

新型实验大鼠尾静脉穿刺用途四联固定器 的设计及其效用评价

鲍礼智,郭志福,沈 明,李 然,陈 挺,余云华,赵仙先,郑 兴

(第二军医大学附属上海长海医院心血管内科,上海 200433)

【摘要】 目的 改进清醒大鼠固定技术,提高成组实验大鼠尾静脉穿刺效率。方法 采用聚苯乙烯、聚氯乙烯材料自制四联大鼠固定器。40 只成年雄性 SD 大鼠(262±15g)随机分成 A、B 两组,每组 20 只,A 组使用自制四联固定器,B 组使用市售有机玻璃大鼠固定器。在清醒状态下由单人操作行尾静脉穿刺并注射生理盐水 200 μL,完成大鼠固定、尾静脉水浴加温、穿刺注射、压迫止血的全过程。观察并记录穿刺时间、总操作时间、大鼠躁动次数等指标。结果 A组一次穿刺成功率 80%,穿刺时间(9.25±3.70)s,总操作时间(47.05±4.65)s,大鼠躁动次数(1.4±0.8)次;B组一次穿刺成功率 85%,穿刺时间(9.95±4.38)s,总操作时间(122.45±7.71)s,大鼠躁动次数(2.5±1.2)次。结论 自制四联大鼠固定器结构简单,使用方便,明显缩短尾静脉穿刺点操作时间,提高了大鼠配合度及穿刺操作效率,是一种安全有效的设计。

【关键词】 大鼠;尾静脉穿刺;固定装置;方法

【中图分类号】R-332 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2016)11-0077-04

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2016. 11. 014

A four combined holder for tail vein puncture in conscious rats: design, construction and feasibility testing

BAO Li-zhi, GUO Zhi-fu, SHEN Ming, LI Ran, CHEN Ting, YU Yun-hua, ZHAO Xian-xian, ZHENG Xing. (Department of Cardiology, Changhai Hospital, Shanghai 200433, China)

(Abstract) Objective To improve fixation methods and tail vein puncture efficiency in conscious rats group. **Methods** A new four combined holder was designed and made of materials of polystyrene and Polyvinyl chloride. SD rats were randomly divided into A group and B group, twenty rats in each group. Rats in group A fixed by a self-made four combined holder, and rats in group B fixed by common fixture made of organic glass which was commercially available. Then the tail vein injection experiment was conducted respectively by one people. **Results** It took (9.25 ± 3.70) seconds in group A and (9.95 ± 4.38) seconds in group B to finish the experiment from puncture to see blood return in syringe, and took (47.05 ± 4.65) seconds in group A and (122.45 ± 7.71) seconds in group B to finish the experiment from capture to finish the injection. Futhermore, it was observed (1.4 ± 0.8) times in group A and (2.5 ± 1.2) times in group B with agitation. **Conclusions** The new four combined rat holder has simple structure, being easy to use, which could significantly shorten the tail vein puncture time and improve the efficiency of the cooperation degree of rats and puncture operation.

[Key words] Rat; Tail vein puncture; Fixtures; Method

[[]基金项目]国家自然科学基金(81470517)。

[[]作者简介]鲍礼智(1980-),男,博士生,研究方向:分子心脏病学研究。

[[]通讯作者]郭志福(1978 –),男,副教授,研究方向:心血管活性多肽研究,E-mail: guozhifu@126.com;郑兴(1957 –),男,教授,研究方向:分子心脏病学研究,E-mail: zhengxing57530@163.com。

在大鼠实验中,尾静脉穿刺采血或注射是常用的方法,具有损伤小、应激反应少、短期内可多次重复等优势。为了减少对实验数据的影响和方便实验人员的操作,一般需要保持大鼠的清醒状态并将其固定良好,将鼠尾引出后进行穿刺操作。目前市场上的大鼠固定器大多是有机玻璃或不锈钢材质制成,单体结构,固定位点较多,每次实验都要重复同样的固定操作,增加了操作人员的劳动强度,也浪费了实验时间。笔者根据大鼠自身习性,设计了一种简单易操作的新型四联固定装置,通过应用这种装置进行尾静脉穿刺操作,可以满足成组大鼠实验中快速、批量、安全、妥当的尾静脉穿刺要求,使操作步骤更加流畅。

1 材料和方法

1.1 大鼠固定装置的设计

本实验所涉及的大鼠固定装置,由固定盒、四 个周径可调式纳鼠筒、固定件和加温瓶组成,固定 盒采用聚丙乙烯泡沫材料,为上端开口的中空长方 体结构(附带遮光作用的盖子);纳鼠筒为后端开口 的中空结构,前段呈圆锥状设有多个圆形通气孔, 后段呈圆柱状。纳鼠筒两两上下对齐,后端开口朝 向一致地设置于固定盒内部,纳鼠筒后端与固定盒 侧壁相抵、前端通过固定件可拆卸地固定在固定盒 内部。固定盒的侧壁、对应成对纳鼠筒后端开口的 中间位置设有鼠尾引出槽,仅将鼠尾暴露在固定盒 外供实验者操作,既保证了安全,又排除了干扰,提 高了穿刺效率。加温瓶设置于固定盒开有鼠尾引 出槽的侧壁的外侧。固定盒开设鼠尾引出槽的侧 壁上沿设置有若干凹槽,可以用于放置1~2 mL体 积的注射药物容器,例如 EP 管。纳鼠筒外侧套有 卡箍、通过卡箍的缩放调节纳鼠筒的大小。固定件 为两根通过螺纹连接的内套管和外套管,内套管一端固定在纳鼠筒的前端,外套管通过旋转伸缩与固定盒侧壁相抵。固定件还可以采用简单的合适大小的聚苯乙烯材料方块或压缩弹簧(图1)。

1.2 大鼠尾静脉穿刺注射方法

1.2.1 实验对象及分组

10~12周 SPF 级雄性成年 SD 大鼠 40 只,体重 260±15 g,均购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司【SCXK(沪)2013-0016】。所有操作均在第二军医大学实验动物中心小动物屏障实验室进行【SYXK(沪)2012-0003】,并按实验动物使用的 3R原则给予人道的关怀。适应性饲养 1 周后,随机分成 A、B 两组,每组 20 只,A 组使用上述自制四联固定器,B 组使用市售有机玻璃大鼠固定器(编号YXGDJ,购自上海元象医疗器械有限公司)(图 2)。

1.2.2 穿刺及尾静脉注射步骤

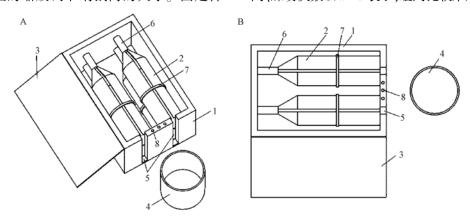
在大鼠清醒状态下实验人员单人操作,采用29G注射器(舒锐牌一次性使用无菌胰岛素注射器,美国BD公司生产)行尾静脉穿刺并注射生理盐水200 uL,完成大鼠固定、尾静脉45℃水浴加温(30s)、左侧尾静脉消毒穿刺注射、无菌纱布压迫止血(60s)的全过程。

1.2.3 观察指标

穿刺时间:从针尖刺入皮肤到可见回血的时间;操作时间:从捕捉大鼠到放回鼠笼的时间;大鼠躁动次数:操作过程中大鼠出现尖叫、尾巴发生矢状面位移大于2 cm 或冠状面轴向扭动大于90 度的次数。

1.4 统计学处理

应用 SPSS10.0 统计学软件,1 次穿刺成功率以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。穿刺时间、操作时间、躁动次数以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。



注:1:固定盒;2:纳鼠筒;3:遮光盖;4:加温瓶;5:鼠尾引出槽;6:固定件;7:卡箍;8:EP管凹槽。

图1 四联固定器结构示意图

Note: 1: fixed-box; 2:rat-holding barrel; 3: shading cover; 4: warming bottle; 5:tail-crossing grooves; 6: fixed part; 7: lathedog; 8:nests of EP tubes.

Fig. 1 Sketch map of a four combined holder

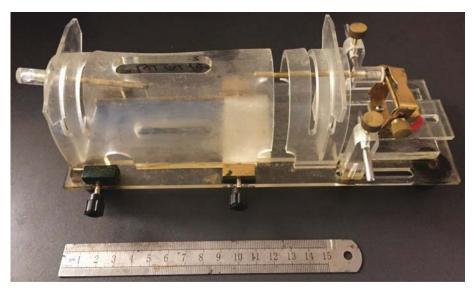


图 2 市售单体大鼠固定器

Fig. 2 Saled single fixture made of organic glass

2 结果

穿刺时间: A 组一次穿刺成功率 80%, 穿刺时间(9.25±3.70)s, 总操作时间(47.05±4.65)s, 大鼠躁动次数(1.4±0.8)次; B 组一次穿刺成功率 85%, 穿刺时间(9.95±4.38)s, 总操作时间(122.45±7.71)s, 大鼠躁动次数(2.5±1.2)次。一次穿刺成功率和穿刺时间两组间比较无显著统计学差异(P>0.05), 躁动次数和总操作时间 A 组明显低于 B 组,统计学差异显著(P<0.01)。

3 讨论

大鼠尾静脉穿刺是动物实验中静脉注射给药和 采血的常用方法[1-3]。固定牢靠、配合良好、操作流 畅是穿刺顺利的基本条件。目前市售及文献报 道[4-7]的大鼠固定器多为单体结构,存在固定节点 多、操作步骤繁琐等不足,普遍重视固定牢靠而忽略 实验者的操作体验。大鼠尾静脉主要有3条,分别位 于背侧和左右两侧[8-9],穿刺前水浴加温有利于提高 穿刺成功率,穿刺后局部压迫有利于保护血管。本研 究自制的四联固定器,纳鼠筒大小及松紧度通过卡箍 来调节,采用圆形设计便于穿刺时根据选取的静脉位 置旋转微调,避免操作中鼠尾拧扭,使大鼠的体位更 舒适,更配合穿刺操作。四联结构有利于集中进行鼠 尾加温、静脉穿刺,穿刺结束可用无菌纱布覆盖穿刺 部位并卡压在鼠尾引出槽中,起到压迫止血、防止药 物回渗等作用,极大地缩短了操作时间,简化了操作 流程,同时利用大鼠群居优势和喜暗特性,采用四联 结构和遮光设计,进一步提升了大鼠的配合度,从而 更大程度减少固定及穿刺操作带来的应激反应[10]。 本实验以尾静脉注射为效用评价对象,同样用于尾静脉穿刺采血亦十分便捷,有文献报道单次最多可采集到 1.5 mL 血液^[3]。

总之,通过对总操作时间及大鼠配合度的比较,证实了自制尾静脉穿刺用途四联固定器的优化作用,有利于降低穿刺注射的操作强度,提高效率,在动物实验操作中有较好的应用价值。

参考文献:

- [1] Furuhama K, Onodera T. A simple technique for repeated blood collection from the tail vein of the rat[J]. J Toxicol Sci, 1983, 8
 (2): 161-163.
- [2] Omaye ST, Skala JH, Gretz MD, et al. Simple method for bleeding the unanaesthetized rat by tail venipuncture [J]. Lab Anim, 1987, 21(3): 261-264.
- [3] Lee G, Goosens KA. Sampling blood from the lateral tail vein of the rat[J]. J Vis Exp, 2015, (99): e52766.
- [4] 王巧. 一种简便实用的多功能大鼠固定器[J]. 中华实验外科杂志, 2013, 30(7): 1532-1532.
- [5] 嵇承栋. 实验大鼠固定装置的设计及尾静脉注射的方法研究 [J]. 中国基层医药, 2013, (22): 3371 3372.
- [6] 郭洁汝. 一种新型大鼠固定装置的制作与使用方法[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(8): 76-78.
- [7] 刘保新. 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.
- [8] Krinke G. The laboratory rat[M]. San Diego, Calif.: Academic Press, 2000;491.
- [9] Staszyk 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.
- [10] Vahl TP, Ulrich-Lai YM, Ostrander MM, et al. Comparative analysis of ACTH and corticosterone sampling methods in rats [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005, 289(5); E823 – 828.

[修回日期]2016-07-10