مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و هشتم/ شماره ۱۰۶/ خرداد ۱۳۸۹
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۲۰

مطالعه‌ی باکتری‌های زئونوز در کلنی موش‌های صحرایی متعارف نژادهای Sprague Dawley، Wistar و NMRI

دکتر محمد حسن متدین[۱]، دکتر فاطمه توده دهقان[۲]، دکتر سهیلا مرادی بید هندی[۳]

خلاصه

مقدمه: اولین گروه از باکتری‌ها که باید در کلنی موش‌های صحرایی آزمایشگاهی بررسی و از کلنی پاک گردند، باکتری‌های زئونوز می‌باشند. این باکتری‌ها سلامت پرسنل، محققین و حیوانات را به خطر انداخته، ممکن است به نتایج آزمایش‌ها نیز آسیب بزنند. در این تحقیق سه کلنی از موش‌های صحرایی متعارف برای یافتن پنج باکتری زئونوز Salmonella typhimurium، Salmonella enteritidis، Streptobacillus moniliformis، Pasteurella pneumotropica و Streptococcus pneumonia مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: جمعیت مورد مطالعه، ۶۰ سر موش صحرایی از سه نژاد Sprague Dawley، Wistar و NMRI از سنین ۴-۳، ۸ و ۲۵ هفتگی بودند. حیوانات به طور تصادفی و به تعداد مساوی ازجنس نر و ماده انتخاب و به سه گروه ۲۰ تایی برای هر کدام از نژادها تقسیم شدند. تعداد ۲۴۰ نمونه از قسمت‌های نازوفرنکس (n = ۱۲۰)، سکوم (n = ۶۰) و کبد (n = ۶۰) حیوانات مذکور تهیه و کشت باکتریایی از آن‌ها انجام گرفت.

یافته‌ها: باکتری‌های زئونوز پیش‌گفته در هیچ کدام از ۲۴۰ نمونه‌ی مورد آزمایش وجود نداشت. با این حال، در ۸۲/۱ درصد از نمونه‌ها باکتری‌هایی که تحت شرایط معمول غیر بیماری‌زا هستند، یافت شد که به طور عمده Escherichia coli، Bacillus spp، Streptococcus spp و Enterobacter spp تشخیص داده شدند. اختلاف معنی‌داری در میزان آلودگی به باکتری‌های غیر زئونوز در گروه سنی ۴-۳ هفتگی با گروه سنی ۸ هفتگی وجود نداشت ولی بین این دو گروه با گروه سنی ۲۵ هفتگی در سه نژاد مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (P < ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه پیشنهاد می‌نماید که استفاده از این حیوانات، تهدیدی برای سلامت پرسنل و انجام تحقیقات به واسطه‌ی باکتری های‌زئونوز یاد شده ایجاد نمی‌کند.

واژگان کلیدی: موش صحرایی (Rat) متعارف، باکتری زئونوز، Salmonella typhymurium، Salmonella enteritidis، Streptobacillus moniliformis، Pasteurella pneumotropica، Streptococcus pneumonia.

مقدمه

آگاهی از وجود عوامل بیماری‌زای قابل انتقال بین حیوانات آزمایشگاهی و انسان، که به عنوان اجرام زئونوز مطرح می‌باشند، از ضروریات اولیه‌ای هستند که باید در حیوانات مورد استفاده، بررسی گردند. به خوبی مشخص است که شرایط مختلف محیط پرورش، نگهداری و خصوصیات ژنتیکی حیوانات آزمایشگاهی بر روی کیفیت و میزان آلودگی آن‌ها تأثیر به سزایی دارند (۱). مشاهدات نشان داده است حیواناتی که در ظاهر سالم به نظر می‌رسند، ممکن است دارای بیماری عفونی و یا آلودگی‌های نهفته باشند که با استرس ناشی از حمل و نقل و یا آزمایش

[۱] دکترای عمومی دامپزشکی، مربی پژوهشی، عضو هیأت علمی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
[۲] دکترای تخصصی بیولوژی تولید مثل، استادیار پژوهشی، عضو هیأت علمی، دانشگاه قائد اعظم، اسلام آباد، پاکستان.
[۳] دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی، استادیار پژوهشی، عضو هیأت علمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: محمد حسن متدین، دکترای عمومی دامپزشکی، مربی پژوهشی، عضو هیأت علمی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
Email: m.motedayen@rvsri.ir

www.mui.ac.ir

بارز شده، در حیوان اثرات نامطلوب فیزیولوژیک ایجاد می‌کند و از این رو؛ این حیوان ابزار مناسبی برای انجام کارهای تحقیقاتی نیست. بنابراین، برای کسب نتایج قابل اطمینان و تکرار پذیر (۲) از آزمایش‌ها و همچنین حفظ سلامت کارکنان و محققینی که با حیوان آزمایشگاهی و یا فرآورده‌های آن به طور مستقیم و یا غیر مستقیم در تماس هستند (۳)، باید همواره از وضعیت میکروبی حیوانات مطلع بود و با برنامه‌های بهداشتی استاندارد آن‌ها را کنترل کرد.

حیوانات آزمایشگاهی متعارف حیواناتی هستند که در شرایط ویژه و کنترل شده، پرورش و نگهداری نشده‌اند و آلودگی آن‌ها به اجرام مختلف مشخص نیست؛ این گونه حیوانات باید فاقد عوامل میکروبی زئونوز باشند. در بین حیوانات آزمایشگاهی، موش صحرایی متعارف، پس از موش، بیشترین مورد استفاده را در مطالعات مختلف علمی، به خصوص تحقیقات زیست شناسی، پزشکی و علوم پایه دارد. فدراسیون علوم حیوانات آزمایشگاهی اروپا پیشنهاد می‌کند که در کلنی‌های پرورشی موش صحرایی، باکتری‌های *بوردتلا برونشی سپتیکا*، کورینه باکتریوم کوتشری، گونه‌های پاستورلا، گونه‌های سالمونلا، استرپتوباسیلوس مونیلیفورمیس، استرپتوکوکوس بتاهمولیتیک و استرپتوکوکوس پنومونیا هر سه ماه یک بار کنترل شوند (۶-۴). از این بین، اولویت با باکتری‌های عامل بیماری‌های مشترک بین حیوان و انسان است. مهم‌ترین باکتری‌های زئونوز در موش صحرایی عبارت از *استرپتو باسیلوس مونیلیفورمیس* و *اسپریلیوم ماینوس است* که دو باکتری گرم منفی هستند و متعاقب گاز گرفتگی موش صحرایی، در انسان موجب بیماری تب گاز گرفتگی می‌شوند.

گزارش‌ها نشان می‌دهند که این بیماری به عنوان یک خطر شغلی برای کارکنان در تماس با این حیوان، از مدت‌ها قبل شناخته شده است. مدت زمان انکوباسیون بیماری تب گاز گرفتگی، در نوع استرپتوباسیل، ۱۰-۲ روز و در نوع اسپیریلوم، ۳-۲ هفته و یا بیشتر است. به طور معمول، بهبود سریع زخم رخ می‌دهد و در ۲۵ درصد موارد، التهاب ناحیه‌ای غدد لنفاوی، تب و لرز، درد عضلانی، گلو درد، التهاب آندوکارد، پریکارد و مفصل، آبسه، آنمی و بثورات شبه سرخک ممکن است مشاهده گردد. استرپتو باسیلوس مونیلیفورمیس در نازوفارینکس موش‌های صحرایی به ظاهر سالم یافت می‌شود و در صورت ایجاد بیماری، باعث برونکوپنومونی و پلی‌آرتریت در این حیوانات می‌گردد.

سالمونلا، باکتری گرم منفی با بیش از ۲۴۰۰ سروتیپ است که در روده کلونیزه می‌شود. این باکتری در سراسر دنیا و در اکثر مهره داران، از جمله موش صحرایی، مشاهده شده است و اغلب اوقات یکی از دو سروتیپ *سالمونلا تیفی موریوم* (Salmonella typhymurium) و *سالمونلا انتریتیدیس* (Salmonella enteritidis) در موش و انسان یافت شده‌اند. اگر چه سالمونوز بیماری جدی در موش‌های صحرایی آزمایشگاهی است و موش‌های بیمار ممکن است ناقل مزمن بیماری باشند، با این حال در اغلب کلونی‌ها شیوع ندارد. پاستورلا پنوموتروپیکا، باکتری گرم منفی است که در بینی، نای، ریه و مجرای بینی-چشم موش، موش صحرایی، خوکچه‌ی هندی، خرگوش و انسان وجود دارد و می‌تواند به صورت گسترده‌ای باعث عفونت‌های اغلب پنهان در موش صحرایی آزمایشگاهی شود؛ ولی در مورد پاستورلا مولتوسیدا (Pasteurella multocida)، محققین بر این

www.mui.ac.ir

باورند که موش صحرایی به این باکتری مقاوم است؛ اگر چه ممکن است ناقل این باکتری باشد. استرپتوکوکوس پنومونیه باکتری گرم مثبت است، در کلنی جوندگان وجود دارد، در حفره‌ی بینی، گلو، دستگاه گوارش، پوست و مهبل یافت می‌شود و از نازوفارنکس و میوکارد قابل جداسازی است. این باکتری در انسان باعث پریتونیت، آندوکاردیت، عفونت ادراری- تناسلی و منتژیت و در موش صحرایی باعث تنگی نفس، رینیت، پریکاردیت و سپتی‌سمی می‌گردد. *استافیلوکوکوس* و دیپلوکوکوس پنومونیا در موش‌های صحرایی متعارف به طور وسیعی یافت می‌شوند که ممکن است باعث عفونت پنهان و یا آشکار در حیوان شوند. این میکروارگانیسم‌ها در ناحیه‌ی حلق - بینی حیوان، بدون علائم کلینیکی مشاهده می‌شوند.

در این مطالعه مهمترین باکتری‌های بیماری‌زای قابل انتقال از موش صحرایی به انسان شامل Salmonella typhymurium، Salmonella enteritidis، Streptobacillus moniliformis، Pasteurella pneumotropica و Streptococcus pneumonia، مطابق پیشنهاد انجمن حیوانات آزمایشگاهی اروپا (FELASA) در سکوم، نازوفارنکس و کبد سه نژاد از موش‌های صحرایی متعارف که در داخل کشور مصرف بالایی دارد، مورد بررسی قرار گرفتند.

روش‌ها

تعداد شصت سر موش صحرایی نر و ماده‌ی متعارف از نژادهای ویستار (۲۰ سر)، اسپراگ داولی (۲۰ سر) و NMRI (۲۰ سر) در سه گروه سنی، ۴-۳ هفتگی (۴ سر نر و ۴ سر ماده)، ۸ هفتگی (۴ سر نر و ۴ سر ماده) و ۲۵ هفتگی (۲ سر نر و ۲ سر ماده)، به صورت تصادفی از کلنی حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه رازی کرج انتخاب شدند. در این کلنی، حیوانات تحت شرایط محیطی ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی، دمای ۲ ± ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، تعویض هوا به میزان ۱۲-۱۰ بار در ساعت، رطوبت نسبی ۵ ± ۵۰ درصد، تغذیه با غذای فشرده‌ی استاندارد تولیدی مؤسسه‌ی رازی، آب آشامیدنی کلردار و همیشه در دسترس و تعویض بستر با پوشال استریل دو نوبت در هفته نگهداری می‌شدند.

با توجه به عدم اطلاع از میزان آلودگی حیوانات و بر اساس پیشنهاد منابع علمی، میزان شیوع آلودگی به عوامل پاتوژن در کلنی رات‌های آزمایشگاهی، ۳۰ درصد در نظر گرفته شد که مطابق آن، تعداد حیوان مورد نیاز برای هر گروه سنی ۱۰ سر نر و ۱۰ سر ماده (در مجموع ۲۰ سر برای هر نژاد) تعیین گردید (۶-۴).

در هر نژاد، تعداد ۸۰ نمونه از قسمت‌های حلق- بینی (n = ۴۰) برای پاستورلا پنوموتروپیکا و استرپتوکوکوس پنومونیه، روده‌ی کور (n = ۲۰) برای سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس و کبد (n = ۲۰) برای یافتن استرپتوباسیلوس مونیلی فورمیس از حیوانات تحت مطالعه در شرایط استریل تهیه و سپس در محیط‌های مورد نظر کشت داده شد. در هر کدام از نژادها، تعداد نمونه‌ها در گروه‌های سنی ۴-۳ و ۸-۶ هفته، ۳۲ عدد و برای گروه سنی ۲۵ هفته، ۱۶ عدد بود.

برای جداسازی سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس، نمونه‌ی روده کور بر روی محیط‌های سلنیت براس و تتراتیونات براس کشت داده شد و بعد از ۱۲ ساعت بر روی مکانکی آگار (دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد) منتقل گردید. بعد از ۲۴ ساعت، کلنی‌های

www.mui.ac.ir

مشکوک با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی TSI، اوره، اندول، سیترات، MRVP و حرکت برای تعیین هویت باکتری‌های جدا شده مورد بررسی قرار گرفت.

برای جداسازی استرپتوباسیلوس مونیلی فورمیس، نمونه‌ها بر روی بلاد آگار و شکلات آگار حاوی ۲۰ درصد خون کشت داده شد و سپس در گرم‌خانه‌ی ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد دارای گاز دی اکسید کربن ۵ درصد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردید. پلیت‌های کشت داده شده تا ۷ روز نگهداری و کلنی‌های مشکوک با تست‌های بیوشیمیایی و تخمیر قندها بررسی شد. برای جدا سازی پاستورلا پنوموتروپیکا و استرپتوکوکوس پنومونیه از محیط بلاد آگار استفاده و نمونه‌ها بر روی این محیط به صورت مستقیم کشت داده شد. بر روی نمونه‌های مشکوک به پاستورلا پنوموتروپیکا رنگ آمیزی گرم و تست‌های اکسیداز، کاتالاز، اوره، نیترات، گلوکز، گلیسرول، مانوز، مالتوز، لاکتوز و اینوزیتول انجام شد.کلنی‌های مشکوک به استرپتوکوکوس پنومونیه از نظر همولیز آلفا و تست اپتوچین مورد آزمایش قرار گرفت. برای یافتن دیگر باکتری‌ها، تمام نمونه‌ها بر روی بلاد آگار، نوترینت آگار و مکانکی آگار نیز برده شد. شناسایی پرگنه‌های میکروبی بر اساس مرفولوژی، رنگ آمیزی گرم و تست‌های بیوشیمیایی انجام گرفت (۷).

یافته‌ها

در این تحقیق، تعداد دویست و چهل نمونه از ۶۰ سر حیوان نر و ماده در سه گروه سنی تهیه گردید که در هیچ کدام از نمونه‌های تهیه شده، باکتری‌های زئونوز مورد مطالعه شامل Salmonella typhymurium، Salmonella enteritidis، Streptobacillus moniliformis، Pasteurella pneumotropica و Streptococcus pneumonia یافت نشد (جدول ۱).

با این حال، در ۸۲/۱ درصد (۱۹۷/۲۴۰) نمونه‌ها، عفونت به یک یا دو باکتری دیگر مشاهده گردید. در ۳۴/۵ درصد (۶۸/۱۹۷) از نمونه‌های رشد کرده Escherichia coli، ۱۸/۲ درصد (۳۶/۱۹۷) Bacillus spp به تعداد مساوی در دو جنس نر و ماده، ۵/۱ درصد (۱۰/۱۹۷) Streptococcus spp و در ۳/۶ درصد (۷/۱۹۷) Staphylococcus spp مشاهده گردید.

همچنین در ۱۶/۸ درصد (۳۳/۱۹۷) نمونه‌های رشد کرده، دو باکتری Escherichia coli و Bacillus spp جدا شد که ۴۲/۴ درصد (۱۴/۳۳) آن از نژاد ویستار و ۱۸/۲ درصد (۶/۳۳) از نژاد NMRI بود. آلودگی به ۹ باکتری دیگر نیز در بین نمونه‌ها مشاهده گردید که در مجموع ۲۱/۸ درصد (۴۳/۱۹۷) موارد را تشکیل می‌داد؛ در این بین Klebsiella spp با ۳۲/۶ درصد (۱۴/۴۳) بیشترین مقدار را در بین سه نژاد نشان داد. در ۱۷/۹ درصد (۴۳/۲۴۰) نمونه‌ها نیز هیچ گونه‌ی باکتری رشد نکرد که ۲۰ مورد مربوط به نرها و ۲۳ مورد مربوط به حیوانات ماده بود.

در مجموع اختلاف معنی‌داری در میزان آلودگی به باکتری های غیر زئونوز در دو جنس نر و ماده، که به ترتیب ۵۰/۸ درصد و ۴۹/۲ درصد بود، و همچنین بین سه نژاد مشاهده نگردید ($P > ۰/۰۵$) اما بین دو گروه سنی ۴ و ۶ هفته با گروه سنی ۲۵ هفته در بین سه نژاد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P < ۰/۰۰۱$) (جدول ۲).

www.mui.ac.ir

جدول ۱. وضعیت باکتریایی کلنی پرورشی موش‌های صحرایی آزمایشگاهی متعارف نر و ماده نژاد **Wistar**، **NMRI** و **Sprague Dawley** در سه گروه سنی مختلف

نام باکتری	نژاد موش صحرایی و تعداد باکتری‌های جدا شده از نمونه‌ها																		جمع (%)	
	Wistar						NMRI						Sprague Dawley							
	سن (هفته)						سن (هفته)						سن (هفته)							
	۳-۴		۶-۸		۲۵		۳-۴		۶-۸		۲۵		۳-۴		۶-۸		۲۵			
	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
Streptobacillus pneumonia	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)
Pasteurella pneumotropica	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)
Salmonella typhymurium	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)
Salmonella enteritidis	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)
Streptobacillus moniliformis	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰(۰/۰)	۰(۰/۰)
Escherichia coli	۸	۴	۴	۶	۲	۰	۲	۱	۲	۶	۵	۶	۲	۶	۵	۶	۶	۱	۳۶(۳۰/۰)	۳۲(۲۶/۷)
Bacillus sp	۱	۰	۵	۲	۱	۱	۱	۱	۲	۱	۲	۴	۳	۳	۱	۳	۳	۲	۱۸(۱۵/۰)	۱۸(۱۵/۰)
Staphylococcus sp	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲	۱	۳(۲/۵)	۴(۳/۳)
Enterobacter sp	۰	۰	۱	۰	۳	۳	۰	۰	۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۲	۴(۳/۳)	۸(۶/۷)
Streptococcus sp	۰	۰	۱	۲	۰	۰	۱	۰	۱	۱	۰	۰	۲	۲	۰	۰	۰	۰	۶(۵/۰)	۴(۳/۳)
Klebsiella sp	۰	۴	۰	۱	۰	۱	۰	۰	۱	۰	۲	۲	۰	۱	۰	۱	۰	۰	۱۰(۸/۴)	۴(۳/۳)
Providencea sp	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۲	۰	۰	۰	۰	۲(۱/۷)	۱(۰/۸)
Bacillus sp +E coli	۴	۴	۱	۳	۱	۰	۱	۱	۲	۲	۰	۰	۱	۱	۲	۲	۰	۰	۱۷(۱۴/۲)	۱۶(۱۳/۴)
Bacillus+Streptococcus sp	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۸)	۱(۰/۸)
Bacillus sp+Enterobacter sp	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۸)	۴(۳/۳)
Bacillus sp+ Staphylococcus sp	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۸)	۲(۱/۷)
Bacillus sp+ Providencea sp	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰(۰/۰)	۱(۰/۸)
E coli +Klebsiella sp	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰(۰/۰)	۲(۱/۷)
E coli+ Streptococcus sp	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۰	۰	۱(۰/۸)	۰(۰/۰)
جمع	۱۳	۱۳	۱۴	۸	۷	۱۱	۱۲	۱۱	۱۱	۱۲	۸	۸	۱۳	۱۳	۱۲	۱۳	۱۳	۸	۱۲۰(۱۰۰/۰)	۱۲۰(۱۰۰/۰)
عدم رشد	۳	۳	۲	۱	۰	۵	۴	۵	۴	۴	۰	۰	۳	۳	۳	۴	۳	۳	۲۰(۱۶/۷)	۲۳(۱۹/۲)

W: هفته؛ **M**: نر؛ **F**: ماده

www.mui.ac.ir

جدول ۲. باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های حلق- بینی، سکوم و کبد رات‌های نر و ماده در سه نژاد مورد آزمایش

نژاد حیوان	سن حیوان (هفته)	تعداد نمونه	محل اخذ نمونه	باکتری های جدا شده																							
				Escherichia coli	Streptobacillus moniliformis	Salmonella enteritidis	Salmonella typhymurium	Pasteurella pneumotropica	Streptobacillus pneumonia	Bacillus sp	Staphylococcus sp	Enterobacter sp	Streptococcus sp	Klebsiella sp	Providencea sp	Bacillus sp +E coli	Bacillus+Streptococcus sp	Bacillus sp +Enterobacter sp	Bacillus+ Staphylococcus	Bacillus+ Providencea sp	E. coli +Klebsiella sp	E. coli+ Streptococcus sp	رشد نکرده
Sprague Dawley	۳-۴[a]	۳۲	N	۴										۴		۸							۶
			C	۸																			۱
			L							۲													۴
	۶-۸[a]	۳۲	N	۴						۳		۳	۱	۱		۴					۱		۳
			C	۶							۱	۱											۶
			L							۴													۱
	۲۵[b]	۱۶	N	۲								۴			۲								۳
			C									۲		۱						۱			۶
			L							۲						۱							۱
NMRI	۳-۴[a]	۳۲	N	۶									۲		۱	۲			۲				۴
			C										۲	۴									۵
			L	۳																			۵
	۲۵[b]	۱۶	N	۱						۲		۲		۱				۲					
			C										۱	۱					۲				
			L							۴													
	۳-۴[a]	۳۲	N	۸						۴						۴							
			C	۴									۱				۲		۱				
			L							۲													۶
Wistar	۶-۸[a]	۳۲	N	۳						۲	۴			۱		۶							
			C	۶								۱											۱
			L							۲													۶
	۲۵[b]	۱۶	N							۱		۲				۴		۱					
			C	۲							۲												
			L	۱						۳													
جمع				۶۸	۰	۰	۰	۰	۰	۳۶	۷	۱۲	۱۰	۱۴	۳	۳۳	۲	۵	۳	۲	۱	۱	۴۳
جمع کل				۲۴۰																			

* N: حلق- بینی؛ C: سکوم؛ L: کبد

* در هر نژاد نمونه‌های حلق- بینی، سکوم و کبد به ترتیب ۴۰، ۲۰ و ۲۰ عدد بود.

* بین a و b از نظر میزان باکتری‌های غیر زئونوز جدا شده اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P < ۰/۰۰۱$).

www.mui.ac.ir

بحث

هدف از انجام این مطالعه، بررسی وضعیت باکتری‌های زئونوز در کلنی پرورشی سه نژاد موش صحرایی آزمایشگاهی متعارف پرمصرف بود که بر اساس استانداردهای توصیه شده‌ی سازمان جهانی بهداشت (WHO) و پیشنهادهای انجمن حیوانات آزمایشگاهی اروپا (FELASA) انجام گرفت (۶-۴). اطلاع از آلودگی‌های میکروبی حیوانات آزمایشگاهی یکی از اصول اولیه‌ی کار با این حیوانات است تا بتوان متغیرهای دخیل در نتایج آزمایشات و مشاهدات را به حداقل ممکن کاهش داد (۱) و علاوه بر حفظ سلامت کارکنان، محققین و حیوانات، هزینه‌های احتمالی را نیز کاهش داد (۸، ۲). بر اساس استانداردها، صرف ندیدن علائم بارز بیماری در حیوان، دلیل مناسب بودن آن برای کارهای تحقیقاتی نیست و توصیه می‌گردد که اطلاعات مربوط به وضعیت آلودگی باکتریایی حیوان نیز مشخص و در دسترس محقق قرار داده شود.

بیست و پنج نوع باکتری زئونوز در حیوانات آزمایشگاهی کوچک معرفی شده است (۹) که از میان آن‌ها استرپتوکوکوس پنومونیه، پاستورلا پنوموتروپیکا، سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلا انتریتیدیس و استرپتو باسیلوس مونیلی فورمیس متداول‌ترین باکتری‌های زئونوز پیشنهاد شده برای کنترل در موش‌های صحرایی آزمایشگاهی (رات) است (۶-۴). آزمایشات ما نشان داد که این باکتری‌های زئونوز در سه نژاد پرمصرف از موش‌های صحرایی آزمایشگاهی متعارف شامل ویستار، اسپرگ داولی و NMRI وجود ندارند که می‌توانند به دلیل رعایت بهداشت، نوع طراحی سالن‌های پرورشی و همچنین توجه به استانداردهای نگهداری از حیوانات آزمایشگاهی در این کلنی‌ها باشد (۳-۲).

گزارش‌ها نشان می‌دهد که ۵۰ درصد از موش‌های صحرایی آزمایشگاهی به استرپتو باسیلوس مونیلی فورمیس آلوده بوده‌اند؛ ولی با ارتقای سطح بهداشت، آموزش کارکنان، بهبود شرایط محیطی و طراحی مناسب جایگاه پرورش حیوانات آزمایشگاهی این میزان به حد قابل توجهی کاهش یافته است (۱۰، ۱). با این وجود، بیماری تب گاز گرفتگی موش صحرایی، که عامل آن استرپتو باسیلوس مونیلی فورمیس است، از خطرات شغلی برای کارکنانی که با موش صحرایی و موش آزمایشگاهی کار می‌کنند، محسوب می‌گردد. کم بودن معنی‌دار آلودگی حیوانات گروه سنی ۲۵ هفتگی نسبت به دو گروه دیگر به طور عمده می‌تواند ناشی از افزایش مقاومت و قدرت سیستم ایمنی بدن حیوان باشد؛ علاوه بر آن، با توجه به این که حیوانات ۲۵ هفته‌ای جزء مولدین کلنی محسوب می‌شوند، در موقع تشکیل کلنی مولدین، سعی شده است تا بهترین و سالم‌ترین حیوانات انتخاب شوند.

سالمونلا تیفی موریوم و سالمونلا انتریتیدیس در بیشتر حیوانات آزمایشگاهی نظیر رات، موش، هامستر و خوکچه‌ی هندی یافت می‌شود و بروز سالمونلوزیس در این حیوانات با مصرف غذا و یا آب آلوده صورت می‌گیرد. پاستورلا پنوموتروپیکا اغلب باعث عفونت پنهان در رات و موش آزمایشگاهی می‌شود (۱۱). استرپتوکوکوس پنومونیه از پاتوژن‌های باکتریایی در موش صحرایی است (۱۰) و باعث عفونت ریوی در این حیوانات می‌شود ولی امکان وجود این میکروارگانیسم در کلنی‌هایی که با مدیریت مطلوب اداره می‌شوند، خیلی کم است.

وجود اشریشیا کولی، گونه‌های باسیلوس،گونه‌های

www.mui.ac.ir

استافیلوکوکوس و گونه‌های انتروباکتر در موش‌های صحرایی و موش آزمایشگاهی گزارش شده است (۱۲-۱۰)؛ عواملی که باعث بروز بیماری در این حیوانات می‌شوند، بیشتر شامل بهداشت ضعیف و یا ازدحام حیوانات نگهداری شده و یا حمل و نقل و تغذیه‌ی نامناسب است. عدم اختلاف نوع و میزان آلودگی در بین جنس‌های نر و ماده می‌تواند به دلیل تماس نزدیک و نگهداری آن‌ها با همدیگر در داخل یک قفس باشد. به طور کلی، با مدیریت مطلوب و مطابق استانداردهای تعریف شده در تولید و نگهداری موش صحرایی، رعایت بهداشت کارکنان و محققین و به کارگیری اصول و الزامات پیشنهاد شده در موقع کار با حیوانات آزمایشگاهی می‌توان احتمال آلودگی و بروز بیماری در انسان و حیوان را به حداقل ممکن رساند.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سه نژاد موش صحرایی آزمایشگاهی پرمصرف ویستار، اسپراگ داولی و NMRI، که در بزرگ‌ترین کلنی تولید کننده‌ی حیوانات آزمایشگاهی کشور تولید می‌گردند، از نظر پنج باکتری زئونوز پیش‌گفته پاک بوده، خطری از این نظر حیوانات، محققین و پرسنل مربوط و همچنین نتایج آزمایشات انجام شده بر روی این حیوانات را تهدید نمی‌کند. با این حال، اطلاع از وجود باکتری‌های غیر زئونوز یافت شده در نمونه‌ها و چگونگی توزیع و فراوانی آن‌ها در سه نژاد و سنین مختلف دو جنس نر و ماده می‌تواند به محققین در تنظیم بهتر مطالعات خود یاری نماید.

References

1. Schofield JC, Brown MJ. Animal care and use: A non experimental variable. [Online]. 2002. Available from: URL: http://dcminfo.wustl.edu/education/primer_chap3.htm/
2. Princeton University. Zoonoses Health and Safety for Animal Workers. [Online]. 2003, Available from: URL: http://web.princeton.edu/animalworker/
3. University of Rochester medical center. Animal resource health risks associated. [Online]. 1999. [cited 2002]. Available from: URL: http://www.urmc.rochester.edu/departments-centers/
4. Kraft V, Deeny AA, Blanchet HM, Boot R, Hansen AK, Hem A, et al. Recommendation for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit breeding colonies (FELASA working group on animal health). Laboratory Animals 1994; 28: 1-12.
5. Nicklas W, Baneux P, Boot R, Decelle T, Deeny AA, Fumanelli M, et al. Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. Lab Anim 2002; 36(1): 20-42.
6. Rehbinder C, Baneux P, Forbes D, van Herck H, Nicklas W, Rugaya Z, et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig and rabbit experimental units. Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) Working Group on Animal Health accepted by the FELASA Board of Management, November 1995. Lab Anim 1996; 30(3): 193-208.
7. Feder I, Nietfeld JC, Galland J, Yeary T, Sargeant JM, Oberst R, et al. Comparison of cultivation and PCR-hybridization for detection of Salmonella in porcine fecal and water samples. J Clin Microbiol 2001; 39(7): 2477-84.
8. Rand MS. Zoonotic diseases of laboratory rodents and rabbits (Risk category 1). [Revised January 2002]; Tucson, AZ: University of Arizona; 2002. p. 1-11. Avalable from: URL http://128.196.155.29/uac/zoostart.htm
9. Rehbinder C, Baneux P, Forbes D, Van Herck H, Nicklas W, Rugaya Z, et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, gerbil,guineapig and rabbit experimental units. LaboratoryAnimals 1996; 30: 193-208.
10. Baker H, Lindsey JR, Weisbroth SH. Bacterial and mycotic diseases in the rat in biomedical research. In: Gad SC, editor. Animal models in toxicology. New York: CRC Press; 2007.
11. Baker DG. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. Clin Microbiol Rev 1998; 11(2): 231-66.
12. Yanabe M, Shibuya M, Gonda T, Asai H, Tanaka T, Sudou K et al. Establishment of specific pathogen-free (SPF) rat colonies using gnotobiotic techniques. Exp Anim 2001; 50(4): 293-8.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School **Original Article**

June 2010, Vol 28, No 106 Received: 11.8.2009 Accepted: 9. 2.2010

Study of Bacterial Zoonoses in Conventional Sprague Dawley, Wistar and NMRI Rat Breeding Colonies

Mohammad Hasan Motedayen PhD[1], Fatemeh Todehdehghan PhD[2],

Soheila Moradi Bidhendi PhD[3]

Abstract

Background: Bacterial zoonoses have the first priority in laboratory rat colonies to be considered, monitored and eradicated. These bacteria count as health risk factors for personnel and researchers and may interfere with experimental results. In this study, conventional laboratory rats from three breeding colonies including Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis, Streptobacillus moniliformis, Pasteurella pneumotropica and Streptococcus pneumonia, were screened for detection of five bacterial zoonoses.

Methods: Study population were carried out for 60 rats of same numbers of male and female of the three breeds including, Sprague Dawley, Wistar and NMRI of 3-4, 6-8 and 25 weeks ages. Animals were allocated in a random fashion as 20 animals for each breed. Two hundred and forty specimens of nasopharynx (n = 120), cecum (n = 60) and liver (n = 60) were taken from all animals and cultured for bacteriological tests.

Findings: Mentioned zoonotic bacteria were absent in all of specimens; however in 82.1% of the specimens, commonly nonpathogenic bacteria, mainly Escherichia coli, Bacillus spp, Streptococcus other than Streptobacillus moniliformis, and Entrobacter aerogenes were observed. There was significant difference in value of infection to nonzoonotic bacteria only between first two age groups of animals with 25 weeks age group in three breed rats ($P < 0.001$).

Conclusion: Results of our study recommend that use of these animals have no human risk or research interferences for mentioned zoonotic bacteria.

Keywords: Conventional rat, Zoonoses bacteria, Salmonella typhymurium, Salmonella enteritidis, Streptobacillus moniliformis, Pasteurella pneumotropica, Streptococcus pneumonia.

[1] Veterinarian, Member of Scientific Board, the university of Shiraz, Shiraz, Iran.
[2] Reproductive Biology, Member of Scientific Board, the university of Qaid-e-Azam, Slamabad, Pakistan.
[3] Bacteriologist, Member of Scientific Board, the university of Tarbiat Modarres, Tehran, Iran.
Corresponding Author: Mohammad Hasan Motedayen PhD, Email: m.motedayen@rvsri.ir

www.mui.ac.ir