ORIGINAL ARTICLE

# *A survey on intestinal parasites in Swiss Webster mice*

Hamed Kalani[1]
Ahmad Daryani[2]
Mahdi Fakhar[2]
Mahdi Sharif[2]
Roghiyeh Faridnia[3]

[1] Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
[3] Student Research Committee, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

(Received January 5, 2013; Accepted February 20, 2013)

## *Abstract*

**Background and purpose:** Nowadays the laboratory mice are frequently used in basic science research. However, these animals may be infected with some pathogens as parasites. The study of parasites infecting laboratory mice is important on account of two reasons: 1) zoonotic agents and 2) interference with the results of some studies such as immunology and pharmacology. Thus, we carried out this study to determine the prevalence of intestinal parasites, particularly zoonoses, in Swiss-Webster mice.

**Materials and methods:** In this study, fifty Swiss-Webster mice were randomly purchased from Pasteur Institute of Iran (Amol branch). After euthanizing the mice, their intestinal contents were separately examined using standard parasitological methods.

**Results:** The results showed that thirty-seven mice (74%) were infected with at least one parasite. The highest prevalence (83.78%) was with *Rodentolepis nana* and the lowest (2.7%) with *Blastocystis sp*. This is the first report of natural infection with *Blastocystis sp*. in laboratory mice. Moreover, our results indicated a high prevalence of two zoonotic parasites in laboratory mice: *Rodentolepis nana* (83.78%) and *Giardia muris* (27.01%).

**Conclusion:** Considering the existence of zoonotic parasites in the mice and the interference of these parasites with some studies, it is necessary for those dealing with these animals to attend to the principles of the Good Laboratory Practice (GLP).

***Keywords:*** Gastrointestinal parasites, Swiss Webster mice, Zoonoses

**J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(Suppl-2): 64-69 (Persian).**

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۸ اسفند ۱۳۹۱ (۶۹-۶۴)

# بررسی انگل‌های روده‌ای در موش‌های آزمایشگاهی نژاد SwissWebster

حامد کلانی[۱]
احمد دریانی[۲]
مهدی فخار[۲]
مهدی شریف[۲]
رقیه فریدنیا[۳]

## چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه استفاده از موش‌های آزمایشگاهی در تحقیقات علوم پایه بسیار رایج می‌باشد. این حیوانات ممکن است به انواعی از عوامل پاتوژن مانند انگل‌ها آلوده باشند. بررسی انگل‌های موش‌های آزمایشگاهی از دو جنبه عوامل زئونوز و تداخل با نتایج برخی مطالعات مانند ایمونولوژی و فارماکولوژی حائز اهمیت می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی میزان شیوع انگل‌های روده‌ای موش‌های آزمایشگاهی نژاد Swiss-Webster، مخصوصاً انگل‌های زئونوز است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه ۵۰ سر موش نژاد Swiss-Webster به‌طور تصادفی از موسسه پاستور، شعبه آمل خریداری شدند. پس از کشتن اخلاقی موش‌ها محتویات دستگاه گوارش آن‌ها به‌طور جداگانه با روش‌های متداول پارازیتولوژی مورد بررسی قرار گرفت.

**نتایج:** نتایج این مطالعه توصیفی مقطعی نشان داد که ۳۷ موش (۷۴ درصد) حداقل به یک انگل دستگاه گوارش آلوده می‌باشند. هم‌چنین بیش‌ترین شیوع مربوط به انگل Rodentolepis nana (۸۳/۷۸ درصد) و کم‌ترین شیوع مربوط به انگل Blastocystis sp (۲/۷ درصد) می‌باشد. مطالعه حاضر اولین گزارش از آلودگی طبیعی موش‌های آزمایشگاهی به انگل Blastocystis می باشد. علاوه بر این در این مطالعه دو انگل زئونوز از شیوع بالایی برخوردار بودند (Rodentolepis nana (۸۳/۷۸ درصد) و Giardia muris (۲۷/۰۱ درصد)).

**استنتاج:** با توجه به وجود انگل‌های زئونوز در موش‌های بررسی شده و تداخل این انگل‌ها با برخی مطالعات، توجه به اصول کار آزمایشگاهی خوب (Good Laboratory Practice) برای افرادی که با این حیوانات سروکار دارند ضروری می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** انگل‌های روده‌ای، موش‌های Swiss Webster، زئونوز

## مقدمه

استفاده از موش‌های آزمایشگاهی در تحقیقات علوم پایه کاربرد فراوانی دارد. این حیوانات از لحاظ بار میکروبی اغلب به سه شکل رایج Conventional، Specific Pathogen Free(SPF) و Germ free نگه‌داری می شوند. موش‌هایی که در تحقیقات در ایران استفاده می‌شوند، اعم از موش‌های inbred و یا outbred اغلب از لحاظ بار میکروبی جز دسته Conventional می‌باشند به این معنی که بار میکروبی آن‌ها نامشخص و کنترل نشده است.

**مؤلف مسئول: دکتر احمد دریانی:** ساری- کیلومتر ۱۸ جاده خزرآباد، مجتمع پیامبر اعظم

E-mail: Daryanii@yahoo.com

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری،ایران
۲. مرکز تحقیقات توکسوپلاسموزیس، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت : ۹۱/۶/۱۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۱/۷/۲۲ تاریخ تصویب :۹۱/۱۱/۱۷

آلودگی این موش‌ها به انواعی از عوامل پاتوژن همچون انگل‌ها، خصوصاً زئونوزها، می‌تواند خطر بالقوه‌ای برای افرادی که در ارتباط نزدیک با این حیوانات هستند محسوب شود(۱،۲). از آن‌جایی که موش‌های آزمایشگاهی به‌صورت کلنی نگه‌داری می‌شوند و در تماس مستقیم با یکدیگر هستند، بنابراین اگر یکی از آن‌ها آلوده باشد این آلودگی می تواند به‌سرعت در بین کلنی انتشار یابد(۶-۳). طی مطالعات انجام شده تاکنون کرم‌هایی که از موش‌های آزمایشگاهی جدا شده‌اند شامل: *Syphacia (S.) obvelata (Mouse Pinworm)*، *Rodentolepis(R.) nana*، *R. microstoma* و *R. diminuta* و تک یاخته‌های جدا شده از موش‌های آزمایشگاهی شامل: *Cryptosporidium (C) muris*، *Eimeria spp.*، *Giardia (G) muris*، *Klossiella muris*، *Sarcocystis muris*، *Spironucleus (formerly Hexamita) (S) muris*، *Toxoplasma gondii*، *Tritrichomonas (T) muris*، *Entamoeba muris* می‌باشند(۱۲-۷). از میان انگل های نام برده *G. muris*، *C. muris*، *R. microstoma* و *R. nana* در طبقه‌بندی انگل‌های زئونوز قرار می‌گیرند (۱۳-۷). علاوه بر این برخی از این انگل‌ها می‌توانند در نتایج مطالعاتی نظیر ایمونولوژی و فارماکولوژی تداخل ایجاد کنند و در نتیجه سبب کاهش اعتبار مطالعات و بعضاً نتایج نادرست شوند(۱۶-۱۴). بنابر آن‌چه گفته شد هدف از این مطالعه بررسی انگل‌های دستگاه گوارش موش‌های آزمایشگاهی نژاد Swiss-Webster به‌منظور آگاهی محققین از وجود این انگل‌ها برای افزایش کیفیت در مطالعات می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

*۱- موش*

در این مطالعه توصیفی- مقطعی ۵۰ سر موش آزمایشگاهی نژاد Swiss-Webster در سنین مختلف که به‌صورت conventional نگه‌داری می‌شدند به‌طور تصادفی از موسسه پاستور، شعبه آمل خریداری شدند. استفاده از موش‌ها با موافقت کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی مازندران صورت گرفت. هم‌چنین مواظبت و نگه‌داری از موش‌ها مطابق با قوانین و سیاست‌های نگه‌داری از حیوانات آزمایشگاهی بود.

*۲- بررسی ماکروسکوپی*

پس از کشتن اخلاقی موش ها دستگاه گوارش هر یک از آنها به صورت جداگانه درون یک پتری دیش قرار داده شد. سپس توسط یک قیچی دستگاه گوارش به صورت طولی تا انتها برش داده شد و کرم‌هایی که از لحاظ ماکروسکوپی قابل مشاهده بودند جدا شدند.

*۳- بررسی میکروسکوپی*

*۳-۱- گسترش مستقیم*

از معده، روده کوچک (دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم)، سکوم و روده بزرگ هر موش به‌طور جداگانه یک نمونه گسترش مستقیم تهیه و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ بررسی شد. هم‌چنین از هر نمونه دو لام تهیه که یکی از آن‌ها بدون محلول لوگل و دیگری نیز با محلول لوگل به منظور تشخیص قطعی کیست تک یاخته ها رنگ آمیزی و مشاهده شدند.

*۳-۲- روش فرمل- اتر*

روش رسوبی فرمل- اتر برای تمام نمونه‌ها به کار گرفته شد و این روش برای نمونه‌هایی که از لحاظ گسترش مستقیم منفی تشخیص داده شدند روش با ارزشی محسوب می‌شود. برای انجام این روش محتویات دستگاه گوارش هر یک از موش‌ها به‌طور جداگانه درون یک لوله سانتریفیوژ ریخته و با ۲/۵ میلی‌لیتر فرمالین ۱۰ درصد به خوبی مخلوط شد. سپس ۱ میلی‌لیتر اتر به سوسپانسیون حاصل اضافه و

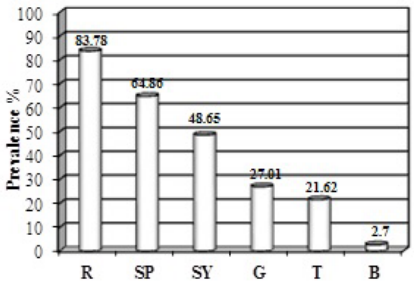
مجدداً به خوبی مخلوط گردید. پس از آن نمونه‌ها در دور ۵۰۰×g به مدت دو دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی آن‌ها را دور ریخته و از رسوب حاصل یک قطره برداشته و در بین لام و لامل قرار داده شد و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفت.

*۳-۳- رنگ آمیزی گیمسا*

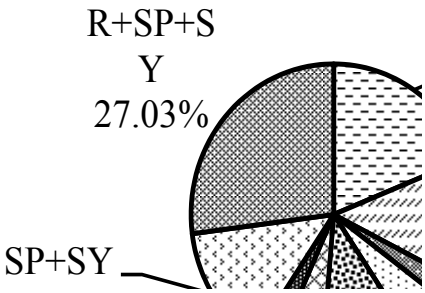
روش گیمسا به‌منظور تأیید تشخیص تک یاخته‌هایی که در نمونه گسترش مستقیم مشاهده شدند مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور از هر نمونه یک گسترش تهیه و در مجاورت هوا خشک و با متانول خالص فیکس شد. سپس نمونه‌ها با محلول گیمسای ۱۰ درصد به مدت ۴۵ دقیقه رنگ آمیزی شدند و در نهایت با میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی ۴۰۰ و ۱۰۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند.

## یافته‌ها

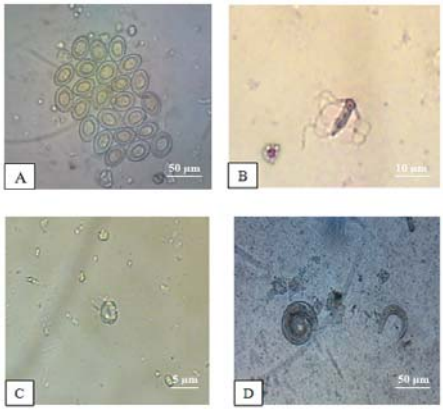
یافته‌ها نشان داد که ۳۷ سر از ۵۰ سر موش حداقل به یک نوع انگل آلوده بودند. از بین انگل‌های یافت شده بیشترین شیوع مربوط به انگل *R. nana* (۸۳/۷۸ درصد) و پس از آن *S. muris* (۶۴/۸۶ درصد) در موش‌های آلوده می‌باشد. هم‌چنین کم‌ترین شیوع مربوط به انگل *Blastocystis sp.* (۲/۷ درصد) می باشد. شیوع سایر انگل‌ها در نمودارهای شماره ۱ و ۲ آمده است. هم‌چنین تصاویر برخی انگل‌های یافت شده در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است.




**نمودار شماره ۱:** شیوع هر یک از انگل‌های یافت شده در کل جمعیت موش‌های مورد مطالعه. R; *Rodentolepis nana*، SP; *Spironucleus muris*، SY; *Syphacia obvelata*، G; *Giardia muris*، T; *Tritrichomonas muris* و B; *Blastocystis* sp.




**نمودار شماره۲:** شیوع انگل‌های یافت شده در موش‌های آلوده. R; *Rodentolepis nana*، SP; *Spironucleus muris*، SY; *Syphacia obvelata*، G; *Giardia muris*، T; *Tritrichomonas muris* و B; *Blastocystis* sp.




**تصویر شماره ۱:** A: *Rodentolepis nana* eggs، B: *Spironucleus muris*، C: *Blastocystis* sp و D: *Syphacia obvelata* larva

## بحث

موش‌های آزمایشگاهی بیش‌ترین حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده در تحقیقات می‌باشند که به طور طبیعی انواع مختلفی از پاتوژن ها را حمل می کنند(۱۸،۱۷). آلودگی به تعداد کمی از این میکروارگانیسم‌ها می‌تواند منجر به بروز علایم بالینی در موش‌ها شود درحالی‌که اغلب آلودگی‌ها بدون علامت می‌باشند(۷). از بین انگل‌های دستگاه گوارش موش‌های آزمایشگاهی، دو انگل *S. muris* و *G. muris* پاتوژن‌های مهم برای موش‌ها محسوب می‌شوند(۲۱-۱۹). هم‌چنین *R. nana* به‌عنوان یک پاتوژن با علایم خفیف در موش‌ها می‌باشد اما جز انگل‌های زئونوز بوده و برای انسان یک پاتوژن مهم است(۱۳،۷). در این مطالعه بیش‌ترین شیوع مربوط به *R. nana* (۸۳/۷۸ درصد) می‌باشد و از آن‌جایی که پدیده خود آلودگی در موش‌ها در اثر این انگل اتفاق می‌افتد بنابراین می‌تواند بار انگلی قابل ملاحظه‌ای را در کلنی موش‌هایی که به‌صورت Conventional نگه‌داری می‌شوند ایجاد کند. علاوه بر *R. nana* انگل *G. muris* نیز زئونوز بوده و در این مطالعه از شیوع قابل ملاحظه ای (۲۷/۰۱ درصد) در بین کلنی موش‌ها برخوردار بود. تا کنون سه انگل زئونوز دستگاه گوارش موش‌های آزمایشگاهی از انسان نیز جدا شده‌اند که شامل: *C. muris*، *R. nana* و *G. muris* می‌باشند(۷،۲۲). همچنین انگل *S. obvelata* نیز از انسان جدا شده است اما فاقد اهمیت بهداشت عمومی می‌باشد(۲۳). علاوه بر این برخی از انگل‌های دستگاه گوارش موش‌های آزمایشگاهی ممکن است نتایج برخی مطالعات را دچار اشکال کنند و سبب ایجاد نتایج اشتباه در مطالعات شوند(۲۷-۲۴). بنابراین استفاده از حیوانات آزمایشگاهی آلوده به دلیل احتمال ایجاد نتایج غلط در مطالعات، توصیه نمی شود(۱۳). اگرچه برخی از این انگل‌ها به درمان پاسخ می‌دهند اما سیستم ایمنی علیه این انگل‌ها تا مدت‌ها فعال باقی‌مانده و احتمال ایجاد واکنش متقاطع با نتایج برخی از مطالعات نظیر مطالعات ایمونولوژی وجود دارد(۷). از طرفی این فرضیه وجود دارد که برخی از این انگل‌ها بخشی از فلور طبیعی دستگاه گوارش موش‌های وحشی بوده و به این دلیل حتی سال‌ها پس از سازگاری این حیوانات با محیط آزمایشگاهی همچنان چرخه این انگل‌ها در بین کلنی موش‌های آزمایشگاهی برقرار است(۳۱-۲۸). از این‌رو بررسی موش‌های آزمایشگاهی به‌طور مداوم با برنامه‌های نظارت بر سلامت با هدف تأکید بر اهمیت کار آزمایشگاهی خوب (Good Laboratory Practice) به‌منظور تضمین کیفیت، اعتبار و تکرارپذیری نتایج حاصل از تحقیقات، ضروری می‌باشد(۳۳،۳۲).

در پایان شایان ذکر است که در این مطالعه برای اولین بار آلودگی طبیعی موش‌های آزمایشگاهی به انگل *Blastocystis sp.* گزارش شده است (تصویر c۱). بدون شک انجام مطالعات بیشتر به‌منظور بررسی شیوع *Blastocystis* در کلنی موش‌ها و رت‌های آزمایشگاهی ضروری به‌نظر می‌رسد تا وضعیت این میکروارگانیسم در کلنی موش‌ها و رت‌های آزمایشگاهی بهتر مشخص شود.

## References

1. Górska P. Principles in laboratory animal research for experimental purposes. Med Sci Monit 2000; 6(1):171-180.
2. Weigler BJ, Di-Giacomo RF, Alexander S. A national survey of laboratory animal workers concerning occupational risks for zoonotic diseases. Comp Med 2005;55(2):183-191.
3. Chen XM, Li X, Lin RQ, Deng JY, Fan WY, Yuan ZG, et al. Pinworm infection in laboratory mice in southern China. Lab Anim 2011;45(1):58-60

4. 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):121-126.
5. Higgins-Opitz SB, Dettman CD, Dingle CE, Anderson CB, Becker PJ. Intestinal parasites of conventionally maintained BALB/c mice and Mastomys coucha and the effects of a concomitant schistosome infection. Lab Anin 1990;24(3):246-252.
6. Pinto RM, Vicente JJ, Noronha D, Gonçalves L, Gomes DC. Helminth parasites of conventionally maintained laboratory mice. Mem Inst Oswaldo Cruz 1994;89(1):33-40.
7. Baker DG. Natural pathogens of laboratory mice, rats, and rabbits and their effects on research. Clin Microbiol Rev 1998;11(2):231-266.
8. 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):847-853.
9. Casanova JC, Santalla F, Durand P, Vaucher C, Feliu C, Renaud F. Morphological and genetic differentiation of Rodentolepis straminea (Goeze, 1752) and Rodentolepis microstoma (Dujardin, 1845) (Hymenolepididae). Parasitol Res 2001;87(6):439-444.
10. Kunstyr I. Infectious form of Spironucleus (Hexamita) muris: Banded cysts. Lab Anim 1977;11(3):185-188.
11. Kunstyr I, Schoeneberg U, Friedhoff KT. Host specificity of Giardia muris isolates from mouse and golden hamster. Parasitol Res 1992;78(7):621-622.
12. Ozkul IA, Aydin Y. Natural Cryptosporidium muris infection of the stomach in laboratory mice. Vet Parasitol 1994;55(1-2):129-132.
13. Tanideh N, Sadjjadi SM, Mohammadzadeh T, Mehrabani D. Helminthic infections of laboratory animals in animal house of Shiraz University of Medical Sciences and the potential risks of zoonotic infections for researchers. Iran Red Crescent Med J 2010;12(2):151-57.
14. Keast D, Chesterman FC. Changes in macrophage metabolism in mice heavily infected with Hexamita muris. Lab Anim 1972; 6(1):33-39.
15. Michels C, Goyal P, Nieuwenhuizen N, Brombacher F. Infection with Syphacia obvelata (pinworm) induces protective Th2 immune responses and influences ovalbumin-induced allergic reactions. Infect Immun 2006;74(10):5926-5932.
16. Pearson DJ, Taylor G. The influence of the nematode Syphacia oblevata on adjuvant arthritis in the rat. Immunol 1975;29(2):391–396.
17. Commission of the European Communities. Fifth report on the statistics on the number of animals used for experimental and other scientific purposes in the member states of the European Union. COM675:5-10.
18. Gilioli R, Andrade L.A.G, Passos L.A.C, Silva F.A, Rodrigues D.M, Guaraldo A.M.A. Parasite survey in mouse and rat colonies of Brazilian laboratory animal houses kept under different sanitary barrier conditions. Arq Bras Med Vet Zootec 2000; 52(1):33-37.
19. Brett SJ, Cox FE. Immunological aspects of Giardia muris and Spironucleus muris

infections in inbred and outbred strains of laboratory mice: a comparative study. Parasitol 1982; 85(Pt 1):85-99.

20. Buret A, Gall DG, Olson ME. Effects of murine giardiasis on growth, intestinal morphology, and disaccharidase activity. J Parasitol 1990; 76(3):403-409.
21. Mullink JW. Pathological effects of oxyuriasis in the laboratory mouse. Lab Anim 1970;4(2):197-201.
22. Gatei W, Ashford RW, Beeching NJ, Kamwati SK, Greensill J, Hart CA. Cryptosporidium muris infection in an HIV-infected adult, Kenya. Emerg Infect Dis 2002; 8(2):204-206.
23. Riley WA. A mouse oxyurid, Syphacia obvelata, as a parasite of man. J Parasitol 1919; 6(2):89-93.
24. Brett SJ. Immunodepression in Giardia muris and Spironucleus muris infections in mice. Parasitology 1983;87 (Pt 3):507-15.
25. Perec A.The activity of syphacia obvelata antigens in the developing of immune response of mice BALSB/c. Wiad Parazytol 2005;51(2):169-170.
26. Sebesteny A. The transmission of intestinal flagellates between mice and rats. Lab Anim. 1974;8(1):79-81.
27. Taffs LF. Pinworm infections in laboratory rodents: a review. Lab Anim 1976 Jan;10(1):1-13.
28. BicalhoI KA, AraújoI FTM, RochaII RS, CarvalhoI 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):1478-1484.
29. Held N, Hedrich HJ, Bleich A. Successful sanitation of an EDIM-infected mouse colony by breeding cessation. Lab Anim 2011;45(4):276-279.
30. Perec-Matysiak A, Okulewicz A, Hildebrand J, Zaleśny G. Helminth parasites of laboratory mice and rats. Wiad Parazytol 2006;52(2):99-102.
31. Zenner L. Effective eradication of pinworms (Syphacia muris, Syphacia obvelata and Aspiculuris tetraptera) from a rodent breeding colony by oral anthelmintic therapy. Lab Anim 1998 ;32(3):337-342.
32. Nicklas W, Baneux P, Boot R, Decelle T, Deeny AA, Fumanelli M, Illgen-Wilcke B. FELASA. Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. Lab Anim 2002 ;36(1):20-42.
33. Turnheim D. Benefits of Good Laboratory Practice as a tool to improve testing. Hum Exp Toxicol 1993;12(6):528-532.