DOI:10.22034/vj.2017.109301.1263 شماره ۱۱۷ زمستان ۱۳۹۶

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

پایش بهداشتی موش‌های آزمایشگاهی نژاد NIH موسسه رازی نسبت به باکتری *کلستریدیوم پیلی فورم* در سال ۱۳۹۵

• **روزبه فلاحی (نویسنده مسئول)**

دانشیار پژوهش بخش تحقیق، تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

• **محمدعلی منصوری**

کارشناس ارشد بخش تحقیق، تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵-۱۱-۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶-۰۱-۱۴

Email: r.fallahi@rvsri.ac.ir

چکیده

عامل بیماری تایزر باکتری *کلستریدیوم پیلی‌فورم* می‌باشد. از آنجاکه تاکنون استانداردهای بین‌المللی در مورد تعیین آلودگی حیوانات آزمایشگاهی در ایران بدلیل اهمیت ندادن به این موضوع صورت نگرفته است، در این تحقیق میزان شیوع این باکتری در کلنی موش‌های آزمایشگاهی نژاد NIH مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی موسسه رازی در سال ۱۳۹۵ مورد بررسی گرفته است. ۸۲ سر موش پرورشی به‌صورت تصادفی از کلنی پرورشی انتخاب و بعد از خون‌گیری، در کالبدگشایی دستگاه گوارش از لحاظ علائم بیماری و در سرم‌های تهیه‌شده با روش الایزای غیرمستقیم از نظر آنتی‌بادی اختصاصی ضد*کلستریدیوم پیلی‌فورم* مورد بررسی قرار گرفتند. از این تعداد هیچ‌گونه علائم بیماری در کالبدگشایی مشاهده نگردید ولی در آزمایش الایزا، دو مورد مثبت شناسایی شد. با توجه به عدم مشاهده علائم بیماری در کلنی موش‌های پرورشی و بر طبق دستورالعمل FELASA می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که با اطمینان ۹۹/۹ درصد، آلودگی به *کلستریدیوم پیلی‌فورم* در سالن‌های پرورشی، بسیار کمتر از ۱۰ درصد (۲/۴۳ درصد) در بین موش‌های نژاد NIH بوده و نیاز به حذف کلنی نمی‌باشد. ولی باید در آزمایشات دوره‌ای، دقت و حساسیت بیشتری نسبت به این باکتری لحاظ نمود.

کلمات کلیدی: پایش بهداشتی، *کلستریدیوم پیلی‌فورم*، موش آزمایشگاهی نژاد NIH

Veterinary Researches & Biological Products No 117 pp: 78-84

Health monitoring of Razi Institute laboratory mice (NIH strain) to *Clostridium piliforme* in 1395

By: Fallahi, R., (Corresponding Author) Member of Scientific Board, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. and Mansouri, M.A., MSc,Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: 2017-01-24 **Accepted: 2017-04-03**

Email: r.fallahi@rvsri.ac.ir

The cause of tyzzer's disease is *Clostridium piliforme* bacteria. Since the international standards on determination of contamination in laboratory animals in Iran It's not done.This study intends review the incidence of *Clostridium piliforme* infection in laboratory NIH mice colonies in a laboratory animals breeding center. 82 mice from a colony of breeding laboratory animals were randomly selected and were examined by indirect ELISA method for specific antibodies against *Clostridium piliforme* in serum. Also after necropsy the gastrointestinal were studied examined for symptoms of the disease. Of these, two positive cases were identified in ELISA and any symptoms of disease was not observed in necropsy. According to the FELASA instructions, it can be concluded with 99.9% confidence, the contamination with *Clostridium piliforme* in breeding facilities, much less than 10% (2.43%) in the NIH mice colony is obtained and is not need to remove the colony. However, should be considered carefully and be more sensitive to this bacteria in periodic testing.

Key words: Health Monitoring, *Clostridium piliforme*, NIH laboratory mice

مقدمه

یکی از مهم‌ترین توصیه‌های سازمان‌ها و انجمن‌های بین‌المللي در رابطه با حیوانات آزمایشگاهي، استفاده از حیوانات تعریف‌شده (Gnotobiotic Animals) مي‌باشد چرا که نتایج‌کار بایستی قابل تکرار و قابل‌اطمینان و قابل‌تعمیم باشد. بر اساس توصیه فدراسیون انجمن‌های علوم حیوانات آزمایشگاهی اروپا (Federation of European Laboratory Animal Science Associations)، پایش‌بهداشتی (Health Monitoring) حیوانات، جهت صدور گواهی سلامت آن‌ها که مورد درخواست سیستم‌های کیفیت و کنترل کیفي مؤسسات توليدي و تحقیقاتی مي‌باشد، الزامي است. همچنین بسیاري از آلودگی‌های باکتریایي، مایکوپلاسمایي و ویروسي باعث ایجاد واکنش‌های متقاطع می‌شوند که در تست‌های کنترلي مداخله می‌کنند.

بر طبق استانداردهای FELASA در مورد بعضی از باکتری‌های بیماری‌زا در هر کلنی پرورشی، در خصوص تعیین پاک و یا آلوده بودن حیوانات آزمایشگاهی حتماً باید به صورت دوره‌ای بررسی صورت گیرد (۹). از باکتری‌های مهم که توسط FELASA توصیه شده است *Clostridium piliforme* می‌باشد. این باکتری طویل، نازک و مولد اسپور بوده و گرم منفی می‌باشد و عامل بیماری Tyzzre's در موش می‌باشد. از علائم بیماری می‌توان به بی‌حالی، ضعف، اسهال و مرگ ناگهانی اشاره کرد. از نظرآسیب‌شناسی، ایجاد التهاب ایلئوم (Ileum)، سکوم (Cecum) و کولون (Colon) و مناطق کوچک متعدد از نکروز در کبد می‌گردد (۲، ۸، ۱۲، ۱۳، ۱۷).

درصورت عفونت‌های تحت‌بالینی و بدون علائم، وجود عوامل استرس‌زا نظیر تراکم بالا، افزایش درجه حرارت سالن پرورش، افزایش رطوبت و تغذیه نامناسب و تضعیف سیستم ایمنی به دلایل متفاوت، موجب بروز بیماری و تلفات می‌گردد (۱۱، ۱۴). از آنجا که تاکنون استانداردهای بین‌المللی در مورد تعیین آلودگی حیوانات آزمایشگاهی در ایران بدلیل عدم پیروی از مراجع معتبر صورت نگرفته است، در این تحقیق به بررسی آلودگی به باکتری کلستریدیوم پیلی‌فورم در کلنی موش‌های آزمایشگاهی نژاد NIH پرداخته شد. موش‌های آزمایشگاهی نژاد NIH، بیشترین مصرف را در کارهای تحقیقاتی به خود اختصاص داده است (۱، ۱۱). در این تحقیق از آزمایش ELISA برای بررسی آلودگی استفاده شد که به عنوان Golden Test از سوی FELASA معرفی گردیده است (۹). با پایش بهداشتی، نوع آلودگی تعیین و شدت و میزان آن مشخص و در صورت مواجهه با عوامل بیماری‌زای خاص، اقدامات کنترلي به صورت جدي بایستی انجام گیرد. بر اساس استانداردهای FELASA، پایش بهداشتی عوامل بیماری‌زای باکتریایی، مایکوپلاسمایی، انگلی و ویروسی بویژه عواملي که باعث ایجاد بیماری‌های خطرناك در انسان می‌شوند در فواصل معین باید صورت گیرد. ضمن اینکه بسیاری از عوامل عفونت‌زا، علاوه بر ایجاد بیماری در انسان و حیوانات، باعث آلودگی در فرآورده‌های بیولوژیك، نظیر سرم و رده‌های سلولی حیوانات می‌شوند (۱، ۱۱). حیوانات آزمایشگاهی بایستی برای گروه خاصی از

عوامل بیماری‌زا پایش شوند. این عوامل یا براساس توصیه‌های انجمن بین‌المللی FELASA و یا براساس نوع محصول تولیدی در هر مرکز، مشخص می‌شوند. چرا که میکروارگانیسم‌های مداخله‌گر درآزمایش‌های سرم‌شناسی کنترلی، در مورد هر محصول، با محصولات دیگر ممکن است متفاوت باشد (۱، ۱۱). با بررسی‌های دقیق صورت گرفته از آنجائی که تا کنون هیچگونه تحقیقی بر روی این باکتری در حیوانات آزمایشگاهی ایران گزارش نشده است، لذا این پروژه می‌تواند در تشخیص این باکتری برای پایش بهداشتی حیوانات آزمایشگاهی موثر باشد.

مواد و روش کار

انتخاب نمونه

با توجه به دستورالعمل FELASA، (جدول ۱) با احتساب ۱۰ درصد شیوع آلودگی در سطح کلنی حیوانات و با اطمینان ۹۹/۹ درصد، از کلنی پرورشی، به تعداد ۶۶ نمونه احتیاج است که در این تحقیق تعداد ۸۲ موش آزمایشگاهی نژاد NIH از هر دو جنس از سالن پرورش (شکل ۱) به صورت تصادفی انتخاب گردید. به علاوه ۱۲ سر موش وحشي نیز به طریق تله‌های زنده‌گیری تهیه گردید (۹).

آماده‌سازی نمونه‌ها و انجام الایزای غیرمستقیم

با رعایت کامل اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی، پس از بیهوش نمودن موش‌ها (با ترکیب کتامین (Ketamine) به میزان ۷۵ mg/kg و زایلازین (Xylazine) به میزان ۱۰ mg/kg و تزریق داخل صفاقی نمونه خون از قلب موش‌ها تهیه و سرم آن‌ها به روش استاندارد تهیه گردید (۱، ۱۱). با استفاده از کیت اختصاصی (Xpress Biolife Science Product) و بر اساس دستورالعمل استاندارد کیت، آزمایش الایزا انجام گرفت و در خاتمه با الایزا ریدر (Reader) در طول موج ۴۰۵ نانومتر قرائت و نتایج تفسیر گردید. اساس تفسیر بر طبق دستورالعمل کیت در ذیل آمده است:

کنترل سرم منفی استاندارد: پس از کم کردن مقدار عدد بدست آمده از کنترل منفی استاندارد، مقدار عدد بدست آمده از تفاضل دو چاهک آنتی‌ژن مثبت و منفی، باید کوچکتر یا مساوی ۰/۲۵۰ در طول موج ۴۵۰ نانومتر باشد.

کنترل سرم مثبت استاندارد: پس از کم کردن مقدار عدد بدست آمده از کنترل مثبت استاندارد مقدار عدد بدست آمده از تفاضل دو چاهک آنتی ژن مثبت و منفی باید بزرگتر یا مساوی ۰/۶۰۰ در طول موج ۴۵۰ نانومتر باشد.

تفسیر اعداد بدست آمده از سرم‌های نمونه: مقدار عدد بدست آمده از چاهک آنتی‌ژن مثبت هر نمونه مجهول را از مقدار آن در چاهک آنتی‌ژن منفی کسر می‌گردد؛ اگر نتیجه بزرگتر یا مساوی ۰/۳۰۰ باشد، نمونه مثبت در نظر گرفته می‌شود. در غیراین صورت نمونه از نظر آلودگی منفی است.

$$\text{تعداد نمونه} = \frac{\text{لگاریتم } ۰/۰۵}{\text{لگاریتم } N}$$

N= درصد حیوانات غیرآلوده

ضریب اطمینان۹۵٪ = ۰/۰۵

میزان شیوع احتمالی (٪)	تعداد نمونه‌های مورد نیاز با در نظر گرفتن درصد اطمینان مختلف		
	٪۹۵	٪۹۹	٪۹۹/۹
۱۰	۲۹	۴۴	۶۶
۲۰	۱۴	۲۱	۳۱
۳۰	۱۰	۱۳	۲۰
۴۰	۶	۱۰	۱۴
۵۰	۵	۷	۱۰

به عنوان مثال اگر میزان شیوع احتمالی یک عفونت ۳۰٪ و درصد اطمینان، ۹۵٪ در نظر گرفته شود، جهت پایش و تشخیص حداقل یک نمونه مثبت، به ۱۰ سر حیوان نیاز می باشد.

جدول ۱- محاسبه تعداد حیوان بر طبق دستورالعمل FELASA

کالبدگشایی

پس از کشتن موش‌های نمونه‌برداری شده به روش انسانی (استفاده از دز بالای کتامین و زایلازین) آن‌ها را به روش استاندارد، کالبدگشایی نموده و کل دستگاه گوارش به‌ویژه بافت‌های کبد و روده‌ها از لحاظ شکل ظاهری، رنگ، اندازه و وجود کانون‌های نکروزه سفید و خاکستري رنگ مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۲) (۱).

نتایج

نتایج بدست آمده که بر اساس کیت اختصاصی شرکت Biolife انجام گردیده است در جدول ۲ آمده است. بر طبق دستورالعمل تفسیر کیت، دو نمونه مثبت مشخص گردیده که متعلق به موش‌های سالن‌های پرورشی می‌باشند. بنابراین با اطمینان ۹۹/۹ درصد آلودگی به کلستریدیوم پیلی‌فورم در سالن‌های پرورشی بسیار کمتر از ۱۰ درصد و میزان شیوع آن ۲/۴۳ درصد در بین موش‌های نژاد NIH بدست آمده و ۲/۱۲ درصد در کل نمونه‌های مورد بررسی (نمونه موش‌های پرورشی و وحشی) می‌باشد.

کالبدگشایی

در تمام نمونه‌های کالبدگشایی شده، در بررسی ظاهری کل دستگاه گوارش خصوصاً بافت‌های کبد و روده هیچگونه علائم غیرطبیعی و آثاری از نقاط نکروزه و سفیدرنگ مشاهده نگردید که با توجه به عدم وجود علائم بالینی بیماری تایزر در کلنی موش‌های پرورشی نشان‌دهنده عدم وجود بیماری می باشد (شکل ۲).

بحث

بر اساس توصیه فدراسیون انجمن‌های علوم حیوانات آزمایشگاهی اروپا، پایش بهداشتی حیوانات، جهت صدور گواهي سلامت آن‌ها که مورد درخواست سیستم‌های کیفیت و کنترل کیفي مؤسسات تولیدي و تحقیقاتی مي‌باشد، الزامی است. برطبق توصیه‌های این فدراسیون، عوامل محیطی، فاکتورهای ژنتیکی و عوامل عفونت‌زا به‌طور مستقیم در سلامت حیوانات آزمایشگاهی و در نهایت در کارهای تحقیقاتی صورت گرفته برروی آن حیوانات تأثیر می‌گذارند (۱، ۹، ۱۱). بسیاری از عوامل عفونت‌زا در حیوانات آزمایشگاهی باعث ایجاد عفونت در انسان می‌شوند و زئونوز (Zoonosis) هستند. بنابراین با دلایل ذکر شده مهم است که برنامه‌های پایش بهداشتی به عنوان یک سیستم کنترل کیفی مهم به اجرا درآیند. هزینه اقدامات پیش‌گیرانه و نیز اجرای برنامه‌های پایش بهداشتی ممکن است زیاد به‌نظر برسند، ولی نسبت به هزینه کلی که در مورد تحقیقات گوناگون که در آن‌ها از حیوانات آزمایشگاهی استفاده می گردد، بسیار ناچیز می‌باشد. این مهم است که حیوانات آزمایشگاهی باید عاری از عواملی باشند که ممکن است در نتیجه پژوهش برروی آن‌ها به عنوان مدل، تأثیر بگذارند، اما لزومی ندارد که حیوانات از تمام میکروارگانیسم‌ها پاک باشند. توصیه‌ها بایستی بر اساس نیازهای انفرادی و محلی، ملاحظات کارهای پژوهشی، عواملی که شیوع آن‌ها به صورت ناحیه‌ایی است و نیز اهداف ملی که در هر کشور در این خصوص مطرح می‌باشد و همچنین دیگر ملاحظاتی که در تهیه سرم‌ها، واکسن‌ها و دیگر فرآورده‌های بیولوژیک وجود دارد تنظیم گردد (۱، ۹، ۱۱).

انتقال عوامل عفونت‌زا و نیز حضور عوامل آلرژن در سیستم‌های

شکل ۱ - کلنی پرورش موش آزمایشگاهی نژاد NIH

جدول ۲- نتایج بدست آمده بر اساس کیت اختصاصی الایزا

ستون ۶		ستون ۵		ستون ۴		ستون ۳		ستون ۲		ستون ۱	
نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه
۰/۱۵	۳۹	۰/۳۲	۳۱	۰/۰۴	۲۳	۰/۰۲	۱۵	۰/۰۴	۷	۰/۰۲	کنترل منفی
۰/۰۰	۴۰	۰/۰۸	۳۲	۱/۱۹	۲۴	۰/۰۴	۱۶	۰/۰۰	۸	۱/۴۸	کنترل مثبت
۰/۰۶	۴۱	۰/۰۹	۳۳	۰/۰۸	۲۵	۰/۰۵	۱۷	۰/۱۰	۹	۰/۰۴	۱
۰/۰۹	۴۲	۰/۰۶	۳۴	۰/۱۰	۲۶	۰/۰۴	۱۸	۰/۰۱	۱۰	۰/۲۲	۲
۰/۱۲	۴۳	۰/۰۹	۳۵	۰/۱۰	۲۷	۰/۱۹	۱۹	۰/۰۲	۱۱	۰/۱۴	۳
۰/۱۲	۴۴	۰/۰۹	۳۶	۰/۱۲	۲۸	۰/۰۰	۲۰	۰/۰۳	۱۲	۰/۱۶	۴
۰/۱۵	۴۵	۰/۰۲	۳۷	۰/۰۱	۲۹	۰/۰۳	۲۱	۰/۰۲	۱۳	۰/۰۸	۵
۰/۰۳	۴۶	۰/۰۵	۳۸	۰/۰۳	۳۰	۰/۰۴	۲۲	۰/۰۵	۱۴	۰/۰۰	۶

ستون ۷		ستون ۸		ستون ۹		ستون ۱۰		ستون ۱۱		ستون ۱۲	
نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه	نمونه	نتیجه
۴۷	۰/۲۱	۵۵	۰/۰۴	۶۳	۰/۱۷	۷۱	۰/۰۵	۷۹	۰/۲۳	۸۷	۰/۰۱
۴۸	۰/۲۶	۵۶	۰/۴۰	۶۴	۰/۱۰	۷۲	۰/۱۵	۸۰	۰/۲۸	۸۸	۰/۰۲
۴۹	۰/۰۷	۵۷	۰/۰۰	۶۵	۰/۰۴	۷۳	۰/۰۸	۸۱	۰/۰۷	۸۹	۰/۰۲
۵۰	۰/۰۵	۵۸	۰/۰۳	۶۶	۰/۱۱	۷۴	۰/۰۵	۸۲	۰/۱۲	۹۰	۰/۰۳
۵۱	۰/۲۵	۵۹	۰/۰۶	۶۷	۰/۱۷	۷۵	۰/۰۳	۸۳	۰/۰۸	۹۱	۰/۰۱
۵۲	۰/۰۴	۶۰	۰/۰۶	۶۸	۰/۰۲	۷۶	۰/۰۲	۸۴	۰/۰۱	۹۲	۰/۱۱
۵۳	۰/۰۵	۶۱	۰/۱۱	۶۹	۰/۰۷	۷۷	۰/۲۵	۸۵	۰/۰۲	۹۳	۰/۰۹
۵۴	۰/۰۲	۶۲	۰/۰۴	۷۰	۰/۰۵	۷۸	۰/۰۲	۸۶	۰/۰۱	۹۴	۰/۱۲

با قفس‌های روباز که در سیستم‌های پرورشی متعارفی وجود دارند، نسبت به سیستم‌های بسته، نظیر قفس‌های با تهویه مجزا (Individually Ventilated Cages) بسیار بیشتر بوده و ضرورت انجام برنامه‌های پایش بهداشتی در آن‌ها اهمیت بیشتری دارد. در سیستم‌های با قفس‌های روباز (Open cages) در سیستم‌های پرورشی متعارفی (Conventional)، انتقال مواد عفونت‌زا از طریق بستر، آب و غذا، به‌طور غیرمستقیم و همچنین تماس مستقیم از قفس‌ها و حیوانات آلوده صورت می‌گیرد (۱، ۱۱). بررسی وجود آنتی‌بادی‌های عوامل بیماریزا در سرم خون حیوانات آزمایشگاهی نشان‌دهنده عفونت قبلی در آنها می‌باشد (۴، ۶، ۱۰، ۱۶).

از آن‌جا که عدم شناسایی فلور میکروبی این نژاد از موش که بیشترین استفاده را در تحقیقات دارد از سوی سیستم‌های نظارت کنترل کیفی عدم انطباق ذکر گردیده، جهت برطرف نمودن آن، لزوم انجام پایش بهداشتی در این خصوص جهت استاندارد کردن روش‌های تشخیصی و استفاده از آنها در آزمایشات آتی که به‌صورت مستمر و دوره‌ای برای تمام نژادهای موش آزمایشگاهی صورت خواهد گرفت ضروری می‌باشد. در مراکز

شکل ۲ - عدم وجود علائم بالینی بیماری تایزر در موش‌های پرورشی کالبدگشایی شده

اصلی پرورش حیوانات آزمایشگاهی ایران با وجود پیشرفت‌هایی که در طراحی و روش‌های پرورش حاصل شده است ولی هنوز شیوع بعضی از عفونت‌ها به ویژه عفونت‌های انگلی دیده می‌شود. گرچه علائم بالینی در آلودگی به عوامل عفونت‌زا دیده نشده است ولی می‌تواند در نتایج تحقیقات و تست‌هایی که جهت تهیه واکسن برروی این حیوانات انجام می‌شود تأثیر منفی بگذارد (۱).

امروزه در مراکز بزرگ تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهي، انجام آزمایش تشخیص عوامل عفونت‌زای مهم هر شش هفته انجام می‌شود (۱). در ایران تاکنون هیچگونه تحقیقی در مراکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی بر روی باکتری کلستریدیوم پیلی‌فورم انجام نشده بود. در این تحقیق مشخص گردید تعداد دو نمونه از ۸۲ نمونه از موش‌های پرورشی، از نظر وجودآنتی‌بادی ضد کلستریدیوم پیلی‌فورم در سرم خون، مثبت بوده‌اند. بر طبق دستورالعمل FELASA می‌توان نتیجه‌گیری نمود که با اطمینان ۹۹/۹ درصد آلودگی به کلستریدیوم پیلی‌فورم در سالن‌های پرورشی بسیار کمتر از ۱۰ درصد و میزان شیوع آن۲/۴۳ درصد در بین موش‌های نژاد NIH و ۲/۱۲ درصد در کل نمونه‌های مورد بررسی (نمونه موش‌های پرورشی و وحشی) بوده است که احتمال درگیری و یا مواجهه با عامل بیماری در زمان گذشته وجود دارد. این تحقیق براساس جستجوی آنتی‌بادی ضد باکتری در سرم موش‌های آزمایشگاهی انجام گرفته و میزان آن اندک بوده و بالا نمی‌باشد ولی از آنجاکه در بررسی دیگر میکروارگانیزم‌های گزارش شده نظیر استرپتوباسیلوس (Streptobacillus) و لپتوسپیرا (Leptospira) منفی بوده‌اند، بنابراین در پایش‌های دوره‌ای و مستمر آتی بایستی دقت و حساسیت بیشتری نسبت به باکتری کلستریدیوم پیلی‌فورم اعمال نمود و در صورت تکرار موارد مثبت و بیشتر بایستی نسبت به آزمایشات تشخیص تکمیلی نظیر روش‌های تشخیصی آنتی‌ژنیک، اقدام و در صورت تأیید بر طبق دستورالعمل‌های FELASA بایستی اقدام های کنترل، مبارزه و احتمالاً حذف کلنی آلوده گردید. با توجه به مشاهدات و بررسی‌های انجام شده در این تحقیق نیز مشخص می‌گردد که اقدامات پیشگیرانه تا حد زیادي باعث کاهش شیوع عفونت در موش‌های آزمایشگاهي موسسه رازی می‌باشد.

در زمینه پایش بهداشتی عوامل عفونی باکتریایی در سایر کشورها گزارشات زیادی وجود دارد. بیماری Tyzzre's اولین بار در سال ۱۹۱۷ توسط Ernest Tyzzer به‌عنوان سندروم شناسایی شد (۱۲) سپس Allen و همکاران در سال ۱۹۶۵ آن را در خرگوش‌ها گزارش کردند (۲). Boivin و همکاران در سال ۱۹۹۴ از روش ELISA در تشخیص عفونت باکتریایی کلستریدیوم پیلی‌فورم استفاده نمودند و این روش را بسیار موثر در تشخیص عفونت معرفی کردند (۵).

Boot در سال ۲۰۰۱ روش ELISA را روشی موثر در تشخیص بیماری‌های باکتریایی از جمله کلستریدیوم پیلی‌فورم معرفی نمود (۳). روش ELISA از Golden testهای توصیه شده برای تشخیص عفونت کلستریدیوم پیلی‌فورم از سوی FELASA معرفی شده است (۹).

در سال ۱۹۹۴ Hansen و همکارانش بیماری تایزر را در موش‌های آزمایشگاهی با حضور آنتی‌بادی علیه کلستریدیوم پیلی‌فورم تشخیص دادند. (۱۲) در سال ۱۹۹۶، Boot و همکارانش عفونت های باکتریایي و ویروس‌های متقابل را در موش‌های یك آزمایشگاه پرورش حیوانات مورد

بررسی قرار دادند (۱۲). در سال ۱۹۹۸، Livingston و همکارانش عفونت کلستریدیوم پیلی‌فورم در موش‌های برهنه (Nude) را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که سلول‌های T نقش مهمي در دفاع میزبان در برابر عفونت کلستریدیوم پیلی‌فورم بازی می‌کند و همچنین سیتوتوکسین تولید شده توسط ایزوله کلستریدیوم پیلی‌فورم باعث بهبود علائم بالینی و ضایعات در موش می‌شود (۱۵). در سال ۲۰۰۲، Furukawa و همکارانش با استفاده از PCR از مدفوع موش، کلستریدیوم پیلی‌فورم را تشخیص دادند (۱۴).

در سال ۲۰۱۱، Dammann و همکارانش میکروارگانیسم‌های عفونی شامل ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و انگل‌های یوکاریوتی (Eukaryotic parasites) در موش‌هایی که از مغازه‌های فروش حیوانات اهلي در آلمان تهیه شده‌اند را مورد بررسی قرار دادند. این مطالعه نشان داد که در صورت تماس مستقیم با موش‌های فروشگاه‌های حیوانات خانگي اگر اقدامات احتیاطی انجام نگرفته باشد امکان ابتلا به بیماری وجود دارد (۷). در سال ۲۰۱۶، de Bruin و همکاران به بررسی انتقال عفونت از طریق بستر در موش‌ها و رت‌ها پرداختند تا بتوانند توصیه‌هایی برای طراحی برنامه‌های نظارت بر سلامتی به منظور تعیین وضعیت میکروبیولوژیکی حیوانات آزمایشگاهی ارائه دهند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که انتقال عفونت از طریق بستر برای کلستریدیوم پیلی‌فورم اهمیت دارد (۶).

منابع مورد استفاده

1- Fallahi, R. and Mansouri, M.A. (2015) Biology, Breeding, Diseases and Principles of Working to Laboratory Animals, First Edition, Razi Vaccine and Serum Research Institute Publication, pp: 68-109.

2- Allen, A.M., Ganaway, J.R,, Moore, T.D. and Kinard, R.F. (1965) Tyzzer's disease syndrome in laboratory rabbits, *The American Journal of Pathology,* 46:859–882.

3-Boot, R. (2001) Development and validation of ELISAs for monitoring bacterial and parasitic infections in laboratory rodents and rabbits, *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, 1(28), 1-8.

4-Boot, R., van Herck, H.and van der Logt, J.(1996) Mutual viral and bacterial infections after housing rats of various breeders within an experimental unit, Laboratory Animal, 30(1), 42-45.

5-Boivin, G.P., R.R. Hook, J. R. and Riley، L.K. (1994) Development of a monoclonal antibody-based competitive inhibition ELISA for detectionof *Bacillus piliformis* isolate-specific antibodies in laboratory animals, *Laboratory Animal Science*, 44,153-158.

6- de Bruin W.C., van de Ven, E.M.and Hooijmans, C.R.(2016) Efficacy of soiledbedding transfer for transmission of mouse and rat infections tosentinels: A Systematic Review, *PLoS One*, 12;11(8): e0158410. doi: 10.1371/journal.pone.0158410.

7-Dammann, P., Hilken, G., Hueber, B., Kohl, W., Bappert, M.T.and Mahler, M. (2011). Infectious microorganisms in mice (*Mus musculus*) purchased from commercial pet shops in Germany, Laboratory Animal, 45(4):271-5. doi: 10.1258/la.2011.010183. Epub 2011 Apr 20،www.ncbi.nlm.nih.gov.

8- Feldman, S.H., Kiavand, A., Seidelin, M.and Reiske, H.R. (2006) Ribosomal RNA sequences of *Clostridium piliforme* isolated from rodent and rabbit: re-examining the phylogeny of the Tyzzer's disease agent and development of a diagnostic polymerase chain reaction assay, *The Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 45(5):65-73،www.ncbi.nlm.nih.gov.

9- FELASA Working group on health monitoring of rodent and rabbit colonies (2014) Recommendations on health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units, Laboratory Animals aine, 36: 20-42.

10-Goto, K. and Itoh, T. (1996) Detection of *Clostridium piliforme* by enzymatic assay of amplified cDNA segment in microtitration plates، Lab Anim Sci. 46(5):493-6،www.ncbi.nlm.nih.gov.

11- Hubrecht, R. and Kirkwood, J. (2010) The UFAW hand book on the care and management of laboratory and oher research animals. 8th Edition, The laboratory mouse, pp: 304-309.

12-Hansen, A.K., Andersen, H.V.and Svendsen, O. (1994) Studies on the diagnosis of Tyzzer's disease in laboratory rat colonies with antibodies against *Bacillus piliformis* (*Clostridium piliforme*), *Laboratory Animal Science.* Oct; 44(5):424-9،www.ncbi.nlm.nih.gov،1395/8

13- Hansen, A.K. (2000) Handbook of laboratory animal bacteriology, Chapter nine, 9.2.1.*Clostridium piliforme* CRC Press, Medical / Nursing.

14- Kahn, C.M. (2010) The Merck Veterinary Manual, Digestive system, Tyzzer disease, 10th ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons.

15- Livingston, R.S, Franklin, C.L., Besch-Williford, C.L., Hook, R.R.and Riley, L.K.(1998) A novel presentation of *Clostridium piliforme* infection (Tyzzer's disease) in nude mice. *Laboratory Animal Science.* 48(4):334-339.

16-Motzel, S.L., Meyer, J.K.and Riley, L.K. (1991) Detection of serum antibodies to *Bacillus piliformis* in mice and rats using an enzyme-linked immunosorbent assay, *Laboratory Animal Science,* 41(1):26-30.

17-Spencer, T.H., Ganaway, J.R. and Waggie, K.S. (1990) Cultivation of *Bacillus piliformis* (Tyzzer) in mouse fibroblasts (3T3 cells) *Veterinary Microbiology*, 22:291–297.