

مطالعه انگل‌های خونی، جلدی و گوارشی موش‌های سوری و رت‌های نگهداری شده در حیوان‌خانه‌های واجد شرایط متعارف

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۰۳/۰۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۷/۰۳

چکیده

بهارک اختر دانش^{۱*}

محمدحسین رادفر^۲

فاطمه باقری^۳

۱- گروه علوم درمانگاهی

۲- گروه پاتوبیولوژی

۳- دانشجوی سال آخر دامپزشکی

دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

* نویسنده مسئول: کرمان، بلوار ۲۲ بهمن، دانشگاه باهنر کرمان، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی

تلفن: ۰۳۴۱-۳۲۲۲۰۴۷

email: akhtardanesh@mail.uk.ac.ir

کلمات کلیدی: موش آزمایشگاهی، رت آزمایشگاهی، مطالعه انگل‌شناسی.

مقدمه

آنجایی که نگهداری حیوانات به روش‌های آکسنیک، نوتوبیوتیک و عاری از اجرام پاتوژن خاص به امکانات ویژه‌ای نیاز دارد و استفاده از آن‌ها محدود به تحقیقات خاص می‌شود، در حدود ۹۵٪ از حیوانات آزمایشگاهی در شرایط متعارف نگهداری می‌شوند و در این شرایط امکان ابتلا به انواع بیماری‌های عفونی از جمله آلودگی‌های انگلی به راحتی فراهم است.^۱ آلودگی به عوامل عفونی باعث از دست رفتن حیوانات و اتلاف وقت محققین شده و یا در بیماری‌های تحت بالینی به علت درگیری سیستم ایمنی حیوانات، تفسیر نتایج تحقیق را دچار اشکال می‌سازد. حضور آلودگی انگلی در حیوان‌خانه یکی از مواردی است که می‌تواند بدون ظهور علائم بالینی در

استفاده از حیوانات آزمایشگاهی (Laboratory animals) در تحقیقات سابقه بسیار قدیمی دارد و این حیوانات در واقع اساس تحقیقات بیولوژیک را تشکیل می‌دهند. در بین حیوانات آزمایشگاهی جوندگان کوچک از جمله موش سوری و رت متداول‌ترین حیوانات مورد استفاده جهت امور تحقیقاتی هستند.^۱ نگهداری این حیوانات امروزه بر اساس استانداردهای مختلفی صورت می‌پذیرد و حیوانات آزمایشگاهی به اشکال آکسنیک (Axenic)، نوتوبیوتیک (Gnotobiotic)، عاری از اجرام پاتوژن خاص (Specific pathogen free) یا در شرایط متعارف (Conventional) نگهداری می‌شوند. از

استفاده شد. همچنین با ۲۰µl از رسوب ته لوله فرمالین- اتر گسترش مدفوع تهیه و به روش ذیل نلسون برای تشخیص آسیت‌های کریپتوسپوریوم و رنگ‌آمیزی دایمی تری کروم برای تشخیص سایر تک یاخته‌های روده‌ای رنگ‌آمیزی شد.^{۱۴} در نهایت، داده‌ها طبقه‌بندی و جداول توزیع فراوانی تهیه گردید.

یافته‌ها

بر اساس تجزیه و تحلیل داده‌های جمع‌آوری شده در این تحقیق در بین ۲۴۰ سر رت مورد بررسی از حیوان‌خانه شماره ۱، ۷۶ سر (۳۱/۱٪) آلودگی انگلی به سستود هایمنولپیس دیمینوتا (*Hymenolepis diminuta*) داشتند و دامنه تعداد سستودها از ۵-۱ عدد بود. شیوع بالای هایمنولپیس دیمینوتا در ارتباط با حضور کک نوسوپسیلا فاسیتوس (*Nosopsylla fasciatus*) در جمعیت رت‌های حیوان‌خانه شماره ۱ بود به طوری که در ۱۸ سر رت (۷٪) آلودگی به کک بالغ و در ۸۵ سر رت (۳۵/۴۱٪) آلودگی پوشش خارجی به مدفوع کک مشاهده گردید. همچنین در بررسی محیطی غذای خشک انبار شده این حیوان‌خانه، آلودگی قابل توجه به سوسک زرد آرد (*Tenebrio molitor*) وجود داشت. موردی از آلودگی کرمی در موش‌های سوری حیوان‌خانه شماره ۱ مشاهده نشد. همچنین، در حیوان‌خانه شماره ۱، آلودگی به تک یاخته/انتاموبیا موریس (*Entamoeba muris*) به ترتیب در ۹ سر رت (۳/۷۵٪) و ۱۱ سر موش سوری (۴/۵۸٪) و آلودگی به کریپتوسپوریوم (*Cryptosporidium spp.*) در سه سر رت (۱/۲۵٪) مشاهده گردید. شش سر رت (۲/۵٪) و پنج سر موش سوری (۲٪) در حیوان‌خانه شماره دو آلودگی به انتاموبیا موریس را نشان دادند و موردی از آلودگی کرمی و انگل‌ها خارجی در این حیوان‌خانه مشاهده نشد. بر اساس آزمون χ^2 شیوع آلودگی کرمی در حیوان‌خانه شماره یک با فصل نمونه‌گیری ارتباط معنی‌داری داشت و بیشترین موارد آلودگی (۶۱/۱۷٪) در فصل تابستان مشاهده گردید ($p=0/03$). تفاوت معنی‌داری در شیوع آلودگی کرمی و یا تک یاخته‌ای در هر دو حیوان‌خانه در ارتباط با سن و جنس مشاهده نشد ($p>0/05$).

بحث

تاکنون مطالعات محدودی در زمینه وضعیت آلودگی انگلی حیوانات آزمایشگاهی که در شرایط متعارف نگهداری می‌شوند در

حیوانات آزمایشگاهی مبتلا، روند تحقیقات با گروه آلوده را مختل نموده و در برخی از موارد نیز مسبب بروز بیماری‌های زئونوتیک در پرسنل حیوان‌خانه و محققین گردد.^{۳-۵} تاکنون حضور انگل‌های متنوعی در موش‌های سوری و رت‌هایی که به شکل جمعیتی در حیوان‌خانه‌های واجد شرایط متعارف نگهداری می‌شوند، گزارش گردیده است.^{۶-۷} اما در ایران تاکنون تحقیقات محدودی در این زمینه صورت پذیرفته است.^{۸،۹} این مطالعه مقطعی در جهت بررسی وضعیت آلودگی انگلی خونی، جلدی و گوارشی موش‌های سوری و رت‌های آزمایشگاهی و تعیین دستورالعمل مراقبت بهداشتی در این زمینه صورت پذیرفت.

روش بررسی

در یک مطالعه توصیفی-مقطعی یک ساله از دی ماه ۱۳۸۷ تا ۱۳۸۸ بر اساس جدول آماری بارتلت،^{۱۰} با دقت ۵٪ و سطح اعتماد ۹۵٪ از دو حیوان‌خانه بزرگ سطح شهر کرمان (حیوان‌خانه‌های دانشکده پزشکی و موسسه رازی) با متوسط جمعیت نگهداری ۷۰۰ سر موش سوری و رت، در هر فصل ۳۰ سر موش سوری و ۳۰ سر رت به صورت تصادفی (در مجموع ۲۴۰ سر از هر نوع حیوان)، جهت بررسی وضعیت آلودگی انگلی خونی، جلدی و گوارشی انتخاب شدند. در هر دوره نمونه‌گیری، اطلاعات کامل حیوان از جمله سن، جنس و جزئیات مربوط به نحوه نگهداری و تغذیه ثبت گردید. پس از القاء بیهوشی با اتر، ابتدا بررسی پوشش خارجی و تهیه تراشه پوستی از مناطق مشکوک انجام و سپس ۱ml نمونه خون جهت تهیه گسترش‌های محیطی از قلب اخذ گردید. در نهایت کلیه حیوانات مورد بررسی با تزریق داخل قلبی تیوپنتال سدیم آسان‌کشی شدند. سپس کل دستگاه گوارش از بدن خارج شده و در داخل پلیت حاوی سرم فیزیولوژی با پیچی روده بر باز و با میکروسکوپ تشریح از لحاظ حضور آلودگی‌های کرمی مورد بررسی دقیق قرار گرفت. جهت تشخیص جنس و گونه سستودهای جدا شده از رنگ‌آمیزی استوکارمین و کلیدهای تشخیصی معتبر استفاده گردید.^{۱۱-۱۳} همچنین برای تشخیص انگل‌های خونی، گسترش‌های نازک و ضخیم خون به روش رنگ‌آمیزی گیمسا رنگ‌آمیزی و به وسیله میکروسکوپ نوری و بزرگ‌نمایی ۱۰۰ مورد مطالعه قرار گرفتند. برای تشخیص تک یاخته‌های روده‌ای و تخم کرم‌های انگلی از روش تغلیظ فرمالین- اتر

تریکوموناس مینوتا، هگزاماستیکس موریس و انتاموباموریس در رت‌ها، مشاهده شد.^۷ در تحقیق دیگری، Goncalus در حیوان‌خانه‌های واجد شرایط متعارف برزیل، آلودگی موش‌های سوری به انگل‌های گوارشی آسپیکولاریس تتراپترا، سیفاسیا ابولاتا و هایمونولپیس نانا را گزارش نمود.^{۱۵} در بسیاری از تحقیقات، تراکم نگهداری، مهمترین ریسک فاکتور در بروز آلودگی انگلی در حیوان‌خانه‌های واجد شرایط متعارف عنوان شده است.^{۱۶، ۱۷، ۱۸} آزاد شدن انواع مختلف آنتی‌ژن‌ها در حیوانات آزمایشگاهی آلوده به انگل داخلی باعث خواهد شد تا به کارگیری این حیوانات در تحقیقات ایمونولوژیک به طور واضح دچار اشکال شود. Lucas گزارش نمود که خصوصاً آلودگی به سستودها تحریک ایمنی بسیار قابل توجهی در حیوانات آلوده ایجاد می‌شود که باعث محدودیت در مصرف آنها در تحقیقات می‌شود.^{۱۷}

ورود ناخواسته جوندگان وحشی به حیوان‌خانه‌های واجد شرایط متعارف، خصوصاً دسترسی این حیوانات به محل‌های انبارسازی غذا یکی از دلایل دیگر آلودگی انگلی حیوانات آزمایشگاهی است. در زمینه وضعیت آلودگی انگلی جوندگان وحشی، مطالعات محلی متعددی در استان‌های اصفهان، خراسان، خوزستان و مازندران توسط ایستگاه‌های تحقیقاتی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران و انستیتو پاستور ایران و سایر مراکز دانشگاهی به صورت گرفته است و طیف وسیعی از آلودگی به انگل‌های گوارشی در این جوندگان مشاهده شده که بسیاری از آنها اهمیت زئونوتیک داشته و بهداشت عمومی جمعیت انسانی را تهدید می‌کند.^{۱۸-۲۲}

این تحقیق حضور آلودگی انگلی بدون علامت بالینی در حیوان‌خانه‌های واجد شرایط متعارف کرمان را تایید نمود و نتایج حاصل از آن اهمیت نمونه‌گیری‌های دوره‌ای جهت بررسی وضعیت آلودگی انگلی حیوانات آزمایشگاهی در حیوان‌خانه‌های واجد شرایط متعارف را آشکار می‌سازد.

انجام اقداماتی چون مبارزه با انگل‌های خارجی، جلوگیری از ورود جوندگان وحشی آلوده و کنترل مکرر وضعیت بهداشتی حیوان‌خانه از طریق نمونه‌گیری دوره‌ای به همراه شیوه‌های صحیح انبارسازی مواد غذایی از روش‌های مناسبی است که می‌تواند در کنترل آلودگی‌های انگلی حیوانات آزمایشگاهی نقش موثری را ایفا نماید. با توجه به زئونوتیک بودن برخی از عوامل انگلی و فقدان نشانه‌ی بارز کلینیکی در حیوانات آلوده، علاوه بر لزوم کنترل عوامل

ایران انجام شده است. در مطالعه البرزی و همکاران در سال ۱۳۸۵، آلودگی کرمی دستگاه گوارش رت‌های آزمایشگاهی شهر اهواز به انگل‌های سیفاسیا موریس (*Syphacia muris*)، هایمونولپیس دیمینوتا و هایمونولپیس نانا (*Hymenolepis nana*) به ترتیب با شیوع ۷۱٪، ۱۴٪/۱ و ۱۴٪/۴ گزارش گردید.^۸ همچنین، البرزی آلودگی قابل توجه مئانه رت‌های آزمایشگاهی (۵۴٪/۲) به انگل تریکوسومونیدس کراسیکودا (*Trichosomoides crassicauda*) و یک مورد آلودگی کبدی به سیستمی سرکوس فاسیولاریس (*Cysticercus fasciolaris*) را گزارش نمود.^۹ نتایج تحقیق حاضر تفاوت قابل توجهی را با تحقیق البرزی از نظر وضعیت آلودگی به نماتودها و سستودهای گوارشی نشان می‌دهد. یکی از دلایل این امر می‌تواند تفاوت شرایط جغرافیایی موجود باشد زیرا رطوبت بسیار پایین استان کرمان، مانع از شیوع نماتودها در گونه‌های مختلف حیوانی می‌گردد. از سوی دیگر آلودگی قابل توجه دستگاه گوارش به هایمونولپیس دیمینوتا در رت‌های حیوان خانه شماره ۱، احتمالاً به دلیل حضور میزبان‌های واسط چون سوسک و یا کک در جمعیت بوده است.

خریداری غذا در حجم زیاد و انبارسازی نامناسب آن باعث تجمع سوسک و جوندگان موزی و فراهم‌سازی بستری مناسب جهت انتقال عوامل عفونی از جمله آلودگی‌های انگلی می‌گردد که این معضل در بررسی محیطی حیوان خانه شماره ۱ مشاهده شد. همچنین نمونه‌گیری فصلی نشان داد که بار آلودگی در فصول گرم سال بیشتر بود و همین امر دخالت میزبان‌های واسطی چون سوسک و کک را گوشزد می‌نماید. در تحقیق Bicalho، وضعیت بهداشتی ۱۳ حیوان‌خانه در برزیل از لحاظ آلودگی موش‌ها و رت‌ها به انگل‌های داخلی و خارجی بررسی شد و نتایج این تحقیق نشان داد در بیشتر حیوان‌خانه‌ها امکانات لازم برای پیشگیری از وقوع آلودگی‌های انگلی وجود ندارد. تنها یک حیوان‌خانه فاقد آلودگی انگلی بود. در سایر حیوان‌خانه‌ها، شیوع انگل‌های ژیاودیوموریس (*Giardia muris*)، اسپیرونوکلتوس موریس (*Spirotrichomonas muris*)، تریکوموناس موریس (*Trichomonas muris*)، انتاموباموریس، تریکوموناس مینوتا (*Trichomonas minuta*)، هگزاماستیکس موریس (*Hexamastix muris*)، سیفاسیا ابولاتا (*Syphacia obvelata*)، آسپیکولاریس تتراپترا (*Aspicularis tetraptera*) و هایمونولپیس نانا (*Hymenolepis nana*) در موش‌های سوری و سیفاسیا موریس، اسپیرونوکلتوس موریس،

برطرف می‌سازد بلکه با حذف خطر انتقال بیماری‌های مشترک، سلامتی محققین و کارکنان را فراهم می‌سازد. *سپاسگزاری:* از همکاری دکتر حمید نجفی‌پور و دکتر مجید عزت‌خواه که امکان نمونه‌گیری منظم از حیوان‌خانه‌ها را فراهم نمودند، تشکر می‌نماییم.

انگلی در محل‌های پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی، رعایت اصول بهداشت و ایمنی در افرادی که عملاً با این حیوانات سروکار دارند نیز ضروری به نظر می‌رسد. پاک‌سازی حیوان‌خانه‌ها از آلودگی انگلی نه تنها تاثیر نامطلوب این آلودگی‌ها در روند تحقیق را

References

- Harkness JE, Wagner JE. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents. 4th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1995. p. 87-128.
- Sparrow S. The microbiological and parasitological status of laboratory animals from accredited breeders in the United Kingdom. *Lab Anim* 1976;10(10):365-73.
- Pinto RM, Vicente JJ, Noronha D, Goncalves L, Gomes DC. Helminthes parasites of conventionally maintained laboratory mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994;89(1):33-40.
- Zenner L, Regnault JP. A retrospective study of the microbiological and parasitological status of laboratory rodents in France. *J Experimental Anim Sci* 2000;40(4):211-22.
- Baker DG. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. *Clin Microbiol Rev* 1998;11(2):231-66.
- Bazzano T, Restel TI, Pinto RM, Gomes DC. Patterns of infection with the nematodes *Syphacia obvelata* and *Aspiculuris tetraptera* in conventionally maintained laboratory mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002;97(6):847-53
- Bicalho KA, Araújo FTM, Rocha RS, Carvalho OS. Sanitary profile in mice and rat colonies in laboratory animal houses in Minas Gerais: I - Endo and ectoparasites. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2007;59(6):1478-84.
- Alborzi AR, Omidian A, Moghimi A. Gastrointestinal helminth infection of laboratory rats in Ahvaz. 5th Congress of Iranian Veterinary Clinicians, Ahvaz, 2007.
- Alborzi AR. Detection of *Trichosomoides crassicauda*, and *Cysticercus fasciolaris* infection in Laboratory rats in Ahvaz. 5th Congress of Iranian Veterinary Clinicians. Ahvaz, 2007.
- Bartlett JE, Kotrlík J, Higgins CC. Organizational Research: Determining appropriate sample size in survey research. *Inf Technol Learn Perform J* 2001;19(1):43-50.
- Eslami A. Veterinary Helminthology, Vol III. Nematoda and Acanthocephala. 2nd ed. Tehran: Tehran University Publications; 2006. p.63-84.
- Baker DG. Flynn's Parasites of Laboratory Animals. 2nd ed. Ames (IA): Wiley-Blackwell publishing 2007: 303-398.
- Yamaguti S. Systema Helminthum. Volume I-IV. The Cestodes of Vertebrates. New York, NY: Interscience Publishers; 1982.
- Gharavi MJ. Textbook of Clinical Protozoology. 3rd ed. Tehran: Teymourzadeh; 2003. p. 129-33.
- Gonçalves L, Pinto RM, Vicente JJ, Noronha D, Gomes DC. Helminth parasites of conventionally maintained laboratory mice: II. Inbred strains with an adaptation of the anal swab technique. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1998;93(1):121-6.
- Perec-Matysiak A, Okulewicz A, Hildebrand J, Zalesny G. Helminth parasites of laboratory mice and rats. *Wiad Parazytol* 2006;52(2):99-102.
- Lucas SB, Hassounah O, Muller R, Doenhoff MJ. Abnormal development of *Hymenolepis nana* larvae in immunosuppressed mice. *J Helminthol* 1980;54(2):75-82.
- Fasihi Harandi M. Study on the fauna of parasites of wild rodents in northern Isfahan. MSPH thesis. School of Public Health, Tehran University of Medical Science, 1992.
- Rasti S, Moubadi I, Dehghani RI, Doroudgar A. The survey of gastrointestinal helminths in mice in Kashan. *J Veterinary Res* 2000;55(4):57-9.
- Gholami SH, Motevali Haghi F, Mobedi I, Shahabi S. Study of helminthic intestinal parasites in the rodents from the rural and central regions of Mazandaran province in the years 1997 to 1999. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2002;12(35):63-7. [Persian]
- Hamedani Y, Heydari M, Soleymani Ahmadi M. Intestinal and blood parasites of brown Rats in Bandar Abbas. *Med J Hormozgan Uni Sci* 2003;7(3):123-7.
- Kia EB, Homayouni MM, Farahnak A, Mohebbali M, Shojai S. Study of endoparasites of rodents and their zoonotic importance in Ahvaz, South West Iran. *Iranian J Publ Health* 2001;30(1-2):49-52.

A parasitological study of blood, skin, and alimentary tract of conventionally maintained laboratory mice and rat

Received: May 25, 2010 Accepted: September 25, 2010

Abstract

Baharak Akhtardanesh PhD.*¹
Mohammad Hossein Radfar
PhD.²
Fatemeh Bagheri DVM.³

1- Department of Clinical Science,
Faculty of Veterinary Medicine,
Shahid Bahonar University of
Kerman, Kerman, Iran.

2- Department of Parasitology,
Faculty of Veterinary Medicine,
Shahid Bahonar University of
Kerman, Kerman, Iran.

3- Veterinary Student, Faculty of
Veterinary Medicine, Shahid
Bahonar University of Kerman,
Kerman, Iran.

Background: Efforts have been made worldwide to identify and to study parasites of laboratory animals, aiming at the achievement of proper procedures for eradication of parasitic infestations, considering the important role of these animals in scientific research. There is no sufficient data about parasitic infestations of Laboratory animals which are kept in conventional systems in Iran. In this scope, present study was designed to investigate the presence of ectoparasites and endoparasites in conventionally maintained laboratory rats (*Rattus norvegicus*) and in mice (*Mus musculus*).

Methods: A descriptive cross-sectional study was performed on 240 randomly selected rats and mice from two different animal houses in Kerman city, Iran. Skin scraping; blood samples and alimentary tract contents of all animals were fully examined for the presence of parasitic infections.

Results: In the first animal house, *Nosopsylla fasciatus* (flea), *Hymenolepis diminuta*, *Entamoeba muris* and *Cryptosporidium spp.* infestation were diagnosed respectively in 35.41%, 36.1%, 3.57%, and 1.25% of rat colonies but only *Entamoeba muris* infestation was detected in 4.58% of mice colonies. In the second animal house, 2.5% and 2% of rat and mice colonies were infected by *Entamoeba muris*.

Conclusion: Based on presence of asymptomatic parasitic infection in conventionally maintained laboratory animals, regular periodical samplings, precise sanitary monitoring of barrier maintained system, environment and food seem necessary in animal houses. Eradication of parasites could eliminate the confounding effects of these infections on researches and additionally decrease the risk of zoonotic disease transmission to investigators and animal house personnel's.

Keywords: *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, parasite.

*Corresponding author: Small animal
Internal Medicine Section, Veterinary
Faculty, Shahid Bahonar University, 22
Bahman Blvd., Kerman, Iran.
Tel: +98-341- 3222047
email: akhtardanesh@mail.uk.ac.ir