



一氧化碳、亚硝酸盐中毒动物 解救时间窗的探究

陆源，齐宏妍，梅汝焕

浙江大学



实验的背景

◆ 一氧化碳中毒

- 我国每年CO中毒致死的人数约为1500人
- CO无色、无味，人在不知不觉中中毒
- 吸入气中CO浓度为0.1%即可致人死亡



实验的背景

◆CO中毒的急救

- 立即将中毒者转移到空气新鲜处
- 保持呼吸道通畅
- 供氧：吸氧、高压氧，使用呼吸中枢兴奋药或用人工呼吸机通气
- 改善脑组织代谢，防治脑水肿
- 防治并发症，尤其是预防迟发性脑病



实验的背景

◆ 亚硝酸盐中毒

- 每年都会发生群体性亚硝酸盐中毒的事件
- 亚硝酸盐物理性状与食盐相似，容易引起误食，食用硝酸盐、亚硝酸盐含量高的食品（腌制）、水等导致中毒
- 中毒剂量0.3~0.5g，致死量约3g



实验的背景

◆亚硝酸盐中毒的急救

- 催吐、洗胃、导泻
- 药物治疗：
 - 1%美兰溶液5~10mL，用20~40mL的25%葡萄糖溶液稀释，静脉注射
 - 1%美兰按1~2mg/kg体重剂量，用50~200mL的5%葡萄糖液稀释，静脉滴注
- 吸氧



问题探究

中毒物质	临床急救
CO	脱离中毒环境
	吸氧
	高压氧舱
	其他治疗
亚硝酸盐	排出有毒消化物
	美兰解毒
	吸氧
	其他治疗

中毒者被成功解救的关键？



问题探究

中毒者被成功解救的关键？

中毒物质	临床急救	解救关键
CO	脱离中毒环境	√
	吸氧	
	高压氧舱	
	其他治疗	
亚硝酸盐	排出有毒消化物	
	美兰解毒	√
	吸氧	
	其他治疗	



问题探究

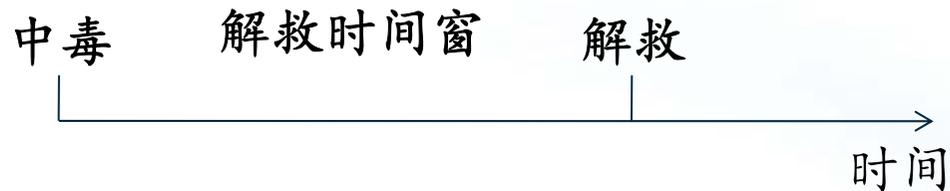
中毒者被成功解救的关键？

中毒物质	临床急救	解救关键	解救成功的关键
CO	脱离中毒环境	√	中毒至解救的时间
	吸氧		
	高压氧舱		
	其他治疗		
亚硝酸盐	排出有毒消化物		
	美兰解毒	√	中毒至解救的时间
	吸氧		
	其他治疗		



问题探究

中毒者被成功解救的关键？



解救临界时间：在解救临界时间前解救的成功率 $\geq 90\%$
，在解救临界时间后的解救的成功率 $< 90\%$

解救时间窗：中毒到解救临界时间的时间段



一氧化碳、亚硝酸盐中毒动物解救时间窗的探究
实验设计



二、查阅实验设计资料

1、实验对象

CNKI文献数据库，主题：CO中毒 and

时间	小鼠	大鼠	家兔
2014	2	11	0
2013	1	3	0
2012	3	11	0
2011	2	9	3
2010	1	4	2

CNKI文献数据库，主题：亚硝酸盐中毒 and

时间	小鼠	大鼠	家兔
2014	1	0	2
2013	0	1	0
2012	2	0	0
2011	1	1	0
2010	0	0	0



二、查阅实验设计资料

1、实验对象

小鼠

- 对CO、亚硝酸盐敏感，反应稳定
- 繁殖周期短，价格便宜



孙敬方.动物实验方法学.北京, 人民卫生出版社,
2001: 467



浙大醫學院

二、查阅实验设计资料

2、处理因素和方法

(1) CO中毒及解救

- CO中毒：动物置于一定浓度的CO环境中或给动物吸入一定浓度的CO
- 解救：小鼠CO中毒后将其迁移到大气环境，或吸氧，或高压氧仓，其他药物治疗



二、查阅实验设计资料

2、处理因素和方法

(2) 亚硝酸盐中毒及解救

- 亚硝酸盐中毒：小鼠腹腔注射10mg亚硝酸钠^[1]；大鼠亚硝酸盐按60mg/kg体重剂量灌胃，每天1次连续15天^[2]
- 解救：小鼠中毒后注射低浓度美兰，注射维生素C，……

[1]陆源，等.生理科学实验教程 [M].第二版.杭州：浙江大学出版社，2012：225-227.

[2]王久涛，等.亚硝酸盐中毒抑制小鼠成体神经发生[J].中国兽医学报.2014，34(4):641-646.



二、查阅实验设计资料

3、实验效应

- 动物的存活率或死亡率
- 动物的黏膜、血液颜色
- 碳氧血红蛋白（一氧化碳血红蛋白），高铁血红蛋白
- 神经系统：脑水肿、细胞凋亡、运动功能、学习记忆，...
- 循环系统：心脏功能、形态变化，心肌细胞功能、形态，...
- 呼吸系统：肺组织的结构、功能变化，...
- 机体的应急反应
-



二、查阅实验设计资料

4、统计学设计

- 对照：实验对照组，相互对照（多个水平）
- 样本数：小动物、计数资料（存活率），计量资料
- 实验设计：配对设计，配伍组设计
- 数据表示：率 \pm 标准误，平均值 \pm 标准差
- 统计分析：卡方检验或Fisher确切概率法，方差检验



三、实验设计

一氧化碳、亚硝酸盐中毒动物解救时间窗的探究

1、实验对象：小鼠

2、处理因素和水平：

(1) CO中毒和解救

中毒：2%CO 环境

解救：大气环境

(2) 亚硝酸盐中毒和解救

中毒：亚硝酸钠10mg/只

解救：美兰2mg/只



三、实验设计

一氧化碳、亚硝酸盐中毒动物解救时间窗的探究

3、解救时间：

- (1) CO中毒解救：小鼠在2%CO的环境中2~4min后脱离2%CO的环境进入大气环境
- (2) 亚硝酸盐中毒解救：小鼠腹腔注射亚硝酸钠后的3~13min腹腔注射2mg美兰



三、实验设计

一氧化碳、亚硝酸盐中毒动物解救时间窗的探究

4、控制非处理因素：

- (1) 保证CO纯度及2%CO浓度的准确、均匀
- (2) 确保CO试验的容器密闭
- (3) 给药剂量准确
- (4) 药物正确注射入腹腔
- (5) 计时准确、解救时间准确
- (6) 动物性别相同、体重相近



三、实验设计

一氧化碳、亚硝酸盐中毒动物解救时间窗的探究

- 5、观察指标：存活率、血液、黏膜颜色
- 6、对照：实验对照
- 7、样本数：CO、亚硝酸钠试验各20只
- 8、实验设计方法：配对设计
- 9、数据表示：率±标准误
- 10、统计方法：Fisher确切概率法



三、实验设计

一氧化碳、亚硝酸盐中毒动物解救时间窗的探究

11、结果预测

- (1) CO中毒及解救试验：解救组小鼠的成活率与对照组的小鼠成活率是否有显著性差异？两组小鼠唇、血液颜色有何变化？
- (2) 亚硝酸钠中毒及解救试验：解救组小鼠的成活率与对照组的小鼠成活率是否有显著性差异？两组小鼠唇、血液颜色有何变化？



一氧化碳、亚硝酸盐中毒动物解救时间窗的探究

实验方案



浙大醫學院

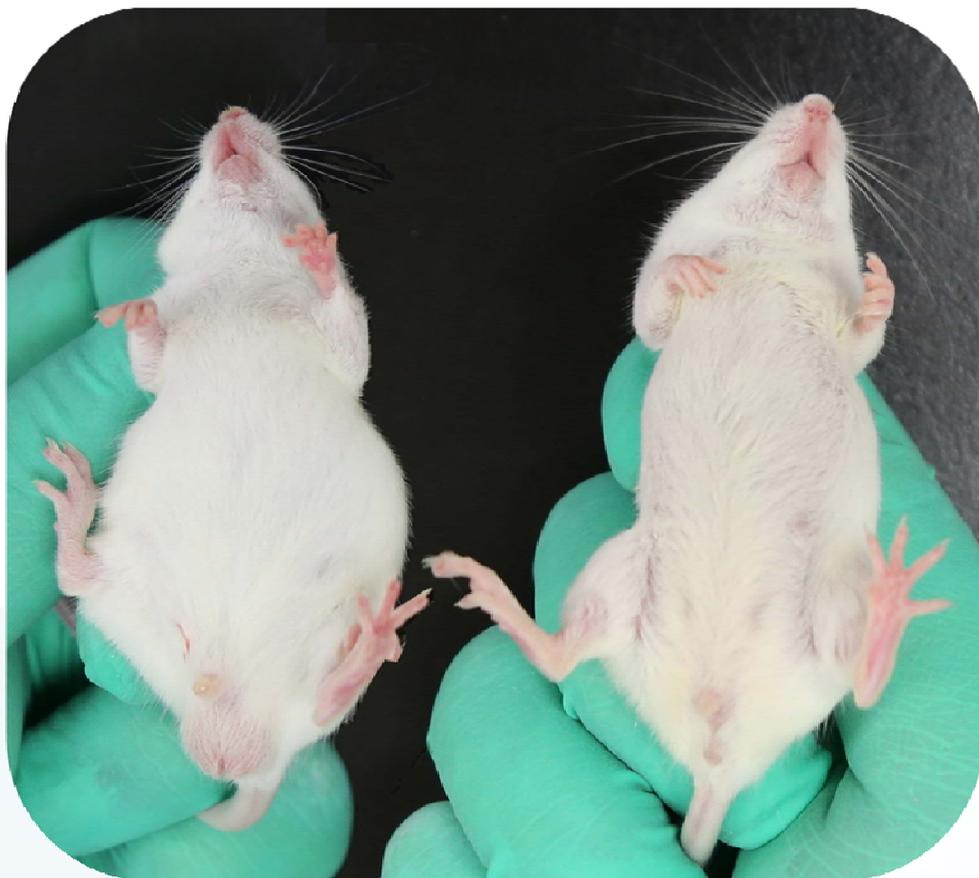
目的

- ◆ 探讨CO、亚硝酸钠中毒小鼠的解救方法
- ◆ 知道CO、亚硝酸钠中毒动物的解救方案的设计
- ◆ 知道CO、亚硝酸钠中毒动物的体征形成及致死的机理，解救方法的原理



1 材料

1.1 实验动物 ICR小鼠40只，性别x，体重 $22 \pm 0.3\text{g}$



雄性与雌性小鼠



1 材料

1.1 实验动物 ICR小鼠40只，性别x，体重 $22 \pm 0.3\text{g}$

1.2 药品 亚硝酸钠、美蓝（methylene blue, MB）、生理盐水、CO，钠石灰

1.3 器材 500mL密封瓶



实验药品



密封瓶



2 方法

2.1 小鼠CO中毒及解救

2.1.1 小鼠分组 将20只小鼠称重，按性别相同、体重相近原则配对成10对，每队小鼠用苦味酸标记。每对小鼠随机分配到对照组和解救组。记录小鼠唇的颜色



1、对照组



2、解救组



2 方法

2.1 小鼠CO中毒及解救

2.1.1 小鼠分组 将20只小鼠称重，按性别相同、体重相近原则配对成10对，每队小鼠用苦味酸标记。每对小鼠随机分配到对照组和解救组，记录小鼠唇的颜色



对照组



1、对照组

6

2、解救组



2 方法

2.1 小鼠CO中毒及解救

2.1.2 CO处理 两组小鼠放入含5g钠石灰的两密闭瓶中，同时注入10mLCO，计时，观察小鼠行为



2 方法

2.1 小鼠CO中毒及解救

2.1.3 解救 解救组小鼠于注入CO后2~4min开瓶并移入鼠笼

2.1.4 数据记录 记录两组小鼠的死亡时间和死亡只数

2.1.5 唇、血颜色 记录未死亡和死亡小鼠唇色。处死活鼠、剖腹，取一小块肝脏，置于滤纸上，记录肝血颜色



2 方法

CO中毒及解救

对照组

解救组

↓2%CO



↓2%CO



维持CO环境

2~4min开瓶，
正常大气环境

记录死亡时间、死亡只数、口唇颜色

小鼠剖腹，记录肝、血颜色



浙大醫學院

2 方法

2.2 小鼠亚硝酸钠中毒及解救

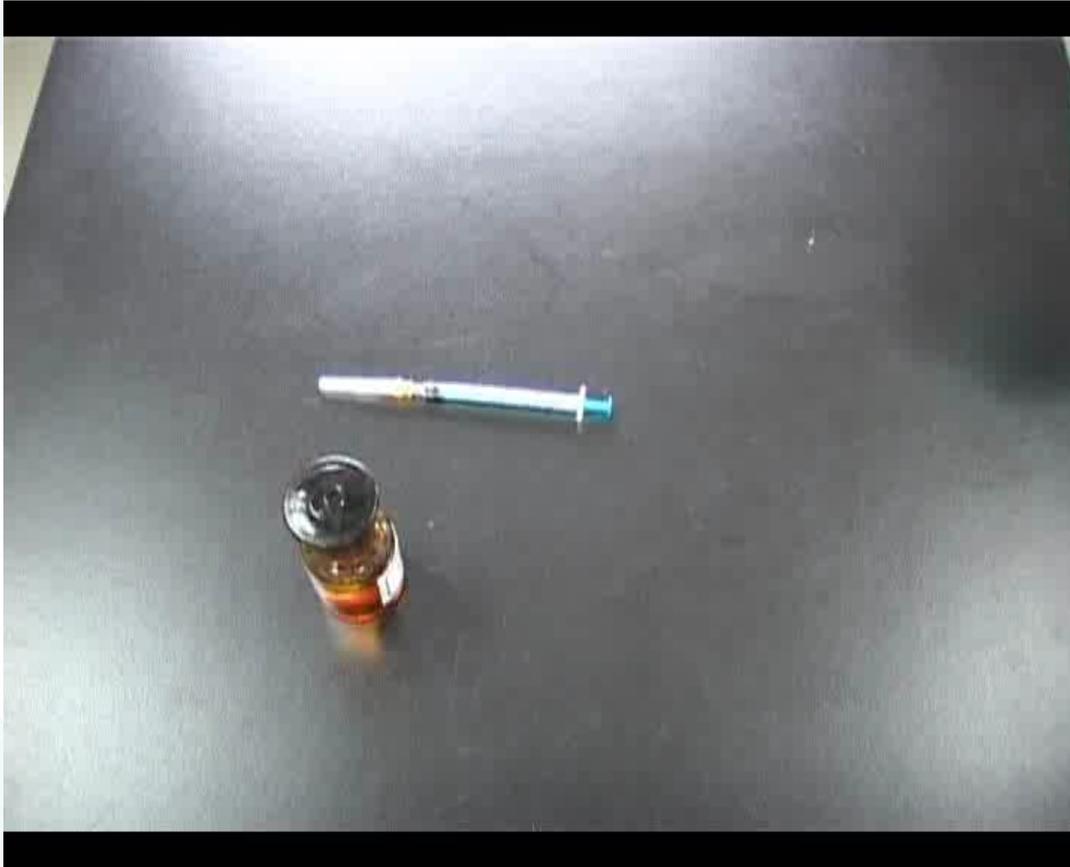
2.2.1 小鼠分组 将20只小鼠称重，按性别相同、体重相近原则配对成10对，并用苦味酸标记，每对小鼠随机分配到对照组和解救组。记录小鼠唇的颜色

2.2.2 亚硝酸盐处理 两组小鼠腹腔注射10mg亚硝酸钠（50g/L溶液，0.2mL），计时。观察小鼠行为

2.2.3 解救处理 注射亚硝酸钠后3~13min时，解救组小鼠于腹腔注射2mg美兰（10g/L溶液，0.2mL），对照组小鼠腹腔注射0.2mL生理盐水



2 方法



小鼠捉拿、腹腔注射



2 方法

2.2 小鼠亚硝酸钠中毒及解救

2.2.4 数据记录 记录60min内两组小鼠的死亡时间和死亡只数

2.2.6 唇、血颜色 记录未死亡和死亡小鼠唇色。处死活鼠，解剖两组小鼠，取一小块肝脏，置于滤纸上，记录肝血颜色



2 方法

亚硝酸钠中毒及解救

对照组

解救组

腹腔注射
亚硝酸钠

腹腔注射
亚硝酸钠



3~8min后注
射生理盐水

3~8min后
注射美兰

记录死亡时间、死亡只数、口唇颜色

小鼠剖腹，记录肝、血颜色

注意：乏氧性缺氧组、CO组、亚硝酸盐组同时解剖，观察、记录

3 结果

3.1 整理原始数据、统计各组动物的成活率入表

表1 CO中毒对照组与解救组小鼠的存活率

组别	死亡数	存活数	观察例数	存活率 (%)
对照组	10	0	10	0.0
解救组	3	7	10	70.0
合计	13	7	20	35.00

表2 亚硝酸钠中毒对照组与解救组小鼠的存活率

组别	死亡数	存活数	观察例数	存活率 (%)
对照组	10	0	10	0.0
解救组	2	8	10	80.0
合计	12	8	20	40



3 结果

3.2 对照组与解救组小鼠成活率统计分析

表1 CO中毒对照组与解救组小鼠的存活率

组别	死亡数	存活数	观察例数	存活率 (%)
对照组	10 (a)	0 (b)	10	0.0
解救组	3 (c)	7 (d)	10	70.0
合计	13	7	20	35.00

Fisher确切概率法的计算表

i	a	b	c	d	Di=ad-bc	Pi
1*	10	0	3	7	70	0.001548
2	9	1	4	6	50	0.027090
3	8	2	5	5	30	0.146285
4	7	3	6	4	10	0.325077
5	6	4	7	3	-10	0.325077
6	5	5	8	2	-30	0.146285
7	4	6	9	1	-50	0.027090
8	3	7	10	0	-70	0.001548

$|D_i| \geq |D^*|$

$P_i \leq P^*$

$P=0.003096$



3 结果

3.3 不同类型缺氧小鼠肝脏血液颜色

表3 CO、亚硝酸钠中毒对照组与解救组及乏氧组小鼠肝脏的颜色

组号	CO对照组	CO解救组	亚硝酸钠对照组	亚硝酸钠解救组	乏氧组
1	樱桃红	暗红	咖啡色	暗红	
2	鲜红	鲜红	深褐色	鲜红	
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					



谢谢

