



KCCH/RR-047/98

최종보고서

실험동물의 품질관리체계 확립

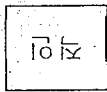
Establishment for Quality Control
of Experimental Animal

주관 연구기관

부설 원자력병원

원 자 력 병 원

공자력별유공유권의



주관연구기관장 : 박인

주관연구책임자 : 김태

주관연구기관 : 공자력별유

1999. 6.

3. 최종보고 전산영역서 1부.

2. 자체평가의견서 1부.

첨부 : 1. 최종 보고서 3부.

1998년도 기관고유사업에 의하여 완료한 "실험동물의 품질관리체계 확립"의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

제 출 문

원 자 력 병 원 장 귀하

본 보고서를 “실험동물의 품질관리체계 확립” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

1999. 6 . .

주관연구기관명 : 한국원자력연구소

부설 원자력병원

주관연구책임자 : 김 태 환

연 구 원 : 김 태 환 김 수 관

강 신 근 김 태 경

총 목 차

실험동물의 품질관리체계 확립

제 1 편 미생물 모니터링

제 2 편 환경 모니터링

제 3 편 바이러스 모니터링

요 약 문

I. 제 목

실험동물의 품질관리체계 확립

II. 연구개발의 목적 및 필요성

국내에서는 아직 소수의 연구기관에서 신뢰성 있는 좋은 연구결과를 얻고자 barrier system 시설을 완비하여 양질의 실험동물을 자가 수급하는 정도에 지나지 않으며, barrier system 미시설 기관에서는 외국에서 주로 구입하는 실정에 있으므로 완벽한 실험동물 유지관리 체계를 갖출 경우에는 실험동물의 수입으로 인한 국가예산 낭비를 절감할 수 있을 것이다. 하지만 원자력 병원 연구부에서는 아직 이러한 barrier system 시설을 구비하고 있지 않으므로 생명과학의 발달과 더불어 동물 실험결과의 신뢰성과 재현성을 높이기 위해서는 실험동물에 대한 품질향상에 필요한 체계적인적 모니터링의 기반조성과 미생물감염에 대한 관리시스템을 확립하는 것이 매우 시급한 실정에 있다. 특히 국제 특허제도의 도입 및 종 다양성 국제협약 등에 가입하여 지적 재산권의 문제가 현실적으로 대두되고 있어 국가 경쟁력 향상을 위하여 국내에서도 실험동물의 개발 등에 관하여 차별화가 필요하며 이에 대한 연구를 통하여 양질의 실험동물의 공급과 유지로 신속하고 효과적인 연구방법의 개발로 중장기 연구과제를 원활하게 수행함으로써 시간적 경제적 손실을 줄일 수 있다. 이미 국내에는 분자생물학적 연구의 발전과 더불어 실험동물의 질적 향상이 요구되어 국립보건안전연구원, 한국화학연구소, 생명공학연구소를 포함하여 단지 몇몇 연구기관에서만 barrier system 실험동물시설을 유지 관리하고 있다.

그러므로 내외인적 요인에 의한 미생물의 감염실태와 유전적인 변이의 배제를 통한 체계화된 실험동물의 유지관리가 신약개발, 병인해석, 질환규명 및 치료연구 기술개발에 중요한 영향을 주기 때문에 경쟁력이 있는 각종 전임상 연구실험의 좋은 결과를 양산할 수 있는 연구기관으로 인정받기 위하여 체계적인 실험동물의 관리시스템 확립을 통한 양질의 specific pathogen free(SPF) 실험동물의 유지관리로 신뢰성 있는 최정밀의 연구기반을 조성하고자 본 연구를 수행하였다.

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

미생물 모니터링 검사 방법 확립을 위하여 미생물 검사에 필요한 배지인 Nutrient agar(낙하균), Blood agar(*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pastrella pneumotropica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium kutscheri*) NAC agar(*Pseudomonas aeruginosa*), DHL agar(*E.coli*, *Salmonella typhimurium*), Vogel-Johnson agar(*Staphylococcus aureus*) 그리고 PPLO agar(*Mycoplasma pulmonis*)를 제작하거나 시제품을 구입하여 각각의 세균을 분류 검색하였다.

미생물 검사방법으로는 실험동물을 무작위로 각 동물실험군에서 선택하고, 선택된 동물은 마취하여 기도를 절개한 후 면봉으로 시료를 채취하여 Blood agar 와 PPLO agar 에 분주하여 CO₂ incubator(37℃)에서 48시간 및 5~7day 동안 각각 배양하고 나서 colony 형태를 관찰하였다. 그리고 맹장에서 시료 채취하여 *Pseudomonas aeruginosa* 관찰을 위해서는 CO₂ incubator(37℃)에서 NAC agar 에 48시간동안 배양하였으며, *Salmonella typhimurium*, 및 *E. coli* 관찰을 위해선 DHL agar 에 그리고 *Staphylococcus aureus* 는 Vogel-Johnson agar 에 24시간 동안 각각 배양하고 나서 colony 형태를 검색함.

한편 사육환경 모니터링인 공중 낙하균 검사법 확립을 위해서는 nutrient agar를 공기 중에 20 분간 노출시킨 후 37℃ 에서 24 시간과 48 시간동안 배양하여 각각 관찰하여 세균의 colony 수와 형태를 분석 검색하여 오염정도를 파악하였으며, 또한 air sampler를 통한 공기 중 세균 검사도 실시하였다.

그리고 응집반응과 효소항체법(ELISA)을 이용한 바이러스 검사법은 준비중임

IV. 연구개발 결과

1. 사육 환경 모니터링

낙하균 검사에서 일반 실험동물 사육실에서는 비교적 많은 colony 가 관찰되었으며, housing system은 거의 세균이 관찰되지 않는 것으로 보아 clean room으로 유지되고 있었다. 48 시간동안 배양한 경우에는 곰팡이류의 증식도 관찰되었다.

한편 air sampler를 통한 공기중 세균 검사에서도 공중 낙하균 검사의 결과와 유사하였으며, 특히 bacteria와 fungus의 분포를 실험실별로 분류하여 분석해 본 바 공중 낙하균 검사에서 더 많은 수가 관찰된 것으로 보아 공기중 부유세균의 검사는 air sampler(biotest RCS)를 이용하여 하는 것이 더욱 효과적임을 알 수 있었다.

2. 미생물 모니터링

: DHL agar 에서 *E. Coli* 와 *Salmonella typhimurium*이 관찰되었으며, NAC agar 에서는 *Pseudomonas aeruginosa*, DHL agar 는 *Salmonella typhimurium* 및 *E. coli* 그리고 Vogel-Johnson agar 는 *Staphylococcus aureus* 를 24시간 혹은 48 시간동안 각각 배양한 후 colony형태를 검색 확인하였다. 그리고 Blood agar 에서도 많은 colonies 가 관찰되었지만 정확하게 분리동정을 하지 않았지만 *Streptococcus pneumoniae*, *staphylococcus aureus*, *Pastrella pneumotropica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium kutscheri* 중의 세균일 것으로 추정함.

3. 사육, 번식 모니터링

: 임신유무, 산자수, 도태수, 포육자의 성장 및 폐사 등을 통한 번식포유 모니터링과 실험동물의 전 생애에 걸쳐 체중변화, 생존율, 외관적 이상, 연령에 따른 변화 및 사인등의 자료를 이용한 성장 및 노화 모니터링을 할 계획이었으나 병원 연구부의 실험동물실 운영상의 계획변경으로 자체 번식 유지군이 없는 고로 할 수 없었습니다.

4. 기생충 모니터링 : 모든 동물의 분변에는 기생충이 다량 감염되어 있는 것으로 관찰되었다.

V. 연구개발결과의 활용계획

암 연구와 방사선 연구 등에 필요한 양질의 실험동물을 공급할 수 있는 실험동물 관리 체계를 확립하여 전임상 실험 결과의 신뢰성과 재현성 유지에 중추적 역할을 하는 실험동물실로 위상을 정립하고 국내외 실험 동물관련 전문가들과 정보 교환 등을 통하여 우리 병원의 실정에 맞는 기술을 개발 확립하여 쾌적한 환경과 양질의 실험동물을 생산 할 수 있는 유지관리 체계수립을 위한 기초적인 기반을 조성할 것임

- ◆ 새로이 확립할 실험동물의 quality control 연구를 통하여 동물실험결과의 재현성에 영향을 끼치는 요인규명과 품질의 균질화를 위한 품질평가법을 확립할 계획임

- ◆ 동물실험의 질적 향상을 위해서는 barrier system의 동물 실험실의 시설이 필수적이기는 하지만 우리 병원 연구부에는 이러한 시설이 구비되어 있지 않을 뿐만 아니라 실험동물의 모니터링 기술법이 확립되어 않는 고로 본 연구를 통하여 이에 필요한 모니터링 법을 개발 확립하여 specific pathogen free 마우스를 사육 실험할 수 있는 기반을 조성할 예정임

- ◆ 실험동물의 건강상태 평가를 위하여 번식성적, 사망발생, 육안적 및 조직학적 소견, 기생충의 검출, 병원미생물의 분리 및 각종 혈청반응에 의한 특정 미생물 등에 대한 노출유무를 파악하여 실험동물의 품질향상에 필요한 기초자료로 사용코자 함

- ◆ 미생물 모니터링법 확립을 통하여 실험동물의 품질관리 유지를 체계적으로 할 수 있는 효율적인 방법을 모색할 예정임

- ◆ 사육실, 복도, 및 창고 내에 있는 포도구균, 장내세균, 진균류 등의 총균수를 공중낙하세균 검사법으로 하며, 동물의 생태 모니터링, 기생충 검사 및 육안적 병리조직검사방법을 확립할 예정임

- ◆ 유전 공학, 방사선 생물학, 방사선 병리학 및 방사선 치료 등의 학문 발전에 이용할 수 있으며, 특히 방사선 방호제의 개발, 방사선 민감세포에 대한 기전 연구 등에 좋은 결과를 얻는데 큰 도움이 될 것임
- ◆ 방사선 및 암 연구 전문 병원의 위상 확립을 위한 대국민 교육과 홍보에 필수적인 기반 시설과 운영자료로 활용

S U M M A R Y

I. Project Title:

Establishment for Quality Control of Experimental Animal

II. Objectives and Importance of the Project

Recently there has been a few of institutes that had barrier system in Korea. Until now, because we have imported experimental animal from foreign experimental animal corporation, we could have saved money by establishing the quality control of animal in barrier system. In order to improve the quality of animal experiment and efficiency of biomedical study, it is indispensable to control many factors that effect in the experiment using the reared and produced laboratory animal in our hospital. Therefore, it is essential to organize the system of laboratory animal care for enhancing the reliability and revivability of experimental results, providing good quality laboratory animal and protecting the infection of animal caretaker and experimenter against the harmful organisms. The purpose of the present investigation was to establish the quality control system of experimental animals that we can provide good quality animals according to the experimental condition of each investigator although the exact quality control system to estimate the infection of bacteria and virus easily remains ill-defined yet.

Accordingly, we should need to establish the useful quality control system for microbiologic monitoring, environmental monitoring and genetic monitoring to protect experimental animal and caretaker and obtain good results.

III. Scope and Contents of the Project

The provision of homogeneous good quality laboratory animal may appear to enhance the accuracy and revivability of experimental results. Therefore, it is carried out to the control of health assessment, the production of experimental animals and laboratory animal quality such as genetic control, microbiologic control and environmental control.

To establish the microbiologic monitoring, we made media such as nutrient agar, DHL agar, Vogel-Johnson agar and NAC agar and bought blood agar and PPLO agar. We chose animals randomly that sustained in experimental animal room, respectively. We cultured sample that obtained trachea and cecal content after ether anesthesia. After culturing in CO₂ incubator/37 °C for 24 h or 48 h respectively except 5-7 days for PPLO agar, we observed and counted the number of colony in petri dish. For environmental monitoring, we exposed nutrient agar in the air of each room for 20 min and counted the number of colony after culturing for 24 h or 48 h, and checked air suspension of bacteria through air-sampler.

IV. Results and Proposal of Application

1) The environmental monitoring system is one of the most important elements in the care and management of laboratory animals. In as much as the well-being of the animals and the control of experiments are influenced by the environmental monitoring system with microbiologic monitoring, it was designed carefully to meet the investigator's requirements and accord the characteristics of animal strains.

To improve the accuracy and revivability of each experimental results, it divided to radioisotope laboratory, metabolism laboratory, semi-barrier system laboratory and carcinogen laboratory according as the experimental conditions and level of environmental contamination. The improvement of laboratory animals facilities by environmental monitoring and a strict program of sanitary maintenance by microbiologic monitoring such as irradiation of feeding and sterilization of drinking water promote the physical comfort and good health of laboratory animals. To minimize variations that may modify the animal's response in a particular experimental regimen by infection and genetic contamination, there was advanced to the welfare of animals, the accuracy and validity of research data, the health and safety of caretakers and monitoring system.

It might be marked contributed to improve not only the monitoring technology of barrier system for the purpose of providing and maintaining good quality animals, but also the accuracy, reliability and revivability of the experimental results using homogeneous good quality laboratory animal by the proper management of experimental animal that can eradicate bacteria and parasites, and genetic contamination.

Accordingly, We carried out to evaluate the degree of bacteria and fungus distribution in experimental room by air-sampler and the method of falling bacteria in the air. After culturing in nutrient agar for 24 h and 48 h, we obtained that there had many bacteria in experimental room of conventional facilities, but nearly didn't observed bacteria in the housing system that was semi-barrier system.

2) Microbiologic monitoring

The microbiologic monitoring of laboratory animals is the process of repeated testing for evidence of infection with specific agents. Until now, we bought barrier-maintained mouse and rat colonies because barrier system with genetic and microbiologic monitoring is time-consuming and can be expensive. It should be clear that microbiologic monitoring is one aspect of health assessment, which is the quality control. Mice and rats are species commonly used in biomedical research. The animals in specific study like immunological research must be maintained in a controlled environment free from exposure to contamination and microbiologically monitored to ascertain this status during experimentation. We wanted to recognize the microbiologic monitoring aspect of health assessment of mice and rats in our division of experimental animal during the fulfillment of R&D project research. Monitoring for viruses, parasites and bacteria are performed in order to maintain a current profile on the health status of the colonies routinely. The defined mice and rats free of recognized pathogens that generally monitor murine pathogens in barrier colonies would be tested. Microbiologic monitoring of a representative sample from a given population is the most appropriate means of determining whether the given population is presently infected or has been infected with a given agent.

The character of the animal facility may vary among room size, cage size, population within each cage, use of filter caps on cages, air filtration, and numerous husbandry practices. Such variables may affect the random sample. The purpose of this investigation is to provide a framework of information needed to establish microbiologic monitoring programs for different kinds of rooms and animal colonies because an increasing awareness and demand for laboratory animals of high quality is evident today. We made and cultured samples from trachea and cecal contents in NAC agar for *Pseudomonas aeruginosa*, blood agar for *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pastrella pneumotropica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium kutscheri*, DHL agar for *E.coli* and *Salmonella typhimurium*, Vogel-Johnson agar for *Staphylococcus aureus*, and PPLO agar for *Mycoplasma pulmonis*. We could observe all bacteria examined except *Mycoplasma pulmonis*. We observed bacteria in the air of experimental animal room in nutrient agar by air-sampler and the method of falling bacteria.

3) Monitoring of animal breeding and rearing were observed : All the experimental animals were appeared nearly normal growth during experimentation. The quality of laboratory animal can be enhanced by the improvement in circumstances condition such as environment(temperature, humidity, lighting, ventilation and noise control), and rearing(cage, cleaning, water supply). Healthy good quality laboratory animal is produced by the monitoring of production results, litters, number of pregnancy, deaths, appearance of malformation or morphological and histopathological finding. However, we hadn't breeding colonies due to changed plan of research division in our hospital for management of experimental animal laboratory. So we couldn't carried out this monitoring

4) To ensure that food and bedding do not serve as means of introducing diseases, parasites, potential disease vectors, or chemical contaminants into animal colonies, breeders and users of laboratory animals should exercise caution in the purchase, transportation, storage and handling of these products. Especially, we pay attention to infection of bacteria and parasites because all mice and rats had parasites.

All the laboratory animals should have daily access to food according to their particular requirements. Food should be presented in manner that minimizes contamination with wastes and vermin by clean food through microbiologic monitoring. It was fed in sufficient amounts to ensure normal growth in immature animals and maintenance of normal body weight in adults *ad libitum*.

실험동물의 품질관리체계 확립

목 차

제 1 편

제 1 장 서 론-----	1
제 2 장 국내외 기술개발 현황-----	3
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과-----	5
제 1 절 연구개발의 내용 및 방법-----	5
제 2 절 연구결과-----	13
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외 기여도-----	16
제 5 장 연구개발결과의 활용계획-----	18
제 6 장 참고문헌-----	20

표 목 차

Table 1. Environmental monitoring in each experimental animal room ---	24
Table 2. Microbiologic monitoring in mice and rats in selective media at each experimental animal room -----	25

제 1 장 서 론

비임상 실험의 질적향상과 함께 양질이며 품질이 명확한 실험동물의 중요성이 인정되어 가면서 그 수요가 날로 증가되고 있으며, 모든 생명과학에 대한 실험성의 정확성과 재현성을 높이고자 실험동물의 적절한 관리를 통하여 동물이 정상적으로 발육, 성장, 번식 및 행동하며 신체적 안락과 건강을 유지할 수 있는 사육관리 시스템과 미생물학적 제어 시스템을 확립 유지하고 특수한 실험계에 대한 동물의 반응에 영향을 미칠지도 모르는 변동을 최소한으로 줄이기 위한 환경 monitoring 및 유전적인 monitoring 을 하는데 있다.

그리고 지금까지 실험동물이라고 하는 용어는 막연하게 “실험에 사용되는 동물”의 의미로 사용되어 왔으나 실험에 사용되는 동물의 중요성이 인식되면서 명확한 의미를 가지게 되었으며, 실험동물이 검정, 진단, 조제, 교육을 포함하는 모든 연구에 중요하다고 생각되어 그 목적에 알맞게 육성, 번식, 생산하여 사용하므로써 의학적, 수의학적, 치의학적인 문제점 해결을 위하여 실험동물의 반응을 관찰하는 것으로 의사 및 전문가의 통제아래 동물실험을 수행하여 research animal의 고통과 불안을 최소화하고 complicating factors를 동정하여 생물 의학적인 연구 결과의 정도와 재현성을 제고시키는 것이다.

실험용 동물의 분류에 있어서는 연구에 사용하기 위하여 개발 개량되어 육성, 번식, 생산된 동물로 제어된 실험동물, 인류사회에 필요한 의식주를 해결하기 위하여 개발 육성된 가축 그리고 자연계에서 포획된 동물로 인위적인 번식과 생산을 앓을 뿐만 아니라 연구용으로 제어되지 않은 야생동물로 나누고 있으며, 이들의 종류에 따라 연구용도에 차이가 있어 마우스는 종양, 미생물계의 연구와 생물검정에 널리 이용되며 랫트는 종양, 내분비, 약리학에 많이 사용되고 토끼와 기니아피그는 약리학, 미생물학, 면역학에, 개는 순환기, 신경생리학의 연구에, 고양이는 생리학, 신경생리학, 약리학의 연구에 사용되고 있으며, 가축과 가금류는 수의학과 축산학의 연구에 널리 사용되나 특히 돼지는 사람의 영양, 심장병, 고혈압, 위궤양 등의 연구에, 그리고 햄스타와 웨렛트는 그 특수한 감수성 때문에 바이러스의 연구에

많이 이용되고 있는 실정이다. 그리고 실험동물의 체내 미생물의 보유정도에 따라 germfree, gnotobiotic, specific pathogen free(SPF) 및 일반 동물로 분류하고 있으며, 사육환경의 오염정도에 따라 barrier system, semi-barrier system 및 conventional system으로 분류한다.

이와 같이 실험용 동물에 종류에 의한 용도는 그 각각의 용도, 연구목적 그리고 그 사용되는 동물에 관한 정보량의 집적의 정도등에 의하여 결정되어진다.

본 연구에서는 양질의 실험동물을 공급하고, 균질성을 확보하여 연구결과의 정확성과 신뢰성을 높이기 위하여 실험동물의 품질관리와 미생물모니터링 그리고 그 목적에 따라 연구용 실험동물을 생산 분양하므로 실험동물을 이용한 제반 연구결과의 질적 향상을 위한 실험동물의 품질 관리 시스템을 확립하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

실험동물은 “살아있는 시약”이며, “살아있는 측정기”라 하여 국내외 모든 연구기관이나 학교에서 이용되고 있지만 아직도 실험동물의 중요성에 대한 인식 부족으로 실험결과에 대한 신뢰성에 많은 문제점이 있다. 그러므로 연구 목적에 맞는 실험동물의 육성, 번식 및 생산을 하거나 용도에 맞는 실험동물을 선택하여 동물실험이나 생물 검정하므로 좋은 결과를 얻을 수 있다. 연구결과와 신뢰성과 최상의 결과에 대한 정도를 결정짓는 요인이 되는 실험동물의 유전적인 성질과 환경적인 소인으로 인하여 동물실험에 미치는 영향이 conventional environmental system 에서는 심각하여 실험 및 검정결과에 지대한 영향을 초래하기 때문에 이미 선진국에서는 실험동물의 품질관리를 위한 barrier system 설비를 운용하고 있으며, 국내의 우수 연구기관에서도 barrier system을 이용한 in vivo 실험을 통하여 초정밀한 첨단 연구의 연구를 하고 있는 실정이다. 그래서 오늘날에는 국내외 모든 연구기관의 연구자들이 보다 나은 정밀성과 엄밀성이 요구되는 연구에 필요한 실험동물의 종이나 계통을 ICLAS 와 여러 subcenter 를 통한 유전적인 제어, 미생물제어, 질병 제어 및 환경 제어로 인증된 동물을 이용한 연구 결과만을 인정하고 있을 뿐만 아니라 연구에 공시된 실험동물의 품질과 사육시설에 대하여 명시할 것을 권고하고 있다. 한편 국내에서는 몇몇 연구소와 첨단연구에 종사하는 기관에서 이에 상응하는 시설을 유지관리하고 있지만 아직 국제적인 수준에 미치는 man power 구성이 미비하며 특히 수의사 자격을 가진 전문가의 양성이 필요하다. 본 병원 연구부는 국내 유일의 암전 문 연구와 방사선 의학연구 기관으로서 SPF 동물을 이용한 연구가 필수적이라고 생각하며 이를 위해서는 실험동물의 품질관리를 위한 미생물 모니터링, 유전적인 모니터링 그리고 질병 모니터링을 위한 체계적인 연구관리시스템을 확립하는 것이 가장 시급하다고 판단됨. 따라서 우리 나라에서도 실험동물의 세계화된 harmonization을 위해 표준화된 실험동물의 생산 분양하여 이용할 수 있는 시설과 제어시스템을 확립하는 것이 아주 중요하다고 생각하며, 본 연구

를 통하여 이에 필요한 기초기반체계를 할 수 있도록 이미 확립된 시스템을 보완하여 우리의 실정에 맞는 새로운 품질관리 방법을 수립하는데 역점을 두고자 함.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구내용 및 방법

1. 실험동물 ;

원자력병원 실험동물실에서 번식 사육한 실험동물과 실험중인 동물

2. 미생물학적 모니터링

1) 검사용 혈청분리와 모니터링 대상세균의 배양 :

기관에서 swab법으로, 맹장에서는 내용물을 백금 이로 채취

2) 세균 분리 및 증식용 배지 제작법 확립

Nutrient agar : 실험동물실내 공기중 낙하균 검사-공기 중의 오염도 검사

Blood agar : *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*,
Pastrella pneumotropica, *Bordetella bronchiseptica*,
Corynebacterium kutscheri

NAC agar : *Pseudomonas aeruginosa*

DHL agar : *E. coli*, *Salmonella typhimurium*,

Vogel-Johnson agar : *Staphylococcus aureus*

PPLO agar : *Mycoplasma pulmonis*

Urea agar : urease 생성여부를 관찰하여 세균동정.

MacConkey agar : 세균동정 중 ONPG test를 필요로 할 때 lactose가
포함된 배지에서 배양함

**) 1%의 Trypticase peptone : Indole test시 필요

3) 미생물 검사방법 확립

(1) Blood agar : 기도에서 시료 채취

→ 37°C/ 48시간 배양한 후 colony형태 관찰

Hemolysis(α)→Gram staining(+, 연쇄상 구균)

→optocin disc(s)

→api 20 strep

⇒ *Streptococcus pneumoniae* 판정

Hemolysis(β)→Gram staining(+, 포도상 구균)

→coagulase plasma EDTA(+)

⇒*Staphylococcus aureus* 판정

non-Hemolysis→Gram staining(-, 간균)

→지름 1~2mm, smooth, 회색빛

→urease test(+)

→ONPG(+), Indole(+)

→api 20 NE

⇒*Pastrella pneumotropica* 판정

non-Hemolysis→Gram staining(-, 간균)

→지름2~2.5mm, 노란빛

→urease test(++)

→Chloramphenicol(s), Streptomycin(s), Amphotericin(r)

⇒*Bordetella bronchiseptica* 판정

non-Hemolysis→Gram staining(+, curve rod)

→지름2~2.5mm

⇒*Corynebacterium kutscheri* 판정

- (2) PPLO agar : 기도에서 면봉으로 시료 채취
 → CO₂ incubator(37°C)에서 5~7day 동안 배양
 → colony 크기가 작고 cream 색
 ⇒ *Mycoplasma pulmonis* 판정
- (3) NAC agar : 맹장에서 시료 채취
 → 37°C 48시간 배양한 후 colony형태 관찰
 → 형광색, rough colony
 → Kanamycin(r), Carbenicillin(s)
 ⇒ *Pseudomonas aeruginosa* 판정
- (4) DHL agar : 맹장에서 시료 채취
 → 37°C 24시간 배양한 후 colony형태 관찰
 → colony 크기가 작고 pink 색
 → Gram staining(-, 간균)
 → ONPG(+), Indole(-)
 ⇒ *E. coli* 판정
 → colony 크기가 크고 black 색 → urease test(-)
 ⇒ *Salmonella typhimurium* 판정
- (5) Vogel-Johnson agar : 맹장에서 시료 채취
 → 37°C, 24시간 배양한 후 colony형태
 → yellow zone, black colony
 → coagulase plasma EDTA(+)
 ⇒ *Staphylococcus aureus* 판정

4) 미생물 배양검사

: 실험군은 8주령 이상의 개체를 무작위로 선택하였으며, 시료 채취시에는 ether 를 이용하여 전신 마취한 후 기도에서 면봉으로 시료를 채취하였으며, 피부를 절개하여 기도를 노출시킨 후 기 puncture하여 준비된 면봉으로 sample을 채취하여 blood agar에 stricking한 다음 37℃ incubator에서 24시간 배양하였다. 이와 동시에 임파절과 실질장기, 특히 폐의 이상 여부를 육안으로 관찰한 후 맹장의 내용물을 DHL, Vogel-Johnson, NAC agar 에 stricking한 다음 37℃ incubator에서 24~48시간 배양하여 각각 아래와 같은 균들을 검색 관찰하였다.

** Blood agar : *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*

Pastrella pneumotropica, *Bordetella bronchiseptica*

Corynebacterium kutscheri

NAC agar : *Pseudomonas aeruginosa*

DHL agar : *E. coli*, *Salmonella typhimurium*

Vogel-Johnson agar : *Staphylococcus aureus*

5) 응집반응, 혈청응집억제반응, 보체결합반응, ELISA,

(1) 응집반응 ;

응집반응을 이용한 미생물 검사법은 준비중이며, 혈청반응은 불현성 감염의 검출에 뛰어나며 감염 후 비교적 장기간에 걸쳐 양성반응이 지속되기 때문에 미생물 모니터링에 적합하다. 그러나 항체생성 개시전의 감염 초기나 항체가 충분히 상승되지 않은 발병 극기의 동물을 진단하기에는 부적합하다.

i) 검사방법 : 각 검체에서 혈액을 채취하여 3000rpm으로 원심분리한 후 혈청만을 취하여 56℃에서 30분간 가온 처리하여 비동화시켜 -70℃에서 보관한다. 항원과 피검혈청을 혼합하여 일정시간 반응시킨다. 피검혈청 중에 항원에 대응하는 항체가 존재하면 항원과 결합하여 항원이 응집괴를 만들기 때문에 육안으로 확인이 가능하다. 이때 microplate 는 V형을 사용한다.

- a) 응집항원은 충분히 흔들어서 사용한다.
- b) 응집항혈청은 그대로 사용한다.
- c) 피검혈청은 1:5로 희석하여 사용한다.

ii) 조작법

- ① Microplate를 위의 그림과 같이 tape를 붙여서 혈청명, 희석배수를 기입한다. 최초의 희석배수는 1:5로 한다.
- ② 희석액 25 μ l씩을 1:5를 제외한 ● well에 넣는다.
- ③ 검체를 50 μ l씩을 1:5를 ○ well에 넣는다.
- ④ 양성대조혈청 50 μ l씩을 1:5를 ◎ well에 분주

		1:5	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	C
항체NO.	1	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

양성대조혈청	양성 ◎	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
--------	------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

- ⑤ 항원대조(C)를 제외하고 1:5에서 차례로 25 μ l diluter를 사용하여 2배수 단계 희석
- ⑥ 응집항원 25 μ l씩 전체 well에 분주
- ⑦ microplate를 혼합한 후 뚜껑을 덮어 37℃에서 2시간 방치
- ⑧ 4-6℃의 냉장고에서 overnight
- ⑨ 실온에서 15분간 방치 후 검은 종이위에서 microplate를 육안으로 관찰

iii) 결과판정

○(-) ●(+)

●(++)

(2) ELISA(효소항체)법 : 여러 가지 방법이 있으나 본 연구에서는 일본의 生研 제품을 이용한 ELISA 법을 사용하고자 함.

- 0.5M PBS를 세정액으로 사용한다.
- 0.5M PBS에 0.1%의 BSA를 녹여 검체 희석액으로 이용한다.

- ① 시판되는 plate를 1회 세정한다.
- ② 검체 희석액을 사용하여 50배의 희석혈청을 만든다.
- ③ 검체의 희석혈청을 100 μ l씩 각 well에 분주한다.
- ④ 음성대조로는 검체 희석액을 사용하고 양성대조로는 제품에 들어 있는 양성대조혈청을 10배 희석하여 사용한다.
- ⑤ Microplate를 15초간 교반한 후 실온에서 1시간 반응시켜 세정액으로 3회 세정한다.
- ⑥ 반응이 끝난 plate에 효소표식 항체를 제조하여 각 well에 100 μ l씩 분주하여 Microplate를 15초간 교반한 후 실온에서 1시간 반응시킨다.
- ⑦ 세정액으로 3회 세정한 다음 기질액(1M citrate buffer)을 제조하여 각 well에 100 μ l씩 분주하고 Microplate를 15초간 교반한 후 차광하여 실온에서 30분간 반응시킨다.

반응 정지액을 각 well에 100 μ l씩 분주하고 ELISA plate reader를 이용하여 492nm의 파장에서 흡광도를 측정한다

3. 유전적 모니터링

: Morphological monitoring, Biochemical monitoring, Immunogenetical monitoring, Molecular genetical monitoring

4. 사육환경 모니터링

공중낙하 세균검사는 사육실, 복도, 창고 등 매월 1회 씩 검사하였으며, 이는 동물실험실내 공기중의 오염도를 측정하기 위한 방법으로 nutrient agar에 서 자란 세균의 colony 수와 형태를 관찰하여 오염정도를 파악함.

1) 검사방법

: 가장 안쪽의 동물실을 A로 정하고 바깥쪽 순으로 B, C, D로 함.

	3	4	5	6
2				
		7		
1				
출입구	9		8(chamber 위)	

A(ESR실)

	1	2	3
출입구	6	5	4
	7	8	9

B(housing system)

		C	
	1	2	3
			4
출입구			5
	12	11	6
			7
	10	9	8

			D	
	6	7	8	9
	5			10
	4			11
	3		16	12
	2			13
	1	18(출입구)	17	14
				15

⇒ 상기와 같이 Nutrient agar를 공기중에 20 분간 노출시킨 후 37℃ 에서 24h 과 48h 동안 Trypticase soy agar, Staphylococcus #10 agar, DHL agar에 배양하여 각각 관찰하였으며, 사육실은 면봉채취검사(swabbing test)로 Trypticase soy agar, Staphylococcus #10 agar, NAC broth, NAC agar 에 배양하고, 음수의 녹농균 검사는 NAC broth와 NAC agar에 배양하여 관찰 하였다. 그리고 사료 및 깔짚의 멸균확인 은 주 1 회 실시함.

5. 사육, 번식 모니터링

1) 번식포유 모니터링: 임신유무, 산자수, 도태수, 포육자의 성장 및 폐사등
이상유무/일

2) 성장 및 노화 모니터링:

(1) 단기 모니터링 : 이유자는 상시모니터링 동물을 선정하여 10주령까
지 성장 및 외관적 이상유무 관찰

(2) 장기 모니터링 : 전 생애에 걸쳐 체중변화, 생존율, 외관적 이상, 연
령에 따른 변화 및 사인등을 관찰

(3) 병리조직학적 모니터링 : 년 1 회 10주령 및 26 주령 동물의 주요
장기를 검색 관찰

6. 기생충학적 모니터링

모든 동물의 장 내용물을 채취하여 부유법으로 기생충을 검사하였다.

제 2 절 연구 결과

1. 사육 환경 모니터링

1) 공중 낙하균 검사(표 1)

24 시간 배양 : 실험자들의 출입이 많은 동물실험실(A,C)에는 비교적 많은 colony 가 관찰되었으며, housing system인 동물실험실(B)에서는 거의 세균이 관찰되지 않는 것으로 보아 clean room으로 유지되고 있음을 증명함.

48 시간배양 : 방선균과 곰팡이류의 증식도 동반되어 colony 수가 증가

2) air sampler를 통한 공기중 세균 검사

1) 배양후 24 시간후 관찰

C실(동물실험중) ; bacteria의 colonies 수가 171 개, fungi 는 35 colonies 관찰되었으나 공중낙하균검사에서 bacteria 가 평균 21 colonies 였슴

A실(ECRS 실) : 실내에는 bacteria 가 93 colonies, fungi 는 0 였으나, ECRS 실내에서는 bacteria와 fungus 가 1, 0 로 각각 관찰되었다. 공중낙하균검사에선 bacteria 는 평균 5 colonies 였슴.

B실(housing system) : bacteria 는 19 colonies, fungi 는 0 로 관찰

공중낙하균검사에선 평균 0.13 colonies 관찰

: bacteria와 fungus의 분포를 실험실별로 분류하여 분석해 본 결과 공중낙하균 검사보다 더 많은 수가 관찰된 것으로 보아 공기중 부유세균의 검사는 air sampler(biotest RCS)를 이용하여 하는 것이 더욱 효과적임을 알 수 있다. 하지만 air-sampler에 사용되는 agar trip의 비용이 상대적으로 비싼 것이 흠이다.

- *) Tryptic Soy agar ; 총균수 검사
- *) Rose Bengal agar ; 효모와 곰팡이 검사
- *) Evaluation of microbial colonies(CFU) :

sealed agar strip wrapper에서 직접 눈으로 관찰 계수함

$$\text{CFU/m}^3 = \frac{\text{Colonies on agar strip} \times 25}{\text{Sample Time(minutes)}}$$

2. 미생물 모니터링

(1) DHL agar : colonies 검사결과 E. Coli 로 판명되었으며, black colonies를 urease test한 결과 Salmonella typhymurium으로 판명됨.

pink colony : *E. coli*, *Proteus* 속도 드물게 나타남

black center colony : media가 colorless ----- *Sallonella*

brown zone ----- *Proteus*

→ 상기의 방법으로 육안적 관찰 후 *Sallonella*와 *Proteus*를 구별코자 urease 생산 여부를 검사함.

*) *Salmonella*(-), *Proteus*(+)의 특성을 이용하여 검사한다.

(2) Vogel-Johnson agar : 선택배지이며, black colony 와 yellow zone이 관찰되면 *staphylococcus*로 판정하지만 yellow zone 이 없는 경우에도 있으므로 coagulase EDTA test 를 하여 최종 결론을 내린다.

(3) Blood agar : 많은 colonies 가 관찰되었지만 정확하게 분리동정을 하지 않았지만 *Streptococcus pneumoniae*, *staphylococcus aureus*, *Pastrella pneumotropica*, *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium kutscheri* 중의 세균일 것으로 추정함.

3. 사육, 번식 모니터링 : 임신유무, 산자수, 도태수, 포육자의 성장 및 폐사등 이상유무/일 등을 통한 번식포유 모니터링과 실험동물의 전 생애에 걸쳐 체중변화, 생존율, 외관적 이상, 연령에 따른 변화 및 사인등을 관찰등의 자료를 이용한 성장 및 노화 모니터링을 할 계획이었으나 병원 연구부의 실험동물실 운영상의 계획변경으로 자체 번식유지군이 없는 고로 할 수 없었습니다.

4. 기생충 모니터링 : 모든 동물의 분변에는 기생충이 다량 감염되어 있는 것으로 관찰되었다.

제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

실험동물의 품질관리 시스템의 확립을 위한 사육환경 모니터링과 미생물 모니터링법의 수립이 필수적인 것으로 양질의 Specific pathogen free(SPF) 실험동물의 유지관리를 통한 신뢰성있는 최정밀의 연구기반 조성에 기초적인 자료로 사용가능하며, 기타의 유전적인 모니터링과 번식사육 모니터링법도 차후에 확립하여 생명과학의 발달에 지대한 영향을 끼치는 요인인 동물 실험결과의 신뢰성과 재현성을 높일 수 있도록 실험동물에 대한 품질향상에 필요한 체계적인 품질 관리 시스템을 확립에 큰 도움이 될 것임.

- ◆ 미생물의 감염실태와 유전적인 변이의 검색을 통한 양질의 실험동물을 유지 공급으로 비임상 연구실험 결과의 신뢰성을 높일 수 있어 경쟁력있는 연구기관으로 인정받게 될 것이며, 특히 신약개발, 병인해석, 질환규명 및 치료연구 기술 개발에 이용가능함.
- ◆ 양질의 실험동물의 공급과 유지로 신속하고 효과적인 연구방법의 개발로 중장기 연구과제를 원활하게 수행할 수 있어 시간적 경제적 손실을 줄일 수 있다. 국내 실험동물 공급업체의 영세성으로 인하여 외국에서 구매할 경우 많은 와화의 낭비가 되지만 완벽한 실험동물 유지 관리 체계를 갖출 경우에는 실험동물의 수입으로 인한 국가 예산을 절감할 수 있을 것임.
- ◆ 국제 특허제도의 도입 및 중 다양성 국제협약 등에 가입하여 지적 재산권의 문제가 현실적으로 대두되고 있어 국가 경쟁력 향상을 위한 동물실험 결과의 재현성에 영향을 끼치는 요인규명과 품질의 균질화로 국내에서도 실험동물의 자체 개발 유지로 차별화가 가능함

- ◆ 실험동물의 건강상태 평가를 위하여 번식성적, 사망발생, 육안적 및 조직학적 소견, 기생충의 검출, 병원미생물의 분리 및 각종 혈청반응에 의한 특정 미생물 등에 대한 노출유무를 파악하여 실험동물의 품질향상에 필요한 기초자료로 사용코자 함
- ◆ 본 연구결과를 양질의 실험동물을 생산 및 유지관리 체계수립을 위한 기초적인 기반조성에 이용하여 향후 암 연구와 방사선 연구 등에 필요한 양질의 실험동물을 공급할 수 있는 실험동물 관리체계를 확립하므로 비임상 실험 결과의 신뢰성과 재현성 유지에 중추적 역할을 하는 실험 동물실로 위상을 정립코자 함

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

암 연구와 방사선 연구 등에 필요한 양질의 실험동물을 공급할 수 있는 실험동물 관리 체계를 확립하여 전임상 실험 결과의 신뢰성과 재현성 유지에 중추적 역할을 하는 실험 동물실로 위상을 정립하고 국내외 실험 동물관련 전문가들과 정보 교환 등을 통하여 우리 병원의 실정에 맞는 기술을 개발 확립하여 쾌적한 환경과 양질의 실험동물을 생산 할 수 있는 유지관리 체계수립을 위한 기초적인 기반을 조성할 것임

- ◆ 새로이 확립할 실험동물의 quality control 연구를 통하여 동물실험결과의 재현성에 영향을 끼치는 요인규명과 품질의 균질화를 위한 품질 평가법을 확립할 계획임
- ◆ 동물실험의 질적 향상을 위해서는 barrier system의 동물 실험실의 시설이 필수적이기는 하지만 우리 병원 연구부에서는 이러한 시설이 구비되어 있지 않을 뿐만 아니라 실험동물의 모니터링 기술법이 확립되어 않은 고로 본 연구를 통하여 이에 필요한 모니터링법을 개발 확립하여 specific pathogen free 마우스를 사육 실험할 수 있는 기반을 조성할 예정임
- ◆ 실험동물의 건강상태 평가를 위하여 번식성적, 사망발생, 육안적 및 조직학적 소견, 기생충의 검출, 병원미생물의 분리 및 각종 혈청반응에 의한 특정미생물 등에 대한 노출유무를 파악하여 실험동물의 품질향상에 필요한 기초자료로 사용코자 함. .
- ◆ 미생물 모니터링법 확립을 통하여 실험동물의 품질관리 유지를 체계적으로 할 수 있는 효율적인 방법을 모색할 예정임

- ◆ 사육실, 복도, 및 창고 내에 있는 포도구균, 장내세균, 진균류 등의 총균수를 공중낙하세균 검사법으로 하며, 동물의 생태 모니터링, 기생충 검사, 및 육안적 병리조직검사방법을 확립할 예정임

- ◆ 유전 공학, 방사선 생물학, 방사선 병리학 및 방사선 치료 등의 학문 발전에 이용할 수 있으며, 특히 방사선 방호제의 개발, 방사선 민감세포에 대한 기전적 연구등에 이용하여 좋은 결과를 얻는데 일조할 것임

- ◆ 방사선 및 암 연구 전문 병원의 위상 확립을 위한 기초 자료로의 활용 및 대 국민 교육과 홍보를 위한 기반 자료로 활용

제 6 장 참고문헌

1. 이영순 : 실험동물학, 서울대학교 출판부, 1983
2. 산내충평 : Environmental control of laboratory animals. 출판과학 종합 연구부
3. Moreland, A. F., Barkely, W. E., Bottiglieria, N. G., Max lang, C., Manning, P.J., Newberne, P. M., Pakes S. P., Ringler D. H. and Weisbroth S. H. : Guide for the care and use of laboratory animals.
4. Abbot D. H. and Hearn J.P. : Sexual development in the marmoset monkey, *Callithrix jacchus*. Aspects of physical, hormonal and behavioral development. J Reprod. Fert 53:155-166, 1978
5. Adams D. B. and Baer G. M. : Caesarian section and artificial feeding device for suckling bats. J Mammal 17:524-525,1966
6. Avtalion R.R : Influence of environmental temperature on the immune response in fish. Microbiol Immunol 61:1-35, 1977
7. Baker H. J., Cassell G.H. and Lindsey J.R. : Research complications due to *Haemobartonella* and *Eperythrozoon*. Pathol 64:625-656, 1971
8. Baker H. J., Lindsey J.R., and Weisbroth S. H. : The laboratory rat : Vol I. Biology and diseases, Vol II Research applications. Academic press. New York, 435 pp and 276 pp. 1979-1980

9. Beardsley A., Vagg M.J., Beckett P. H. T. and Sansom B. F. : Use of the field role (*M. agrestis*) for monitoring potentially harmful elements in the environment. *Envir. Pollut* 16:65-71, 1978
10. Beatty R.A. and Sharma K.N. : Genetics of gametes : III. Strain differences in spermatozoa from eight inbred strains of mice. *Pro. R. Soc. (Edin) B* 68:25-53, 1960
11. Bensch-Williford C and Wgner J.E.: Bacterial and mycotic diseases of the integumentary system. In Foster HL, Small JD, Fox JG(eds) *The mouse in biomedical research*, Vol 2, Academic press : New York, pp 55-75, 1982
12. Berg B.N. and Simms H.S. : Nutrition and longevity in the rat. II. Longevity and onset of disease with different levels of food intake. *J Nutr* 71:255-263, 1960
13. Blackmore D. K. : Virus diseases of the guinea pig. *Guinea-pig News* 4:21-26, 1971
14. Blackmore D. K.: Accidental contamination of a specified pathogen-free units. *Lab. Anim* 6:257-271, 1972
15. Bleby J : Disease-free (SPF) animals. Ch. 10 in *UFAW Handbook on the care and mangement of laboratory animals*, 4th ed, Churchill Livingstone : Edinburgh & London,1972
16. Bleby J : A comparative study of specific pathogen free(SPF) and conventional cats. *D Vet Med Thesis*, University of London.1979
17. Box P. G. : Criteria for producing high quality animals for research. *Lab Anim Sci* 26:334-338, 1976

18. Broderson J. R., Lindsey J.R. and Crawford J. E. : The role of environmental ammonia in respiratory mycoplasmosis of rats. *Am J Path* 85:115-130, 1976
19. Broom J. C. : Leptospiral infection rates of wild rats in Britain. *J Hyg* 56:371-376, 1958
20. Bronson F. H. : The reproductive ecology of the house mouse. *Q Rev Biol* 54:265-299, 1979
21. Bywater J.E.C. and Kellett B.S.: Inhibition of bacteria in mouse drinking water by chlorination. *Lab Anim* 11:215-217, 1977
22. Casewell M and Phillips I : Hands as a route of transmission of *Klebsiella* species. *Br Med J* ii:1215-1317, 1977
23. Hoffman H. A., Smith K. T., Crowell J.S., Nomura T. and Tomita T : Genetic quality control of laboratory animals with emphasis on genetic monitoring, In Spiegel A, Erichsen S and Solleveld H.Y. A. (ed) *Animal quality control and models in biomedical research*. Gustav Fischer Verlag : Stuttgart, New York, pp 305-317, 1980
24. Monath T. P.: Biological hazards associated with *Mastomys*. *ICLAS Bull* 46:14-16, 1980
25. Owen D and Porter G.: The establishment of a colony of specific pathogen free guinea pigs. *Lab Anim* 1:151-156, 1967
26. Parker J. C., Whiteman M.D. and Richter C. B.: Susceptibility of inbred and outbred mouse strains to Sendai virus and prevalence of infection in laboratory rodents. *Infect Immun* 19:123-130, 1978

27. Pike R.M.: Laboratory associated infections. Incidence, fatalities, causes and preventions. *Ann Rev Microbiol* 33:41,1979

Table 1 Environmental monitoring in each experimental animal room

ESR실 (배지분포)	colony count	H.S. 실 (배지분포)	colony count	실험실 (배지분포)	colony count	실험실 (배지분포)	colony count
A1	117	B1	1	C1	429	D1	46
A2	92	B2	0	C2	95	D2	37
A3	121	B3	0	C3	131	D3	47
A4	100	B4	6	C4	117	D4	76
A5	91	B5	3	C5	590	D5	23
A6	104	B6	5	C6	547	D6	50
A7	45	B7	3	C7	68	D7	23
A8	58	B8	2	C8	201	D8	28
A9	47	B9	5	C9	72	D9	68
		Housing system		C10	111	D10	40
				C11	200 ↑	D11	17

Table 2 Microbiologic and parasite monitoring in mice and rats in selective media at each experimental animal room

NO	strain	sex	age	blood agar	DHL	V-J	NAC	Room	parasite
1	F344	♂	14개월	1mm, Hemolysis, gray	E	B, Y(-)	-	D	충란, 원충류
2	F344	♂	3주령	1mm, Hemolysis, gray	E,B(-)	-	-	D	충란
3	F344	♀	3주령	2-3mm, Hemolysis(x), urease(+), C	E	-	+/-	D	충란
4	"	♂	9주령	2-3mm Hemolysis(x),LC	E,B(-)	-	-	D	충란
5	C57BL/6 N	♀	9주령	1mm, Hemolysis, DC	E	B,Y(+)	-	D	원충류와 충란
6	"	♂	9주령	1mm, Hemolysis, DC	-	-	+/-	D	편모 1, 평면운동
7	"	♀	9주령	1 mm, Hemolysis, DC	-	-	-	D	충란
8	BALB/C	♂	3주령	-	E	B,Y(+)	+/-	D	충란
9	BALB/C	♂	3주령	-	E	B, Y(-)	+/-	D	충란
10	BALB/C	♀	7개월	-	-	-	-	D	충란
11	"	♀	9주령	2~3mm, yellow	E	-	F	D	충란
12	"	♂	9주령	5mm, gray 2.5mm, light yellow	E, B	B	F	D	충란
13	NGP	♀	9주령	1mm, Hemolysis(x), DC	E	B,Y(-)	+/-	D	충란
14	"	♂	9주령	2mm, Hemolysis(x), DC	E	-	-	D	원충류

*) E; E.coli, B; black colony, Y; yellow colony, D; Room number, F; fluorescence color

Table 2 Microbiologic and parasite monitoring in mice ant rats in selective media at each experimental animal room

No	strain	sex	age	blood agar	DHL	V-J	NAC	Room	parasite
1	Buffallo Rat	♂	5개월	0.5~1mm, Hemolysis, gray 2.5mm, yellow	E, B	B, Y		D2	충란,
2	F344	♂	9주령	1~1.5mm, gray	E	-		D3	충란
3	F344	♀	13 주령		E	-		D	충란
4	"	♂	9주령	0.5~1mm Hemolysis, gray 1~1.5mm, cream	E	B		"	충란
5	C57BL/6 N	♀	12주령	0.5~1mm Hemolysis, gray 1~1.5mm, cream	-	-		D4	편모1, 회전운동, 원형, 다량의 원충류와 충란, 공간운동,
6	"	♂	9주령	1mm, Hemolysis, gray 2mm, yellow	E	-	F	"	편 모 1, 평면운동
7	"	♀	27주령	0.5~1mm, Hemolysis, gray	-	-	F	D6	다량의 원충
8	"	♀	27주령	1mm, Hemolysis, gray 2.5mm, yellow	E	B	F	"	편모1, 타우너, 원형, 회전운동, 충란
9	BALB/C	♂		-	E	-	F	폐괴사	충란
10	BALB/C								타원형, 아메바
11	Sanca	♂	4개월	-	B	B, Y	F	A1	충란
12	"	♂	4개월	-	E, B	B	F	"	충란, 아메바,
13	BALB/C	♀	7개월	-	-	-		A2(난소종양)	충란
14	"	♀	9주령	2~3mm, yellow	E	-	F	A3	충란
15	"	♂	9주령	5mm, gray 2.5mm, light yellow	E, B	B	F	"	충란
16	NGP	♀	9주령	-	E	-		C1	충란, 원형운동
17	"	♂	9주령	-	E	-		"(폐렴)	pinworm, entameba, 원충류
18	F344	♂	9주령	2~3mm, white cream 1~1.5, gray cream	B	B		"	충란

*) E; E.coli, B; black colony, Y; yellow colony, D; Room number,
F; fluorescence color

서 지 정 보 양 식

수행기관 보고서번호	위탁기관 보고서 번호	표준보고서 번호	INIS 주제코드		
KCCH/RR-047/98					
제목 / 부제	실험동물 품질관리 체계 확립				
연구책임자 및 부서명	김 태 환 (연구부장실)				
연구자 및 부서명	김수관(연구부장실), 강신근(연구부장실), 김태경(연구부장실)				
발행지	대한민국,서울	발행기관	원자력병원	발행일	
페이지	39	도 표	유(0), 무()	크 기	A4
참 고 사 항					
비 밀 여 부	공개(0), 대외비(), ___급 비밀		보고서 종류	연구,기술,사업	
연구위탁기관			계약 번호		
초록(300단어 내외)	<p>국내에서는 아직 소수의 연구기관에서 신뢰성 있는 좋은 연구결과를 얻고자 barrier system 시설을 완비하여 양질의 실험동물을 자가 수급하는 정도에 지나지 않으며, 하지만 원자력 병원 연구부에서는 아직 barrier system 시설을 갖추지 못하고 있어 외국에서 주로 구입하는 실정에 있으므로 완벽한 실험동물의 품질관리 체계를 갖출 경우에는 국가예산 낭비를 절감할 수 있을 것이다, 특히 생명과학의 발달과 더불어 동물 실험결과의 신뢰성과 재현성을 높이기 위해서는 실험동물에 대한 품질향상에 필요한 체계적인적 모니터링의 기반조성과 미생물감염에 대한 관리시스템을 확립하는 것이 매우 시급한 실정에 있으며, 국제 특허제도의 도입 및 중 다양성 국제협약 등에 가입하여 지적 재산권의 문제가 현실적으로 대두되고 있으므로 국가 경쟁력 향상을 위하여 국내에서도 실험동물의 개발 등에 관하여 차별화가 필요하며 이에 대한 연구를 통하여 양질의 실험동물의 공급과 유지로 신속하고 효과적인 연구방법의 개발로 중장기 연구과제를 원활하게 수행함으로써 시간적 경제적 손실을 줄일 수 있다.</p> <p>그러므로 내외인적 요인에 의한 미생물의 감염실태와 유전적인 변이의 배제를 통한 체계화된 실험동물의 유지관리가 신약개발, 병인해석, 질환규명 및 치료연구 기술개발에 중요한 영향을 주기 때문에 경쟁력이 있는 각종</p> <p>전임상연구실험의 좋은 결과를 양산할 수 있는 연구기관으로 인정받기 위하여 체계적인 실험동물의 관리시스템 확립을 통한 양질의 specific pathogen free(SPF) 실험동물의 유지관리로 신뢰성 있는 최정밀의 연구기반을 조성하고자 본 연구를 수행하여 미생물학적 모니터링과 환경적 모니터링법을 확립하였다.</p>				
주제명 키워드 (10단어 내외)	실험동물의 품질관리, 미생물 모니터링, 환경 모니터링, 건강 평가, barrier system, 실험동물				

BIBLIOGRAPHIC INFORMATION SHEET					
Performing Org. Report No.	Sponsoring Org Report No.		Standard Report No.	INIS Subject Code	
KCCH/RR-047/98					
Title/Subtitle	Establishment for Quality Control of Experimental Animal				
Project Manager and Dept.	Kim, Tae-Hwan (Division of Research)				
Researcher and Dept	Kim, Soo-Kwan(Div. Reaserch), Kang, Shin-Keun(Div. Reaserch), Kim, Tae-Kyoung(Div. Reaserch)				
Pub. Place	Seoul	Pub. Org.	KCCH	Pub. Date	1999. 5.
Page	39	Fig. Table	Yes(0), No()	Size	A4
Note					
Classified	Open(0), Outside(), Class		Report Type		
Sponsoring Org.			Contract No.		
Abstract (About 300 Words)	<p>Until now, because we have imported experimental animal from foreign experimental animal corporation, we could have saved money by establishing the quality control of animal in barrier system. In order to improve the quality of animal experiment and efficiency of biomedical study, it is indispensable to control many factors that effect in the experiment. Therefore, it is essential to organize the system of laboratory animal care for enhancing reliability and revivability of experimental results.</p> <p>The purpose of the present investigation was to establish the quality control system of experimental animals that we can provide good quality animals according to the experimental condition of each investigator although the exact quality control system to estimate the infection of bacteria and virus easily remains ill-defined yet.</p> <p>Accordingly, we established the useful quality control system for microbiologic monitoring and environmental monitoring to protect experimental animal from harmful bacteria and virus.</p>				
Subject Keywords (About 10 Words)	Quality control, Health assessment, experimental animal, microbiologic monitoring, barrier system, environmental monitoring				

주 의

1. 이 보고서는 원자력 병원에서 시행한 자체연구개발사업의 연구 보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 원자력 병원에서 시행한 자체연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가 과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.