim, 2007, 56(5): 369-373.

[2] Zhang H T, Yang Y J, Cheng Y T. Effect of tongxinluo on mini-swine cytokines and myocardial no-reflow in early reperfusion of acute myocardial infarction[J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2009, 29(9): 821-824.

[3] Crismani A G, Bernhart T, Tangl S, et al. Osseointegration of a sub periosteal anchoring device in the minipig mandible[J]. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2008, 133(5): 743-747.

[4] Stampfl S, Stampfl U, Bellemann N, et al. Immunohistochemical characterization of specific inflammatory tissue reactions following embolization with four different spherical agents in the minipig kidney model[J]. J Vasc Interv Radiol, 2009, 20(7): 936-945.

[5] Wang L, Lu X F, Lu Y R, et al. Immunogenicity and immune modulation of osteogenic differentiated mesenchymal stem cells from Banna minipig inbred line[J]. Transplant Proc, 2006, 38(7): 2267-2269.

[6] 赵学芳,刘清芳.新型无纺布防蛀性能和生物性能研究[J].中国血液流变学杂志,2006,16(3):459-461.

[7] 中国国家标准化管理委员会.GB/T16886.10-2005 医疗器械生物学评价第 10 部分:刺激与迟发型超敏反应试验[S].北京:中国标准出版社,2005.

[8] 朱雪涛,王 昕.医用透明质酸锌凝胶临床前生物安全性研究[J].生物医学工程研究,2006,25(3):177-179.

[9] 刘卫红,蒋 丹,陈新华,等.剖宫产术后美肤外科免缝拉链切口的护理[J].中国急救复苏与灾害医学杂志,2009,4(11):919-920.

[10] 侯贻招.免缝拉链在甲状腺手术中的应用[J].第一军医大学学报,2005,25(7):封二.

[11] 刘 睿,李秀梅,战德松.皮肤刺激实验评价自制烤瓷合金的生物相容性[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(19):3674-3676.

(责任编辑:关蕴良)