



فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی (تولیدی مؤسسه رازی)

و موارد کاربرد آنها

روزبه فلاحي^{۱*}، مجتبی محرمی^۲

- ۱- عضو هیأت علمی (دانشیار)، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
 - ۲- عضو هیأت علمی (استادیار)، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
- *نویسنده مسئول: روزبه فلاحي fallahiroozbeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲-۰۸-۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲-۰۸-۲۷

چکیده

بخش تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی یکی از مراکز مهم و اصلی تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی در کشور می‌باشد. نگهداری، تکثیر و پرورش این حیوانات از سال ۱۳۲۹ آغاز شده و طی این سالیان، انواع حیوانات آزمایشگاهی شامل موش، رت، همستر، خوکچه هندی و خرگوش در نژادهای گوناگون تولید و پرورش داده می‌شوند. با استفاده از روش‌های نوین در خصوص اصلاح روش‌های تکثیر و پرورش و افزایش راندمان تولید مثل، استانداردسازی شرایط و نیازهای محیط زیست، جایگاه و قفس‌های نگهداری و پرورش، تغذیه، کنترل و حذف بیماری‌های احتمالی با رعایت اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفته تا نهایتاً حیواناتی با بهترین کیفیت جهت استفاده در آزمایشات کنترل کیفی واکسن‌ها و فرآورده‌های بیولوژیک و نیز در تحقیقات گوناگون در بخش‌های مختلف تولیدی و تحقیقاتی مؤسسه رازی و نیز در سایر مراکز تولیدی، تحقیقاتی و آموزشی سراسر کشور فراهم گردد. از دیگر فعالیت‌های این بخش تولید فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی است که از سال ۱۳۷۲ تاکنون ادامه یافته و شامل همولیزین، سرم خرگوش، پلاسما خرگوش، کمپلمان خرگوش، کمپلمان خوکچه هندی و خون دفیبرینه گوسفندی می‌باشد و باعث شده که مؤسسه رازی به عنوان یکی از مهم‌ترین مراکز تولیدکننده فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی در کشور مطرح گردد که ضمن کیفیت مشابه با محصولات وارداتی، تأمین‌کننده نیازهای بخش‌های مختلف مؤسسه و نیز مراکز تحقیقاتی، دانشگاهی و تولیدی کشور بوده و صرفه‌جویی قابل توجه ارزی نیز در این خصوص ایجاد شده است.

واژگان کلیدی

حیوانات آزمایشگاهی، فرآورده‌های بیولوژیک، مؤسسه رازی

موجب ارتقاء کیفیت و به روزرسانی روش‌های نوین تولید این فرآورده‌ها و پویایی هر چه بیشتر آن خواهد شد. انواع فرآورده‌های بیولوژیک که با رعایت اصول اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی در مؤسسه رازی تولید شده و موارد استفاده قرار می‌گیرند به شرح زیر می‌باشد: (۲، ۳).

کمپلمان خو کچه هندی

یکی از فرآورده‌های بیولوژیک تهیه شده از خو کچه هندی، کمپلمان است (تصویر شماره ۱). کمپلمان مخلوطی از گلوبولین‌ها (Globulines) می‌باشد که بطور طبیعی در خون وجود داشته و به عنوان یک ماده ضروری جهت واکنش‌های سرم‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. عناصر مکمل موجود در خون خو کچه هندی نسبت به دیگر حیوانات آزمایشگاهی و نیز انسان، فعال‌تر و دارای ویژگی همولیتیک (Hemolytic) بیشتری می‌باشند. در سرم این حیوان مقادیر فراوانی از کمپلمان وجود دارد. کمپلمان خو کچه هندی بر طبق دستورالعمل استاندارد (SOP)، از سرم تازه این حیوان، پس از پروسه شوک سرمایی بدست می‌آید. این محصول به صورت لیوفیلیزه عرضه می‌شود و به مدت یک سال تا تاریخ انقضای نوشته شده بر روی آن پایدار است. در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و مراکز تحقیقاتی، جهت آزمایش‌های تیپ‌های تیپ‌های تکمیل، تایپینگ (Human) HLA، leukocyte antigen typing) (leukocyte antigen typing) تطبیق مقاطع لنفوسیتو توکسی سیت، (Lymphocytotoxicity crossmatching) برای تعیین سازگار بودن، دهنده و گیرنده جهت کاهش احتمال پس زدن پیوندها و به منظور شناسایی آنتی‌ژن‌های متصل شده به غشای لنفوسیت‌ها به کار می‌رود. جهت آماده‌سازی ویال لیوفیلیزه، ۱ میلی‌لیتر آب مقطر خنک به آن اضافه نموده و آنرا به آرامی هم زده تا کاملاً حل و یکنواخت شود. پس از آن کمپلمان تا یک ساعت قابل استفاده می‌باشد (۶).



تصویر شماره ۱- ویال کمپلمان خو کچه هندی تولید مؤسسه رازی

بیان مساله و اهمیت موضوع

حیوانات آزمایشگاهی در زمینه‌های مختلف کاربرد داشته و سالیانه میلیون‌ها سر از این حیوانات در پژوهش‌های گوناگون مانند زیست‌شناسی، ایمنی‌شناسی، انگل‌شناسی، پاتوفیزیولوژی، سرطان، ژنتیک، اختلالات ارثی، تغذیه، بیماری‌های عفونی، جراحی تجربی، رادیولوژی، پیوند اعضا، تعیین اثر داروهای جدید و آزمایش‌های کنترل کیفیت و اثربخشی واکسن‌ها و فرآورده‌های بیولوژیک در سراسر دنیا استفاده می‌شوند (۱، ۵). مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی یکی از مراکز مهم و اصلی تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی در کشور می‌باشد. نگهداری، تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی در این مرکز از سال ۱۳۲۹ آغاز شده و طی سال‌های گذشته، انواع حیوانات آزمایشگاهی، شامل موش، رت، همستر، خو کچه هندی و خرگوش در نژادهای گوناگون تولید و پرورش داده می‌شوند (۲). در ضمن، از این حیوانات برای تولید انواع مختلفی از فرآورده‌ها استفاده می‌شود که در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و تحقیقاتی (برای امور تشخیص ایمنی‌شناسی و میکروبیولوژی و نیز محیط‌سازی) مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱).

دستاوردها

بخش تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی نزدیک به سه دهه (از سال ۱۳۷۲) در زمینه تولید فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی شامل همولیزین، سرم خرگوش، پلاسمای خرگوش، کمپلمان خرگوش، کمپلمان خو کچه هندی و خون دفیبرینه گوسفندی، فعالیت می‌نماید. از آنجاکه این فرآورده‌ها در درجه اول به مصرف آزمایش‌های کنترل کیفیت واکسن‌ها و فرآورده‌های بیولوژیک تولید شده در این مؤسسه می‌رسند، از این رو نقشی استراتژیک در تأیید و ترخیص انواع فرآورده‌های بیولوژیک دارند. این بخش ضمن تأمین تمام نیازهای مؤسسه رازی به انواع فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی، جهت کنترل کیفیت واکسن‌ها و فرآورده‌های بیولوژیک و نیز پروژه‌های تحقیقاتی، توانسته است نیازهای سایر مراکز تحقیقاتی، تولیدی، دانشگاهی و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی سراسر کشور را به این فرآورده‌ها فراهم نماید. این مراکز با هماهنگی با این بخش و ارائه درخواست رسمی، می‌توانند نسبت به خرید محصولات مورد نیاز خود، اقدام نمایند. بخش تولید و پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه رازی طی سالیان متوالی با کسب تجربیات فراوان و رعایت استانداردهای بین‌المللی به عنوان یکی از معتبرترین مراکز تولید فرآورده‌های بیولوژیک حاصل از حیوانات آزمایشگاهی در کشور شناخته شده است. قطعاً توجه و حمایت‌های مستمر،

همولیزین خرگوش

این فرآورده حاوی سرم هایپر ایمنون (Hyperimmune) که همان آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال خرگوش علیه گلبول‌های قرمز گوسفند می‌باشد. بر طبق دستورالعمل استاندارد، این محصول پس از تهیه، غالباً به صورت لیوفیلیزه عرضه می‌شود و به مدت ۲ سال تا تاریخ انقضای نوشته شده بر روی آن پایدار است (تصویر شماره ۴). جهت تولید همولیزین با تیترا بالا، به مواد و معرف‌های خاص، حیوان آزمایشگاهی مناسب، رعایت شرایط استاندارد و نیز روش کاربردی مناسب نیاز می‌باشد. دستورالعمل‌های زیادی جهت تولید همولیزین وجود دارد که به انواع متفاوتی از روش‌های تزریقی مانند تزریق داخل وریدی، زیرپوستی و داخل پوستی مقادیر متفاوتی از خون گوسفند به خرگوش‌های آزمایشگاهی جوان اشاره شده است. از میان همه روش‌ها، روش تزریق داخل پوستی و داخل وریدی به صورت دفعات متعدد، سرمی با تیترا بالا تولید می‌کند (۴). همولیزین در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و مراکز تحقیقاتی، جهت سنجش عملکرد اجزای کمپلمان از مسیر کلاسیک در تست CH50 برای بیماران دچار نقص سیستم ایمنی و یا افزایش عملکرد کمپلمان و نیز در تست سیستم‌های همولیتیک و آگلوتیناسیون استفاده می‌شود. همولیزین ماده‌ایست که ایجاد همولیز می‌کند. همولیزین‌ها، پروتئین‌ها و لیپیدهای اختصاصی هستند که از طریق آسیب رساندن به غشاء سلولی، با شکستن فسفولیپیدها باعث لیز گلبول‌های قرمز خون می‌شوند. از این رو به آنها اریترولیزین (Erythrolysin) و اریتروسیتولیزین (Erythrocytolysin) نیز اطلاق می‌گردد. همولیزین باعث آزاد شدن هموگلوبین از گلبول‌های قرمز خون شده، این عمل بطور طبیعی در

سرم خرگوش

بر طبق دستورالعمل استاندارد، سرم خرگوش به روش عاری از آلودگی (Aseptic) و در شرایط استریل، بدون افزودن ماده نگهدارنده، از خون تازه، سالم و غیرایمن شده خرگوش تهیه و به صورت لیوفیلیزه عرضه می‌شود (تصویر شماره ۲). در آزمایشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی جهت غنی‌سازی محیط‌های کشت میکروارگانیزم‌ها، کشت سلول و مطالعات ایمنی‌شناسی از جمله بلاکینگ (Blocking)، ایمونوهیستوشیمی (Immunohistochemistry)، الایزا، فلوسیتومتری (Flow cytometry) و ایمونوفلورسانس (Immunofluorescence) استفاده می‌شود. برای آماده‌سازی سرم لیوفیلیزه جهت مصرف، با رعایت شرایط آسپتیک، به ویال حاوی پودر لیوفیلیزه سرم خرگوش، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل افزوده و آن را به آرامی به هم زده تا کاملاً حل و یکنواخت شود. پس از آن سرم را می‌توان مصرف کرد (۷)

پلاسمای خرگوش

پلاسمای خون، قسمت مایع خون و فاقد سلول‌های خونی است که بر طبق دستورالعمل استاندارد، به صورت تازه و لیوفیلیزه تهیه می‌شود (تصویر شماره ۳). در شرایط آسپتیک و با اضافه کردن آب مقطر استریل می‌توان نوع لیوفیلیزه را جهت مصرف، آماده کرد. لیوفیلیزه آن حداقل به مدت یک سال تا تاریخ انقضای نوشته شده بر روی آن پایدار است. پلاسمای خرگوش در آزمایش کوآگولاز (Coagulase) جهت تشخیص افتراقی باکتری ستافیلوکوکوس اورئوس از سایر گونه‌های کوآگولاز منفی مانند استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس به کار می‌رود (۸).



تصویر شماره ۳- ویال پلاسمای لیوفیلیزه خرگوش تولید مؤسسه رازی



تصویر شماره ۲- ویال سرم لیوفیلیزه خرگوش تولید مؤسسه رازی

کمپلمان خرگوش

بر طبق دستورالعمل استاندارد، کمپلمان خرگوش از سرم تازه این حیوان، پس از پروسه شوک سرمایی بدست می‌آید. این محصول به صورت تازه و لیوفیلیزه عرضه می‌شود (تصویر شماره ۵). نوع لیوفیلیزه آن به مدت یک سال تا تاریخ انقضاء نوشته شده بر روی آن پایدار است. موارد استفاده آن همانند کمپلمان خوکچه هندی می‌باشد. جهت آماده‌سازی ویال لیوفیلیزه، ۲ میلی‌لیتر آب مقطر خنک به آن اضافه نموده و آنرا به آرامی هم زده تا کاملاً حل و یکنواخت شود. پس از آن کمپلمان تا یک ساعت، قابل استفاده می‌باشد (۶).



تصویر شماره ۵- ویال کمپلمان لیوفیلیزه خرگوش تولید مؤسسه رازی

خون دفیبرینه گوسفندی

بر طبق دستورالعمل استاندارد، این فرآورده به صورت آسپتیک از گوسفند سالم گرفته شده و فیبرین موجود در آن بدون افزودن ماده ضدانعقاد به روش مکانیکی حذف می‌شود. این محصول بطور معمول برای تهیه محیط بلاد آگار مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای این منظور پس از آماده‌سازی و استریل نمودن محیط کشت پایه، صبر کرده تا دمای آن به ۴۲ درجه سانتی‌گراد برسد. سپس به آرامی به میزان ۵٪ (۵۰ میلی‌لیتر به ازاء هر لیتر محیط کشت)، خون دفیبرینه به آن افزوده و به خوبی هم زده می‌شود. به هنگام استفاده از خون دفیبرینه، شرایط آسپتیک باید رعایت شود. همچنین از انجماد آن بایستی اجتناب کرده و از مصرف این فرآورده، پس از انقضای تاریخ مصرف آن، باید خودداری کرد. (تصویر شماره ۶) (۱۰).

بدن و یا متعاقب تزریق گلبول‌های قرمز خارجی ایجاد می‌گردد. همولیزینی که متعاقب تزریق گلبول‌های قرمز خون از دیگر حیوانات مشابه آن گونه جانوری ایجاد گردد، ایزوهمولیزین (Isohemolysin) و اگر از خود حیوان باشد، اتولیزین (Autolysin) و در صورتی که از حیوانات گونه‌های دیگر تولید گردد، هترولیزین (Heterolysin) نامیده می‌شود. همولیزین ایمنی، همولیزینی است که از طریق تحریک سیستم ایمنی یک حیوان، توسط خون کامل یا سلول‌های خونی حیوان دیگر تولید می‌گردد. مانند تولید همولیزین در خرگوش که به واسطه حضور گلبول‌های قرمز گوسفند در این حیوان تولید می‌گردد. همولیزین خرگوشی، در واقع آنتی‌بادی پلی‌کلونال بر علیه گلبول‌های قرمز خون حیوانی مانند گوسفند است که قبلاً توسط ارلیش (Erlich) به آن آمبوسپتور (Amboceptor) اطلاق شده بود. آمبو به معنی هر دو می‌باشد. زیرا که این ترکیب دارای دو محل اتصال برای آنتی‌ژن و مکمل می‌باشد. امروزه واژه همولیزین که یکی از آنتی‌بادی‌های IgM بر علیه گلبول‌های قرمز خون گوسفند می‌باشد، جایگزین آمبوسپتور شده است. برای آماده‌سازی به شیشه حاوی پودر لیوفیلیزه همولیزین، ۱ میلی‌لیتر محلول آب مقطر استریل اضافه نموده و به آرامی آن را به هم زده تا کاملاً حل و یکنواخت شود. پس از آن همولیزین را می‌توان مصرف کرد (۹).



تصویر شماره ۴- ویال همولیزین لیوفیلیزه خرگوش تولید مؤسسه رازی

- 5) UFAW Handbook on the care and management of laboratory and other research animals. 8th ed. Wiley-Blackwell; 2010.
- 6) Morgan BP. Complement methods and protocols. Humana Press; 2000.
- 7) Greenfield EA. Sampling and preparation of rabbit serum. Cold Spring Harbor Protocols 2020; doi:10.1101/pdb.prot100305.
- 8) Colbeck JC. Proom H. Dried rabbit plasma for the staphylococcus coagulase test. B.M.J. 1944; 7(2): 471-2.
doi: 10.1136/bmj.2.4370.471.
- 9) Koyama J. Nashimoto H. Immunological studies on rabbit hemolysin to sheep red cells. I. The electrophoretic separation of rabbit antisera to sheep red cells. Jpn. J. Exp. Med 1959; 29: 551-9.
- 10) Yeh E, Pinsky BA, Banaei N, Baron EJ. Hair sheep blood, citrated or defibrinated, fulfills all requirements of blood agar for diagnostic microbiology laboratory tests. PLoS ONE | www.plosone.org 2009; 4(7): e6141.



تصویر شماره ۶- ویال خون دفیبرینه گوسفندی تولید مؤسسه رازی

توصیه ترویجی

توصیه می‌شود مؤسسات تحقیقاتی، تولیدی، دانشگاهی و آزمایشگاه‌های تشخیص طبی سراسر کشور، صرفاً از مراکز تولیدکننده معتبر و شناخته‌شده، محصولات استاندارد و فرآورده‌های بیولوژیک مورد نیاز خود را با کیفیت مناسب تهیه کنند. در مراکز غیر معتبر، شرایط تولید و کنترل کیفیت محصولات، استاندارد نبوده و فرآورده‌های تولید شده کیفیت استاندارد را ندارند.

این فرآورده‌ها باید دور از نور و در دمای ۲-۸ درجه سانتی‌گراد، با احتیاط حمل و نگهداری شوند. در این شرایط، این فرآورده‌ها تا تاریخ انقضای مندرج بر روی لیبل آنها قابل استفاده می‌باشند. باقی‌مانده و ویال خالی این فرآورده‌ها، باید به طور صحیح سترون‌سازی (بوسیله اتوکلاو، سوزاندن و یا استفاده از مواد شیمیایی مناسب) شده و به صورت بهداشتی دفن شوند.

فهرست منابع

- ۱) فلاحی روزبه، منصوری محمد علی. بیولوژی، پرورش، بیماری‌ها و اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی، انتشارات مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، ۱۳۹۴.
- ۲) حاجی‌زاده افشین. مؤسسه رازی در گذر زمان، چاپ اول، انتشارات مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، ۱۳۹۴.
- ۳) پروتکل کمیته اخلاق در کار با حیوانات آزمایشگاهی. معاونت تضمین کیفیت، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، ۱۳۹۸.
- ۴) فلاحی روزبه. مقایسه دو روش تزریق داخل پوستی و داخل وریدی تولید همولیزین ضد گوسفندی در خرگوش آزمایشگاهی. نشریه دامپزشکی در پژوهش و سازندگی، شماره ۱۰۶، ۱۳۹۴، ص: ۶۵-۷۱.