

Research Paper

Testing and Monitoring some Pathogenic Microorganisms in Laboratory Animals by Culture Method

Nguyen Ba Tiep^{1*}, Hoang Trung Hung², Nguyen Chi Hieu², Tran Thi Hong², Quach Thu Thao², Tran Thi Huong Thom², Man Thi Thanh²

¹*Faculty of Veterinary Medicine Vietnam National University of Agriculture*

²*National Institute for Control of Vaccine and Biologicals, No 1 Nghiem Xuan Yem, Hoang Mai, Ha Noi*

Received 3/2/2022

Accepted 3/3/2022

Abstract

Background/Purpose: For the purpose of developing routine procedures and monitoring the quality of laboratory animals at NICVB, the testing and monitoring of some microbial agents as recommended by the World Health Organization (WHO), using guidelines of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA), are cultured and identified using the BD Phoenix M50 microbial identifier.

Methods: Empirical description research in the laboratory.

Results: The results of testing and monitoring some bacterial pathogens on 100 guinea pigs before the test and 100 mice before the trial from March 2021 to December 2021 showed that only *Staphylococcus aureus* bacteria were detected with infection rate of 26% for ICR mice and 24% for guinea pigs. Thus, the quality of laboratory animals at NICVB ensures standards to provide for the testing of vaccines and medical biological products.

Conclusion: The quality of laboratory animals raised at NICVB meets the standards for testing and quality control of vaccines and medical biological products.

Keywords: Testing microorganism, experimental ICR mice, experimental guinea pig.

*Corresponding author.

E-mail address: nbtiep@vnua.edu.vn

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i1.21>

Kiểm tra và giám sát một số vi sinh vật gây bệnh trên động vật thí nghiệm bằng phương pháp nuôi cấy

Nguyễn Bá Tiếp^{1*}, Hoàng Trung Hưng², Nguyễn Chí Hiếu², Trần Thị Hồng², Quách Thu Thảo², Trần Thị Hương Thơm², Mẫn Thị Thành²

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế, Số 1 Nghiêm Xuân Yên, Hoàng Mai, Hà Nội

Nhận ngày 3 tháng 2 năm 2022

Chấp nhận đăng ngày 3 tháng 3 năm 2022

Tóm tắt

Đặt vấn đề/ Mục tiêu: Nhằm mục đích xây dựng quy trình thường quy và giám sát chất lượng động vật thí nghiệm tại NICVB, việc kiểm tra và giám sát một số tác nhân vi khuẩn theo khuyến cáo của đoàn đánh giá thuộc Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) sử dụng tài liệu hướng dẫn của Liên đoàn các hiệp hội động vật thí nghiệm châu Âu (FELASA), được thực hiện bằng phương pháp nuôi cấy và định danh bằng máy định danh vi sinh vật BD Phoenix M50.

Phương pháp: Mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm

Kết quả: Kết quả kiểm tra và giám sát một số tác nhân vi khuẩn gây bệnh trên 100 chuột lang trước thử nghiệm và 100 chuột nhắt trước thử nghiệm từ tháng 3/2021 đến tháng 12/2021 cho thấy, chỉ phát hiện vi khuẩn *Staphylococcus aureus* với tỷ lệ nhiễm 26% đối với chuột nhắt ICR và 24% đối với chuột lang. Như vậy, chất lượng động vật thí nghiệm nuôi tại NICVB đảm bảo tiêu chuẩn để cung cấp cho các thử nghiệm kiểm định vắc xin và sinh phẩm y tế.

Kết luận: Chất lượng động vật thí nghiệm nuôi tại NICVB đạt tiêu chuẩn cho thử nghiệm và kiểm định chất lượng vắc xin và sinh phẩm y tế.

Từ khóa: Kiểm tra vi sinh, chuột nhắt ICR thí nghiệm, Chuột lang thí nghiệm

1. Đặt vấn đề

Khi tiến hành các nghiên cứu y sinh, các nhà khoa học cần đảm bảo động vật thí nghiệm không bị nhiễm trùng tự nhiên. Do đó các tiêu chuẩn vệ sinh đã được phát triển và dần hoàn thiện trong hơn 100 năm qua. Yếu tố quan trọng trong việc tiêu chuẩn hóa vệ sinh là giám sát các tác nhân lây nhiễm có ảnh hưởng đến sức khỏe động vật, gây nguy hiểm cho người nghiên cứu hoặc gây sai lệch kết quả nghiên cứu. Ngày nay, các chương trình giám sát vệ sinh và quy trình

vệ sinh được xây dựng chặt chẽ đã cải thiện đáng kể chất lượng vi sinh vật trong động vật thí nghiệm, tạo ra các đàn giống sạch bệnh không nhiễm hầu hết các vi sinh vật cơ hội [1].

Dựa vào điều kiện nuôi dưỡng và tình trạng vi sinh trong cơ thể của động vật thí nghiệm có thể phân loại động vật thí nghiệm thành 8 cấp độ chính [2]:

Động vật không chứa mầm bệnh (Germ Free animal)

Động vật chỉ chứa vi sinh vật không gây bệnh đã biết (Gnotobiotic animal)

Động vật chứa hệ vi sinh vật đã được xác định (Defined Flora)

Động vật không chứa các tác nhân gây bệnh (Pathogen Free)

*Tác giả liên hệ.

E-mail address: nbtiep@vnua.edu.vn

<https://doi.org/10.56086/jcvb.v2i1.21>

Động vật không chứa một số tác nhân gây bệnh (Specific Pathogen Free)

Động vật không chứa kháng thể vi rút (Virus Antibody-Free)

Động vật được giám sát (Monitored Animal)

Động vật thường, không được giám sát (Conventional animal)

Tuy nhiên, trên thực tế các thuật ngữ trên chỉ mang tính chất tương đối và cần tiêu chuẩn để làm rõ trước khi sử dụng, vì vậy nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm xây dựng tiêu chuẩn cho từng cấp độ động vật và từng đối tượng động vật khác nhau [2]. Tiếp thu và phát triển những nghiên cứu đi trước, Liên đoàn các hiệp hội động vật thí nghiệm châu Âu (FELASA) đã tổng hợp và đưa ra hướng dẫn về chương trình giám sát một số tác nhân gây bệnh trên động vật gặm nhấm và thỏ. Nhằm mục đích xây dựng quy trình thường quy và giám sát chất lượng động vật thí nghiệm dùng trong kiểm định và xuất xưởng từng lô vắc xin, từ năm 2015 Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) chuyển sang nuôi động vật thí nghiệm theo điều kiện khép kín sử dụng nhà nuôi có kiểm soát các yếu tố nhiệt độ, độ ẩm, áp suất và xây dựng chương trình thường quy về vệ sinh, giám sát một số tác nhân gây bệnh dựa trên khuyến cáo của đoàn đánh giá thuộc Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) sử dụng tài liệu hướng dẫn của FELASA năm 2014 [3]. Xuất phát từ những lý do trên, chúng tôi tiến hành: **“Kiểm tra và giám sát một số vi sinh vật gây bệnh trên động vật thí nghiệm bằng phương pháp nuôi cấy”**.

2. Đối tượng nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Chuột nhắt dòng ICR và chuột lang nuôi tại NICVB.

- Một số tác nhân vi khuẩn dựa theo hướng dẫn của FELASA.

2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

- Nghiên cứu được thực tiến hành tại Labo đánh giá sức khỏe động vật – Khoa Động vật thực nghiệm – Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế.

- Thời gian thực hiện từ 3/2021 đến 12/2021.

2.3. Nguyên liệu

2.3.1. Thiết bị và dụng cụ

- Tủ an toàn sinh học cấp 2, tủ ẩm thường, tủ ẩm CO₂, máy định danh BD Phoenix, micropipette đã được hiệu chuẩn theo ISO/IEC 17025.

- Bộ gây mê động vật thí nghiệm, bộ dụng cụ mổ: Dao, kéo panh,..

- Đèn cồn, lam kính, lamén, que lấy mẫu chuyên dụng, que cấy 1 lần.

2.3.2. Môi trường, hóa chất

- Môi trường nuôi cấy dùng cho nghiên cứu bao gồm:

+ PPLO, BD (Code: 241210)

+ Sabouraud, Sigma (Code: 84088-500G)

+ DHL, Himedia (Code: M1619-500g)

+ BAB, Oxoid (Code: 1986192)

+ BPA, BD (276840)

+ PSA, Difco (244910)

+ Bộ nhuộm Gram, Merck (Code: 111,885)

2.4. Phương pháp nghiên cứu

- Nghiên cứu được thực hiện theo phương pháp mô tả thực nghiệm trong phòng thí nghiệm.

2.4.1. Cỡ mẫu

Giả định:

- Cả hai tính biệt đều mắc bệnh với tỷ lệ như nhau

- Quy mô quần thể > 100 con

$$\text{Cỡ mẫu} = \frac{\text{Log } 0,05}{\text{Log } N}$$

- Lấy mẫu ngẫu nhiên

- Phân bố nhiễm trùng ngẫu nhiên

- Cỡ mẫu được xác định theo công thức được đưa ra bởi FELASA 2002 [4]:

Trong đó: N là tỷ lệ động vật không nhiễm bệnh

0,05 là độ tin cậy 95%

Bảng 1: Mối liên quan giữa cỡ mẫu với tỷ lệ phổ biến

| Tỷ lệ nghi nhiễm (%) | Cỡ mẫu tương ứng với các mức độ tin cậy | | |
|----------------------|---|-----|--------|
| | 95% | 99% | 99,99% |
| 10 | 29 | 44 | 66 |
| 20 | 14 | 21 | 31 |
| 30 | 10 | 13 | 20 |
| 40 | 6 | 10 | 14 |
| 50 | 5 | 7 | 10 |

- Cụ thể, trong nghiên cứu này với tỷ lệ nghi nhiễm trung bình của các vi sinh vật là 30% (mức độ tin cậy 95%) vậy cỡ mẫu cần thiết tối thiểu là 100 chuột lang và 100 chuột nhắt.

2.4.2. Bố trí thí nghiệm

- Sau khi dứt sữa, loại bỏ chuột có các biểu hiện bất thường như gầy, đau mắt, ỉa chảy, xù lông, hoạt động không linh hoạt..., chuột đạt tiêu chuẩn được nuôi trong các lồng nuôi chuyên dụng, phân chia tính biệt và tập trung tại các phòng theo dõi trước thử nghiệm. Tại mỗi lồng nuôi chọn ngẫu nhiên 2 con cho đến khi đủ cỡ mẫu 10 chuột lang và 10 chuột nhắt với 5 chuột đực và 5 chuột cái để kiểm tra, giám sát tác nhân vi khuẩn. Nghiên cứu được lặp lại 10 lần vào mỗi tháng từ tháng 3 đến tháng 12.

- Tất cả chuột được làm chết bằng CO₂ trước khi lấy mẫu nuôi cấy để kiểm tra một số tác nhân vi khuẩn dựa theo tài liệu khuyến cáo của FELASA năm 2014 [3] cho từng loại chuột và SOP phân lập một số tác nhân vi sinh vật trên động vật thí nghiệm [5] được thể hiện tại bảng 2:

Bảng 2: Bố trí thí nghiệm

| Vị trí lấy mẫu | Vi sinh vật | Môi trường | Chuột nhắt | Chuột lang |
|------------------|----------------------------------|------------|------------|------------|
| | | | 10 | 10 |
| Lông, da | Nấm lông, da | Sabouraud | X | X |
| Dịch rỉ mắt, mũi | <i>M. pulmonis</i> | PPLO | X | X |
| Dịch khí quản | <i>Staphylococcus aureus</i> | BPA | X | X |
| | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | BAB | X | X |
| | <i>Pasteurella multocida</i> | DHL | X | X |
| | <i>Pasteurella pneumotropica</i> | DHL | X | X |
| | <i>Bordetella bronchiseptica</i> | DHL | X | X |
| Phân manh tràng | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | DHL | X | X |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> | DHL | X | X |

| | | | | |
|--|-------------------------------|-----|---|-------|
| | <i>Salmonella spp</i> | DHL | X | X |
| | <i>Citrobacter rodentium</i> | DHL | X | không |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | PSA | X | X |

- Các số liệu thu được được phân tích bằng phần mềm Microsoft Excel 2013

3. Kết quả

- Sau khi tiến hành kiểm tra và giám sát các tác nhân vi khuẩn 10 lần độc lập, các lần thực hiện được cùng một nhóm tiến hành, cùng phương pháp, trong cùng một phòng thí nghiệm, sử dụng cùng thiết bị, hóa chất, môi trường cho kết quả như sau.

3.1. Đối với chuột nhắt

Bảng 3: Kết quả kiểm tra, giám sát tác nhân vi khuẩn đối với chuột nhắt

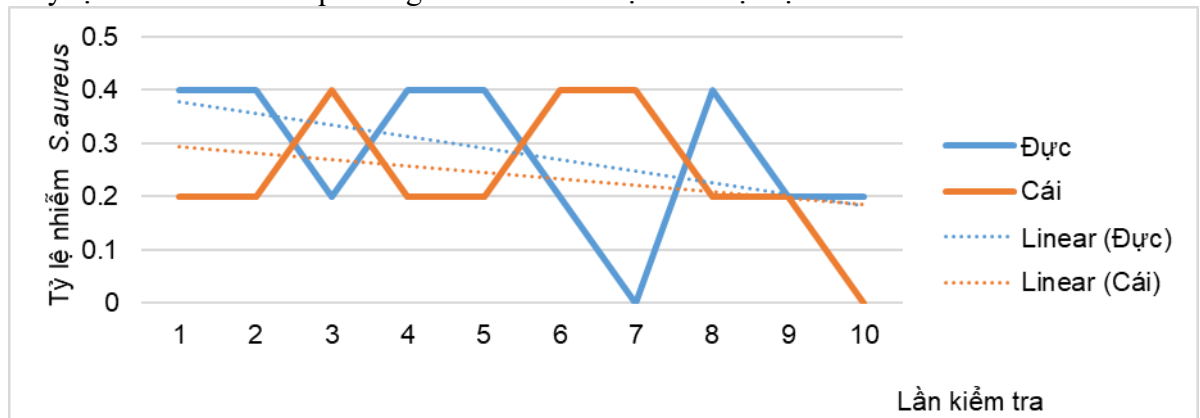
| Vị trí lấy mẫu | Vi sinh vật | Môi trường | Hình thái khuẩn lạc đặc trưng | Kết quả | | |
|------------------|---------------------------------|------------|---|--------------|--------------|---------------|
| | | | | Đực | Cái | Tổng |
| Lông, da | Nấm lông, da | Sabouraud | Khuẩn lạc dạng đại bào tử đỉnh hoặc tiêu bào tử đỉnh sinh sắc tố đỏ | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| Dịch rỉ mắt, mũi | <i>M. pulmonis</i> | PPLO | Khi quan sát với độ phóng đại 40X. Khuẩn lạc đặc trưng có dạng trứng ốp la | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| Dịch khí quản | <i>Staphylococcus aureus</i> | BPA | Khuẩn lạc đen nhánh, dạng S, xung quanh khuẩn lạc có vòng sáng rộng 2-5 mm. Khi nhuộm: tụ cầu Gram dương, dạng chùm nhỏ | 14/50 | 12/50 | 26/100 |
| | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | BAB | Khuẩn lạc có màu xám hoặc không màu, kích thước khoảng 1mm, có xu hướng lõm ở giữa, tan huyết dạng α có màu xanh lục nhạt. Khi nhuộm: Liên cầu Gram dương, xếp thành cặp hoặc chuỗi ngắn | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Pasteurella multocida</i> | DHL | Khuẩn lạc có màu xám đến vàng trắng, trơn nhẵn | 0/50 | 0/50 | 0/100 |

| | | | | | | |
|-----------------------|----------------------------------|-----|---|------|------|-------|
| | | | không tan huyết, đường kính 1-2 mm, có mùi. Khi nhuộm: Trực khuẩn bắt màu Gram âm | | | |
| | <i>Pasteurella pneumotropica</i> | DHL | Khuẩn lạc có màu xám đến vàng trắng, tròn nhẵn không tan huyết, đường kính 1-2 mm, không có mùi. Khi nhuộm: Trực khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Bordetella bronchiseptica</i> | DHL | Khuẩn lạc màu nhợt nhạt, trung tâm khuẩn lạc có màu đen, đường kính 0,5-1mm. Khi nhuộm: Trực khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| Phân manh tràng | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | DHL | Khuẩn lạc màu hồng nhạt, tròn, trơn, nhẵn, nhầy, đường kính khoảng 2mm. Khi nhuộm: Trực khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> | DHL | Khuẩn lạc màu hồng nhạt, tròn, trơn, nhẵn, nhầy, đường kính khoảng 2mm. Khi nhuộm: Trực khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Salmonella spp</i> | DHL | Khuẩn lạc tròn, lõi trơn nhẵn, rìa không màu, trung tâm khuẩn lạc có màu đen, kích thước khoảng 2mm. Khi nhuộm: Trực khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Citrobacter rodentium</i> | DHL | Khuẩn lạc dạng S, rìa không màu, trung tâm khuẩn lạc có màu hồng, đường kính khoảng 2mm. Khi nhuộm: Trực khuẩn dạng que ngắn, bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |

| | | | | | | |
|--|-------------------------------|-----|---|------|------|-------|
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | PSA | Khuẩn lạc dạng S, không màu, làm đổi màu môi trường sang màu xanh kích thước 2-3mm. Khi nhuộm: Trục khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
|--|-------------------------------|-----|---|------|------|-------|

- Từ bảng 3 cho thấy trong các tác nhân vi khuẩn được kiểm tra và định danh bằng máy định danh BD Phoenix, chuột nhất ICR chỉ nhiễm 1 loại vi khuẩn là *Staphylococcus aureus* với tỷ lệ nhiễm là 26%.

- Tỷ lệ nhiễm *S.aureus* qua từng lần kiểm tra được thể hiện tại hình 1.



Hình 1: Tỷ lệ nhiễm *S.aureus* đối với chuột nhất ICR

- Kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm giữa 2 tính biệt là tương đương và có xu hướng giảm dần ở những lần kiểm tra cuối. Tại lần kiểm tra thứ 7 toàn bộ chuột đực và lần kiểm tra thứ 10 tất cả chuột cái đều không nhiễm *S.aureus*.

3.2. Đối với chuột lang

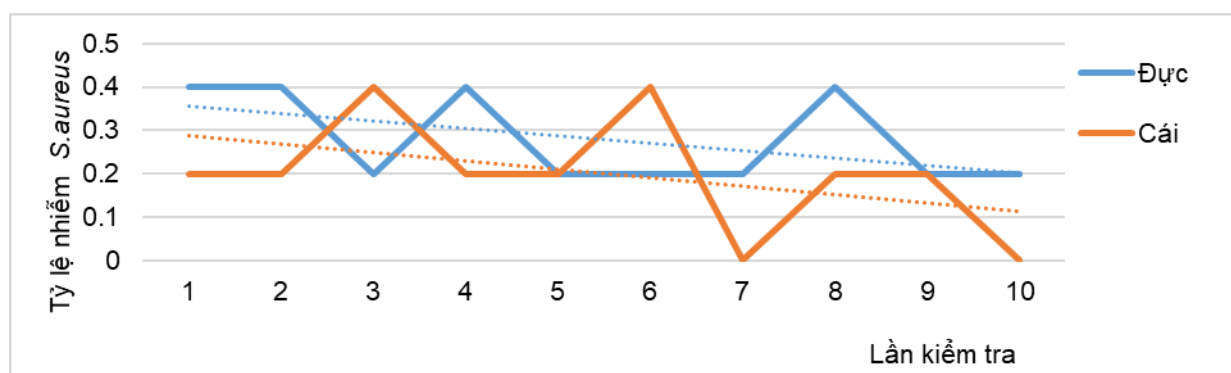
Bảng 4: Kết quả kiểm tra, giám sát tác nhân vi khuẩn đối với chuột lang

| Vị trí lấy mẫu | Vi sinh vật | Môi trường | Hình thái khuẩn lạc tham chiếu | Kết quả | | |
|------------------|------------------------------|------------|---|--------------|--------------|---------------|
| | | | | Đực | Cái | Tổng |
| Lông, da | Nấm lông, da | Sa | Khuẩn lạc dạng đại bào tử đính hoặc tiểu bào tử đính sinh sắc tố đỏ | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| Dịch rỉ mắt, mũi | <i>M. pulmonis</i> | PPLO | Khi quan sát với độ phóng đại 40X. Khuẩn lạc đặc trưng có dạng trứng ốp la | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| Dịch khí quản | <i>Staphylococcus aureus</i> | BPA | Khuẩn lạc đen nhánh, dạng S, xung quanh khuẩn lạc có vòng sáng rộng 2-5 mm. Khi nhuộm: tụ cầu Gram dương, dạng chùm nhỏ | 14/50 | 10/50 | 24/100 |

| | | | | | | |
|-----------------------|----------------------------------|-----|---|------|------|-------|
| | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | BAB | Khuẩn lạc có màu xám hoặc không màu, kích thước khoảng 1mm, có xu hướng lõm ở giữa, tan huyết dạng α có màu xanh lục nhạt. Khi nhuộm: Liên cầu Gram dương, xếp thành cặp hoặc chuỗi ngắn | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Pasteurella multocida</i> | DHL | Khuẩn lạc có màu xám đến vàng trắng, tròn nhẵn không tan huyết, đường kính 1-2 mm, có mùi. Khi nhuộm: Trục khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Pasteurella pneumotropica</i> | DHL | Khuẩn lạc có màu xám đến vàng trắng, tròn nhẵn không tan huyết, đường kính 1-2 mm, không có mùi. Khi nhuộm: Trục khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Bordetella bronchiseptica</i> | DHL | Khuẩn lạc màu nhợt nhạt, trung tâm khuẩn lạc có màu đen, đường kính 0,5-1mm. Khi nhuộm: Trục khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| Phân manh trắng | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | DHL | Khuẩn lạc màu hồng nhạt, tròn, trơn, nhẵn, nhầy, đường kính khoảng 2mm. Khi nhuộm: Trục khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Klebsiella oxytoca</i> | DHL | Khuẩn lạc màu hồng nhạt, tròn, trơn, nhẵn, nhầy, đường kính khoảng 2mm. Khi nhuộm: Trục khuẩn bắt màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |
| | <i>Salmonella spp</i> | DHL | Khuẩn lạc tròn, lõi trơn nhẵn, rìa không màu, trung tâm khuẩn lạc có màu đen, | 0/50 | 0/50 | 0/100 |

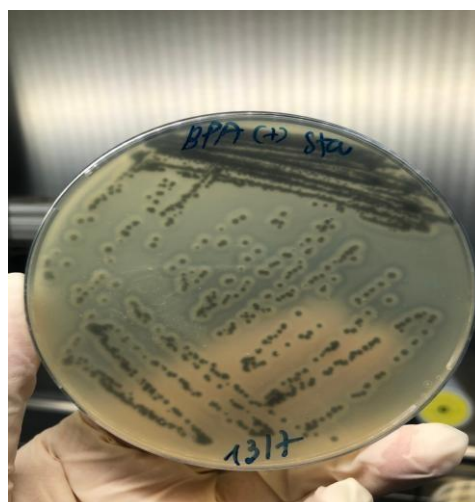
| | | | | | | |
|--|-------------------------------|-----|--|------|------|-------|
| | | | Kích thước khoảng 2mm. Khi nhuộm: Trục khuẩn bất màu Gram âm | | | |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | PSA | Khuẩn lạc dạng S, không màu, làm đổi màu môi trường sang màu xanh kích thước 2-3mm. Khi nhuộm: Trục khuẩn bất màu Gram âm | 0/50 | 0/50 | 0/100 |

- Từ bảng 4 cho thấy trong các tác nhân vi khuẩn được kiểm tra, tương tự chuột nhất ICR, chuột lang chỉ nhiễm 1 loại vi khuẩn là *S.aureus* với tỷ lệ nhiễm là 24%.
- Tỷ lệ nhiễm *S.aureus* qua từng lần kiểm tra được thể hiện tại hình 2.



Hình 2: Tỷ lệ nhiễm *S.aureus* đối với chuột lang

- Kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm giữa 2 tính biệt là tương đương và có xu hướng giảm dần ở những lần kiểm tra cuối. Tại lần kiểm tra thứ 7 và lần thứ 10 tất cả chuột cái đều không nhiễm *S.aureus*.



Hình 3: *S.aureus* trên môi trường BPA

Báo cáo xét nghiệm

01/10/2021 09:00
2.20.0.0 / V6.81A (x-US)

| | | | |
|-------------------|--------------|---------------------|------------------|
| Mã bệnh phẩm | sta_309 | Bắt đầu xét nghiệm | 30/09/2021 15:18 |
| Số phân lập | 1 | Kết thúc xét nghiệm | 01/10/2021 03:26 |
| Mã trình tự panel | 429113054670 | Vị trí | 1/C18 |
| Loại panel | PMIC10-95 | Đã kết luận | Không |
| Tình trạng | HOÀN THÀNH | | |

Kết quả DD cuối cùng *Staphylococcus aureus* Mật độ cấy 0.5

(Các mã thiết bị) *Staphylococcus aureus* Giá trị độ tin cậy 94%

| Sinh hóa | | | Sinh hóa | | | Sinh hóa | | |
|----------|---------|----------|----------|---------|----------|----------|---------|----------|
| Sinh hóa | Thực tế | Mong đợi | Sinh hóa | Thực tế | Mong đợi | Sinh hóa | Thực tế | Mong đợi |
| A_ARARR | - | - | A_GLPFB | - | - | A_LALT | - | - |
| A_LARGH | - | V | A_LHIST | - | - | A_LISO | - | - |
| A_LLEUH | - | - | A_LPHET | - | - | A_LPROB | - | - |
| A_LPYR | - | - | A_LTRY | - | - | A_META | - | - |
| C_3MGA | + | + | C_GIST | + | + | C_DFRU | + | + |
| C_DGUA | - | + | C_DMNT | + | V | C_IMN | + | + |
| C_KGA | + | + | C_MAA | + | + | C_PXB | + | + |
| C_TRY | + | + | M_ADGLU | - | - | M_BDCEL | - | - |
| M_BDGAL | - | - | M_BDGLC | - | - | M_BDGLU | - | - |
| M_NAG | - | - | M_PHOS | + | + | M_PHOT | + | + |
| NLALALH | - | - | N_LPROT | - | - | N_VAALA | - | - |
| P_ADGLU | - | V | P_PHOL | + | V | R_BGEN | - | - |
| R_DEX | + | + | R_DSUC | - | V | R_DTAG | - | - |
| R_DTRF | - | V | R_MAL | + | + | R_MTT | - | V |
| R_NGU | - | - | S_URE | - | - | T_ESC | - | - |
| R_MGP | - | V | | | | | | |

Báo cáo này có thể chứa PHI và/hoặc PII, hãy xử lý cho phù hợp.

Trang 1/3

Hình 4: Kết quả định danh *S.aureus* bằng máy định danh BD Phoenix

4. Bàn luận

Đàn chuột nhắt dòng ICR nhập giống từ năm 2015 và chuột lang dòng Dunkin Hartley nhập giống từ năm 2018 của Trung tâm động vật thí nghiệm quốc gia thuộc trường đại học Mahidol, Thái Lan nuôi tại Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) được nuôi trong hệ thống kín có kiểm soát môi trường nuôi nên đã kiểm soát được hầu hết các tác nhân vi khuẩn gây bệnh.

Do kiểm soát được điều kiện môi trường nuôi như nhiệt độ, độ ẩm, áp suất, tốc độ gió, tần số trao đổi khí, ánh sáng cùng với nguồn thức ăn đảm bảo thành phần dinh dưỡng được tiệt trùng trước khi sử dụng, có giám sát vi sinh theo từng lô; Nước uống sử dụng là nước RO, được kiểm tra định kỳ; Phòng nuôi, lồng nuôi được khử trùng, chất lót lồng được tiệt trùng thay thế theo chương trình vệ sinh tại Viện. Sau thời gian nuôi, nhân đàn và cung cấp cho thử nghiệm

kiểm định chất lượng vắc xin và sinh phẩm tại NICVB, cho đến nay chuột vẫn đảm bảo chất lượng tương đương với trung tâm cung cấp giống ban đầu [6].

Thông qua việc sử dụng các môi trường chọn lọc và định danh bằng máy định danh BD Phoenix với độ chính xác trên 95% đã làm giảm thời gian và tăng độ chính xác khi kiểm tra, giám sát một số tác nhân vi khuẩn gây bệnh trên động vật thí nghiệm. Bên cạnh đó, phương pháp nuôi cấy ưu việt hơn so với phương pháp PCR do có thao tác đơn giản hơn, chi phí rẻ hơn và khả năng phát hiện được hầu hết các tác nhân vi khuẩn có trong động vật thí nghiệm ngoài danh mục cần giám sát.

Từ kết quả kiểm tra, giám sát một số tác nhân vi khuẩn cho thấy đàn chuột nhắt ICR và chuột lang chỉ nhiễm 1 loại vi khuẩn là *S.aureus* với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 26% đối với chuột nhắt và 24% đối với chuột lang. *S.aureus* là vi khuẩn thường trực trên cơ thể nên trong điều kiện thông thường khó loại bỏ tác nhân này. Bên cạnh đó, *S.aureus*

thường không gây bệnh khi vật chủ khỏe mạnh và ít gây ảnh hưởng tới kết quả thử nghiệm. Mặt khác, do được nuôi trong điều kiện có kiểm soát nên tỷ lệ nhiễm không ảnh hưởng bởi các yếu tố như thời tiết và tính biệt. Tỷ lệ nhiễm giảm dần và có thời điểm bằng 0 tại lần kiểm tra thứ 7 và thứ 10 nguyên nhân do chương trình vệ sinh đã được tăng cường nên có thể làm giảm tỷ lệ nhiễm trong đàn chuột thí nghiệm.

5. Kết luận

Chất lượng động vật thí nghiệm nuôi tại NICVB đạt tiêu chuẩn cho thử nghiệm và kiểm định chất lượng vắc xin và sinh phẩm y tế.

References

- [1] Stephanie Buchheister and André Bleich. Health Monitoring of Laboratory Rodent Colonies—Talking about Revolution. 2021; 11, 1410: 1-2.
- [2] Committee on Infectious Diseases of Mice and Rats Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Sciences National Research Council. Infectious Diseases of Mice and Rats. 1991; 5-6.
- [3] Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA). FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. 2014; 48(3) 181–184.
- [4] Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA). Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. 2002; 36, 23–25.
- [5] SOP TN 10-04 Phân lập một số tác nhân vi sinh vật trên động vật thí nghiệm; Quy trình chuẩn nội bộ khoa Động vật thực nghiệm – Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế
- [6] <https://nlac.mahidol.ac.th/en/index.php/health-report-2021-jan-mar/>