

無菌實驗動物(마우스) 育成에 關한 研究
(第3次年度)

Studies on production and maintenance of
germfree laboratory animals(mouse)

研 究 機 關

農村振興廳 家畜衛生研究所

科 學 技 術 處

要 約 文

I. 題 目

無菌 實驗動物 (마우스) 育成에 관한 研究

II. 研究開發의 目的 및 重要性

實驗動物은 오래前 부터 生命科學分野 研究에 必須的으로 使用되어 왔다. 特히 最近에 와서는 尖端技術로서 各광을 받고 있는 遺傳工學의 研究分野를 비롯하여 食品, 醫藥品, 農藥 및 各種 化學製品의 安全性 研究와 檢査, 生物學 製劑의 開發과 檢定, 生産研究, 毒物學, 免疫學 等の 原因體 究明, 發病機轉 및 遺傳工學 技法을 利用한 單클론抗體 生産研究에 이르기까지 人間生活의 모든 分野에 利用되고 있는 實情이다.

따라서 이들 分野에 供試되는 實驗動物은 生命科學 發展에 重要한 役割을 擔當하고 있으며 여기서 얻어지는 結果는 重要한 研究 結果로 判定되므로 實驗動物로서 具備할 條件을 갖춘 標準화된 實驗動物의 重要性이 最近에 와서 더욱더 強調되고 있다. 이에 따라 實驗動物로서 가장 많이 使用하고 있는 마우스에 대하여 無菌마우스 작성기법 확립과 特定病原體不在 (SPF) 및 gnotobiot 마우스 작성기법을 確立하고 이들에 대한 微生物學的 檢定基準을 設定하므로서 生命工學 研究의 科學的 遂行을 위한 實驗動物의 標準化에 本 事業의 目的이 있다.

Ⅲ . 研究開發의 內容 및 範圍

實驗動物로서의 諸般要件을 充足하기 위하여 素性이 明確하고 健康하며 일정한 飼育 環境에서 生産 維持될 수 있는 實驗動物(마우스)을 作成하고자 2次年度에 作成한 無菌마우스를 增殖하여 規制된 區域內 繁殖飼育하면서 無菌마우스의 生理生態, 微生物檢定 및 寄生蟲 感染調査에 대한 研究를 遂行하였으며 그 內容과 範圍는 다음과 같다.

1. 無菌마우스의 繁殖 및 生理에 關한 研究

- 가. 無菌마우스의 飼育 및 繁殖
- 나. 無菌마우스의 血液 및 血清化學的 性狀
- 다. 無菌마우스의 組織學的 調査

2. 無菌마우스의 微生物 調査 研究

- 가. 無菌마우스 生産維持에 必要한 環境調査
- 나. 無菌마우스의 細菌學的 調査
- 다. 無菌마우스의 바이러스性 疾病調査

3. 無菌마우스의 寄生蟲 感染調査

- 가. 內部寄生蟲 感染調査
- 나. 外部寄生蟲 感染調査

IV. 研究開發 結果 및 活用に 대한 建議

1. 研究開發 結果

生命科學 研究發展에 重要な 役割을 차지하고 있는 實驗動物의 無菌化 및 標準化를 위하여 3次年度 事業으로 實施한 無菌마우스의 繁殖 및 生理, 微生物 調查, 寄生蟲 感染등에 關한 研究를 遂行하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

가. 無菌마우스의 繁殖 및 生理

1) 無菌마우스와 實用마우스의 繁殖能力을 比較한 結果 無菌마우스의 妊娠率과 妊娠期間은 각각 100.0% 및 19.6日로서 實用마우스의 98.2% 및 19.2日과 有意差가 없었다. ($p > 0.05$) 그러나 이들의 産存數 및 離乳率間에는 有意差가 認定되었다. ($p < 0.01$)

2) 無菌마우스와 實用마우스에 對해서 各各 生後 1週間隔으로 12週까지 암수別로 體重을 測定한 結果 이들間 및 性別間에 有意的인 差가 認定되지 않았다. ($p > 0.05$)

3) 無菌마우스의 主要實質臟器에 대한 肉眼 및 顯微鏡的 所見은 正常이었다.

4) 無菌마우스에 대한 赤血球數, 白血球數, 血色素量, 赤血球容積量, 平均赤血球容積量, 平均赤血球血色素量, 平均赤血球血色素濃度 및 白血球百分率 調查値는 모두 正常範圍이었다.

5) 無菌마우스의 血清內 總蛋白質量, glucose量, alkaline phosphatase量, calcium量, SGOT 및 SGPT에 대한 檢査結果 모두 正常水準內 이었다.

나. 微生物 調査研究

1) 無菌마우스 飼育環境으로 부터 細菌分離試驗 結果 全試驗期間을 通해서 細菌은 陰性이었다.

2) 實用 및 無菌마우스로 부터 細菌分離結果 實用마우스의 경우 胃腸管으로 부터 *E. coli*, *Salmonella* spp. 및 其他細菌이 分離되었고, 肺로부터는 *E. coli*, *Pasteurella multocida* 및 其他細菌이 分離되었으나, 無菌마우스로 부터는 細菌이 전혀 分離되지 않았다.

3) 實用 및 無菌마우스의 細菌性 疾病에 대한 血清學的 檢査 結果 供試 實用마우스 23 首중 *Mycoplasma pulmonis* 抗原에 4 首 (19.4%) 가 陽性反應을 나타내었고, *Bordetella bronchiseptica* 抗原에 6 首 (26.1%), *Pasteurella pneumotropica* 抗原에 3 首 (13.0%) *Streptococcus pneumoniae* 抗原에 1 首 (4.3%) 및 *Salmonella typhimurium* 抗原에 2 首 (8.7%) 가 各各 陽性反應을 보였다.

그러나 無菌마우스에서는 *Mycoplasma pulmonis* 등 7 種의 抗原에 對해서 모두 陰性이었다.

4) 無菌마우스에서의 바이러스性 病原體인 Sendai virus, MHV 및 EDIM에 對한 抗體調査에서 全例陰性的 結果를 보였으며 各 臟器別 바이러스 分離試驗에서 어떠한 바이러스도 分離되지 않았다.

다. 寄生蟲 感染調査

1) Germ free 로 作成된 마우스로 부터는 内部 및 外部 寄生蟲의 感染이 確認되지 아니하였다.

2) Conventional 飼育方法으로 生産 保存된 마우스로 부터는 *Hymenolepis diminuta* 22.7%, *Syphacia muris* 27.3%, 그리고 *Mycoples musculinus* 45.5%의 感染率을 나타내었다.

2. 建 議

가. 向後 國內에서 試驗研究에 많이 使用되는 마우스는 本 研究에서 얻어진 結果를 土臺로 해서 系統이 確實하고 試驗 및 研究에 알맞는 마우스인 無菌마우스를 元祖로한 特定病原體不在 마우스 集團을 形成, 여기에서 生産한 마우스의 特定病原體不在(specific pathogen free)를 確認한 다음, 供給流通하는 體制를 갖출 수 있는 制度導入 運營.

나. 이와같이 標準화된 實驗動物을 生産供給하는 專門機構를 新設(國家 또는 法人體設立)하여 中央供給을 試圖하는 것이 經費의 節約과 效率性を 높일 수 있음.

다. 國內에서 使用頻도가 높은 實驗動物(마우스)에 대한 生産 및 標準화를 爲한 試驗研究은 繼續 國家에서 先導的으로 遂行할 수 있도록 措置가 要望됨.

라. 實驗動物(마우스)의 微生物 檢定指針을 마련 施行 運營할 수 있도록 措置가 要望됩니다.

SUMMARY

Production and standardization of germfree and specific pathogen free (SPF) laboratory animals are the essential parts of studying the life science.

This studies are carried out to make guides to rearing conditions, environmental sanitation and microbiological assay for the germfree, specific pathogen free and conventional mice. In addition, breeding and physiological characteristics of the germfree, SPF and conventional mice are accessed, and the results obtained are summarized as follows.

I. Breeding and physiological characteristics of germfree mice.

1. Breeding performance is 100.0% of mean pregnant rate and 19.6 days of mean gestation period, respectively.
2. No significant difference of body weight is recognized between germfree and conventional mice until 12 weeks of age, irrespective of sex.
3. No pathological changes are found out in 3,6 and 10 weeks old germfree mice, respectively.
4. Hematological values, including erythrocytes, leukocytes, hemoglobin, hematocrit, mean cell volume, mean cell hemoglobin, and mean cell hemoglobin concentration, of germfree mice are within the normal.
5. Biochemical data of total protein, glucose, alkaline phosphatase, calcium, SGOT and SGPT of germfree mice are ranged in the normal level.

II. Microbiological assay for production of germfree mice.

1. None are isolated any microbials from environmental facilities and feedstuffs

of pellet during the periods of 0 to 20 days after disinfection in chamber.

2. Number of bacterial species such as *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from gut, and *Escherichia coli* and *Pasteurella multocida* from lungs are isolated from conventional mice, while no microorganisms are detected from germfree mice.
3. Serological survey indicates that positive rates to *Mycoplasma pulmonis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella pneumotropica*, *Streptococcus pneumoniae* and *Salmonella typhimurium* infections in conventional mice are calculated with 19.4 %, 26.1 %, 13.0 %, 4.3 % and 8.7 %, respectively. Meanwhile, epidemics of *Mycoplasma pulmonis*, Tyzzer's organism *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium kutscheri*, *Pasteurella pneumotropica*, *Streptococcus pneumoniae* and *Salmonella typhimurium* infections are free in the germfree mice.

III. Surveys on parasitic infection in germfree mice.

1. No parasites are detected in the germfree mice.
2. Bundles of parasites, such as, 22.7 % of *Hymenolepis diminuta*, 27.3 % of *Syphacia muris* and 45.5 % of *Mycophyes musculus* are parasitized in the conventional mice.

C O N T E N T S

Chapter I.	Introduction	13
Chapter II.	Materials and Methods	19
Chapter III.	Results and Discussion	30
	1. Breeding and physiological characteristics of germfree mice	30
	2. Microbiological assay for production of germfree mice	43
	3. Surveys on parasitic infections in germfree mice	50
References		59

目 次

第 1 章 序 論	13
第 2 章 材料 및 方法	19
第 3 章 試驗結果 및 考察	30
第 1 節 繁殖 및 生理에 관한 研究	30
第 2 節 微生物의 調查研究	43
第 3 節 寄生蟲 感染調查研究	50
參考文獻	59
實驗動物 (마우스) 의 品質管理 指針	69

第 1 章 序 論

實驗動物은 오래전부터 生命科學分野 研究에 必須的으로 使用되어 왔다. 特히 最近에 와서는 尖端技術로서 各광을 받고 있고 遺傳工學의 研究分野를 비롯하여 食品, 醫藥品, 農藥 및 各種 化學製品の 安全性의 研究와 檢査, 生物學的 製劑의 生産檢定과 開發研究, 毒物學, 免疫 및 感染病의 原因體의 究明, 發病機轉 및 遺傳工學 技法을 利用한 單克隆抗體 生産研究에 이르기까지 人間生活의 모든 分野에 利用되고 있다.

그러나 이들 分野에 供給되는 實驗動物은 重要한 役割을 擔當하고 있으며 여기에서 얻어지는 結果는 모든 分野의 研究 및 檢定成績을 正確하게 評價 分析하는데 重要한 役割을 하게 된다. 따라서 實驗動物이 具備한 條件을 갖춘 標準化된 實驗動物은 最近에 와서 그 重要性이 더욱더 強調되고 있다. 이러한 시점에서 實驗動物에 관한 研究現況과 制度 等の 發展過程을 보면, 研究分野에서는 外國의 경우 專門企業形態의 實驗動物研究센터에서 SPF (Specific Pathogen Free), gnotobiot, germfree 形態의 實驗動物을 生産利用하고 있으며 이들 實驗動物의 새로운 素材開發을 비롯해서 genetic control, disease control, environmental control 分野로 區分 研究되어 왔다. 한편 實驗動物을 取扱하는 者에 對한 資格制度도 마련하여 시행되어 오고 있다.

美國의 경우 1967 年에 FDA (Food and Drug Administration) 에 의거 動物實驗에 對한 規範 (GLP : Good Laboratory Practice) 을 制定 1979 年에 施行하여 왔고, 日本의 경우에도 1981 年度 日本 實驗動物規範인 JGLP (Japanese Good Laboratory Practice) 를 制定

하여 2년의 유예기간을 둔 후 1983년부터 施行하고 있으며 實驗動物飼養 및 保管에 관한 基準을 設定하여 이에 의해 運營되고 있다.

한편 國際機構로서는 國際實驗動物委員會 (ICLAS)가 設置되어 이미 實驗動物에 關係되는 技術 및 研究情報交流가 活潑하게 이루어지고 있으나 우리나라는 1986년에 아시아 大韓實驗動物學會가 加入되었으며 同年 11월에 保社部에서는 KGLP (Korean Good Laboratory Practice)가 制定 公布되었고 1987年4月 科學技術研究院 主管으로 實驗動物科學協議會가 構成 運營되고 있는 實情이다.

無菌實驗動物의 開發 및 生産發展過程을 概括하면 다음과 같다. 美國의 Wistar 研究所에서 實驗動物, 飼育施設, 飼育用 器具 器材의 改良에 몰두하여 일찌기 1922년에 完成을 본 새로운 飼育施設은 기와, 콘크리트, 철, 유리 등을 冼모아 衛生管理에 많은 配慮가 되고 있었으며, 이른 바 clean and dirty corridor 방식은 動物飼育施設로서 最初의 것이었다. 그러나 이 時期에 있어서는 病이 頻繁했으며 特別히 mycoplasma 症 等 呼吸器系 感染症에 골치를 앓고 있어 耐病性의 動物群을 만드는 것이 커다란 課題였다.

實驗用 마우스, 랫드의 微生物 control은 germfree 技術의 進歩에 의해 急速히 發展되어 왔다. 1948년에 Sweden의 Gustafsson이³⁸⁾ 最初의 無菌 rat colony를 만들었다. 無菌動物의 各種研究分野에의 利用을 飛躍적으로 擴大시킨 것은 1959年 Trexler¹⁰⁴⁾ 등이 flexible plastic film isolator system을 開發한 것으로부터 始作되었다. 이에따라 從來 使用되고 있던 stainless 또는 製造 isolator와 比較하여 製作費가 1/10~1/15로 輕減되고, 利用面積도 1/2~1/3로 縮少되었다. 더우기 1968년에는 Trexler¹⁰⁵⁾ 등에 의해 動物輸送用 isolator가 開發되어 無菌動物 或은 gnotobiot의 大量

生産에 길을 열었다. 이와같이 美國에 있어서는 Reyniers²⁷⁾ 等の 研究로 始作된 無菌動物은 Trexler¹⁰⁴⁾ 等の 소위 vinyl isolator 의 開發에 의해 急速度로 展開되었으며, 各大學, 各研究機關의 研究態勢가 確立되는 한편, “Gnotobiotic Workshop Association for Applied Gnotobiotics” 가 結成되어, 特定病原體不在 動物의 供給 system 의 開發이 推進되었다. 이와같은 背景下에서 美國의 Charles River 社는 1956年 이른 바 barrier 施設 (total barrier breeding facility) 을 처음으로 完成시켜, COBS(SD) 랫드의 生産을 開始했다. 더우기 當時 建設된 barrier 施設은 溫度の 自動調節, filter 除菌裝置를 갖춘 空調設備, 高壓蒸氣, EO (ethylene oxide) gas 에 의한 高壓蒸氣滅菌器, 飼育管理者 入室用的 lock room system, 滅菌飼料, 床敷의 各 飼育室에의 自動配送 system, 使用한 床敷 等 排棄物의 眞空搬出裝置를 갖추어 現在 狀態에 가까운 方法으로 되어 왔다.

이리하여 美國에서 開發된 特定病原體不在 動物의 生産, 供給 system은 1960年代에 들어와 世界各地로 急速히 普及되었다. 日本에 있어서는 1964~1975年 사이에 barrier 施設이 完成되어 特定病原體不在 마우스, 랫드의 生産을 開始하고 特定病原體不在의 供給態勢가 整備되어 最近에는 研究者들 간에 特定病原體不在 動物의 品質 및 安定性이 定着되어 從來 自體에서 生産 利用하고 오던 機關도 이제는 user 로서 점차 動物生産業者가 供給하는 動物을 利用하는 者로 바뀌어 지고 있다.

日本에 있어서 breeder (動物生産業者)로부터 供給되고 있는 特定病原體不在 動物의 概念은 barrier 施設로 動物이 管理되고 具體적으로 얼마간의 實驗을 障害하는 病原體의 汚染을 받고있지 않는 것 (Specific Pathogen Free) 이라는 本來의 意味外에 實驗動物과 比較하여 청결한 動物 또는 品質이 優秀한 動物을 말한다.

Table 1. History of development on germfree animals.

Reporter	Year	Animal	Descriptions
Nuttal et al. ⁷⁸⁾	1985	기니픽	3日飼育, 發育不振
Cohendy et al. ¹⁶⁾	1912~22	닭	13日, 45日, 發育不良
Kuster et al. ⁵⁹⁾	1912~25	산양	35日, 發育良好
Glimstedt et al. ^{33,35)}	1932~36	기니픽	60日, 發育良好, 비타민
Balzam ⁵⁾	1937	닭	59日, 發育良好
Reynier et al. ⁸³⁾	1943	랫드	1/9首, 296日
Reynier et al. ^{84,86)}	1946~49	랫드	無菌繁殖
Gustafsson et al. ³⁸⁾	1948	랫드	無菌繁殖
Young et al. ¹¹¹⁾	1955	돼지	子宮切斷
Miyakawa et al. ⁷⁰⁾	1955	기니픽	150日, 發育良好
Hoerleins et al. ⁴³⁾	1956	돼지	
Whitehair et al. ¹⁰⁸⁾	1961	돼지	드라이아이스麻碎
Namioka et al. ⁷⁴⁾	1968	돼지	
Park et al. ⁷⁹⁾	1975	닭	

한편 美國에 있어서는, 微生物 防除上 germfree (無菌動物), gnotobionte (特定腸內細菌을 移植시킨 動物), VAF (virus antibody free), COBS (caesarean originated barrier-sustained) 또는 BS (barrier-sustained), conventional 등 세분화 되어 特定病原體不在에 대해서는 狹意의 意味로 使用되고 있다.

一般的으로 germfree, gnotobionte는 isolator속에서 管理되고 汚染의 危險性이 적은 것으로부터 繁殖 基礎動物을 維持하는데에 利用

하는것 外에, barrier 施設의 汚染이 빈번히 發生하는 地域 또는 嚴格한 微生物 防除가 要求되는 動物實驗에는 gnotobiot 를 利用하여 大型의 isolator 속에서 實驗하는 例가 많다.

國內에서 實驗動物 生産 및 供給에 있어서의 現況과 問題點을 살펴보면, 國內生産 供給되는 實驗動物은 實驗動物로서의 具備條件이 未備하고 國際적으로 인정을 받을 수 있는 實驗動物이 供給되지 못하므로 이들의 實驗動物을 使用한 生物學的製劑나 檢定, 檢査는 勿論 遺傳工學을 利用한 免疫 (단크론성 항체, 암연구등) 研究 結果까지 공인 되기 어려운 實情에 놓여 있다.

특히 앞으로 國際적인 行事に 公認을 받아야할 各種 行事時 食品의 安定性を 비롯한 科學적인 데이터가 認定을 받은 實驗動物의 品質向上이 시급히 要請되고 있고, 最近에는 生命科學分野 특히 人體가 化學合成劑에 直接的으로 接觸 또는 攝取하는 物質과 放射能을 發生하는 機器의 安定성을 實驗動物을 통해서 確認 하므로써 이들의 生産物이 輸出될 수 있고 輸入國에 提示해야될 段階에 이르고 있다.

實驗動物로서 제요건을 充足하기 위한 일환으로 素性이 明確하고 健康하며 일정한 飼育環境에서 生産 維持된 實驗動物이 規制된 實驗環境에서 研究가 遂行되지 않고는 信賴할 成績이 얻어질 수가 없다.

現在 우리나라에서 使用하고 있는 많은 實驗動物은 實驗動物에 대한 깊은 理解와 專門知識을 갖추지 못한 動物業者 또는 農家로부터 供給받고 있는 實情이며 위의 條件에 該當되는 것은 極히 일부 (輸入)에 依存하고 있다.

이상의 條件이 갖춘 實驗動物을 作出, 維持, 繁殖하여 실제로 動物實驗을 遂行할 수 있도록, 胎仔의 摘出法 뿐만 아니라 哺育, 飼育法을 비롯하여 實驗室 規制 등의 各種 研究가 遂行되어야 하므로 實驗動物에 대한 綜合적인 研究가 要求되고 있다.

이와같은 緣由로 適正條件을 갖춘 實驗動物을 作出하기 위한 綜合的인 研究의 推進은 獸醫學, 醫學, 生物學, 畜産, 食品, 農藥, 化學分野等 生命工學 研究의 科學技術分野에 劃期的인 進展을 이루게 할 基盤 造成事業으로 期待되고 있다.

이러한 狀況下에서 韓國에서 利用되고 있는 實驗動物의 首數는 正確한 統計는 없으나 國立保健研究院에서 調査한 것을 보면 (未發表) 1977年에 마우스가 500,000首, 랫드가 10,000首, 기니픽이 5,000首, 토끼가 10,000頭로 알려지고 있다. 日本의 경우 마우스는 1970년에는 年間 4,500,000首, 1975년에는 14,000,000首, Jajima의 調査에 의하면 1981年 (1981.4 ~ 1982.3)에 8,412,869首로서 1975년에는 가장 많이 使用되었으나 1981年度에서 그 使用數가 減少되고 있다. 이러한 現象은 過去는 實驗動物의 素性이 疾病管理 및 環境管理가 좋지 않았던 實驗動物을 使用하므로 正確한 實驗結果를 얻지 못하며 反復試驗을 實施하는데 起因된다고 解釋되고 있다 (Personal Communication, Goto, 1986). 이러한 面에서도 實驗動物의 素性이 얼마나 重要하며 研究나 檢査 등의 實驗에 反復이 따른 人力과 研究費 및 時間의 浪費가 있었는지 짐작된다.

따라서 實驗動物에 있어서 重要的 役割을 점하고 있는 마우스, 랫드 또는 기니픽에 대하여 特定病原體不在 즉 SPF 및 gnotobiotena 나아가서는 無菌動物의 作出 技法을 確立하고 이들에 대한 微生物學的 檢定方法의 確立, 飼料의 開發을 통해서 生産體制를 세우는 目的으로 特定病原體不在 또는 無菌動物 作出과 維持에 所要되는 各種 裝備를 考案 및 試作하여 이들의 性能檢討와 生産技法을 確立하였으며 2次年度에 이어 3次年度에 無菌마우스의 繁殖 및 生理와 微生物學的 調査 및 寄生蟲 感染등에 關한 研究를 實施한 結果를 여기에 報告한다.

第2章 材料 및 方法

第1節 材 料

1. 供試動物

가. 無菌마우스

作出된 無菌마우스 CFW×C3H/He F1를 Isolator內에서 계속적으로 繁殖시켜 繁殖試驗, 血液化學·組織學的 檢査 그리고 微生物學的 調査에 使用하였다. 此外 家畜衛生研究所 無菌動物 飼育室에서 飼育中인 CFW, C3H/He 및 ICR系統의 마우스를 供試하였다.

나. 實用마우스

家畜衛生研究所 實驗動物飼育室에서 飼育中인 ICR系統의 마우스를 使用하였다.

2. 微生物 調査研究

가. 細 菌

1) 供試細菌

- *Bordetella bronchiseptica*
- *Corynebacterium kutscheri*
- *Pasteurella pneumotropica*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Salmonella typhimurium*
- *Mycoplasma pulmonis*

2) 供試抗原

- 供試細菌으로 製造한 抗原과 Tyzzer's disease 抗原

3) 試藥 및 器具

- HRP-Conjugated anti-mouse IgG (Cappel Co.)
- ABTS
- Bovine serum albumine V
- Microplate (96 Well Flat and U type)

4) 供試材料

- Isolator 內 Cotton swab
- Pellet feeds
- Chips
- Excreta

나. 바이러스

1) 供試바이러스

- Sendai virus (HVJ)
- Mouse hepatitis virus (MHV; JHM, A - 59)
- Epizootic diarrhea of infant mice (Rotavirus)

2) 供試細胞

- Vero
- MA - 104
- SR - CDF1 - DBT
- Mouse fibroblast
- Mouse peritoneal macrophage
- Embryonated chicken egg
- CV1

3) 試料 및 器具

- HRP-Conjugated anti-mouse IgG(Cappel Co.)

- 3-Amino 9-ethylcarbazole
- o-phenylene diamine
- Hydrogen peroxide
- Minimal essential medium
- Fetal calf serum
- NU serum
- Fixation solution
- Phosphate buffered saline
- Haemagglutination buffer (pH 6.8)
- 96 well tissue culture plate
- 96 well EIA plate
- Tissue culture flask
- Refrigerated centrifuge
- Ultracentrifuge (Beckman)
- ELISA Reader (Titer-Tek)

3. 寄生蟲 感染調査

供試動物로는 家畜衛生 研究所에서 Germfree 마우스 作成을 위하여 生産 保存中인 CFW (female)와 C3H/He (male)의 Hybrid Progeny 중에서 1988年 6月12日에 3주령 16수, 6주령 4수, 7月5日에 4주령 12수, 8月10日에 6주령 12수, 총 44수를 選拔하였으며, 成績比較를 위하여 同期間中 在來式 (Conventional)으로 飼養 保存하고 있는 ICR系 마우스중 3내지 6주령 44수를 比較群으로 供試하였다. 供試動物의 性別과는 關係없이 無作爲로 供試하였다.

第 2 節 方 法

1. 繁殖 및 生理研究

가. 繁殖試驗

1) 消毒 및 飼育裝置

2次年度에 開發한 flexible vinyl rearing isolator, air compressor, spray gun with tank, vinyl sleeve 및 sterile drum 등을 使用하였다.

2) 飼育環境

無菌環境에서 飼育 및 繁殖에는 2次年度에 開發한 國産製인 Vinyl isolator (1,200 × 600 × 500 mm)를 使用하였다. Vinyl chamber 에는 育成用 장갑 2 雙과 器具 및 資材의 出入을 爲한 sterile lock 를 附着하였다. Isolator 自體는 空調施設을 附着하였으며 內部는 22 ± 4 ℃의 溫度와 40 ~ 60 %의 濕度를 維持하도록 하였다. Isolator 가 들어있는 飼育室은 微生物學的으로 統制 하였으며 1日 12時間 點燈하였다.

한편, 飼料는 老鼠用 펠릿飼料 (第一製糖製)를 蒸氣滅菌 (121 ℃, 30 分)하였고, 飲水는 滅菌水에 2次年度와 같이 비타민 및 아미노산을 添加하여 無制限 給與 飼育하였다.

3) 滅菌

滅菌方法은 滅菌缶 (sterile drum) 을 使用하여 autoclave 에 滅菌하였고 蒸氣滅菌에 影響을 주는 材料는 Ethylene Oxide (E.O.) gas (IKI Co 製, Type M741) 로 滅菌하였다. Autoclave 에 消毒된 滅菌缶은 Vinyl sleeve 로 isolator 의 sterile lock 와 連結하여 2% 過酢酸液으로 sleeve 안을 噴霧한 후 24時間 經過한 다음 isolator 안으로 搬入하였다. E.O. gas 로 滅菌된 材料는 滅菌缶을 sleeve 에 連結할 때 sleeve 안에 넣어 表面을 噴霧 消毒한 후 搬入하였다.

4) 繁殖

作出된 無菌마우스, CFW×C3H/He F1 7首中 암·수 各各 2首를 1:1로 交配시켰다.

Tomita 等¹⁰¹⁾은 마우스의 最少 繁殖時期는 SPF C3H系의 경우 암컷이 26日齡, 수컷이 44日齡이라고 한 바 있으나 이 試驗에서 育成한 無菌마우스에서는 50日齡과 56日齡에 各各 陰栓 (Vaginal plug) 이 出現하고 妊娠이 成立된 바 있어 7週齡에 到達되었을 때 交配시켰다.

나. 生理研究

1) 肉眼 및 病理組織學的 檢査

供試한 마우스들은 皮膚등 體外檢査와 體重을 測定하고 採血을 한 다음 即時 開腹, 開胸하여 消化器, 呼吸器, 泌尿器, 循環器, 神經系統 등 모든 內部臟器들을 順序에 따라 仔細히 病變有無를 觀察하였다. 이 때 主要한 實質臟器인 心臟, 肺, 肝, 胃, 脾臟, 腎臟, 小腸, 腦등을 $1.0\text{ cm} \times 1.0\text{ cm} \times 0.2\text{ cm}$ 크기로 切取하여 10% 中性 緩衝 포르말린液 (37% Formaldehyde 1 ℓ , Distilled water 9 ℓ , Sodium phosphate monobasic 40.2 g , Sodium phosphate dibasic 65 g : pH 7.0) 에 固定한 후, 一般的인 組織處理過程을 거쳐 paraffin 包埋 block 을 만들어 4~6 μ 의 切片을 作成, Automatic tissue stainer (Fisher) 로 hematoxylin-eosin 染色^{63,76)} 을 하여 Permount 로 封入한 후 檢鏡하였다.

2) 血液學的 檢査

採血한 血液은 即時 抗凝固劑 (EDTA) 가 든 採血瓶에 넣어 잘 혼든 다음, Cell-dyn 900 (Sequiola) 으로 赤血球數, 白血球數, 血色素量, 赤血球容積量, 平均赤血球 容積量, 平均赤血球 血色素量, 平均赤血球 血色素濃度 등을 測定하였고, 모든 檢査成績은 標準偏差를 計算하였다.

또한 血液塗抹標本을 作成하여 methanol 로 固定한 후 Giemsa stain 을 한 다음 1,000 倍率의 顯微鏡下에서 好中球, 好鹽球, 好酸球, 淋巴球, 單核球 등으로 白血球 百分率을 檢査^{9,113)} 하였고, 이 資料 역시 標準偏差를 구하였다.

3) 血液化學的 檢査

採血한 血液中 一部는 採血瓶에 담아 凝固시킨 후 遠心器에 걸 어 血清을 分離하여 血清化學的 檢査에 使用하였다. 分離血清은 採血 후 6時間 以內 檢査하였고 使用前까지 5℃에 保管하였다.

本 試驗에 供試한 檢査項目과 測定用 試藥은 다음과 같다.

(가) Total protein: 測定用 試液 (Biuret, 아산製藥 製)

(나) Alkaline phosphatase : 測定用 試液

(Kind-King 法, 아산製藥 製)

(다) Glucose : 測定用 試液 (酵素法, 三光化學 製)

(라) Calcium 測定用 試液 (OCPC 法, 아산製藥 製)

(마) SGOT / SGPT : Transaminase 測定用 試液 (酵素法, 日本 세트론 株 製)

以上の 모든 檢査는 spectrophotometer (Perkin-Elmer 55 IS)로 測定하였다.

2. 微生物 調查研究

가. 細菌

1) 飼育 Chamber 內의 細菌汚染調查 및 分離

無菌 마우스 飼育에 必要한 깔짚 (Chips), Chamber 內의 上下 모서리 (8 個所), 無菌 마우스의 배설물 및 滅菌 pellet 飼料로 부터 細菌分離를 試圖하였다. 細菌分離에 使用된 培地는 thioglycollate medium, brain heart infusion broth, Macconkey agar, selenite broth 및 fbood agar 등을 使用하였으며 眞菌類 檢出을 위해서는 Salouraud dextrose agar 에 檢査材料를 接種하여 7日間 觀察하면서 汚染度를 測定하였다.

2) 實用 및 無菌마우스로 부터 細菌分離

無菌的으로 飼育된 無菌마우스와 實用마우스를 無菌室內에서 無菌的으로 解剖하여 胸腔臟器와 腹腔臟器로 區分 無菌的으로 採取하여 無菌的으로 乳劑를 만든 후 腸內細菌과 呼吸器係 細菌을 一般的인 細菌分離 方法에 準하여 分離하였다.

3) 血清學的 檢査

實用 및 無菌마우스에 對한 血清學的 調查는 *Mycoplasma pulmonis* 感染症⁶⁴⁾ 과 *Tyzzers' disease*¹⁰²⁾ 의 경우 酵素免疫抗體法에 의하여 調查하였으며 *Bordetella bronchiseptica*⁷³⁾, *Corynebacterium Kutscheri*¹⁰⁰⁾, *Pasteulla pneumotropica*⁴⁹⁾, *Streptococcus pneumoniae*⁷³⁾ 및 *Salmonella typhimurium*⁷³⁾ 感染症은 Microplate (96 well, U type) 을 利用한 凝集反應法에 의해서 調查하였다.

나. 바이러스

1) 試驗用 마우스 血清의 準備

Germfree chamber 內에서 作出飼育된 無菌마우스에서의 바이러스성 病原體 感染與否를 確認하기 위하여 2個月令 前後의 마우스를 無菌的으로 꺼내어 2 ml 주사기를 利用하여 心臟으로부터 血液을 採取하였다. 採取한 血清은 37℃ 부란기에서 1時間 가량 放置한 후 5℃ 冷藏庫에 3時間 程度 넣었다가 遠心分離機로 血清을 分離하였다. 分離된 血清은 56℃에서 30分間 비동화 하였으며 비동화가 끝난것은 -20℃ 冷藏庫에 保管하였다. 이렇게 모아진 血清은 實驗前에 血清으로 부터 비특이反應을 없애기 위하여 25% Kaolin 과 기니픽 赤血球로 處理한 다음 各實驗에 供試하였다.

2) Sendai 바이러스에 대한 抗體調查

血球凝集 反應用 Sendai 바이러스 抗原을 製造하기 위하여 11時間 부화된 SPF 종란에 Sendai 바이러스를 接種하여 恒溫器에서 72~96時間 培養한 다음 冷藏室에서 overnight 시켜 無菌的으로 바이러스가 함유된 Egg fluid를 採取하였다. 採取된 바이러스는 各種 馬類 바이러스에 대한 미입바이러스 否定試驗을 거친 후 血球凝集抑制 反應의 抗原으로 使用하였다. 抗原은 먼저 기니픽 血球를 利用하여 血球凝集抑制反應과 同一 條件으로 血球凝集反應(HA)를 實施하여 抗原인 力價를

算定한 後 0.1 % bovine serum albumin 이 含有된 PBS 를 利用하여 實驗을 遂行하였다.^{21,29,81)} HA 試驗은 첫 well 이 1:10 이 되게 한 다음 2 進 稀釋하였고 同量의 바이러스를 添加하여 恒溫室에서 1 時間 감작하여 0.7 % 기니픽 血球를 添加하고 대조군의 血球가 完全히 가라 앉았을시 판독하였다.²⁸⁾

3) Mouse hepatitis 바이러스에 對한 抗體 調査

마우스 肝炎 바이러스에 對한 抗體調査法으로는 酵素免疫法을 利用하였고 抗原의 準備를 爲해 SR-CDFI-DBT 細胞株에 MHV A 59 strain 과 JHM strain을 接種하고 5 % fetal calf serum (Gibco) 이 加해진 MEM (Gibco) 배지를 添加하여 바이러스의 特徵的인 細胞變性 效果가 인정될 시 培養瓶을 -70°C 에서 동결, 融解를 3 回反復하여 IEC 6000 遠心分離機로 3000 rpm에서 30 分間 遠心하고 上層液을 회수 Beckman 초고속 遠心分離機의 SW41 Ti 로타로 37,000 rpm에서 4 時間동안 遠心分離하였다. 遠心分離된 튜브로 부터 침전물을 회수 sucrose density gradient 로 Coronavirus 의 密度를 갖인 바이러스 밴드를 採取하였다. 採取된 바이러스液은 투석막을 利用하여 24 時間 PBS에서 투석한 후 培養細胞에서의 力價와 MHV 陽性血清을 利用 抗原力價를 實施하여 最終 바이러스 抗原濃度 1:1,000 에서 ELISA 試驗을 實施하였고 結果는 Titer-Tek 의 ELISA 판독기를 利用 하였다.^{6,80,82,91,99)}

4) EDIM 바이러스에 對한 抗體調査

本病의 原因體인 Rotavirus 를 원숭이 유래株化細胞인 MA 104 細胞에 Rotavirus 증식에 必要한 特殊條件인 $0.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ trypsin이 含有된 MEM 배지로 18 時間 培養한 後 PBS로 3 回 洗滌 하였다. 洗滌된 細胞를 fixation solution 으로 10 分間 고정하고 이어 PBS로 다시 3 回 洗滌하여 酵素反應用으로 試驗에 供했다. 고정된 plate 는

EDIM 陽性 및 陰性血清으로 條件을 맞춘 후 conjugate (Cappel), substrate 의 條件은 선인들의 記述方法에 따랐으며 관독은 Olympus inverted microscope 에서 實施하여 로타 바이러스 특이 細胞質內 酵素 免疫상을 確認 판정하였다. (12, 13, 34, 55, 56)

5) 바이러스 分離試驗

無菌마우스로 부터 바이러스 分離를 爲해 滅菌된 수술기구로 마우스의 각 臟器를 採取 바이러스 分離를 試圖했다. 採取된 장기는 sea sand 를 利用하여 유발에서 마쇄한 다음 血清이 가해지지 않은 MEM 으로 1:10 으로 부유 시켰다. 이 부유액을 遠心分離機를 利用 3000 rpm에서 20分間 遠心後 上層液을 0.45 μm filter (Gelman)을 通過시켜 接種液을 準備하였다. 接種液은 25 cm^2 플라스틱 배양용기에 배양된 細胞에 供히 1 ml씩 接種하고 37 $^{\circ}C$ CO₂ 부란기에서 15分 마다 1회씩 흔들어 주며 60分間 잠자시켰으며, PBS로 1회 洗滌後 各 條件에 적합한 media 를 加하여 37 $^{\circ}C$ CO₂ 부란기에서 4日間 培養시켰다. 培養된 細胞는 超冷凍庫에서 (-20 $^{\circ}C$) 동결 融解한 後 다음 培養時 前述한 바와 同一한 方法에 따라 繼代 培養하였다. 이렇게 7代 계대된 培養液을 血球凝集(HA), 細胞變性效果(CPE), 형광 抗體法(FA), 酵素免疫法 等으로 바이러스 抗原檢出을 試圖하였다. (21, 34)

3. 寄生蟲 感染調查

가. 剖檢 및 內部 寄生蟲 調查

에틸에테르로 마취시킨 후, 또는 病理檢査等 다른 試驗에 供試한 後의 死體 剖檢을 實施하였으며 복강을 切開하여 腸內容物을 包畵한 消化器管 全體를 들어내어 장관별로 開放하여 內部 寄生蟲의 感染을 調查하였으며 解剖用 立體顯微鏡을 使用하여 觀察하면서 蟲體를 蒐集하는 한편, 分辨材料를 採取하여 포화식염수 부유법에 의한 蟲卵檢査를 試圖하였다. 分離된 蟲體 및 蟲原은 5% 포르말린液에 保存하면서 同定에 供試하였다.

나. 外部寄生蟲檢査 및 蟲體採取

供試動物로 부터 個體別로 腹部, 背部 및 側部の 피모를 수술가위로 잘라내고 스카치테이프를 利用하여 接着시킨 다음 피모 殘留物 材料를 採取하여 슬라이드 글래스상에 옮겨서 Lugol's solution 으로 生體染色을 한 다음 顯微鏡으로 鏡檢을 實施하였다.

다. 走査電子 顯微鏡 觀察

採取된 蟲體材料는 電顯觀察을 위하여 固定을 實施한 다음 임계점 건조기에 걸어 脫水시키거나 ethyl alcohol 시리즈를 통과시켜 acetone 으로 脫水시켰으며, 乾燥된 材料를 stub 에 부착시키고 ion-coater 에 걸어 金 이온 (Au) 으로 증착시켜서 走査電子 顯微鏡 (Hitach S-570) 으로 觀察하였다.

라. 寄生蟲 分類 同定

顯微鏡用 微細計測器 (Ocular and stage micrometers) 를 利用하여 比較計測하거나 走査電子 顯微鏡內 電算處理 scale 을 利用하여 蟲體의 各 部位의 크기를 計測하였다.

寄生蟲의 分類體系는 Soulsby (1982)⁹⁶⁾ 의 意見과 田中 (1979)¹³⁰⁾ 의 意見內容을 參考로 하였으며, 內部 寄生蟲의 同定을 위하여는 姜 (1987)¹¹⁵⁾ 神谷과 大林 (1985)¹²⁶⁾ 을 參考로 하였고 外部 寄生蟲의 同定을 위하여는 Yunker (1973)¹¹²⁾, Donald (1969)¹⁹⁾, Gambles (1952)³¹⁾, 奧祐와 神谷 (1985)¹²⁷⁾, 文 (1979)¹²⁰⁾, 姜 (1987)¹¹⁵⁾ 等の 記述內容을 參考로 하였다.

第3章 試驗結果 및 考察

第1節 繁殖 및 生理에 關한 研究

1. 繁殖試驗

無菌마우스와 實用마우스의 生後 1週間隔으로 12週齡 까지의 암·수別 體重 表1에 나타내었다.

Table 1. Body weight of germfree and conventional CFW X C3H/He F3 mice

Weeks of age	Body weight (g)			
	Female		male	
	GF* (n=4)	CV** (n=10)	GF (n=4)	CV (n=10)
0	1.4 ± 0.11**	1.5 ± 0.58	1.5 ± 0.33	1.5 ± 0.40
1	2.5 ± 0.71	2.9 ± 0.35	2.6 ± 0.12	3.2 ± 0.17
2	5.3 ± 0.25	6.5 ± 0.42	5.9 ± 0.16	7.3 ± 0.38
3	8.8 ± 0.24	11.5 ± 0.73	9.2 ± 0.24	12.6 ± 0.67
4	12.1 ± 0.57	14.3 ± 0.67	13.7 ± 0.36	15.4 ± 0.65
5	17.1 ± 0.95	17.0 ± 0.81	19.2 ± 0.96	20.3 ± 0.97
6	21.4 ± 1.12	21.7 ± 1.10	23.6 ± 1.03	24.5 ± 0.75
7	22.9 ± 0.66	23.5 ± 1.10	26.7 ± 0.46	28.3 ± 0.83
8	24.1 ± 0.94	25.9 ± 1.03	28.2 ± 0.80	30.1 ± 0.85
9	25.5 ± 0.82	29.1 ± 2.22	29.4 ± 0.70	32.6 ± 1.09
10	26.8 ± 1.12	31.4 ± 1.13	31.2 ± 0.76	35.2 ± 0.93
11	27.5 ± 0.69	33.6 ± 1.96	32.6 ± 1.22	36.9 ± 2.74
12	28.7 ± 1.44	35.3 ± 2.56	33.8 ± 1.07	38.7 ± 0.89

* GF : germfree mice

** CV : conventional mice

*** Mean ± Standard deviation

이들間에는 有意差가 認定되지 않았으나 生後 1週齡까지 마우스의 發育狀態는 암·수 모두 無菌環境이나 一般環境에 있어서 類似한 水準이었으며 그후 4週齡까지는 大略 兩側 環境條件間에 差異를 보이고 있었다. 그리고 5~6週齡부터는 암·수 다같이 類似한 體重値를 보이다가 그以後부터 增加趨勢를 보여 9週齡 以後에는 4♂程度의 差異를 나타냈다. 一般的으로 마우스에서 45日齡 內至 50日齡에 性成熟이 이뤄지는데^{45,106,118)} 6~7週齡 以後 無菌 및 實用마우스間에 큰 體重差를 보였다. 또한, 週齡別 體重增加에 있어 無菌마우스가 實用마우스에 비해 發育程度가 緩晩함은 無菌마우스의 內分泌 臟器重量이 實用마우스 보다 작다⁹⁵⁾는 것과 關聯이 있을 것으로 생각된다.

無菌마우스 5首를 各各 5回 妊娠시켜 一般環境에서 飼育中인 마우스와 繁殖能力을 比較한 成績은 表 2와 같다.

Table 2. Reproductive performance of CFW X C3H/He F2 germfree and conventional mice

Sta- tus	Parity	No. of Female	No. of pregnant (%)	Gestation period (days)	Litter size	Weaning rate (%)
Germ free	1st	5	5(100)	19	8.8 ± 0.84	91.0
	2nd	5	5(100)	20	9.6 ± 0.55	100
	3rd	5	5(100)	20	9.0 ± 0.71	100
	4th	5	5(100)	19	9.2 ± 0.89	100
	5th	5	5(100)	20	9.2 ± 0.89	100
	total	25	25(100)	19.6	9.1 ± 0.29	98.2
Conve- ntion- al	1st	5	5(100)	19	11.2 ± 0.84	89.3
	2nd	5	5(100)	19	11.4 ± 0.55	96.5
	3rd	5	5(100)	19	12.0 ± 0.71	96.7
	4th	5	4(80)	19	10.8 ± 1.30	96.2
	5th	5	4(80)	20	11.8 ± 0.84	94.9
	total	25	23(92)	19.2	11.4 ± 0.48	94.7

* Mean ± Standard deviation

妊娠率은 無菌마우스와 實用마우스間에 有意差가 認定되지 않았으나 無菌마우스와 實用마우스는 各各 100% 및 92%로서 無菌마우스가 약간 優秀한 傾向을 보였고 墮胎 出現後 妊娠期間에 있어서도 無菌마우스와 無菌마우스間에는 뚜렷한 差異가 없었다.

産仔數에 있어서 無菌마우스는 平均 9首이었는데 反해서 實用마우스는 平均 11首로써 有意差가 認定되었는 바 이는 先人들의 報告^{95,125)}와 類似한 成績이었다.

또한, 系統에 따라 産仔數에 差異가 있다는 것은 여러 研究者들에 의해 밝혀진 바 있다.^{45,106,118)}

한편, 마우스의 體重, 卵巢, 卵管, 子宮, 副腎, 腦下垂體의 重量은 無菌마우스가 實用마우스 보다 낮은 水準이었다는 報告⁹⁵⁾가 있는 바 이러한 現狀은 단지 微生物 保有狀態가 相異하기 때문에 發生되는지 아니면 isolator 內와 그밖의 環境因子로 인한 것인지는 今後 더욱 追求하여야 할 課題라 生覺한다. 한편, 本 試驗에서 離乳率을 보면 無菌마우스가 實用마우스에 比해서 高度의 有意한 成績을 얻었는데 이는 一般狀態의 感染源으로 부터 혹은 胎盤感染에 의한 早期斃死에서 排除되는 環境에 起因하는 것으로 思料된다.

2. 生理研究

無菌마우스와 對照를 위해 特定病原體不在마우스 및 實用마우스 各 20首씩을 3回(3週齡, 6週齡 및 10週齡)에 걸쳐 病理學的 檢査와 血液 및 血清化學値를 檢査한 結果는 다음과 같다.

가. 肉眼 및 病理組織學的 檢査

供試 마우스에 對한 主要 實質臟器의 病理學的 所見을 檢査한 結果는 表 3에서 보는 바와 같다.

無菌마우스에서는 檢査日齡에 關係없이 各種 內部臟器에서 特記할 만한 解剖 및 顯微鏡的 病變을 觀察할 수 없었다. 이러한 成績은 本 試驗에 供試된 無菌마우스들이 Reyniers⁸³⁾ 와 Reyniers 等⁸⁶⁾ 이 規定한 範疇內에서 良好하게 飼育되고 있었음을 알 수 있었다.

한편 特定病原體不在마우스에서도 거의 모든 臟器에서 異狀病變이 觀察되지 않았으나 다만 少數例의 3週와 6週齡群에서 가벼운 腸粘膜 水腫과 腸管擴張이 보였을 뿐으로 이들 變化들은 腸內 特定 病原體가 아닌 余他 非病原性 微生物과의 關聯性²⁷⁾이 疑心되었다.

Table 3. Main pathological findings of germfree, SPF and conventional mice

Organ	Weeks of age	Germfree	SPF	Conventional
Lung	3	- *	-	-
	6	-	-	congestion, emphysema
	10	-	-	pneumonia
Heart	3	-	-	-
	6	-	-	-
	10	-	-	serous atrophy
Stomach	3	-	-	-
	6	-	-	epithelial change
	10	-	-	erosion
Intestine	3	-	-	-
	6	-	edema	enteritis
	10	-	distension	enteritis
Spleen	3	-	-	-
	6	-	-	congestion
	10	-	-	sinus edema
Brain	3	-	-	-
	6	-	-	-
	10	-	-	congestion
Kidney	3	-	-	-
	6	-	-	hydronephrosis
	10	-	cystic tubule	interstitial nephritis

* No pathological changes

實用마우스에 있어서는 주로 消化器 系統 病變이 자주 보였고, 一部 예이지만 呼吸器 系統의 病變도 觀察되었다. 消化器 系統의 所見中 小腸部의 腸炎이 두드러지게 나타났는데 이는 *Salmonella spp.*^{4,42)} *Escherichia coli*⁹⁰⁾, *Bacillus spp.*³²⁾, *Citrobactor spp.*⁷⁾, *Pseudomonas spp.*³⁹⁾, *Klebsiella spp.*^{25,92)} 등에 의한 細菌性 感染과 어린 마우스의 流行性 下痢症 (EDIM) 바이러스, 마우스로타바이러스, 마우스레오바이러스, 마우스肝炎바이러스 등에 의한 바이러스性 腸炎이 報告^{67,93)} 되어 있으나, 本 病理 組織學的 檢査를 통해서는 化膿性 내지 catarrh性 腸炎이 많았던 것으로 보아 대부분 細菌性 腸炎으로 診斷되었다. 또한 살모넬라 感染症에 나타나는 特異組織所見인 肝臟 實質內 paratyphoid nodule 形成病變이 10 週令群에서 觀察 되었고 個體에 따라서는 局限된 肝細胞의 壞死巢가 出現하였다.

泌尿器 系統¹⁰⁷⁾ 에서는 腎臟의 腎水腫 및 腎臟炎^{18,50)} 등이 있었는데, 前者의 疾病은 遺傳性 或은 系統間의 差異에서 오는 것으로 推定되며, 後者의 境遇는 腎盂腎炎⁶¹⁾ 과 間質性 腎臟炎이 發生하였다.

腎盂腎炎은 *Proteus spp.*⁴⁷⁾, *Pseudomonas aeruginosa*³⁹⁾, *Staphylococcus aureus*⁸⁾, *Corynebacterium kutscheri*²²⁾, *Candida albicans*⁶⁰⁾ 등이 主要原因菌으로 알려져 있고 이들 病變은 마우스가 스트레스²⁶⁾ 를 받거나, 바이러스와의 複合感染²⁶⁾ 으로 免疫機能이 低下 되었을 때⁵³⁾ 頻發한다고 하였다. 間質性 腎臟炎은 여러 原因體가 있으나 특히 *Leptospira spp.* 感染⁹⁷⁾ 에 의한 例가 많은 것으로 알려져 있다.

呼吸器 系統의 病變은 充出血, 水腫 或은 氣腫 등이 週令이 많
아질수록 자주 보였고, 가끔 輕度の 炎症性 滲出物이 細氣管支腔 및
肺胞內에서 觀察되었다. 이러한 氣管支 肺炎의 初期反應은 *Klebsi-*
*ella spp.*⁹²⁾ 나 *Mycoplasma pulmonis*⁶²⁾ 등이 主病因 細菌인 것
으로 보고 있다.

나. 血液 및 血清化學的 檢査

供試마우스에 대한 血液 및 血清學的 檢査結果는 表 4, 5 및
6 에 表示하였다.

1) 血清學的 檢査

供試된 3 群 마우스의 赤血球數는 3 週令에 $5 \sim 8 \times 10^6 / \text{mm}^3$,
6 週令에 $7 \sim 8 \times 10^6 / \text{mm}^3$, 10 週令에 $7 \sim 9 \times 10^6 / \text{mm}^3$ 이었다.
마우스의 正常的인 赤血球數는 $6.86 \sim 11.7 \times 10^6 / \text{mm}^3$ 로 報告한
Mitruka 와 Rawnsley⁶⁹⁾ 의 成績에 비해 3 週令의 特定病原性 不在
마우스群이 약간 낮을 뿐 모두 正常이었다. 特히 마우스의 赤血球
數는 年齡에 따라 差異⁸⁷⁾ 가 많은데 Kunze⁵⁸⁾ 에 의하면 出生直後
에 $3.7 \times 10^6 / \text{mm}^3$, 生後 4 日에 $4.0 \times 10^6 / \text{mm}^3$, 10 日令에 5.18
 $\times 10^6 / \text{mm}^3$, 14 日令에 $5.9 \times 10^6 / \text{mm}^3$, 2 ~ 3 個月令에 $9.34 \times 10^6 /$
 mm^3 으로 日令增加와 함께 赤血球數도 增加한다고 하였고, Grunberg³⁷⁾
의 報告는 CBA \times albino 系統의 마우스에서 赤血球數가 1 週齡은 4.5
 $\times 10^6 / \text{mm}^3$, 13 ~ 14 日齡에 $6.2 \times 10^6 / \text{mm}^3$, 20 ~ 21 日令에 $7.3 \times$
 $10^6 / \text{mm}^3$, 21 ~ 28 日令에 $8.5 \times 10^6 / \text{mm}^3$ 으로 역시 年齡增加에 따
라 赤血球數의 增加 現象을 보였던 바, 本 試驗群에서도 週令이 지
남에 따라 漸次 赤血球數가 많아지는 結果를 얻었다. 結局 마우스의

Table 4. Hematological and biochemical values of germfree, SPF and conventional mice aged 3 weeks

Test*	Unit	Germfree	SPF	Conventional
Erythrocytes $\times 10^6 / mm^3$		6.07 \pm 0.85**	5.66 \pm 0.97	7.87 \pm 0.39
Hemoglobin	g / dl	11.67 \pm 1.70	10.89 \pm 1.76	12.20 \pm 1.89
Hematocrit	%	34.89 \pm 5.01	32.09 \pm 6.02	40.15 \pm 5.92
MCV	fl	57.48 \pm 3.26	56.70 \pm 2.97	51.02 \pm 2.19
MCH	Pg	19.22 \pm 1.27	19.24 \pm 1.53	15.50 \pm 0.58
MCHC	%	33.41 \pm 1.77	32.19 \pm 2.67	30.39 \pm 2.84
Leukocytes $\times 10^6 / mm^3$		5.15 \pm 0.92	6.59 \pm 3.68	7.10 \pm 1.28
Neutrophils	%	29.1 \pm 1.8	17.3 \pm 1.9	18.2 \pm 2.7
Eosinophils	%	1.2 \pm 0.2	2.2 \pm 0.3	18.2 \pm 2.7
Basophils	%	0	0.2 \pm 0.1	0
Lymphocytes	%	64.5 \pm 2.7	75.1 \pm 3.2	76.1 \pm 5.4
Monocytes	%	2.0 \pm 0.8	2.0 \pm 0.3	2.7 \pm 1.3
TP	g / dl	5.2 \pm 0.78	5.63 \pm 0.81	6.22 \pm 0.62
ALP	I.U. / L	23.12 \pm 4.02	30.71 \pm 3.84	32.91 \pm 3.19
Glucose	mg / dl	82.81 \pm 10.43	12.47 \pm 15.58	125.25 \pm 8.73
Calcium	mg / dl	4.29 \pm 0.72	5.82 \pm 1.04	6.03 \pm 0.61
SGOT	I.U. / L	28.51 \pm 4.17	30.15 \pm 6.02	37.71 \pm 6.42

* MCV : Mean cell volume, MCH : Mean cell hemoglobin
MCHC : Mean cell hemoglobin concentration,
TP : Total protein, ALP : Alkaline phosphatase,
SGOT : Serum glutamic-oxaloacetic transaminase,
SGPT : Serum glutamic-pyruvic transaminase

** Values given mean \pm standard deviation

*** Twenty mice in each group were examined.

Table 5. Hematological and biochemical values of germfree, SPF and conventional mice aged 6 weeks

Test*	Unit	Germfree	SPF	Conventional
Erythrocytes	$\times 10^6 / \text{mm}^3$	7.61 \pm 0.61	7.70 \pm 0.51	8.29 \pm 0.78
Hemoglobin	g / dl	14.75 \pm 0.65	12.48 \pm 0.63	13.03 \pm 1.29
Hematocrit	%	45.65 \pm 3.11	36.85 \pm 2.81	41.74 \pm 3.73
MCV	fl	59.99 \pm 1.71	47.85 \pm 1.24	50.35 \pm 3.01
MCH	Pg	19.38 \pm 0.88	16.21 \pm 1.21	15.72 \pm 1.33
MCHC	%	32.31 \pm 1.84	33.87 \pm 1.90	31.22 \pm 2.19
Leukocytes	$\times 10^3 / \text{mm}^3$	6.75 \pm 1.27	7.33 \pm 4.61	8.12 \pm 4.74
Neutrophils	%	24.3 \pm 8.3	20.9 \pm 4.1	14.8 \pm 6.2
Eosinophils	%	2.2 \pm 0.5	1.9 \pm 0.9	2.5 \pm 1.2
Basophils	%	0	0	0
Lymphocytes	%	70.8 \pm 8.3	74.8 \pm 5.2	80.1 \pm 5.2
Monocytes	%	2.9 \pm 2.0	3.8 \pm 2.7	3.5 \pm 1.5
TP	g / dl	5.11 \pm 0.42	5.47 \pm 0.73	5.9 \pm 1.56
ALP	I.U. / L	22.81 \pm 3.61	26.55 \pm 3.15	35.53 \pm 5.18
Glucose	mg / dl	90.18 \pm 8.13	97.41 \pm 12.62	140.67 \pm 7.09
Calcium	mg / dl	5.92 \pm 0.41	5.26 \pm 0.76	6.11 \pm 1.30
SGOT	I.U. / L	30.92 \pm 0.72	37.51 \pm 4.22	44.40 \pm 5.19
SGPT	I.U. / L	10.41 \pm 4.20	11.24 \pm 5.86	13.02 \pm 2.73

* MCV : Mean cell volume, MCH : Mean cell hemoglobin,
MCHC : Mean cell hemoglobin concentration,
TP : Total protein, ALP : Alkaline phosphatase,
SGOT : Serum glutamic-oxaloacetic transaminase,
SGPT : Serum glutamic-pyruvic transaminase,

** Values given mean \pm standard deviation

*** Twenty mice in each group were examined.

Table 6. Hematological and biochemical values of germfree, SPF and conventional mice aged 10 weeks

Test *	Unit	Germfree	SPF	Conventional
Erythrocytes	$\times 10^6 / \text{mm}^3$	7.72 \pm 2.05	8.32 \pm 2.18	8.51 \pm 1.70
Hemoglobin	g / dl	13.65 \pm 0.63	14.20 \pm 1.83	12.27 \pm 2.04
Hematocrit	%	37.60 \pm 3.81	38.43 \pm 4.09	35.88 \pm 4.29
MCV	fl	48.70 \pm 3.57	46.19 \pm 4.77	42.16 \pm 5.63
MCH	Pg	17.68 \pm 2.91	17.07 \pm 1.83	14.42 \pm 2.25
MCHC	%	36.30 \pm 3.39	36.95 \pm 3.24	30.20 \pm 3.01
Leukocytes	$\times 10^3 / \text{mm}^3$	7.05 \pm 0.92	7.90 \pm 2.16	8.57 \pm 3.12
Neutrophils	%	23.2 \pm 7.9	17.9 \pm 5.8	13.7 \pm 4.9
Eosinophils	%	1.3 \pm 0.7	2.0 \pm 0.7	2.2 \pm 1.0
Basophils	%	0.1 \pm 0.1	0	0.2 \pm 0.1
Lymphocytes	%	72.3 \pm 6.28	72.2 \pm 5.81	80.3 \pm 6.3
Monocytes	%	3.3 \pm 2.5	2.5 \pm 1.6	3.7 \pm 1.8
TP	g / dl	5.42 \pm 0.58	5.83 \pm 0.47	6.9 \pm 1.45
ALP	I.U. / L	19.35 \pm 6.24	22.37 \pm 4.06	26.15 \pm 7.35
Glucose	mg / dl	94.27 \pm 20.79	98.15 \pm 39.84	165.54 \pm 30.27
Calcium	mg / dl	5.06 \pm 0.44	5.49 \pm 0.82	6.19 \pm 1.03
SGOT	I.U. / L	25.9 \pm 4.47	34.1 \pm 5.31	47.52 \pm 10.18
SGPT	I.U. / L	10.14 \pm 3.61	13.82 \pm 2.28	19.26 \pm 5.58

* MCV : Mean cell volume, MCH : Mean cell hemoglobin,
MCHC : Mean cell hemoglobin concentration

TP : Total protein, ALP : Alkaline phosphatase,

SGOT : Serum glutamic-oxaloacetic transaminase,

SGPT : Serum glutamic-pyruvic transaminase,

** Values given standard deviation

*** Twenty mice in each group were examined

赤血球數는 年齡에 가장 많은 影響을 받는다는 Kunze⁵⁸⁾의 指摘 以外에 마우스는 出生時 完全한 造血機能을 갖지 못하고 生後 3週가 지나서야 成熟된 造血作用을 發揮한다는 生理的 特性도 赤血球數와 相關性이 많을 것으로 思料된다.

血色素量은 測定法에 따라 檢査值의 差異²⁶⁾가 많으나 供試 마우스들은 年齡에 關係없이 10 ~ 15 g / dl로서 모두 生理的 正常範圍內에 있었다. Charles River ICR系統 마우스의 血色素量은 14.5 ~ 16.6 g / dl 이었고, Harrison 등⁴⁰⁾이 調査한 雄性의 D₆ D₂ F系統 마우스에서는 14.5 ± 0.80 g / dl 이었다는 報告와 本 試驗結果 水準值를 比較해 볼때 本 供試群 마우스들이 대체로 낮은 水準이었으나 이는 測定마우스의 年齡差異에서 起因된 것으로 생각된다.

한편 性別이나 年齡이 마우스의 血色素量에 어떠한 影響을 주지 않는다는 見解²⁶⁾도 있으나 Mitruka와 Rawnsley⁶⁹⁾는 대체로 生後 2個月內 마우스는 赤血球數 뿐만 아니라 血色素量도 상당히 낮다 하였고, Foster 등²⁶⁾은 生後 3週에 離乳時에야 血色素量과 赤血球數는 成熟值를 보이며, 이 時期에 生涯에 가장 높은 血色素量과 赤血球數를 나타낸다는 報告로 보아 測定 年齡에 따라 血色素量이 많은 差異가 있는 것으로 믿어진다.

本 試驗 供試群들의 血色素量은 年齡增加와 比例하여 높아지는 趨勢를 보였다.

赤血球 容積量 (PCV)은 3群 모두 3週令과 6週令은 各各 32 ~ 40 % 및 36 ~ 46 %로 나타났고, 10週令은 35 ~ 38 % 水準을 보였다. 赤血球 容積量은 年齡의 影響을 받기는 하나 本 試驗에서 나타난 32 ~ 46 %의 變動值는 33.1 ~ 49.9 %의 赤血球 容積量

에 대한 正常範圍를 보인 20 ~ 25 ♀의 雄性 Charles River ICR 系統 마우스 境遇^{14,77)}와 比較해 볼때 正常值로 認定되었다.

平均 赤血球 容積 (MCV), 平均 赤血球 血色素量 (MCH) 및 平均 赤血球 血色素 濃度 (MCHC)는 42 ~ 60 fl, 14 ~ 19 Pg 및 29 ~ 37 % 範圍로 各各 算出되었고, 無菌 및 特定病原體 不在 마우스群의 어떠한 週令에서도 貧血 등으로 인한 異狀數値는 觀察할 수 없었다.

白血球數는 無菌마우스群이 $5.15 \sim 7.05 \times 10^3 / \text{mm}^3$ 이었고 年齡增加와 함께 白血球數 역시 增加하였다. 特定病原體 不在 및 實用 마우스들은 $6.59 \sim 7.90 \times 10^3 / \text{mm}^3$ 와 $7.10 \sim 8.57 \times 10^3 / \text{mm}^3$ 範圍內 있었다. 無菌마우스는 實用 또는 特定病原體 不在 마우스群의 白血球數 보다도 相對적인 差異로서 낮게 調査되었는데 이는 體內 免疫機能에 대한 刺戟이 無菌마우스들에게는 적었기 때문으로 判斷되었다. Foster 등²⁶⁾은 白血球數에 미치는 變動因子로서 授血時間과, 性別을, Goldie 등³⁶⁾은 採血部位를 指摘하였는데, 本 試驗 마우스들은 心臟 或은 眼窩 靜脈에서 午前 10 ~ 12時에 採血하였던 바 採血部位인 心臟과 眼窩靜脈間의 差異는 認定되지 아니하였다. 白血球 百分率은 好中球가 13 ~ 29 %, 好酸球가 1 ~ 2 %, 好鹽球가 2 ~ 4 %, 淋巴球가 64 ~ 80 %, 單核球가 2 ~ 4 % 水準이었다. 이들 白血球 百分率은 正常值를 調査한 Mitruka 와 Rawnsley⁶⁹⁾ 및 Foster²⁶⁾ 등의 成績과 비슷하였다.

다만 無菌 및 特定病原體不在 마우스群과 比較하여 實用 마우스의 淋巴球率이 높았고, 특히 無菌마우스의 境遇 正常範圍內 낮은 淋巴球率 分布를 보인 집 등은 疾病感染 程度와 飼育環境條件의 差異로 思料된다.²³⁾

2) 血清學的 檢査

血清學的 檢査成績의 全般的인 分布는 總蛋白質量이 5 ~ 7 g / dl, alkaline phosphatase 量이 19 ~ 35 IU / L, glucose 量이 82 ~ 165 mg / dl, calcium 量은 4 ~ 6 mg / dl, SGOT 및 SGPT는 28 ~ 47 IU / L 과 9 ~ 19 IU / L 을 나타내었다. 本 試驗에서 檢査한 全般的인 血清內 各種 水準値는 Altman 과 Dittmer¹⁾, Bonilla¹⁰⁾, Bonilla 와 Stringham¹¹⁾, Doorley²⁰⁾, Dimopoulos¹⁷⁾, Finch 와 Foster²⁴⁾, Harrison 등⁴⁰⁾, Henderson 과 Titus⁴¹⁾, Mooreland⁷²⁾, 그리고 Williams 등¹⁰⁹⁾ 의 正常 調査値와 類似하였다. Finch 와 Foster²⁴⁾ 는 마우스의 血清化學値가 性別, 年齡, 營養 등에 의해 크게 左右되지 않는다고 했는데 本 試驗成績에서도 無菌 및 特定病原體不在 마우스群의 境遇 年齡 등에 血清化學値가 큰 變化가 있지 않았다. 다만, 實用 마우스群에서 週令增加와 함께 總蛋白質과 glucose 量이 正常範圍의 높은 値를 보였는데 이는 Hoffsten⁴⁴⁾ 의 指摘처럼 이들 마우스群의 腎臟機能 低下를 間接적으로 示唆한다고 보아진다. 또한 肝代謝機能의 重要な 指標가 되는 SGOT와 SGPT 는 確實히 無菌 및 特定病原體不在 마우스들 보다는도 實用 마우스에서 높은 値를 나타냈지만 疾病과 關聯한 10 週令의 少數例를 除外하고는 모두 正常値를 벗어나지는 아니하였다.

第 2 節 微生物調査에 關한 研究

1. 細菌

가. 無菌마우스 飼育環境의 細菌汚染度 調査

無菌마우스의 作出, 繁殖 및 育成하는 Chamber 內의 無菌狀態를 維持하기 위해서 濾過空氣에 의한 陽壓狀態 (FAPP : Filtered air under positive pressure) 의 Chamber 內를 2% 過酢酸 溶液으로 3 次에 걸쳐 噴霧 消毒한 다음 上下 구석 部分을 滅菌 綿棒으로 swab 하여 5 日 間隔으로 5 回에 걸쳐 細菌汚染 여부를 調査하였으며 갈짚과 無菌마우스가 排泄한 排泄物 및 滅菌 pellet 飼料에 細菌 汚染 여부를 調査한 成績은 表 7 에서 보는 바와 같이 전 試驗期間을 통하여 모든 材料에 細菌 및 眞菌의 汚染이 없는 狀態로 維持되고 있음을 確認할 수 있었다.

Table 7. Detection of bacteria and fungi from germfree chamber chips and excreta of mice

Specimens	Detection of bacteria and fungi by days				
	0	5	10	15	20
Chamber swabs	-	-	-	-	-
Pellet feed	-	-	-	-	-
Chips	-	-	-	-	-
Excreta	-	-	-	-	-

Kim 등⁵¹⁾이 無菌 랫트 生産을 위해 胎仔의 糞便, isolator의 내벽에 대한 細菌 檢査 結果 細菌 增殖이 없었다는 成績과 一致하였다.

나. 無菌 및 實用 마우스로 부터 細菌分離試驗

實用 마우스 25 首와 無菌마우스 23 首의 腸內容物과 肺로 부터 細菌을 分離한 成績은 表 8 과 같았다.

實用마우스의 경우 腸內容物로 부터는 *E. coli*가 20 수에서 分離되어 80.0%의 分離率을 나타내었고, *Salmonella* spp.가 5 수(20.0%)에서 分離되었으며, 其他 細菌으로서 *E. cloacae*가 4 수(16.0%)에서 分離되었으나 肺로 부터는 *E. coli*가 7 수(28.0%), *Pasteurella multocida*가 6 수(24.0%)에서 分離되었고 其他 細菌으로서 *Serratia marcescens*가 1 수(4.0%)에서 分離되었다. 그러나 無菌마우스의 경우는 腸內容物과 肺 材料로 부터 어떠한 細菌도 檢出되지 않았다.

Table 8. Isolation of bacteria from conventional and germfree mice

Mouse	No. of mouse tested	specimen	No. of mice exhibiting bacteria (%)			
			<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Pasteurella multocida</i>	others
Conventional	25	Gut	20 (80.0)	5 (20.0)	-	4 (16.0)
		Lung	7 (28.0)	-	6 (24.0)	1 (4.0)
Germfree	23	Gut	-	-	-	-
		Lung	-	-	-	-

1987年 Hjima 등⁴²⁾은 건강한 기니픽의 맹장 내용물로 부터 *Sal typhimurium*을 15.9%를分離報告한 것은 本 試驗成績보다 낮은 分離率을 나타내었다. 그러나 Sundara와 Kashiwazaki⁹⁸⁾는 33수의 마우스로 부터 93주의 *E. coli*를 分離하여 著者 等の 成績보다 分離率이 월등히 높았다. Shimoda 등⁹⁴⁾이 SPF마우스의 糞便으로 부터 *E. colacae*를 16.7% 分離한 成績은 本 試驗成績과 거의 一致하였다. 그러나 Kagiya 등⁴⁸⁾은 實用마우스로 부터 *Salmonella spp.*, *Corynebacterium kutscheri* 및 *Tyzzler's organism*을 하나도 分離하지 못하였으나 *Pasteurella pneumotropica* (8.7%) *M. pulmonis* (3.4%), *Pseudomonas aeruginosa* (14.5%)를 分離報告하였다. 또한 SPF마우스에서는 *M. pulmonis*, *Salmonella spp.*, *E. coli* *Tyzzler's organism*, *Corynebacterium kutscheri* 및 *Pasteurella pneumotropica*는 전혀 分離되지 않았으나 *Pseudomonas aeruginosa*가 29.5%나 分離되어 試驗用 마우스에 있어서 *Pseudomonas spp.*의 重要性을 強調하였다.

試驗에 供試되는 動物에 *Mycoplasma spp.*가 感染되어 있는지의 여부가 그 實驗動物의 清淨度を 測定하는 判定基準이 될 수 있을 정도로 重要な 細菌이라고 많은 研究者가 報告하였다.^{2,49,54,64,66,68,88,}

89) 그러나 本 試驗에 供試된 實用마우스의 경우 *Mycoplasma spp.*가 하나도 分離된 바 없으나 Magaribuchi 등⁶⁵⁾은 SPF 마우스로 부터 32.1%를 分離하였다. 또한 Yoda 등¹¹⁰⁾과 Trahan 등¹⁰³⁾은 *Bordetella bronchiseptica*가 實驗動物에 感染되면 肺炎을 誘發한다고 지적한 바 있으나 本 試驗에서는 *Bord. bronchiseptica*가 분

離되지 않았다.

*Corynebacterium kutscheri*가 마우스의 腸管內에 感炎되며 腸炎을 誘發할 수 있고 마우스의 腸管으로 부터 흔히 分離될 수 있는 細菌이라고 Miyamae⁷¹⁾와 Suzuki等¹⁰⁰⁾은 報告한 바 있으나 本試驗에서는 *Corynebacterium kutscheri*가 分離되지 않았다.

Table 9. Serological survey on bacterial diseases of conventional and germfree mice

Antigens	Tests	Conventional mice (n=23)		Germfree mice (n=23)	
		No. + ve	%	No. + ve	%
Mycoplasma pulmonis	ELISA*	4	19.4	0	0
Tyzzler's disease	ELISA	0	0	0	0
Bordetella bronchiseptica	Aggl.**	6	26.1	0	0
Corynebacterium kutscheri	"	0	0	0	0
Pasteurella pneumotropica	"	3	13.0	0	0
Streptococcus pneumoniae	"	1	4.3	0	0
Salmonella typhimurium	"	2	8.7	0	0

* Enzyme-linked immunosorbent assay

** Agglutination

3) 實用 및 無菌마우스의 血清學的 調査

家畜衛生研究所에서 作成 飼育하고 있는 無菌마우스 23 首와 實用마우스 23 首를 대상으로 血清學的 調査結果는 表 9 에서 보는 바와 같이 無菌마우스의 경우는 *Mycoplasma pulmonis*, *Tyzzler's organism*, *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium kutscheri*, *Pasteurella pneumotropica*, *Streptococcus pneumoniae* 및 *Salmonella typhimurium*에 대한 抗體檢出에 있어서 전혀 檢出되지 않았으므로 無菌마우스임이 立證되었으나 實用마우스에 있어서는 *Mycoplasma pulmonis*에서 4 首 (19.4 %), *Bord. bronchiseptica*에서 6 首 (26.1 %), *Past. pneumotropica*에서 3 首 (13.0 %), *Streptococcus pneumoniae*에서 1 首 (4.3 %), *Sal. typhimurium*에서 2 首 (8.7 %)가 抗體 陽性으로 檢出되었다.

Suzuki 等¹⁰⁰⁾은 實用마우스로 부터 *Cory.kutscheri*에 대한 抗體 陽性 마우스가 0.5 %라고 하였고 Kagiya 等⁴⁹⁾은 實用마우스에서 *M. pulmonis*에 抗體 陽性 마우스가 1.1 %였으나 *Tyzzler's organism*, *Sal. typhimurium*, *Bord. bronchiseptica* 및 *Cory.kutscheri*에 대한 抗體 檢出이 되지 않았다고 하여 本 試驗成績에서 *M. pulmonis*, *Bord. bronchiseptica*, *Sal. typhimurium*에 대한 抗體 檢出率 이 월등히 높았음을 알 수 있었다.

나. 바이러스

無菌마우스에 대한 抗體檢査에서 Sendai virus, MHV 및 EDIM 바이러스에 대한 抗體는 全例 陰性이었으며 表 10에서 보는 바와 같이 Sendai 바이러스에 대하여는 ICR, C3H/He 등에서 50% 이상의 抗體陽性率을 나타내어 Parker⁸²⁾ 등의 報告보다 낮으나 거의 유사한 結果를 보이고 있었으며 Suzuki⁹⁹⁾의 46%의 陽性報告와 거의 일치하는 結果를 보였다. 本 實驗에서 알 수 있듯이 國內의 많은 實用마우스가 本病에 이환되어 있음을 알 수 있었다. 고로 本 病原體와 유사한 抗原性을 갖는 바이러스로 實驗을 遂行할時 免疫反應이나 其他의 여러 側面에서 實驗誤差가 생길 可能性이 높다고 하겠으며 또한 呼吸氣 系統의 主病因體인 이 바이러스의 感染으로 마우스 飼育上의 어려움은 물론 其他의 2次 病原菌 感染時 問題點은 배가 된다고 할 수 있다. 이러한 點들을 綜合적으로 考慮할때 無菌마우스에서 本 病原體의 不在는 實驗의 誤差를 줄이거나 信賴度 側面에서도 그 意味를 充分히 지니고도 남음이 있다고 하겠다.

Coronavirus가 병인체로 마우스에 肝炎을 일으키는 MHV 感染症은 表 10에서 보는 結果와 같이 Germfree 마우스에서는 陰性이었으나 實用마우스에서 45%程度의 抗體保有를 보이고 있어 國內의 많은 實用마우스 飼育群에 本 疾病이 만연되어 있음을 추측할 수 있다. Suzuki⁹⁹⁾ 등의 보고보다는 조금 높은 陽性率을 보이고 이는 colony間의 差異에 기인한 것 같으며 國內의 거의 大部分의 마우스가 外國으로부터 導入된 것을 勘案할때 의미로운 것은 아니며 Parker⁸²⁾ 등도 20% 이상의 陽性率을 報告한 바 있다. 各種 動物群에 구조나 抗原性 面에서 유사한 Coronavirus 族의 바이러스 研究時 無菌마우스의 必要性은 充分히 인지되어야 한다고 하겠다.

Table 10. Antibody distribution against Sendavirus, MHV and EDIM in Conventional and Germfree Mouse

Disease	origin speies	I C R	C 3H / He
Sendavirus	Conventional	119 / 237 (50.2%)	76 / 104 (73 %)
	Germfree	0 / 28 (0 %)	-
MHV *	Conventional	48 / 106 (45.2%)	60 / 133 (45 %)
	Germfree	0 / 28 (0 %)	-
EDIM **	Conventional	99 / 129 (77%)	-
	Germfree	0 / 28 (0 %)	-

* Mouse Hepatitis virus

** Epizootic Diarrhea of Infant Mice

EDIM 感染症의 抗體陽性率은 表 10 에서 보는 것과 같이 70% 程度의 높은 抗體陽性率을 나타내었으나 Kraft⁵⁵⁾ 等の 報告에서와 유사하거나 96~99%의 報告보다는 훨씬 낮은 結果를 보인다고 하겠다. 특히 本病은 어린마우스에서 심한 소화기 疾病을 일으키기 때문에 낮은 日令의 마우스에서 경계해야할 疾病이라고 하겠다.

表 11 은 無菌마우스에서의 바이러스 分離試驗으로 MA 104, Vero, CV1 (원숭이 유래주화細菌), Mouse Peritoneal Macrophage, Mouse Fibroblast 및 DBT Cell 等を 利用하여 바이러스 分離를 시도하였으나 CPE, FA, HA, ELISA 試驗 등에서 어떠한 바이러스도 分離되지 않았다. 이 成績은 前述한 抗體調查成績과 一致하는 것으로 無菌마우스에 어떠한 바이러스도 汚染되어 있지 않은 것을 증명하는 것이다.

Table 11. Virus Isolation from Germfree mice

Organ	Cells	Passage levels							Test methods
		1	2	3	4	5	6	7	
Liver	MA 104	-	-	-	-	-	-	-	CPE
Lung	DBT	-	-	-	-	-	-	-	HA Test
Intestine	Macrophage	-	-	-	-	-	-	-	FA
Brain	VERO	-	-	-	-	-	-	-	Elisa ect
Spleen	CV1	-	-	-	-	-	-	-	
Kidney	Fibroblast	-	-	-	-	-	-	-	

第3節 寄生蟲 感染調査

이번에 공시된 마우스 88수중, Germfree 로 작성된 마우스 44수에 있어서는 内部 및 外部寄生蟲 感染實態 調査에서 陽性(+)은 1마리도 檢出되지 아니하였다. 이러한 成績은 同 供試動物에 寄生蟲이 感染되어 있지 않다는 不在證明이 될 수 있다(表 12 參照).

한편, 同 供試期間中 비슷한 週令의 마우스중 在來式 飼育方法으로 生産 保存되고 있는 實用마우스群에 있어서는 表 12에서 보는 바와 같이 内部 및 外部 寄生蟲의 感染이 確認되었다.

즉, 内部 寄生蟲中 條蟲類에 屬하는 *Hymenolepis diminuta*는 22.7%의 蟲體感染陽性を 보였으며, 선충류에 속하는 *Syphacia muris*는 27.3%의 蟲體感染陽性を 보였는데, 外部 寄生蟲으로는 지주류에 속하는 *Mycopetes musculus* 1종만이 比較的 높은 45.5%의 感染率을 나타내었다.

Table 12. Incidences of Parasites in Germfree and Conventional mice

Group*	Date of Examination	No. mice Examined	Age of mice	Results**	
				Endoparasites	Ectoparasites
G - 1	June 12, 1988	16	3 weeks	-	-
G - 2	"	4	6 weeks	-	-
G - 3	July 5, 1988	12	4 weeks	-	-
G - 4	Aug. 10, 1988	12	6 weeks	-	-
Subtotal	-	44	-	-	-
C - 1	June 12, 1988	8	3 weeks	<i>H. d.</i> (5) (62.5%)	<i>M. m.</i> (5) (67.5 %)
C - 2	June 12, 1988	4	6 weeks	<i>S. m.</i> (3) (75.0%)	-
C - 3	July 5, 1988	20	4 weeks	<i>S. m.</i> (9) (45.0%)	<i>M. m.</i> (8) (40.0 %)
C - 4	Aug. 10, 1988	12	6 weeks	<i>H. d.</i> (5) (41.7%)	<i>M. m.</i> (7) (58.3 %)
Subtotal	-	44	-	<i>H. d.</i> (10) (22.7%)	<i>M. m.</i> (20) (45.5 %)
				<i>S. m.</i> (10) (27.3%)	
Total	-	88	-	-	-

* G : Germfree group

C : Conventional group

** - : (Negative) No parasites confirmed

H. d. : *Hymenolepis diminuta*

M. m. : *Mycoptes musculus*

S. m. : *Syphacia muris*

금번에 分離 確認된 *Hymenolepis diminuta*, *Syphacia muris* 및 *Mycoptes musculus*의 형태학적 특징은 각각 사진 1, 2와 3, 4 그리고 5~8과 같다.

國內에서 飼育 生産되고 있는 實驗動物들은 各種 微生物이나 그로 인한 特異抗體의 所有與否를 따지기에 앞서 이미 여러가지 種類의 內外部 寄生蟲에 높은 感染實態를 나타내고 있기 때문에 事實上 實驗動物로서 부적당한 것으로 評價報告된 바 있다.²⁸⁾

實驗動物의 使用目的과 範圍, 갖추어야 할 條件, 標準화된 實驗動物의 重要性 등에 대하여는 再論의 餘地가 없으며^{3,112,121)} 특히 國內에서 生産 供給되고 있는 實驗用 小動物에 있어서는 寄生蟲의 感染으로 인한 問題點이 있음이 이미 지적된 바 있다.^{120,128,129)}

最近에 들어 實驗動物과 動物實驗에 關한 事項에 關心을 많이 갖게 되고 實驗의 信賴度를 提高하기 위한 努力이 경주되고는 있으나, 그러한 特殊 또는 特定 病原體 不在 (specific pathogen free) 또는 無菌 實驗動物 (germfree)의 作出을 위하여는 무엇보다도 먼저 內外部 寄生蟲의 完全한 驅除가 要求되고 있다.^{127,130)}

獸醫學 研究分野에 있어서 實驗動物이 使用된 것은 아주 오래전부터이며 獸醫學과 實驗動物學은 相互補完的으로 發達되어 왔다.

近來에 이르러서는 獸醫學 및 醫學分野 뿐만 아니라 動物實驗을 必要로 하는 여러가지 學問分野에서 實驗動物의 使用이 많아지게 되었으며 보다 健康하고 標準화된 實驗動物의 供給을 絶실히 要求하게 되었다. 특히 微生物에 關聯된 各種 生物學的 製劑의 生産과 檢定, 그리고 最近에 活氣를 띄고 있는 生命工學分野에 있어서는 特定病原體不在 (SPF) 또는 無菌 (germfree) 實驗動物을 必要로 하는 까닭에 同 課題에 대한 研究開發은 時代的 要求事項이라 할 수 있다.¹²¹⁾

이에 實驗動物의 SPF化 또는 無菌化 課題에 先行하여 實驗動物中 가장 많이 使用되고 있는 흰생쥐 (*Mus musculus alba* : albino mice)를 對象으로 하여 內部 및 外部 寄生蟲의 感染實態와 生態學的 特徵, 防除對策 等に 關心을 가지고 몇가지 關聯된 試驗研究事業을 推進중에 있는 바 흰생쥐에서 分離된 內部 寄生蟲중 蟻蟲類에 關하여는 이미 報告한 바⁵⁵⁾ 있으며 外部 寄生蟲中 쥐 毛喰응애에 關하여도 이미 報告한 바 있다.

금번에 調査 報告되는 實驗動物의 寄生蟲 感染實態中 Germfree 로 作成된 group에 있어서는 內部 및 外部 寄生蟲의 感染이 없었는 바 이는 向後 實驗動物學과 動物實驗의 發展을 위하여 매우 고무적인 事項이며 당연히 追求되어야 할 目標가 이루어지고 있는 過程으로 思料된다.

그러나 아직까지도 在來式 飼育方法으로 生産 保存하고 있는 實驗動物을 使用하고 있는 動物實驗이 대부분이며, 그러한 在來式 實驗動物에 內部 및 外部 寄生蟲 感染이 높은 것으로 確認되어 아직까지도 解決하여야 할 問題點이 많은 것으로 評價된다.

國內에서 生産되는 實驗動物中 흰생쥐에서 蟻蟲類의 感染率이 높은 것은 첫째, 흰생쥐의 生態的 特性上 分변을 採食하는 習性이 있기 때문에 再感染의 기회가 높다는 점, 둘째, 蟻蟲類의 生活環은 中間宿主를 必要로 하지 않고 直接感染이 可能하다는 점¹⁵⁾, 셋째, 實驗動物用 飼料에 적절한 구충성 添加劑가 급여되지 않고 있다는 점¹²³⁾, 넷째, 一般的인 衛生管理狀態가 좋지 않고 大部分 다수의 實驗動物을 糞사시키고 있다는 점 등을 지적할 수 있는데 이러한 問題點들을 하나하나 解決해 나간다면 實驗動物의 寄生蟲 防除가 可能할 것으로 展望된다.

쥐 毛喰응애 (*M. musculus*)는 實驗動物中 特히 생쥐에서 問題 視될 수 있는 代表的인 外部 寄生蟲이며 3,19,31,57,96,112) 日本에 있어서도 市販 實驗動物 흰생쥐에서는 높은 感染分布를 보이고 있으나^{122, 130,131,133)} SPF 마우스에 있어서의 檢出例는 없다고 報告¹³¹⁾된 바 있다.

한편 國內에서의 報告成績으로는 林英在와 金萬泳¹¹⁹⁾에 의하여 野生 설치류에서 調査된 179마리에 대한 採取記錄과 文武洪¹²⁰⁾에 의하여 調査報告된 實驗動物 흰생쥐에서의 100% 感染實態報告가 있는 반면, 張斗煥과 趙英雄¹²⁹⁾의 實驗動物 흰생쥐에 對한 成績과 金明海¹¹⁷⁾의 家住性 쥐(시궁쥐, 곰쥐)에 對한 成績에 있어서는 쥐 毛喰응애의 感染分布는 없으며 다른 種類의 응애인 *Radfordia*種이 報告된 것이 特徵的이다.

쥐 毛喰응애의 形態學的 記述에 關하여는 이미 상세히 報告된 바 있으며^{124,134)} 國內 報告로도 文武洪¹²⁰⁾에 의한 報告가 있으므로 再述할 必要는 없으나, 類似種屬과의 鑑別진단을 위하여는 標本材料에 대한 系統檢索이 意味가 있을 것이며 특히 *Myobiidae*에 對한 報告^{46,75,133)}, *Trombidiformes*에 對한 報告^{52,116,132)}, *Radfordia*에 關한 報告^{117,129)}를 比較 考察하는 것은 國內 分布 응애類 分類 同定을 위하여 큰 意味가 있을 것으로 思料된다.

쥐 毛喰응애는 생쥐 뿐만 아니라 各種 설치류를 宿主로 擇할 수 있으며⁹⁶⁾, 通常 無症狀 感染이지만 심한 경우에는 表皮組織의 攝食 程度에 따라 脫毛와 發赤症狀이 나타날 수도 있는 것으로 考察되며, 傳播形態는 接觸感染으로 이루어지는 것이나 새끼생쥐에는 털이 날때까지는 잘 感染되지 않는 것으로 報告된 바 있다.⁷⁵⁾

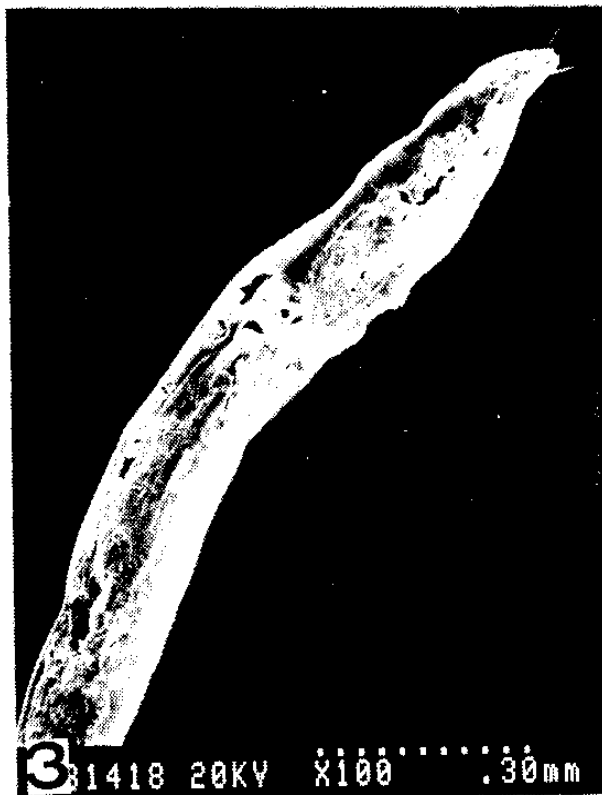
한편, 쥐 毛喰응애의 驅除를 위하여는 現行 여러가지의 殺蟲劑 適

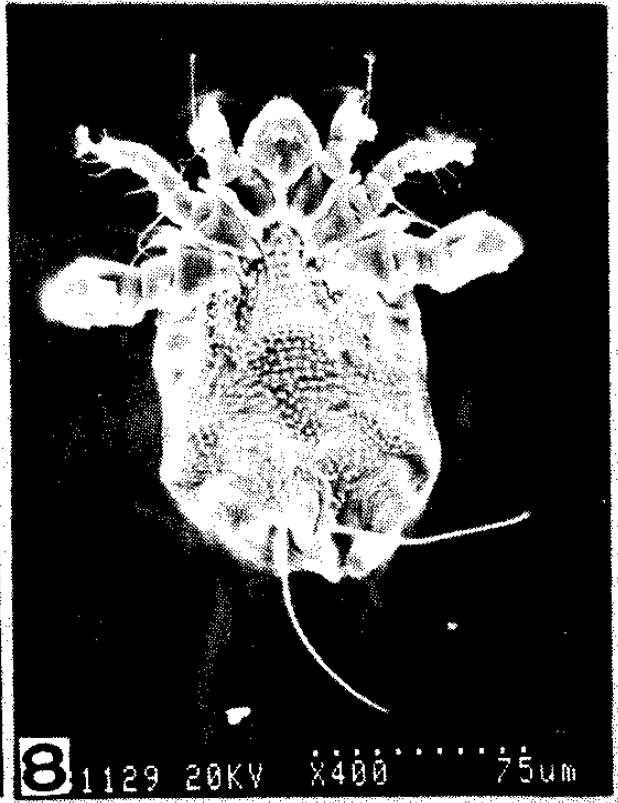
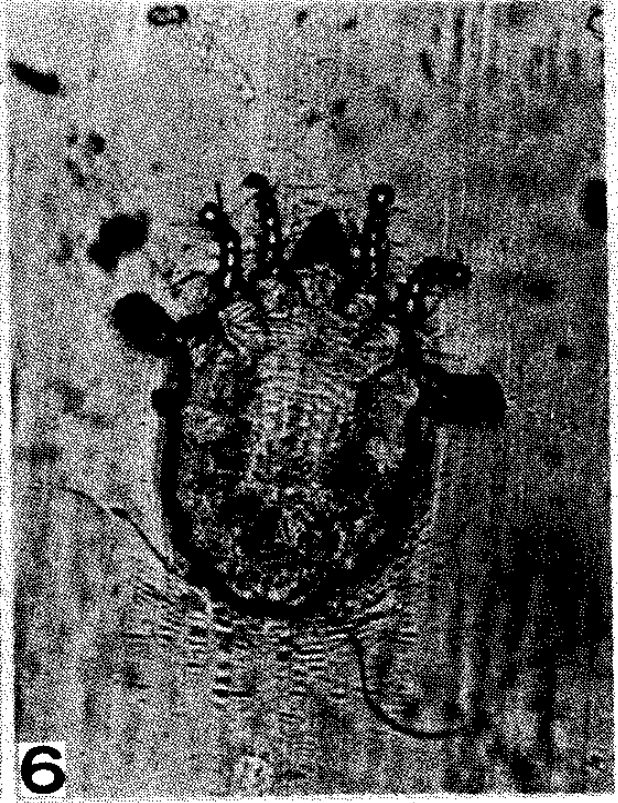
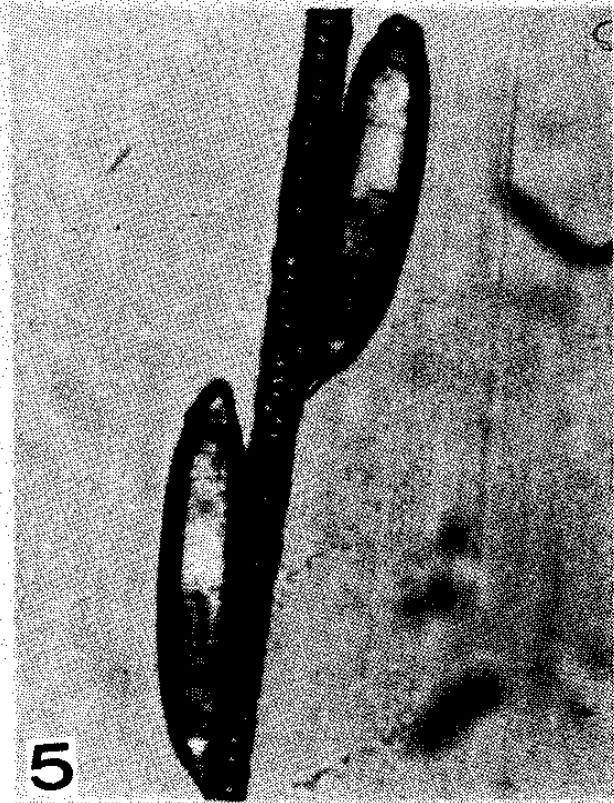
用이 가능한 것으로 추측되나, 向後 보다 毒性이 낮고 長期的인 效果가 나타나는 殺蟲劑의 開發이 바람직할 것이며, 實驗動物 自體는 물론 飼育施設 環境에 대하여도 철저한 衛生管理 對策이 강구되어야 할 것으로 思料된다.

向後 實驗動物의 SPF化 및 Germ free animal 開發에 있어서는 各種 微生物에 대한 不在證明에 앞서서 内部 및 外部 寄生蟲 및 各種 原蟲類 等 전반적인 寄生蟲學的 接近과 防除가 先行되어야 할 것으로 思料된다.

Legends for Photographs

- Fig 1. The scolex of *Hymenolepis diminuta* showing the hooks and suckers (SEM, $\times 600$)
- Fig 2. The aspect of parasitizing *Hymenolepis diminuta* into the intestinal mucosa (SEM, $\times 80$)
- Fig 3. The frontal part of *Syphacia muris* (SEM, $\times 100$)
- Fig 4. The postal part of *Syphacia muris* (SEM, $\times 100$)
- Fig 5. The eggs of *Mycoptes musculus* (Light microscopy, $\times 200$)
- Fig 6. The larval stage of *Mycoptes musculus*
(Light microscopy, $\times 400$)
- Fig 7. An egg of *Mycoptes musculus* (SEM, $\times 500$)
- Fig 8. The larval stage of *Mycoptes musculus* (SEM, $\times 400$)





REFERENCES

1. Altman, P.L. and Dittler D.S. (1974). *Biology data book*. Washington D.C., FASEB
2. Atobe, H. and Ogata, M. (1974). Pneumonitis in mice inoculated with *Mycoplasma pulmonis*: Production of pulmonary lesions and persistence of organisms and antibodies. *Jpn. J. Vet. Sci.* 36:495-503.
3. Baker, R.W. Evans, T.M. Gould, D.J., Hull, W.B. and Keegan, H.L. (1956) *A manual of parasitic mites of medical or economic importance*. Tech. Pub. Inc. New York, pp78-80, pp149-150.
4. Bakken, K. and vogelsang, J.C. (1950). Pathogenesis of *Salmonella typhimurium* infection in mice, *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 27:41-50.
5. Balzan, N. (1937). *Elevage aseptiques des animaux*. 1, Appareillages et methods. *Ann. Phys.*, 13:370.
6. Barthold, S.W. and Smith, A.L. (1983). Mouse hepatitis virus S in weaning swiss mice following intranasal inoculation *Lab. Anim. Sci.* 33(4):355-360.
7. Bathhold, S.W., Osbaldison, G.W. and Jonas, A.M. (1977). Dietary, bacterial and host genetic interaction in the pathogenesis of transmissible murine colonic hyperplasia. *Lab. Ani. Sci.* 27:938-945.
8. Benirschke, K., Garner, F.M. and Jones, T.C. (1978). *Pathology of laboratory animals*. vol. I&II springer-Verlag., New York.
9. Benjamin, M.M. (1978). *Outline of veterinary clinical pathology*. 3rd ed., Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
10. Bonilla, C.A. (1972). Use of automated instrumentation to establish normal serum parameters in experimental animal models. *Adv. automated Anal. Technicon Int. Congr.* 7:85.
11. Bonilla, C.A. and Stringham, R.M. (1968). Normal serum calcium levels in albino mice. III. Diurnal variations. *Life Sci.* 7:1193-1196.
12. Bryden, A.S. and Davies, H.A. (1975). The laboratory diagnosis of epizootic diarrhoea of infant mice. *J. Inst. Ani. Tech.* 26:63-67.
13. Bryden, A.S., Davis, H.A., Thomless, M.E. and Flewett, T.H. (1977). Diagnosis of rotavirus infection by cell culture, *J. Mod. Microbiol.* 10:121-125.
14. Burns, K.F. and Delannoy, C.W. (1966). *Compendium of normal blood values of laboratory animals, with indication of variations*. *Toxicol. Appl. pharmacol.* 8:429-437.

15. Chan, K.F. (1952). Life cycle studies on the nematode *Syphacia obvelata* Am. J. Hyg. 56:14-21.
16. Cohendy, M. and Wollman, E. (1914). Experiences sur la vie sans microbes. Elevage aseptique de cobayes. C.R. Acad. Sci., 158:1283.
17. Dimopouleos G.T. (1972). Plasma proteins in clinical biochemistry of domestic animals. Vol. 1, 2nd ed., Academic Press, New York.
18. Dixon, F.J., Oldstone, M.B.A. and Tonietti, G. (1971). Pathogenesis of immune complex glomerulonephritis of New Zealand mice. J. Exp. Med. 134:65-71.
19. Donald, M.A. (1969). Haemogamasid mites of Eastern Asia and the Western Pacific with a key to the species. J. Med. Entomol. 6:103-119.
20. Doorley, J.F. (1979). The role of clinical chemistry in chemical and drug safety evaluation by use of laboratory animals. Clin. Chem. 25:345-347.
21. Erel, H.C. J., Gerlich, W., and Koszinouski, U.H. (1979). Detection of antibodies to Sendai virus by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); J. Immunol. Methods 28, 163-176.
22. Fauve, R.M., Pierce-chase, D.H. and Dubos, R. (1964). Corynebacterial pseudobacteriosis in mice. II. Activation of natural and experimental infections. J. Exp. Med. 120:283-303.
23. Fertig, D.S. and Edmonds, V.W. (1969) The physiology of the house-mouse Sci. Am. 221:103-110.
24. Finch and Foster (1973). Hematologic and serum electrolyte value of the C57BL/6J male mouse in maturity and senescence. Lab. Ani, Sci. 23:339.
25. Flamm, H. (1957). Klebsiella, enzootic in einer Mausezucht. schweiz. Z. pathol. Bakteriologie. 20:23-27.
26. Foster, H.L., Small, J.D. and Fox, J.G. (1983). The mouse in biomedical research. Vol. I. Normative biology, immunology and husbandry. vol, II. Diseases, Academic Press, New York.
27. Fox, J.G., Cohen, B.J. and Loew, F.M. (1984). Laboratory animal medicine. Academic Press, Orlando.
28. Fujiwara, K. (1971). Problems in checking in apparent infections in laboratory mouse colonies. An attempt at serological checking by anamnestic response. In "Defining of the Laboratory Animals"., National Academy of Science. Washington, D.C., 77-92.
29. Fujiwara, K., Takenake, S. and Shumiya, S. (1976). Carrier state of antibody and viruses in a mouse breeding colony persistently infected with Sendai and mouse hepatitis viruses Lab. Anim. Sci. 26:153-159.

30. Fukumi, H., Mizutani, H., Takeuchi, Y., Tajima, Y., Imaizumi, K., Tanaka T. and Kaneko, J.I. (1962). Studies on Sendai virus infection in laboratory mice. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 15, 153-163.
31. Gambles, R.M. (1952). *Myocoptes musculinus* (Koch) and *Myobia musculi* (Schrank). two species of mite commonly parasitizing the laboratory mouse. *Brit. Vet. J.* 108:194-203.
32. Ganaway, J.R., Allan, A.M. and Moore, T.D. (1971 a). Tyzzer's disease *Am. J. Pathol.* 64:717-732.
33. Gemstedt, G. (1936). Bakterienfreie meerschweinchen, aufzucht, lebensfähigkeit und wachstum, nebst untersuchungen über das lymphatische gewebe. *Acta Path. Microb. Scand.*, 30 (suppl.).
34. Ghose, L.H., Schnagl, R.D. and Holmes, I.H. (1978). Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of rotavirus antibodies with complement fixation in an epidemiological survey.
35. Glimstelt, G. (1932). Das leben ohne bakterien sterile aufzucht von meerschweinchen. *Anat. Anz. Ergänz-heft.*, 75:79.
36. Goldie, H., Jones, A.M., Ryan, H. and Simpson, M. (1954). Leukocyte counts in the blood from the tail and the heart of the mouse. *Sci.* 119:353-354.
37. Grunberg, H. (1941). The growth of the blood of the suckling mouse *J. Pathol. Bacteriol.* 52:323-330.
38. Gustafsson, B. (1948). Germfree rearing of rats. **General** technique. *Acta. Path. Microb. Scand.*, (suppl.). 73:1-130.
39. Hamilton, J.R. and Overall, J.C. Jr. (1978). Synergistic infection with cytomegalovirus and *Pseudomonas aeruginosa* in mice. *J. Infect. Dis.* 137:775-782.
40. Harrison, S.D., Jr. Burdeshaw, J.A., Crosby, R.G., Cusic, A.M. and Denine, E.P. (1978). Hematology and clinical chemistry reference values for C57BL/6X DBA-2F₁ mice. *Cancer Res.* 38:2636-2639.
41. Henderson, J.D. and Titus, J.L. (1968). Hematologic and serum protein values in germfree and conventional mice. *Mayo Clin. Proc.* 43:530-539.
42. Hjima, O.T., Saito, M., Nakayama, K., Kobayashi, S., Matsuno, K. and Nakagawa, M. (1987). Epizootiological studies of *Salmonella typhimurium* infection in guinea-pigs. *Exp. Anim.* 36(1):39-49.
43. Hoerlein, A.B., Adams, C.H. and Meade, R.J. (1956). Hysterectomy to obtain "disease-free" baby pigs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 128:127.
44. Hoffsten, P.E., Hill, C.L. and Klahr, S. (1975). Studies on albuminuria and proteinuria in normal mice and mice with immune complex glomerulonephritis. *J. Lab. Clin. Med.* 86:920-930.

45. Inglis, J.K. (1980). Introduction to laboratory animal. Science and Technology Pergamon Press. Oxford.
46. Jameson, E.W. (1955). A summary of the genera of myobiidae. J. Parasitol. 41:407-416.
47. Jones, J.B., Esters, P.C. and Jordan, A.E. (1972). Proteus mirabilis infection in a mouse colony. JAVMA. 161:661-664.
48. Kagiya, N., Itoh, T., Takakura, A., Yoshimura, M. and Nomura, T. (1987). Microbiological monitoring in inbred mouse foundation stocks in Japan. Exp. Anim. 36(2):135-142.
49. Kagiya, N., Takakura, A. and Itoh, T. (1986). A serological survey on 15 murine pathogens in mice and rats. Exp. Anim. 35(4):531-536.
50. Kang, M.I., Lin, C.H. and Chung, U.I. (1987). Histopathological studies on glomerulonephritis induced by nephrotoxic antiserum in swine. Res. Rept. RDA. 29(1):134-147.
51. Kim, H.C., Roh, J.K. and Lee, Y.S. (1985). Studies on the production of germfree rats by hysterectomy. Korean J. of Lab. Ani. Sci., 1(1):61-65.
52. Kim, M.Y. (1973). The prevalence of ectoparasitic mites on field rodent in endemic area of haemorrhagic fever in Korea (1962-63). Korean Haemorrhagic Fever, 1:80-98.
53. Kirschbaum, A. (1944). Spontaneous glomerulonephritis in mice. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 55:280-281.
54. Kishima, M., Kunigas, C. and Nakagawa, M. (1984). Effect of some immunomodulators on the delayed type hypersensitivity to nonviable Mycoplasma Pulmonis in mice. Jpn. J. Vet. Sci. 46(6):889-891.
55. Kraft, L.M. (1961). Response of the mouse to the virus of epidemic diarrhea of infant mice. Neutralizing antibodies and carrier state Proc. Anim. Care Panel 11, 125-136.
56. Kraft, L.M. (1962 a). Two viruses causing diarrhea in infant mice. In "The Problems of Laboratory Animal Disease" (R.J.C. Harris, ed.) 115-127. Academic Press, New York.
57. Krants, G.W. (1971). A manual of Acarology. Oregon State Univ., Corvallis. pp. 207-282.
58. Kunze, H. (1954). Die Erythropoese Bei Einer Erblichen Anämie Rontgenmutierti Mause. Folia Hematol. 72:392.
59. Küster, E. (1913). Die Gewinnung and züchtung keimfreier säugetiere. Deut. Med. Wschr., 39:1986.
60. Kwon, Y.B., Lim, C.H. and Chung, U.I. (1987). Pathological studies on experimental nephritis I. Histopathological studies on nephritis induced by Candida albicans in rats. Res. Rept. RDA. 29(1):164-182.

61. Lawrence, J.J. (1957). Infection of laboratory mice with *Corynebacterium murium*. *Aust. J.Sci.* 20:147.
62. Lindsey, J.R. and Cassell, G.H. (1973). Experimental *Mycoplasma pulmonis* infection in pathogen-free mice. Models for studying mycoplasmosis of the respiratory tract. *Am. J. pathol.* 72:63-90.
63. Luna, L.G. (1968). Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3rd. ed., McGraw-Hill Book Co., New York.
64. Machii, K., Otsuka, Y., Iwai, H., Ueda, K., Suzuki, E., Saito, M. and Nakagawa, M. (1985). Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in diagnosis of *Mycoplasma pulmonis* infection in rats. *Jpn. J. Vet. Sci.* 47(5):845-848.
65. Magarikuchi, T., Fukuda, T. and Koshimizu, K. (1982). An attempt of eradication of respiratory diseases in breeding mice by sanitary improvement of care. *Exp. Anim.* 31(3):159-164.
66. Matsubara, J., Kamiyama, T., Saito, M. and Nakagawa, M. (1985). Sero-diagnosis of *Mycoplasma pulmonis* infection in mice and rats by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Exp. Anim.* 34(1):49-55.
67. Melby, E.C. Jr. and Altman N.H. (1976). Handbook of laboratory animal science. Cleveland, CRC press, Inc.
68. Minion, F.C., Brown, M.B. and Cassell, G.H. (1984). Identification of cross-reactive antigens between *Mycoplasma pulmonis* and *Mycoplasma arthritidis* Infection and Immunity. 43(1):115-121.
69. Mitruka, B.M. and Rawnsley, H.M. (1981). Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals and humans. 2nd ed., Masson Publishing Inc., New York.
70. Miyakawa, M. (1955). Rearing germfree experimental animals. *Nisshim Igaku* . 42:553.
71. Miyamae, T. (1982). *Corynebacterium kutscheri* invasiveness of the gastrointestinal tract in young mice. *Exp. Anim.* 31(3):189-194.
72. Moore and A.F. (1974). Biological values for various laboratory animals. *Lab. Animal Digest* 9:41.
73. Nakagawa, M., Saito, M., Suzuki, E., Nakayama, K., Matsubara, J. and Matsuno, K. (1986). A survey of *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Salmonella* spp, *Bordetella Bronchiseptica* and Sendai virus in guinea-pig colonies in Japan. *Exp. Anim.* 35(4):517-520.
74. Namioka, S. (1968). Specific-pathogen-free swine. *Jap. Vet. Med. Assoc.*, 21:300.

75. Needham, J.R. (1978). The control of mange mites (*Myocoptes musculinus* and *Myobia musculi*) in a conventional mouse colony. *J. Inst. Anim. Tech.* 29:1-15.
76. Nelson, W.A., Clifford, C.M. Bell, J.F. and Hestekin, B. (1972). *Polyplax serrata* : Histopathology of the skin of louse infested mice. *Exp. parasitol.* 31:194-202.
77. Nomura G, Tamura M, Mirohashi K and Nagasi S. (1975). Comparison constituents of blood of several experimental animals with human blood. *Experimental Animals (Tokyo)*. 22:321.
78. Nuttal, G.H.F. and Thierfelder, H. (1985). Thierisches leben ohne baktein im verdauungskanal. *Z. Phys. Chem.*, 21:109.
79. Park, D.S. (1975). Studies on establishment of SPF chicken flocks and SPF egg production. *Research Reports, ORD.* 17(V).
80. Parker, S.C., Hercules, J.I. and von Kaenel, E. (1967). The prevalence of some indigenous viruses of rat and hamster breeder colonies. *Abst. 67th Ann. Meeting Amer. Soc. Microbiol.* 163.
81. Parker, J.C., Tennant, R.W., and T.G. (1965). Virus studies with germ-free mice I. Preparation of serologic diagnostic reagents and survey of germfree and monocontaminated mice for indigenous murine viruses. *J. Natl. Cancer Inst.* 34:371-380.
82. Parker, J.C., Tennant, R.W., and Ward, T.G. (1966). Prevalence of viruses in mouse colonies. *Natl. Cancer Inst. Monogr.* No. 20, 25-36.
83. Reyniers, J.A. (1943). *Microbiological and germfree techniques ; Their application to experimental biology and medicine.* C.C. Thomas. Edt. , Illinois.
84. Reyniers, J.A. (1946). Testing of germfree animals for contamination *J. Bact.*, 52:399.
85. Reyniers, J.A. Trexler, D.C. and Errin., R.F. (1946). Rearing germfree albino rats. *Lobund Reports* . 1:1-84.
86. Reyniers, J.A., Trexler, D.C., Ervin, R.F., Wagner, M., Luckey, T.D. and Gordon, H.A. (1949). A complete life cycle in the germfree chick. *Nature*, 163:67.
87. Russell, E.S. and Fondal, E. (1951). Quantitative analysis of the normal and four alternative degrees of an inherited macrocytic anemia in the house mouse I. Number and size of erythrocytes. *Blood.* 6:892.
88. Saito, M., Nakagawa, M., Muto, T. and Imaizumi, K. (1978). Strain difference of mouse in susceptibility to *Mycoplasma pulmonis* infection, *Jpn. J. Vet. Sci.* 40:697-705.

89. Saito, M., Nakayama, K. Muto, T. and Nakagawa, M. (1982). Effects of gaseous ammonia on *Mycoplasma pulmonis* infection in mice and rats. *Exp. Anim.* 31(3):203-206.
90. Schiff, L. J., Barbera, P.W. Port, C.S., Yamashiroya, H.M., Scheiffer, A.M. and Poiley, S.M. (1972). enteropathogenic *Escherichia coli* infection : Increasing awareness of a problem in laboratory animals *Lab. Anim. Sci.* 22:705-708.
91. Schindler, L., Brucher, J. and Kirchner, H. (1984). Protection of mice against infection with mouse Hepatitis virus Type 3 by injection of silica. *Immunobiol.* 166,62-71.
92. Schneemilch, H.D. (1976). A naturally acquired infection of laboratory mice with *Klebsiella capsulae* type-6. *Lab. Ani*, 10:305-310.
93. Seamer, J. (1987). Some virus infections of mice. in "pathology of laboratory rats and mice", pp 537-567. Blackwell, Oxford.
94. Shimoda, K., Maejima, K. and Urano, T. (1981). *Enterobacter cloacal*, *Serratia marcescens* and *yersinia enterocolotica* in colonies of laboratory mice, rats and rabbits : An attempt of isolation. *Exp. Anim.* 30(4):503-505.
95. Shindoda, M., Tamura, H., Maejama, K and S.Watarai (1980). Reproductive ability of germfree ICR female mice *Exp. Anim.* 29(1);55-59.
96. Soulsby, E.J.L. (1982). *Helminths. Arthropods and protozoa of Domesticated Animals* (7th ed.) Lea and Febiger. Philadelphia. pp444-497.
97. Stoenner, H.G. (1957). The sylvatic and ecological aspects of leptospirosis, *Vet. Med.* 52:553-555.
98. Sundara, P and Kashiwazaki, M. (1973). Drug resistance and detection of R factors among fecal *Escherichia coli* strains isolated from laboratory animals. *Exp. Anim.* 22(1):1-4.
99. Suzuki, E., Matsubara, J., Saito, M., Muto, T., Nakagawa, M. and Imaizumi, K. (1982). Serological survey of laboratory rodents for infection with sendai virus, Mouse Hepatitis virus, Reovirus type 3 and mouse Adenovirus. *Japan.J.Med. Sci. Biol.* 35:249-254.
100. Suzuki, E., Mochida, K., Takayama, S., Saitoh, M. Orikasa, M. and Nakagawa, M. (1986). Serological surveys of *Corynebacterium Kutscheri* infection in mice and rats. *Exp. Anim.* 35(4):485-489.
101. Tomita, S., Hayao, T., Sawada, T. and Jun-ichiro Hayakawa (1978). Reproductive life span and reproductive performance in SPF C3H Mice: The onset of reproductive life and production efficiency. *Exp. Anim.* 27(4):399-404.

102. Toriumim W., Kawamura, S. and Fujiwara, K. (1986). Application of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detection of antibodies against Tyzzer's organism (*Bacillus piliformis*) in mice, *Jpn. J.Vet. Sci.* 48(6):1241-1244.
103. Trahan, C.J., Stephenson, E.H., Ezzell, J.W. and Mitchell, W.C.(1987). Airborne-induced experimental *Bordetella bronchiseptica* pneumonia in strain 13 guineapigs. *Lab. Anim.* 21:226-232.
104. Trexler, P.C. (1959). Progress report on the use of plastics in germfree equipment. *Proc. Anim. Care Panel*, 9:119.
105. Trexler, P.C. (1968). Equipment design and management. II. Transport of germfree animals and current developments in equipment design. In the *Germfree Animal in Research*. Coats Editor, Academic Press. N.Y. and London.
106. Trevor B Poole (1987). *The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals*. 6th ed. Longman Scientific & Technical. England.
107. Tuffery, A.A. (1966). Urogenital lesions in laboratory mice. *J. Pathol. Bacteriol.* 9:301-309.
108. Whitehair, C.L., Waxler, G.L., Trexler, P.C. and Hankes, R.F. (1961). Techniques for rearing germfree pigs. *J. Anim. Sci.*, 20:955.
109. Williams, J.S., Neroney, F.C., Hutt, G., et al(1966). Serum chemical components in mice determined by the use of ultra-micro techniques, *J. Appl. Physiol.* 21:1026.
110. Yoda, H., Nakayama, K. and Nakagawa, M. (1982). Experimental infection of *Bordetella bronchiseptica* to rabbits. *Exp. Anim.* 31(2):113-118.
111. Young, G.A., Underdahl, N.R. and Hinz, R.W. (1955). Procurement of baby pigs by hysterectomy. *Am. J. Vet. Res.* 16:123.
112. Yunker, C.E. (1973). In parasite of Laboratory Animals (Flynn. R.J., ed.) Iowa State Univ. Press. Ames. Iowa. pp425-492.
113. 家畜血液圖說 編集委員會.(1983). 家畜血液圖說 再版, チワサン出版社, 東京.
114. 姜英培.(1987). 흰생쥐에서分離된 쥐毛喰응애 (*Myocoptes musculinus*)에 관한形態 및生態觀察. 大韓獸醫學會誌, 27: 77~83.
115. 姜英培, 金相義, 金東成.(1987). 흰생쥐에서分離된大腸蟯蟲과盲腸蟯蟲에 관한研究. 大韓獸醫學會誌, 27: 85~91.

116. 金萬泳, 禹俊植.(1973). 流行性 出血熱에 對한 昆蟲學的 調査 (第三報). 한국형 출혈열. 1 : 69 ~ 79.
117. 金明海.(1984). 家佳性 쥐의 外部 寄生蟲에 關하여. 과학진 출판자료, pp.25.
118. 猪貴義.(1982). 實驗動物學. 養賢堂. 東京.
119. 朴英在, 金萬洙.(1974). 韓國型出血熱 (流行性 出血熱)에 對한 昆蟲學的 調査(第四報). 대한군진의학협회지, 5 : 84 ~ 90.
120. 文武洪.(1979). 國內 Mouse 에 寄生하는 Mite (Myobiidae)와 Linstrophoridae)에 對하여 大韓獸醫學會誌, 19 : 53 ~ 56.
121. 朴根植.(1986). 農村振興廳 家畜衛生研究所. 無菌實驗動物 育成에 關한 研究. 特定研究開發事業 研究報告書. 科學技術處, 서울. p.72.
122. 福井正信.(1965). 家畜病害としてのダニ類. ダニ類 (佐佐學 編). 東京大 出版會, 東京, pp. 359 ~ 367.
123. 福井正信, 安達二郎. (1967). 合成飼料投與による *Syphacia obvelata* free mouse colony の作成に關する研究. 寄生蟲誌, 16 : 86.
124. 松崎沙和子.(1961). 마우스에寄生하는 Myobiidae 科의 닌에 대해서. 衛生動物, 12 : 1 ~ 7.
125. 宿田幸男.(1978). 新しい無菌마우스繁殖集團의 確立. 實驗動物, 27 : 271 ~ 281.
126. 神谷正男, 大林正土.(1985). 線蟲病, 實驗動物感染病學(藤原公策 編). Soft Science Inc., 東京, pp.325 ~ 343.
127. 奥祐三郎, 神谷正男.(1985). 닌類. 實驗動物感染病學 (藤原公策 編). Soft Science Inc., 東京, pp.345 ~ 364.
128. 張斗煥, 徐鈺洙, 鄭昌國, 成在基.(1976). 實驗動物의 疾病調査. 1. 寄生蟲의 感染實態. 서울大獸醫大論文集, 1 : 85 ~ 113.

129. 張斗煥, 趙英雄.(1981). 國內 實驗動物의 健康實態調査 3. 흰쥐와 생쥐에 感染된 原蟲類와 外部寄生蟲의 檢索. 서울大獸醫大 論文集, 6 : 197 ~ 204.
130. 田中英文.(1979). 實驗動物の寄生蟲. 獸醫臨床寄生蟲學, 文永堂,東京 pp.575 ~ 634.
131. 田中英文, 大島慧, 藤波不二雄.(1974). 市販實驗用小哺乳動物の寄生蟲檢査成績. 實驗動物, 23 : 15 ~ 30.
132. 鄭喜泳.(1973). 韓國産 Trombiculid mites 에 관한 研究. 한국형출혈열, 1 : 99 ~ 109.
133. 中田圭亮.(1976). 札幌防風林における野鼠ダニの季節消長. 衛生動物, 27 : 189 ~ 194.
134. 板垣四郎, 板垣 博.(1970). 家畜寄生蟲學 (21 版) 金原出版社, 東京. pp.345 ~ 364.

實驗動物 (마우스) 의 品質管理 指針

1. 飼育環境條件

가. 飼育室 環境條件

飼育室의 環境은 表 1 에서와 같은 條件을 갖추어야 한다.

表 1. 實驗動物 (마우스) 飼育室의 環境條件

區 分	條 件	備 考
溫 度	24 ± 1 °C	여 름 철
	23 ± 1 °C	겨 울 철
濕 度	55 ± 5 %	
照 明	300 ~ 500 lux	
騷 音	50 phone 以下	
氣 流 速 度	13 ~ 18 / sec	
換 氣 量	14 ~ 18 回 / hr	
臭 氣	20 ppm 以下	암 모 니 아 (動物滿室時)
氣 壓	清淨廊下 < 飼育室 1 ~ 3 mm Hg 飼育室 > 汚染廊下 3 ~ 5 mm Hg	
塵 埃	10,000 以下	動 物 不 在 時
細 菌	3 以下	空 中 浮 遊 細 菌 數

나. 飼育施設 (Barrier) 과 運用

實驗動物 (마우스) 의 飼育施設 (barrier) 은 表 2 와 같이 指針에 따라 運用하여야 한다.

表 2 . 實驗動物 (마우스) 飼育施設의 運用指針

區 分	運 用 指 針
○ 사 랫	바리아內에 들어가는 사람은 모두 다음의 手續을 밟는다 ○ 生産施設 : 脫衣 → 샤워 → 滅菌衣類의 着用 → 手指消毒 (하이아민 10 倍液 등) → 飼育室 ○ 實驗施設 : 脫衣 → 手指洗滌 (藥用비누液) → 滅菌衣類着用 → 에어샤워 → 超音波手指洗滌消毒 (하이아민 100 倍液 등) → 飼育室 ○ " (清淨作業室側) : 生産施設과 같음
○ 衣 類	바리아內에서 着用하는 모든 衣類는 아래의 方法으로 實施한다. - 高壓滅菌 - EO (Ethylene Oxide) 가스 噴霧法
○ 空 氣	○ Filter 에 依해서 除菌實施 ○ 更衣室이나 샤워室에는 紫外線殺菌灯設置
○ 물	綠膿菌의 防除에 留意하여야 하며 病原體가 飲水中에 增殖치 않도록 다음의 方法으로 消毒 및 除菌한다. - 高壓滅菌 - 紫外線殺菌灯 - 殺菌劑

區 分	運 用 指 針
○ 給水瓶	<p>아래의 방법으로 消毒한다</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 鹽素鹽酸水 (次亞鹽素酸나트륨液) ○ 110 ℃에서 20分間 高壓滅菌 消毒
○ 飼料	<p>飼料를 麻袋에 넣어 表面을 消毒藥으로 噴霧消毒後 120 ℃에서 20分間 滅菌한 다음 20分間 乾燥시킴</p>
○ 깔짚과 飼育箱 (케이지)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 깔짚 (Chips) 麻袋에 넣어 表面을 消毒藥으로 噴霧消毒後 高壓滅 菌하여 乾燥시킴 ○ 飼育箱 120 ℃에서 30分間 滅菌後 40分間 乾燥시킴
○ 實驗材料	<p>패스 박스에서 EO가스 滅菌하여 동 박스에 搬入시킴</p>
○ 施設	<ul style="list-style-type: none"> ○ 施設全體消毒時 : formalin 使用 ○ 動物飼育時 施設一部分의 飼育室을 消毒時 : 實驗動物을 다른곳으로 옮기고 하이아민 100倍液으로 噴霧消毒, 室內를 1時間 乾燥시킨 後 마이크로린 250倍液으 로 바닥을 消拭消毒하고 4日間 室內를 乾燥시킨 다음 病原菌 및 그램陰性桿菌이 存在치 않음을 確 認後 實驗動物을 再 搬入시킴 ○ 日常 作業終了後 : 마이크로린液으로 床面에 噴霧 또 는 消拭消毒을 實施함

2. 實驗動物 (마우스) 品質管理

가. 飼育環境 微生物檢定

飼育環境의 微生物檢査는 表3과 같이 實施한다.

表 3 . 微生物 檢査基準

區 分	方 法	備 考
○ 落下細菌		
— 檢査回數	定期的 檢査	격 월 간
— 對象細菌		
· 總細菌數	Plate count agar plate 法	
· 포도상구균	Staphylococcus No 110 agar plate 法	
· 腸內細菌	Ma cConkey agar plate 法	
· 眞菌類	Sabouraud - dextrose agar plate 法	
○ 飲水 및 用水		
— 檢査回數	定期檢査	격 월 간
— 對象細菌		
總菌數	Plate count agar plate 法	
綠膿菌	Nutrient agar plate 法	

나. 實驗動物 (마우스) 個體에 대한 微生物檢定

個體에 대한 微生物 感染여부는 表4 와 같은 疾病에 대한 檢査를 年4回 實施하여야 하며 도태동물 (10 ~ 12 주령)에 대하여 實施한다.

表4. 血清 및 培養檢査

原 因 體	檢 査 內 容		
	血清檢査	培養檢査	鏡 檢
○ 바 이 러 스			
- HVJ	○	-	-
- MHV	○	-	-
○ 細 菌			
- E. coli 0115acik (B)	-	○	-
- Mycoplasma pulmonis	○	○	-
- Corynebacterium kutscheri	○	○	-
- Bordetella bronchiseptica	○	○	-
- Salmonella typhimurium	○	○	-
- Tyzzer's disease	○	-	-
- Pseudomonas aeruginosa	-	○	-
- Straphylococcus aureus	-	○	-
○ 寄 生 蟲			
Pin worm (Giardia muris)	-	-	○
Spirochete muris	-	-	○

다. 對象檢體 및 檢體件數

1) 對象檢體

同一한 實驗動物飼育室에서 1개월이상 飼育한 成熟實驗動物 (마우스) 生産集團에서는 淘汰된 母畜이 適當함.

2) 對象檢體數

實驗動物 (마우스) 의 微生物모니터링時 檢體數는 表 5에 依한다.

表 5 . 微生物모니터링에 있어서 必要한 檢體數 基準

感 染 率 * (%)	檢 體 數 **		
	99 % ***	95 %	90 %
90	2	2	1
80	3	2	2
70	4	3	2
60	5	4	3
50	7	5	4
40	9	6	5
30	13	9	7
20	21	14	11
10	44	29	22

* 室內에서의 感染個體의 占有比率

** 1室 100수 이상

*** 感染個體의 檢出確率

라. 마우스微生物檢定過程

公認된 마우스의 微生物學的 모니타링內容과 檢査遂行過程은 다음 그림 1 과 같다.

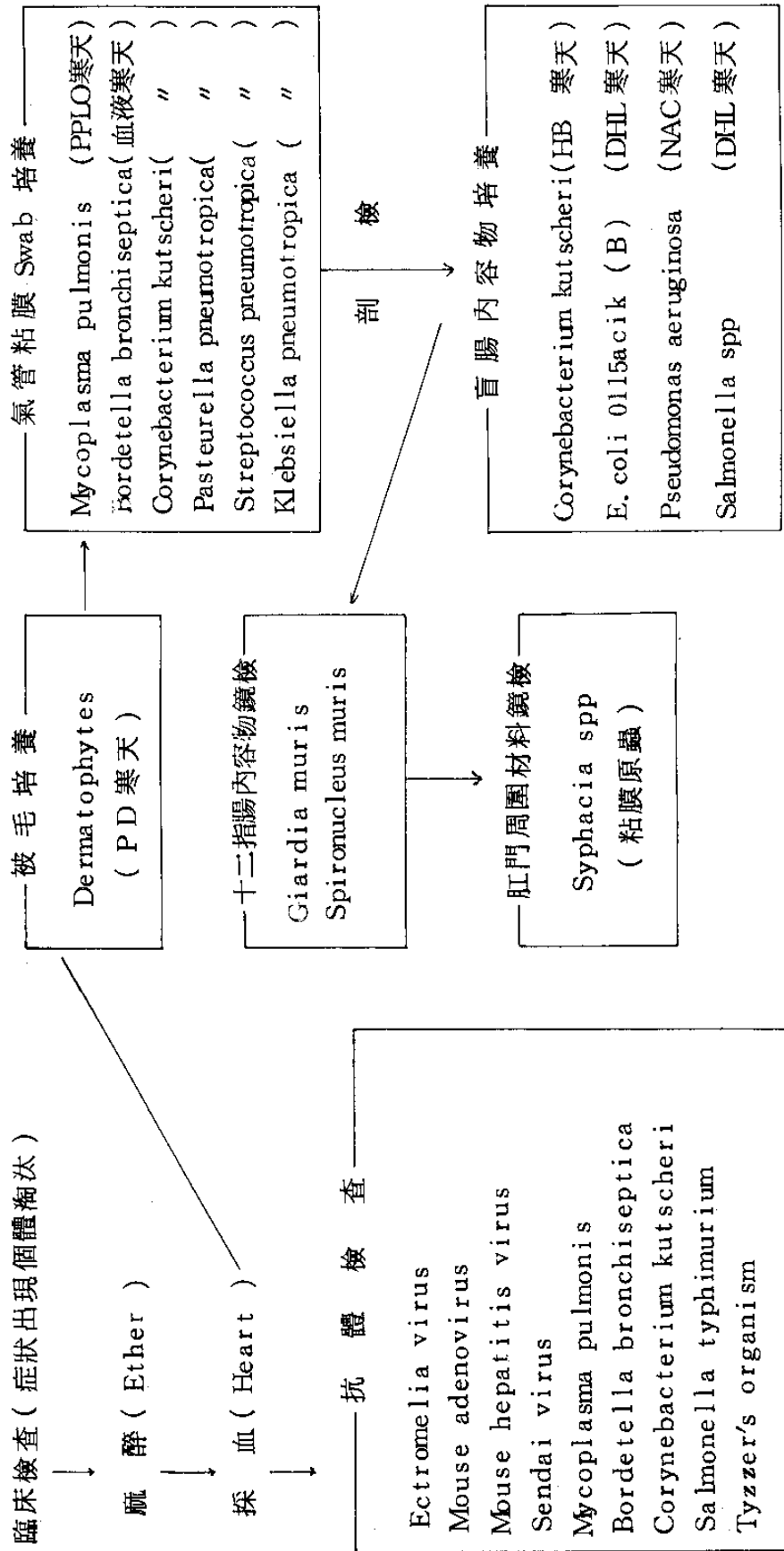


그림 1. 마우스微生物學的 檢査順序

마. 마우스의 주요 감염병과 임상증상 및 剖檢所見
 實驗動物(마우스)의 주요 감염병의 臨床症狀과 剖檢所見을 要約하면 表 6 과 같다.

表 6. 마우스의 주요 感染病과 症狀

感 染 病	病 原 體	臨 床 症 床	剖 檢 所 見
Sendai virus 病 마우스肝炎	Sendai Virus (HVJ) 마우스肝炎 virus (MHV)	呼吸困難, 削瘦 어린마우스의泄瀉 神經症狀 Nude 마우스의 消耗症狀	師의 硬變 및 肝 變化 肝臟表面에 白色點狀 壞死散在
肺Mycoplasma 病 Salmonella 菌症 마우스코리네菌病	Mycoplasma pulmonis Salmonella spp Corynebacterium kutscheri	鼻汁, 呼吸困難, 斜頸 不活發, 軟便 - 下痢, 急死 削瘦, 皮膚病, 下痢, 呼吸 困難, 關節腫脹	肺表面凸凹, 氣管粘液貯留 腸間膜淋巴節 및 脾臟腫大 脾臟 및 肝臟에 凹形 의 白斑王壞死 皮膚 및 關節에 化膿巢形成
Tyzzers 病	Bacillus piliformis	下痢, 體重減少	肝表面에 白色點狀壞死 斑散在腸管充血
黃 白 癬	Trichophyton spp. Microsporium spp.	脫毛, 痂皮形成	內部臟器에 病變없음
疥 癬 蟲 病	Myobia musculi	脫毛, 皮膚의 糜爛, 潰瘍	內部臟器에 病變없음

注 意

1. 이 報告書는 科學技術處에서 施行한 特定研究開發 事業의 研究報告書이다.
2. 이 研究開發 內容을 對外的으로 發表할 때에는 반드시 科學技術處에서 施行한 特定研究開發 事業의 研究結果임을 밝혀야 한다.