

應用帝王切開術建立無特定病原實驗兔種原方法之研究

李裕銘*、張家禎、陳昭榮、李翰霖、謝焜傑、楊君山、陳瑞祥

行政院農業委員會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所

摘要 為增加供應生醫產業及研究用無特定病原 (Specific pathogen free ; SPF) 實驗兔產量，2009 年動物用藥品檢定分所興建第 2 代實驗用兔房舍一棟，飼養面積為 250 平方公尺。於新建實驗兔房正式啟用之前，需重新挑選優良兔種，建立優良 SPF 實驗用兔核心群，於新建兔房舍正式啟用之時，能快速增加生產數量。本研究是應用清淨等級妊娠末期母兔進行帝王切開手術 (Caesarean section) 取得之胎兔送入本分所原已建立之 SPF 實驗兔房舍中，由 SPF 實驗母兔為代理育母，於代養期間，紀錄自然生產之 SPF 仔兔與經帝王切開手術之 SPF 代養仔兔每日增重，並進行此二者每週增重情形及存活率比較，以便評估此項快速建立種原方法之可行性。比較結果，經帝王切開手術，由 SPF 代理育母代養仔兔，平均存活率可達 90%，比清淨等級自然生產之仔兔平均存活率 73% 佳。帝王切開手術之 SPF 代養仔兔，雖於生長初期較自然生產 SPF 仔兔增重差，但於 5 個月齡開始即與自然生產 SPF 仔兔體重大小無異，顯示應用帝王切開手術，配合 SPF 代理育母飼育仔兔，以建立兔群種原之方法是可行的。

關鍵字：無特定病原、帝王切開手術、生技產業

緒言

無特定病原 (Specific pathogen free ; SPF) 實驗動物，是指實驗動物沒有附存特定微生物及特定寄生蟲之實驗動物，但允許常態微生物自然附存。SPF 實驗動物之生產，需使用整套隔離飼養系統，控制飼育環境在一定標準之下，包括溫度、相對溼度、每小時換氣次數、氣流速度、氣壓、塵埃、落菌數、臭氣、照明及噪音之外，所使用飼養之實驗兔飼料需經滅菌，同時飼料保存環境需具控溫、濕度設備，並保持飼料品質於無污染狀態[2,7]，飲水亦需經滅菌後方可供動物飲用。動物房舍內使用之器具經滅菌及消毒，飼育室內空氣先經初級及中級濾網淨化空氣，再經高效率濾網濾除微塵與微生物，並採全換氣方式保持室內正壓。為達到此等標準，飼育設施管理亦甚嚴格，飼育管理者入動物舍時，須經徹底沐浴後穿著滅菌衣褲、手套、帽子、口罩及長鞋等方能進入工作，身上

配帶物品需全部脫下一率不得帶入，工作人員於健康狀況不佳時亦禁止進入。管理者須每日檢視各設備及清掃消毒飼育室環境，對於動物健康狀況特別注重，每日作業終了退出時，脫除所著衣物，並使用消毒液噴霧消毒進出環境，嚴禁外人進入，除此之外，必須建立病原健康監測制度，並定期實施檢測。經過如此嚴密重重管理，才能夠生產出標準 SPF 實驗動物 [1,2,4]。SPF 實驗動物，最初之建立方式一般採用選取優良種畜配種，於母畜懷孕近分娩之時，使用帝王切開手術進行剖腹取胎，直接將胎兒送入隔離設施中養育，不使胎兒有任何接觸污染源之機會。尚有其他可應用配合之改良方法，亦可配合原已建立之 SPF 實驗動物種畜群，加以應用使提高幼畜存活率。本研究即運用 SPF 實驗母兔為代理育母，利用母兔乳汁中所含有多量之抗菌因子 (antimicrobial factors)、抗病因子等，以保護乳兔腸道並增加身體抗病力[11]，

*抽印本索取作者

行政院農業委員會家畜衛生試驗所

並與其他人工哺育方法比較，此種應用代理育母代養仔兔之方法，可明顯獲得較高之仔兔存活率及育成率，是最容易成功建立 SPF 實驗兔群之方法。

材料與方法

器材設備

動物用超音波、動物用氣體麻醉機、Isoflurane 氣體麻醉劑、氧氣、血氧監視器、手術台、無影燈、微量點滴注射控制器、保溫箱、高壓滅菌機、溫度計、體重計、保溫電毯、滅菌毛巾、滅菌浴巾、伊麗莎白頸圈、外科手術器械及各需用耗材 3 套、挑選傳統清淨等級紐西蘭品種種公及種母兔各 3 隻、SPF 等級紐西蘭品種種母兔 6 隻。

SPF 實驗兔飼養設施

SPF 實驗兔舍一棟，面積約有 200 坪，內有 1 間人工飼育室、1 間離乳室、2 間種兔室、2 間育成室、1 間洗滌室、飼料冷藏室、煙燻室、準備室、手術室，人員進出區有內外更衣室，中間設有淋浴室 1 間，另有穿牆式雙門滅菌鍋與傳遞箱（圖 1）等區域。本 SPF 實驗兔舍為密閉式正壓動物房，進入空氣經初級、中級及 99.97% 高效率濾網，濾除微塵與微生物，再經空調調控室內溫度於 18 至 22°C 之間，以逆滲透過濾處理後之飲水供 SPF 實驗兔飲用。工作人員進入 SPF 實驗兔舍前必須脫除全身衣物，進入淋浴室全身經徹底清洗後，更換舍內滅菌清潔工作服、工作鞋、帽、口罩及手套後方能進入。

SPF 實驗兔無特定病原項目

礙於市售可購得檢測試劑項目，SPF 實驗兔無特定病原項目包括：病毒性兔出血熱病原（rabbit hemorrhagic fever），細菌性病原 *Pasteurella multocida*、*Bordetella bronchiseptica*、*Pseudomonas spp.*、*Salmonella spp.*，體內寄生蟲 *Passalurus ambiguous* 及 *Eimeria stiedai*、*E. caviae*、*E. magna*、*E. irrisidua*、*E. media*、*E. perforans*、*E. coccicola*、*E. piriformis*、*E. exigua* 等 9 種 *Eimeria* 兔球蟲，體外寄生蟲 *Psoroptes cuniculi*、*Spilopsyllus cuniculi* 等病原檢測結果均須為陰性。

建立初代SPF實驗用兔生產技術

從傳統清淨等級實驗用兔群中，挑選健康狀況佳，母兔齡9-15個月齡，體重3.5-4公斤左右，產齡3胎以內之紐西蘭品種白兔3隻，做為建立初代SPF實驗兔，剖腹取胎用之種母兔。挑選傳統清淨等級紐西蘭白兔，12-15個月齡優良公兔3隻，做為種公兔配種之用[5,17]。挑選出之種公、種母兔先進入隔離飼養房分籠飼養，室溫控制在18-22°C，日供給經鈔60照射過之滅菌兔飼料，照射劑量範圍為250 kGy-450 kGy[7]，飲用水為RO逆滲透過濾處理後之飲水，每日量測體溫及體重。飼養30天後開始進行健康監測，參考林等[3,4,6,14]以及世界動物衛生組織（office international des épizooties,OIE）標準診斷手冊[15]等，進行兔之健康監控與監測。檢查項目包括病毒性兔出血熱病原（rabbit hemorrhagic fever）血清檢測；細菌性病原：*Pasteurella multocida*、*Bordetella bronchiseptica*、*Pseudomonas spp.*、*Salmonella spp.*。以兔之口、鼻腔黏液及糞便細菌培養分離檢測，體內寄生蟲 *Passalurus ambiguous* 及 *Eimeria stiedai*、*E. caviae*、*E. magna*、*E. irrisidua*、*E. media*、*E. perforans*、*E. coccicola*、*E. piriformis*、*E. exigua* 等 9 種 *Eimeria* 兔球蟲檢測；體外寄生蟲：*Psoroptes cuniculi*、*Spilopsyllus cuniculi* 等，以上各項目經檢測結果皆為陰性詳如表 1。接著進行種公、母兔之配對配種，配種方式為連續兩日，每日一次，配種後一週（第 7 日）及二週（第 14 日）進行兩次妊娠超音波檢查（圖 2）及聽診、觸診檢查[12,16]。自配種日起至帝王切開日止，每日小心量測並記錄母兔體重。母兔帝王切開術剖腹取胎實施日之計算法：是以母兔第一次配種當日早上 10 點配種時間起算為第一日，至第 30 日當天早上 10 點止，此時開始進行帝王切開手術取出胎兔。另外挑選飼養於 SPF 兔房舍中紐西蘭品種種母兔 6 隻，年齡 12-15 個月齡、產齡 3 胎左右，提前兩日配種於 SPF 實驗兔房舍中預做準備，以便充當代理育母之用。

麻醉方法

術前 12 小時禁食、前 8 小時禁水，使用氣體麻醉劑 Isoflurane 經氣體麻醉機（圖 3）氣化，進行取

胎母免氣體吸入麻醉（圖 4），濃度範圍在 1.0%至 3.5%之間，依實際麻醉深度於氣體麻醉機氣化調節器進行濃度調整，在母免角膜反射消失開始時，立即進行帝王切開手術[8,10]。使用 24 號靜脈留置針，於兔耳後緣靜脈建立輸液通道，術中給予複方乳酸鈉林格氏靜脈輸液，使用微量點滴注射控制器，控制靜脈輸液速度每小時 100ml/kg 緩慢注射，術免接上血氧監視器感應，以便全程監視術免血氧濃度。術免背部墊有保溫電毯及滅菌浴巾，防止手術進行中體溫過低情況發生，一位助手監看體溫、呼吸及心跳數率，一發現異常立即緊急處理。

無菌操作外科手術取胎方法

先將妊娠已屆預產期母免帶至 SPF 動物舍手術室中，進行術前準備，母免剪除腹部中線及周圍兔毛，並將母免浸入水溫 36°C 之 2% 艾司浦 200（Astop200）消毒水中清洗 1 分鐘[4]，先使用 Isoflurane 經氣體麻醉機，依上述麻醉方法，進行取胎母免氣體麻醉，於母免四肢放鬆時予以仰臥固定其四肢於手術臺上，術部使用滅菌棉花沾有 75% 酒精消毒三次，優碘消毒 2 次，覆上滅菌創巾，在第 2 到第 4 對乳頭範圍之間，對準腹正中線上沿著腹白線切開皮膚，深至腹膜表面之腹壁上（圖 5），小心剪開腹膜顯露子宮，檢查子宮外觀完整性、胎免之數量及大小，觸診以確定胎免之頭、尾、背、腹位置。於靠近子宮頸上方，自分叉前方子宮部位使用止血鉗兩支夾緊，連同兩側營養血管一同夾入，此時小心推開位於子宮中此部位之胎免，不可夾到子宮中之胎免，兩止血鉗之間需預留約 0.5 至 1 公分間繫，於此間繫之正中部位分切離子宮。沿著子宮體往上延伸牽引拉出雙側子宮角達卵巢上方韌帶部位，並剝離兩側子宮廣韌帶達兩側卵巢，於兩側卵巢前繫帶部位，使用止血鉗各兩支夾緊繫帶及其中營養血管，兩止血鉗之間亦需預留約 0.5 公分間繫，於此間繫之正中部位分切離卵巢，即可將分切離之子宮內含胎免一同取出[13,14]（圖 6）。此時需立刻將已取出之子宮連同胎免，置入預先泡製完成水溫攝氏 36°C 之 2% 濃度艾司浦 200 消毒水當中，經由傳遞箱送入 SPF 動物舍處理室中進行處理[1,4,5]。施術母免繼續進行結紮及傷口縫合手

術，先將手術暴露部位使用 36°C 溫生理鹽水紗布覆蓋，並定時更換沾有攝氏 36°C 溫度之生理鹽水紗布以保持濕潤。接著使用 4-0 腸線依序結紮兩側已取出之卵巢上方血管連同繫帶，之後結紮子宮頸部位血管及縫合子宮切斷面（圖 7），取去溫生理鹽水覆蓋紗布，使用 3-0 號縫線縫合關閉腹腔（圖 8），5-0 號腸線縫合皮下層、4-0 號單股尼龍縫線縫合皮膚，縫合時必須注意肌肉、皮膚等各層均需準確相對密合[9,13,14]。胎免取出手術完成後，立即關閉氣體麻醉劑 Isoflurane 氣化器開關，停止供應氣體麻醉劑，繼續供應氧氣直至母免甦醒，術免清醒後即移入恢復觀察室，並立即肌肉注射 Amoxillin 及 Gentamicin 防止傷口感染[19,20]，由於傷口較長，需給予戴上伊麗莎白頸圈，避免母免咬去縫合線及破壞傷口，術後注意母免保溫、避免恢復期間失溫情況發生，每日測量體溫及觀察恢復情況，每日肌肉或皮下注射防止傷口感染藥物五天[9,18]及每日三次傷口換藥持續兩週後拆線。之後施術母免飼養於隔離飼養房中，每日檢查傷口、照護換藥、繼續供給經鈷 60 照射滅菌飼料、RO 逆滲透飲水，每日量測體溫及體重並記錄。

胎免之處理

於 SPF 實驗兔房舍中打開處理室內側傳遞箱，將上述剖腹取胎獲得之含胎免子宮，從水溫 36°C 之 2% 濃度艾司浦 200 消毒水當中，迅速取出含胎免之子宮（圖 6），置於已鋪妥滅菌浴巾之處理台上[4]。使用滅菌紗布拭去子宮表面消毒水，使用外科剪刀剪開含胎免子宮，將附著於子宮之胎盤順勢剝離，連同包圍之胎衣小心移出子宮外（圖 9），剝開胎衣後使用滅菌紗布及滅菌棉質毛巾擦拭胎免口鼻黏液，之後擦拭全身並按摩以刺激胎免呼吸。胎免處理完成後先置入中心溫度 37°C 保溫箱中，於分配給代理母免之前，先以滅菌棉花沾取事先收集之 SPF 代理母免尿液少許，均勻塗佈在胎免身上，再放入 SPF 代理母免哺育箱中與代理母免自然生產之仔兔混養（圖 10），以避免代理母兔分辨出仔兔身分傷害之。

SPF 實驗用兔生產設施

本單位現有正壓密閉之 SPF 實驗兔房舍一單元，面積約有 200 坪，室溫範圍 16-22°C，溼度

40-75%，用於 SPF 實驗用兔生產之用，生產 SPF 日本白兔供應國內生醫產業及各研究機構使用，此 SPF 實驗兔房內設有種原室、繁殖室、育成室、離乳室、手術室、洗滌室、緩衝隔離室、冷藏飼料間、高壓洗籠機室及穿牆式雙門滅菌鍋等設備。手術室內備有手術檯、無影燈、無菌操作手術箱、動物隔離箱、簡便動物保溫箱等設備，以供剖腹生產 SPF 實驗用兔飼養育成之用。另 99 年已新興建完成第二代無特定病原實驗用兔房舍一個單元，面積約有 75 坪，準備用來生產 SPF 紐西蘭實驗用兔之用，現今選育優良紐西蘭種兔，應用帝王切開剖腹取胎技術，配合現有 SPF 母兔種群、SPF 實驗兔房設施及幼兔育成技術，進行第二代無特定病原實驗用兔種原之建立，日後可生產供應 SPF 紐西蘭品種實驗用兔。

胎兔成長增重之比較

於 SPF 實驗兔房舍中，2 隻 SPF 代理育母種兔，於預定進行傳統術兔剖腹前一日生產，另 4 隻胎代理育母種兔於傳統母兔剖腹當日生產，6 隻母兔平均分配代養帝王切開手術之 20 隻仔兔，並個別飼育自己自然生產之仔兔。於第 2 日兩隻較為體弱之仔兔死亡，其餘存活 18 隻仔兔每日秤重記錄其體重。選取於帝王切開手術當日生產其中之 2 隻代理種兔所生產之仔兔，2 隻母兔均帶有自己自然生產之 5 隻仔兔，共 10 隻自然產仔兔，每日秤重記錄其體重，用以進行剖腹生產仔兔與自然生產仔兔每週平均增重之比較。

結果

3 隻接受手術之清淨等級孕兔術後恢復良好，於術後經四週調養，即從恢復隔離室送回傳統清淨兔舍飼養。經帝王切開手術取得一胎 8 隻仔兔、二胎各 6 隻仔兔，共獲取 20 隻仔兔，送入 SPF 實驗兔房舍中，將其平均分配給同期生產之 6 隻 SPF 種母兔代養，除第 2 日兩隻較為體弱之仔兔死亡外，其餘 18 隻精神、體態、活力均正常，平均存活率為 90% (表 2)。此 2 隻死亡仔兔為全胎 6 隻仔兔體重最輕者，分別為 38 公克及 43 公克，可能為體重過輕、身體器官功能未達成熟，過於瘦小無爭乳能力而餓死，其餘 18

隻仔兔體重均有達到 50 公克以上。此 18 隻剖腹生產仔兔每日秤重並記錄生長情形，以便與自然生產之 SPF 仔兔 10 隻比較其生長增重情形。比較結果發現經帝王切開手術取得之仔兔，從剖腹取出至 15 週以內之每週平均增重，較自然生產 SPF 仔兔緩慢，體重測比較結果如圖 11，但於第 16 週起，經帝王切開手術取得之仔兔，體重增重快速，直至第 20 週時，生長體重已與自然生產之 SPF 仔兔接近。

另將剖腹取胎經 SPF 種母兔代養育成之 SPF 仔兔，與飼養於傳統清淨兔舍中之自然生產仔兔，二者進行比較自出生至 30 日齡離乳止之平均存活率，結果發現剖腹取胎經 SPF 種母兔代養育成之 SPF 仔兔，平均存活率為 90%，較飼養於傳統清淨兔舍中之自然產仔兔平均存活率 73% (表 3) 為高，探究其原因應為 SPF 仔兔飼養於與外界隔絕之環境，溫濕度恆定，環境清潔，病原較少，且於此哺乳期間，較無危害初生仔兔生命之病原，影響其成長與干擾等傷害因素亦較少之故。

討論

紐西蘭品種母兔母性佳、產子數多，SPF 代理育母帶有 7-11 隻之胎兔 (表 4)，因其需代養剖腹生產仔兔並飼育自己生產之仔兔，有可能因所帶仔兔數量過多致仔兔生長增重速度受到影響。一般 SPF 自然生產一胎 5 至 8 隻仔兔，仔兔於出生一個月齡時，已可達 900 公克左右之體重，然而經帝王切開手術之仔兔因出生體重較為不足、體型較小，爭乳能力較差，此應為哺乳期間體重差異之主因，但於生長至 5 月齡時，則與其他自然生產 SPF 仔兔體重差異不大。

本項研究 SPF 實驗兔之育成，應用哺乳中 SPF 種母兔擔任代理育母之方法建立新種群，是較節省人工方法之一。其他尚有使用代奶粉定時人工哺育配合保溫箱飼養照顧 [21] 之方法，及使用羊乳添加維他命定時人工哺育 [5] 等方法，也都可飼育成功，但仔兔存活率及成長速率均不優於本研究結果。如林等 [4] 挑選 5 隻母兔配種後，將帝王切開術取得之 46 隻 SPF 仔兔，使用羊乳添加綜合維他命加市售腸內益菌定時人工哺育，並配合保溫箱飼養照顧，飼養 1 個月時存活 31 隻，平均體重為 200 公克左右，僅獲得 67% 仔兔存

活率，比較本研究剖腹取得20隻仔兔，飼養1個月時存活18隻，且仔兔已達平均500公克左右體重，獲有90%之存活率，本法明顯獲得較高之仔兔存活率，並獲得體質健壯、健康狀況佳良之仔兔。探究原因可能除飼養技術外，母兔乳汁成分為最適合仔兔生長所需，且母兔乳汁中含有多種及多量抗菌因子（antimicrobial factors），可保護仔兔腸道，並增加仔兔抗病力[11]，因此與其他人工哺育方法比較，此種應用代理育母代養仔兔之方法，可明顯獲得較高之仔兔存活率及育成率。本研究剖腹取得20隻SPF仔兔，代理育母飼養成功18隻，獲有90%之存活率，而自然生產之傳統清淨等級仔兔，3胎共生產22隻，飼養1個月後，死亡6隻，存活16隻，存活率為73%，於表2、表3即可清楚比較出剖腹育成之SPF仔兔存活率，優於自然產傳統清淨等級仔兔，原因應為剖

腹生產育成之SPF仔兔，飼養於SPF隔離環境當中，溫濕度恆定，且較無危害初生仔兔生命及成長等病原之干擾傷害之故。

結論

本研究對於建立 SPF 實驗用兔種群技術獲得實際成果，現已成功完成此項 SPF 實驗兔種群建立技術，不但可以不再完全依賴國外進口種兔，亦可挑選自己保有之優良 SPF 實驗用兔種原，隨時可應用現有純熟技術，獲得所需要建立之品系，此項技術將可進一步選育與繼續建立 SPF 實驗用兔生產供應體系，以期能協助強化國內 SPF 實驗用兔生產供應體系，更能幫助國內生物醫學、臨床醫學、生物科技、藥粧及農學等學術研究，及供應相關產業產品研究所需，進而促進國內生醫產業之發展。



圖 1、傳遞箱



圖 2、動物用超音波



圖 3、動物用氣體麻醉機



圖 4、母兔氣體麻醉



圖 5、母兔帝王切開剖腹手術



圖 6、已取出含胎兔之子宮



圖 7、結紮縫合子宮術部

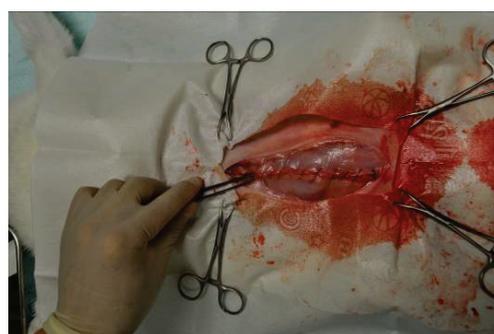


圖 8、縫合腹壁



圖 9、胎兔自子宮內取出

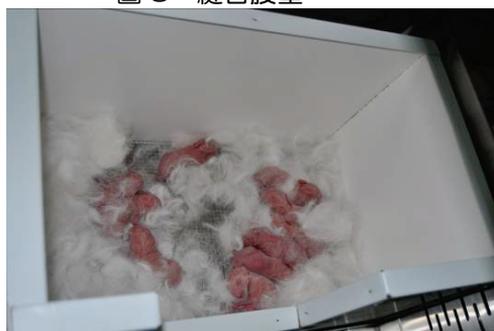


圖 10、仔兔於哺育箱中情形

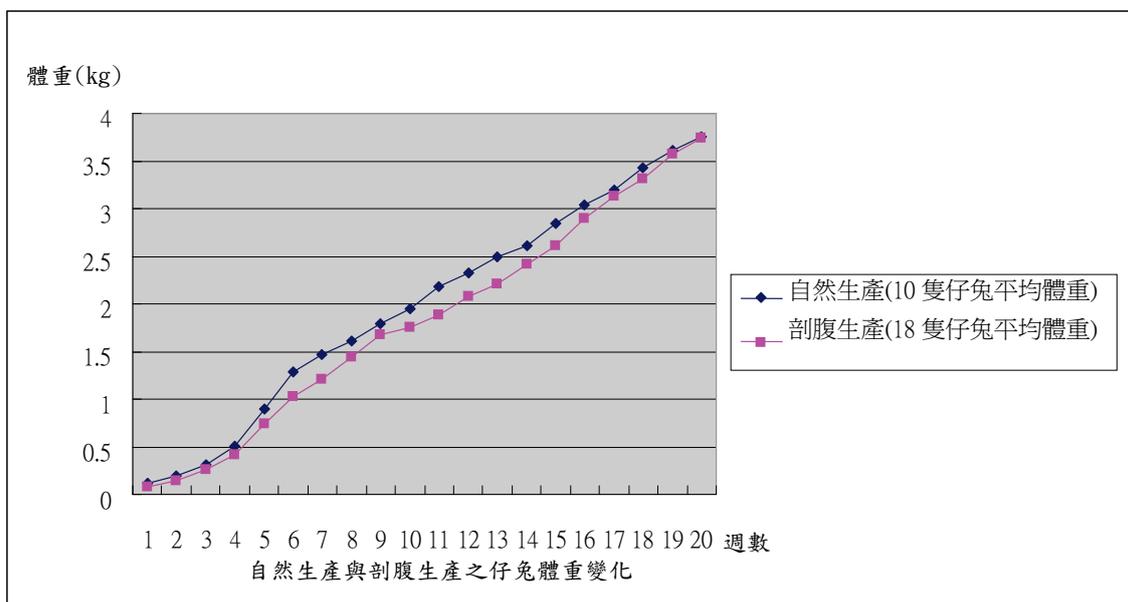


圖 11、自然生產與剖腹生產之 SPF 仔兔增重比較

表 1、SPF 實驗兔健康監測方法及結果

No	Diseases or pathogens	Test methods	Results
1	Rabbit hemorrhagic fever	ELISA	—
2	<i>Pasteurella multocida</i>	細菌分離	—
3	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	細菌分離	—
4	<i>Pseudomonas</i> spp.	細菌分離	—
5	<i>Salmonella</i> spp.	細菌分離	—
6	<i>Passalurus ambiguous</i>	鏡檢	—
7	<i>E. stiedai</i>	浮游法	—
8	<i>E. caviae</i>	浮游法	—
9	<i>E. magna</i>	浮游法	—
10	<i>E. irresidua</i>	浮游法	—
11	<i>E. media</i>	浮游法	—
12	<i>E. perforans</i>	浮游法	—
13	<i>E. coccicola</i>	浮游法	—
14	<i>E. piriformis</i>	浮游法	—
15	<i>E. exigua</i>	浮游法	—
16	<i>Psoroptes cuniculi</i>	鏡檢	—
17	<i>Spilopsyllus cuniculi</i>	鏡檢	—

備註：ELISA：enzyme-linked immunosorbent assay

表 2、剖腹取胎仔兔數及存活率

種母兔編號	剖腹取得胎兔數	育成數	死亡數	存活率
A-01	8	8	0	100%
A-02	6	4	2	66%
A-03	6	6	0	100%
合計	20	18	2	

1.總平均存活率：90%

2.計算期間：自出生至 30 日齡離乳截止。

表 3、傳統清淨種母兔自然產仔兔數及存活率

種母兔編號	自然生產胎兔數	育成數	死亡數	存活率
B-01	8	5	3	62%
B-02	7	6	1	86%
B-03	7	5	2	71%
合計	22	16	6	

1.總平均存活率：73%

2.計算期間：自出生至 30 日齡離乳截止。

表 4、SPF 代理種母兔帶子數量表

SPF 種母兔 編號	自然生產仔兔數	剖腹產仔兔寄養數	總帶仔兔數量
C-01	8	3	11
C-02	6	3	9
C-03	4	3	7
C-04	7	3	10
C-05	5	3	8
C-06	5	3	8

參考文獻

1. 林再春、程永昌、楊火松、賴俊雄。無特定病原 (Specific pathogen-free) 豬生產之研究，第 1 報。台灣省家畜衛生試驗所研究報告 5:59-70, 1968。
2. 林榮培、林再春、陳清、林地發。第二代無特定病原豬微生物之研究。家畜衛生試驗所研究報告 9:57-62, 1972。
3. 林榮培、邱顯閱、梁奇鳳、林春基、蘇杰夫。天竺鼠之飼養繁殖、供應與常見疾病。行政院農業委員會家畜衛生試驗所研究報告 40:75-80, 2004。
4. 林榮培、陳玫雅、邱顯閱、梁奇鳳、許天來。初代無特定病原兔設施及種原建立之研究。行政院農業委員會家畜衛生試驗所研究報告 40:75-80, 2004。
5. 唐澤茂。兔 SPF 化手續。研討會指導資料, 2004。
6. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. Control of the SPF status in laboratory animals. Bacteriological examinations in mice, rats, guinea pigs and rabbits, 83:422-424, 1970.
7. Chen Q, Y Ha and Z Chen. A study on radiation sterilization of SPF animal feed. Radiation Physics and Chemistry, 57:329-330, 2000.
8. Difilippo SM, Norberg PJ, Suson UD, Savino A M, Reim DA. A comparison of xylazine and medetomidine in an anesthetic combination in New Zealand White rabbits. Contemporary Topics in Laboratory Animal Science, 43:32-34, 2004.
9. Ferrets, Rabbits, and Rodents. Clinical Medicine and Surgery by Hillyer and Quesenberry, Published by W.B. Saunders Company, 1997.
10. Flecknell PA, Roughan JV, Hedenqvist P. Induction of anaesthesia with sevoflurane and isoflurane in the rabbit. Laboratory Animals, 33:41-6, 1999.
11. Gallois M, Gidenne T, Tasca C, Caubet C, Coudert C, Milon A, Boullier S. Maternal milk contains antimicrobial factors that protect young rabbits from enteropathogenic Escherichia coli infection. Clin Vaccine Immunol, 14:585-92, 2007.
12. Ichizuka K, Ando S, Ichihara M, Ishikawa T, Uchiyama N, Sasaki K, Umemura S, Matsuoka R, Sekizawa A, Okai T, Akabane T, Kushima M. Ultrasound Obstet Gynecol. Application of high-intensity focused ultrasound for umbilical artery occlusion in a rabbit model, 30:47-51, 2007.
13. Jenkins JR. Surgical sterilization in small mammals. Spay and castration. Veterinary Clin North Am Exot Anim Pract, 3:617-27, 2003.
14. M. Joseph Bojrab. Current Techniques in Small Animal Surgery, 1987.
15. Office International des Epizooties. OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. OIE, Paris, 2000.
16. Paek B, Foley J, Zderic V, Starr F, Shields LE, Vaezy. Selective reduction of multifetal pregnancy using high-intensity focused ultrasound in the rabbit model. Ultrasound Obstet Gynecol, 26:267-70, 2005.
17. Pleasants, JR, Wostmann BS, and Zimmerman D R. Improved hand rearing methods for small rodents. Laboratory Animal Care, 14:37-47, 1964.
18. Quesenberry KE, Carepenter JW, Quesenberry P. Ferrets, Rabbits and Rodents: Clinical Medicine and Surgery Includes Sugar Gliders and Hedgehogs, Elsevier Health, 2004.
19. Shukla C, Patel V, Juluru R, Stagni G. Quantification and prediction of skin pharmacokinetics of amoxicillin and cefuroxime. Biopharm Drug Dispos, 30:281-93, 2009.
20. Stall AC, Becker E, Ludwig SC, Gelb D, Poelstra KA. Reduction of postoperative spinal implant infection using gentamicin microspheres. Spine, 34:479-83, 2009.
21. Yukio Mrata, Yoshicoro Katumata, Mayumi Tada, Shota Suzuki and Toru Yui. Experimental trials on the establishment of breeding colony of the Specific-Pathogen-Free rabbit I. Procedures for establishment and maintenance. Journal of the Takeda research laboratories, 31:42-55, 1972. (in Japanese)

Application Caesarean Section Surgery to Establish SPF Experiment Rabbits Unit

YM Lee*, JR Chern, JS Yang, HL Lee, KC Hsieh, CC Chang, RS Chen

Animal Drugs Inspection Branch, Animal Health Research Institute,
Council of Agriculture, Executive Yuan

Abstract A animal house with 250 square meters'was built for rearing secondary specific pathogen free (SPF) rabbit lines to supply biomedical research in 2009. In this study, we applied Caesarean section (C-section) surgery to remove progenies from conventional breeding rabbits and utilized SPF rabbits to nurse for these progenies inside the animal facility. The body weight and productivity of breeding rabbit progenies isolated via C-section were compared with the SPF population, which were borne naturally. Our results showed that the survival rates of progenies from C-section were 90%. The body weight of progenies obtained from C-section displayed slower gains than those from natural group when they are younger than 5 months. Progeny from SPF and natural rabbits showed no statistical significance in body weight gains when they were older than 5 months. This results indicated that progenies obtained from C-section and nursed by SPF rabbits could be used to produce a specific SPF rabbit lines for biomedical research.

Keywords : *Specific pathogen free, Caesarean section surgery, Biomedical research*