

大鼠清醒状态下尾静脉注射的快速操作技巧与体会

张 阔,洪寿海²,何芹芹¹,马思宇¹,王凝露¹,李 强³,
王慎军¹,赵 雪¹,郭 义¹

(1. 天津中医药大学实验针灸学研究中心,天津 300193; 2. 浙江省中医院,浙江 310006;
3. 湖南中医药高等专科学校,湖南 412012)

【摘要】 目的 介绍大鼠清醒状态下尾静脉注射的快速操作技巧与体会,提高操作成功率。**方法** 采用自制大鼠束缚衣结合操作者轻按的方法固定大鼠,一人辅助固定,一人穿刺,一人注药,在注射过程中尽量减少对鼠尾的损伤和对大鼠产生的应激,严格规定进针点和穿刺次数,限制一次性最大给药剂量和注射速度,并采取将进针与注射药液的部位分开等方法避免药物污的染和浪费。**结果** 本法操作快速、可靠、稳定、重复性好、动物配合度高。**结论** 本法避免了药物的浪费和污染,对于药物昂贵的尾静脉注射实验此做法尤为推荐。

【关键词】 清醒;大鼠;尾静脉注射

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 12-0081-04

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2016. 12. 016

A quick operating technique and experience of tail vein injection in conscious rats

ZHANG Kuo¹, HONG Shou-hai², HE Qin-qin¹, MA Si-yu¹,
Wang Ning-lu¹, LI Qiang³, WANG Shen-jun¹, ZHAO Xue¹, GUO Yi¹

(1. Research Center of Acupuncture and Moxibustion, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 2. Zhejiang Provincial Hospital of TCM, Zhejiang 310006; 3. Hunan Traditional Chinese Medical College, Hunan 412002)

【Abstract】 Objective To introduce the operation skills of tail vein injection in conscious rats, and improve the success rate of injection. **Methods** The rat was fixed by the operator with a self-made binding clothes, one person assists to fix the rat tail, one person performs puncture, and one person performs injection. During the injection process, we should minimize the injury to the rat tail and the stress caused by operation, strictly limit the needle point, the number of puncture, the maximum dose and injection speed, and to make the needle position away from the injection site to avoid contamination and waste of the drug solution. **Results** The operation method was successfully established and it was fast, stable, with good repeatability and high degree of coordination. **Conclusion** This operation is rapid, reliable and stable, worthy of recommendation, especially for the intravenous injection of expensive drugs.

【Key words】 Conscious rat; Tail vein injection

大鼠作为常用的实验动物,在生物医学研究中 占据着重要的地位。大鼠尾静脉注射是大鼠药理、

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目资助(编号:81330088); 国家自然科学基金资助项目资助(81303025)。

[作者简介] 张阔(1988-),博士,研究方向:经穴的科学基础,Email: zhangkuo1006@qq.com。

[通讯作者] 郭义(1965-),教授,研究员,博士生导师。Email: guoyi_168@163.com。

毒理实验中常用的操作技能,其顺利与否对于实验结果具有重要影响。但大鼠尾静脉较细小,操作比较困难,有时药物难以顺利注入。作者在长期实验过程中,总结出大鼠清醒状态下尾静脉注射的快速操作技巧与体会,现介绍如下。

1 材料和方法

1.1 动物

SPF 级健康雄性 Wistar 大鼠,体重 180 ± 20 g, 6~7 周龄,来源于中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所实验动物中心【SCXK(军)2014-0001】,由中国医学科学院放射医学研究所饲养【SYXK(津)2014-0002】。

1.2 材料

自制大鼠束缚衣,酒精消毒棉球,医用棉球,一次性使用静脉输液针(天津哈娜好医材有限公司,针翼颜色:橙色,产品规格标记:0.5 * 20 TW SB,针管规格:0.5(25G)),一次性注射器,需注射的药液,无菌 PBS 溶液,无粉乳胶手套(图 1)。

1.3 方法

整个操作由 3 人配合完成,分为甲、乙、丙。

1.3.1 大鼠固定、尾静脉消毒:采用自制大鼠束缚衣固定大鼠(图 2),辅助者甲一手将大鼠侧卧位轻按于实验台上,另一手采用拇食二指捏住大鼠尾根固定,注意避开血管,减少大鼠因进针疼痛引起尾巴摆动而影响尾静脉注射。乙负责主要操作,选取大鼠尾巴侧面血管(理由见下文),用酒精棉球擦拭注射部位,达到清洁、消毒、扩张血管的作用。辅助者丙,将需要注射的药液、无菌 PBS 溶液在无菌条件下分别吸入两个不同的一次性注射器,并将吸有无菌 PBS 的注射器与一次性使用静脉输液针连接(图 3)备用。

1.3.2 进针:进针点为大鼠尾尖至尾根部中下 1/3 交界处(理由见下文),操作者(乙)左手拇食二指捏住鼠尾穿刺点两侧,固定并拉直鼠尾,右手持一次性使用静脉输液针(尾端已与吸入无菌 PBS 注射器连接),针尖斜面向上,进针角度小于 15 度,深度为 1-2 毫米,刺入静脉后,再平行静脉进针,此时操作者手下应有滑顺感(图 4),平行进针约 5 毫米后,操作者(乙)左手拇食二指从固定鼠尾穿刺点两侧转而固定上下侧,拇指在上、食指在下,捏住输液针,防止从静脉脱出,右手稍回抽注射器,见回血后,证明穿刺尾静脉成功(图 5),轻推无阻力即可开

始注射药液;若回抽无回血或见回血后轻推有阻力,证明针未刺入尾静脉,可将输液针退回至皮下,进行再次进针,或退针止血重新选择穿刺点消毒后再进针。

1.3.3 注射与止血:尾静脉穿刺成功后,注射药液者(丙)左手捏紧一次性使用静脉输液针软管 A 点,防止液体回流,右手将吸入药液的一次性注射器经 B 点(图 6)刺入,注意勿将软管刺破,刺入后针尖方向应指向输液针刺入方向,然后缓慢推注药液(图 7)。推注完毕后,左手松开折叠的软管,嘱操作者(乙)将无菌 PBS 推注 2 毫升,促进药液吸收入血(图 8)。无菌 PBS 推注完毕后,操作者(乙)左手持医用棉球按压注射点,右手轻缓退针,按压止血 30s 后(图 9),将大鼠放回饲养笼。

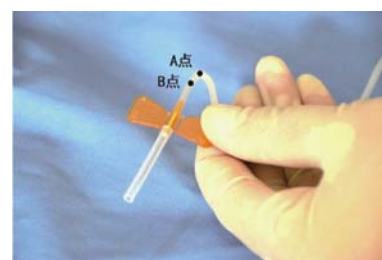
2 结果

我们在实验中总结的大鼠清醒状态下尾静脉注射的快速操作技巧,采用自制大鼠束缚衣结合操作者轻按的方法固定大鼠,一人辅助固定,一人穿刺,一人注药,在注射过程中尽量减少对鼠尾的损伤和对大鼠产生的应激,严格规定进针点和穿刺次数,限制一次性最大给药剂量和注射速度,并采取将进针与注射药液的部位分开等方法避免药物污的染和浪费。此法操作快速、可靠、稳定、重复性好、动物配合度高,希望对实验研究人员提供一定的指导与帮助。

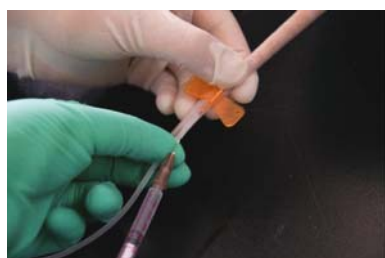
3 讨论

3.1 大鼠固定方法

大鼠在麻醉或应激条件下体内神经-内分泌-免疫网络及其相关物质会产生变化,在一定程度上影响实验结果。因此,在大鼠尾静脉注射过程中,如何在清醒状态下减少对动物产生的应激是需要注意的重要问题之一^[1],对此,在目前的实验研究中,研究者们采取了多种大鼠固定方法,主要包括使用简易自制装置固定(如改装矿泉水瓶或输液瓶^[2-5],用深色布和木板制作装置等^[6]),使用市售固定装置固定(如有机玻璃筒形大鼠固定器等),也有仅使用毛巾、棉纱手套等蒙住大鼠头部后轻按大鼠固定等方法^[7]。然而,有研究显示,对于清醒大鼠的固定,辅助者轻按比使用固定器对大鼠产生的应激较小,且固定器大小若选取不当,可能会对大鼠的四肢、背部、睾丸部位等产生损伤^[8],因此,不使用固定器而采取轻按大鼠固定

**图 1** 实验用品**Fig. 1** Experimental items**图 2** 自制大鼠束缚衣固定大鼠**Fig. 2** Fix the rat with the self-made binding clothes**图 3** 大鼠固定、尾静脉消毒**Fig. 3** Hold the rat, and sterilize the skin**图 4** 进针**Fig. 4** Insert the needle**图 5** 固定输液针,回抽注射器见回血**Fig. 5** Fix the transfusion needle, aspirate, to see if blood appears. back pumping syringe see return blood

注:(A点:针尾下1cm软管折叠处;
B点:软管折叠处上部,即近输液针部)

图 6 药液注射定位**Fig. 6** Location of injection**图 7** 注射药液**Fig. 7** Inject drug**图 8** 无菌 PBS 冲管**Fig. 8** Sterile PBS flushing**图 9** 止血与退针**Fig. 9** Hemostasis and withdrawal

应是清醒大鼠尾静脉注射固定的最佳方法。但是,我们在实验操作中发现,仅用毛巾、棉纱手套等蒙住大鼠头部后轻按大鼠往往难以取得很好的固定效果,影响尾静脉穿刺,因此,本方法采用自制大鼠束缚衣结合操作者轻按的方法,在尽量减少对大鼠产生应激的同时又对起到了很好的固定作用,仅需简单练习,即可掌握给大鼠穿衣的操作方法,熟练后在 1 min 之内即可完成穿衣操作,方便快捷。大鼠束缚衣制作时应选用深色而柔软的布料,增加动物的舒适感。另外,本方法为避免单人操作耗时、不稳定的情况,专门设置一名辅助者辅助固定已穿束缚衣的大鼠,保证了操作的效率及稳定性。

3.2 鼠尾表面除垢及扩张血管

在已往文献中提及的尾静脉注射方法中,常建议用(40~50)℃的温水擦洗鼠尾,以达到清洁鼠尾、扩张血管、便于穿刺的作用^[9-11]。然而,有人认为鼠尾加热会提高大鼠代谢率,影响实验数据,如监测不当还会烫伤鼠尾,导致损伤^[8],可见,温水擦洗不仅操作繁琐耗时,而且可能对鼠尾甚至大鼠的整个生理状态产生一定的影响,不建议使用。而我们在实验过程中发现,用酒精棉球擦拭 2~3 次就可以很好的去除鼠尾表面污垢并使血管充盈,简单快捷,且不影响大鼠生理状态,在此推荐采用。

3.3 穿刺点的选取

大鼠尾静脉有 3 根,左右两侧及背侧各有一根,

均可选取进行尾静脉注射^[12],实验过程中,我们发现两侧静脉较易固定和进针,因此,建议进针部位选取鼠尾两侧静脉,进针点选取鼠尾尖至尾根部的下 1/3^[13],因为这个部位动脉和静脉最为突出,不可太接近尾尖部,以免导致血管产生血栓和炎症,显著减少大鼠血管末梢的血流量^[14]。此外,为减少对鼠尾的损伤,注射点应从尾尖部逐渐移动根部,并左右血管交替穿刺。还应注意,在同一进针点进针时应注意给予足够的时间使注射点鼠尾自身恢复。另外,尽量减少操作失误,大鼠在一个注射时间点内穿刺失误次数不能超过 3 次。

3.4 注射剂量与速度

大鼠静脉注射一次最大给药剂量在 4 mL 左右,且注射速度应不超过 3 mL/min^[13],如注射剂量过多,注射液体的温度应被加热至体温,注射剂量太大或过快会导致心力衰竭、肺水肿。此外,为防止穿刺失败浪费药物,我们采用一次性输液针尾端连接无菌 PBS 溶液进行回血测试,且 1 人穿刺,另 1 人在输液针针尾 1 cm 处注射药液,这样的话,即使出现进针失败或在注射过程中针头脱出血管的情况,均可随时停止注射,重新进针,避免了药物的浪费和污染,对于药物昂贵的尾静脉注射实验此做法尤为推荐。另外,在注射药液完毕后,我们建议向静脉中继续推注 2 mL 无菌 PBS,以促进药液更快更充分的吸收入血。

参考文献:

[1] Conybeare G, Leslie GB, Angles K, et al. An improved simple technique for the collection of blood samples from rats and mice

[J]. Lab Anim. 1988, 22(2): 177-182.

- [2] 田顺亮,钱学华. 大鼠断尾取血固定装置的设计及取血的方法 [J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(7): 419-421.
- [3] 刘文忠,孙同柱,付小兵. 一种简易的大鼠固定装置 [J]. 实验动物科学与管理, 2003, 20(3): 52-53.
- [4] 袁林祥,刘湘丹,徐玉琴,等. 自制大鼠固定装置在大鼠断尾采血中的应用 [J]. 局解手术学杂志, 2015, 24(1): 27-29.
- [5] 刘保新,陈廖斌,汪晖. 介绍一种简易的大鼠固定装置 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(3): 75-76, 83.
- [6] 黄月玲,叶炳飞,戴丽军. 一种简易大鼠固定装置的制作和使用方法 [J]. 中国实用医药, 2007, 2(22): 62-63.
- [7] 陈育尧,黄雪玲. 大鼠尾静脉注射法 [J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(6): 1312.
- [8] Tail vein [M/OL]. [2016-04-15]. <https://www.nc3rs.org.uk/rat-tail-vein-non-surgical>.
- [9] 周素凤. 实用的大鼠尾静脉注射方法与经验 [J]. 新乡医学院学报, 1998, 15(4): 51-52.
- [10] 徐叔云,主编. 药理实验方法学 [M]. 人民卫生出版社, 2002:182.
- [11] 彭艳,姚吉龙. 大鼠尾静脉注射方法的比较 [J]. 海南医学, 2012, 23(2): 112-113.
- [12] 秦川,主编. 实验动物学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 2010:260-262.
- [13] Diehl KH, Hull R, Morton D, et al. European Federation of Pharmaceutical Industries Association and European Centre for the Validation of Alternative Methods. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes [J]. J Appl Toxicol. 2001, 21(1): 15-23.
- [14] Staszky C, Bohnet W, Gasse H, et al. Blood vessels of the rat tail: a histological re-examination with respect to blood vessel puncture methods [J]. Lab Anim. 2003, 37(2): 121-125.

[修回日期]2016-07-29