ICS 65.020.20

B 44

|  |
| --- |
|  |

DB23

黑龙江省地方标准

DB 23XXXXX—2019

|  |
| --- |
|  |

实验动物 SPF猪剖腹产技术规范

（征求意见稿）

|  |
| --- |
| 主要起草单位： 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所  联 系 人：王伟  联系电话：15804615376  联系信箱：wangwei@caas.cn |
|  |

2019-XX-XX发布

XXXX-XX-XX实施

黑龙江省市场监督管理局   发布

前  言

本标准依据GB/T 1.1-2009的编写规则起草。

本标准由黑龙江省农业农村厅提出。

本标准由黑龙江省实验动物专业标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、东北农业大学。

本标准主要起草人：王伟、魏成威、高利、张圆圆、高彩霞、陈洪岩、李昌文、刘怀然、王梓。

实验动物 SPF猪剖腹产技术规范

1. 范围

本标准规定了实验猪的选择、手术前准备与消毒、保定与麻醉、剖腹产手术、术后护理和母猪恢复标准等。

本标准适用于利用生物学净化方法提高实验猪质量，对包括普通级猪、SPF猪等实验猪实施剖腹产手术的操作。

1. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 14925 实验动物 环境及设施

GB/T 22914 SPF猪病原的控制与监测

GB/T 27416 实验动物 质量和能力的通用要求

GB/T 34791 实验动物 质量控制要求

GB/T 35823 实验动物 动物实验通用要求

GB/T 35892 实验动物 福利伦理审查指南

DB 23/T 1674 无特定病原体猪微生物学监测技术规范

DB 23/T 2057.9 实验动物 猪寄生虫学等级及监测

1. 原理

胎盘是由母体和胎儿的组织共同构成，根据胎盘结构特点和母胎界面的连接方式将胎盘分为4类，猪胎盘属于非蜕膜弥散型上皮绒毛膜胎盘，是由绒毛膜血管内皮、绒毛膜间充质、绒毛膜上皮、子宫内膜上皮、子宫内膜结蹄组织和母体血管内皮6层组织形成胎盘屏障，它是维系胎儿和母体之间物质转运、气体交换与血液循环的唯一部位，同时能够阻止部分细菌、病毒等微生物和毒物从母体传给胎儿。剖腹产技术是依据胎盘具有屏障作用，可阻止一些病原微生物侵入，采取无菌剖腹产手术，截断了某些母胎传播疾病的途径，并且可以去除经产道传播的某些细菌和疱疹病毒等病原体，是进行“生物净化”维持种群微生物级别的有效手段，也是提高现有实验动物质量和产量，保证科研成功的有效措施。

1. 实验猪的选择

妊娠母猪应来源于临床上无经胎盘垂直传播的疾病，即猪瘟、猪繁殖与呼吸综合征、猪伪狂犬病、细小病毒病症状的猪场。不宜选择初产和第六胎以上妊娠母猪，并现场采集样本，检测猪繁殖与呼吸综合征、猪瘟和猪伪狂犬病三种主要疾病：猪繁殖与呼吸综合征检查血清抗体；猪瘟为扁桃体活体采样，检查野毒感染情况；猪伪狂犬病检测感染抗体。

妊娠母猪是SPF猪，按GB/T 22914、DB 23/T 1674、DB 23/T 2057.9进行微生物学、寄生虫学检测，质量符合GB/T 35823。

预产期前一周观察母猪分娩征兆，尽量接近自然顺产时间施行手术。

1. 手术前准备与消毒
   1. 器械

常规腹腔手术器械2套（手术刀、止血钳、镊子、剪刀剪、手术剪刀、持针钳、拉钩、缝针、缝合线）、脊髓穿刺针、开口器、喉镜、纱布、毛巾、20mL金属注射器、绑定绳等，使用前高压或干烤灭菌；5mL、10mL一次性注射器。

* 1. 设备

手术台、麻醉呼吸机、监护设备、保暖设备、隔离器等。

* 1. 药品
     1. 麻醉药品

小型猪复合麻醉剂、丙泊酚注射液（10 mL，100 mg）、异氟烷（100 mL/瓶）、盐酸利多卡因（5 mL，100mg）。

* + 1. 急救药品

肾上腺素注射液、尼可刹米注射液、阿托品注射液、纳洛酮注射液。

* + 1. 常用药品

5%碘酊、75%酒精棉、5%新洁尔灭消毒液、过氧乙酸溶液、生理盐水、5%葡萄糖注射液、注射用青霉素、注射用链霉素。

* 1. 手术室

手术室使用前应进行检测，符合GB 14925、GB 34791的要求方可使用。

* 1. 屏障猪舍

屏障猪舍使用前应进行检测，符合GB 14925、GB 34791的要求方可使用。

1. 保定与麻醉
   1. 保定

母猪采用侧卧保定，固定头及四肢，保定后，以温水冲洗体表，擦干；将腹部全部涂抹碘伏消毒。

* 1. 麻醉
     1. 麻醉方法

麻醉方法主要为复合麻醉，包括诱导麻醉和维持麻醉及局部麻醉。

* + 1. 诱导麻醉

6.2.2.1 手术前12h禁食，麻醉前记录实验猪的生理指标（体温、呼吸频率、心率、脉搏、黏膜颜色和毛细血管再充盈时间CRT）；

6.2.2.2 麻醉前需检查呼吸麻醉设备（直流呼末二氧化碳探头需提前预热）及监护设备的功能完整性以及麻醉机的气密性，以保证麻醉的顺利进行；

6.2.2.3 麻醉前准备工作做好后，预吸氧3-5min（3L/min），经耳缘静脉推注小型猪复合麻醉剂（0.02mL/kg），5-10min后，再经耳缘静脉推注丙泊酚，至效。

* + 1. 维持麻醉

开口器/人工打开猪上下颌，使用喉镜找到声门及气管入口，将带直针合适型号的气管插管插入，连接回路，氧流量3L/min，挥发罐3-5%，连接监护探头（血氧、心电、体温、呼末CO2和血压），每隔5 min监测一次生理指标，记录于麻醉记录表。

* + 1. 局部麻醉

硬膜外腔麻醉+切口线性阻滞醉：用脊髓穿刺针经腰荐结合处进入硬膜外腔后，推注利多卡因（0.2 mg/kg）。手术切口可使用利多卡因（0.2 mg/kg）进行线性阻滞。

1. 剖腹产手术
   1. 术部选择

7.1.1 腹侧切开法：从髋结节之下约10cm处，在膝皮皱襞之前，向下向前做一与腹内斜肌纤维方向相同的切口，长20cm左右。

7.1.2 下腹部切开法：在最后3个乳头外侧5cm左右处做切口，长20cm左右。

* 1. 术部消毒

待实验猪不动时，对术部大面积剃毛，用清水冲洗，再次用碘伏消毒液在术部及其周围连续消毒，用75%酒精脱碘。

* 1. 剖腹产手术

7.3.1 术部切开，出血用止血钳止血，皮肤锐性切开，钝性分离皮下组织，分离腹直肌及腹膜，直至腹腔，充分暴露子宫。助手按住切开部位，防止内脏滑出切口外。

7.3.2 将左右2个子宫角牵引至切口外，不宜牵出过多，防止子宫血管受压迫影响胎儿血液供应。检查量子宫角内胎儿数量及分布位置，两侧子宫角中都有胎儿，且能暴露子宫角基部，仅在基部做一切口；两侧胎儿均较多，不能暴露子宫角基部，应在两个子宫角的中段做2个切口。

7.3.3 切口选在子宫大弯，靠近子宫体的背侧血管相对少处，切开子宫壁5-8cm，顺序小心取出胎儿，结扎脐带，碘酊涂擦断端，并用毛巾迅速将胎儿口腔、鼻腔内粘液擦净，擦干身体。

7.3.4反复按摩体表，做身躯屈伸运动，进行人工呼吸，称重，至于保温箱哺育。

7.3.5清点胎儿数量和胎盘数量，检查两侧子宫角内有无残留胎儿，待清理干净后，依次缝合左右子宫角（切口第一次连续缝合，然后内翻缝合）。用35℃温生理盐水（内加20IU抗生素）进行子宫冲洗，不要将冲洗液流入腹腔内，然后将子宫纳入腹腔；再顺次缝合腹膜、各肌肉层，并布撒青、链霉素；皮肤切口作结节缝合，关闭腹腔切口，术后注射催产素，以促进子宫收缩及复旧。

7.3.6 剖腹产手术的母猪在手术过程中耳静脉输入5%葡萄糖注射液。

* 1. 子宫摘除取胎术

7.4.1 术部切开，打开腹腔，将子宫牵引至腹腔外，全部牵出后，用力抓住子宫颈部隔断，迅速将输卵管、子宫颈结扎，然后全子宫摘除，将子宫放入预先放置1%过氧乙酸的灭菌渡槽中消毒10-20s，30s内将子宫传送进抢救室。

7.4.2剪破子宫壁，伸进二指把切口迅速撕开，迅速取出胎儿。每取出一个胎儿，在脐带2cm左右部位用缝合线结扎、断脐，用毛巾迅速将其口腔、鼻腔内的粘液清除，擦干全身，辅助仔猪呼吸，称重，至于保温箱哺育。从子宫结扎到取出仔猪的过程应该迅速，最好时间控制在5min内。

7.4.3母猪按照GB/T 35823要求实施安死术。

1. 术后护理
   1. 饲喂

术后母猪应单独饲养，次日应给母猪注射催产素2mL，以排除胎衣，给予容易消化、营养丰富的流质食物，营养与卫生符合GB/T 27416的要求。

* 1. 护理

8.2.1 加强护理，让母猪适当活动，以防腹腔脏器发生粘连。

* + 1. 连续3天肌注青霉素320万IU、链霉素80万IU，以防术部感染。

8.2.3 10日左右伤口可愈合，2-3周拆线。

1. 母猪恢复标准

9.1 母猪精神状态及食欲恢复正常，泌乳量增多。

9.2 母猪生殖机能恢复，复配产仔。

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_