

실험동물시설의 살균, 멸균, 소독의 실제

집필자/(주)야쿠르트본사중앙연구소
주임연구원/Takahasi Dokutaryou

번 역/LG엔지니어링(주)설비사업부
이 춘 삼 / 부 장

1. 머릿말

오늘날 실험동물 과학분야에 있어서는 신뢰성이 높은 동물실험의 성과를 얻기 위해서 안정된 환경아래에서 양질의 실험동물을 이용한 연구가 이루어져야 한다. 또한, 동물복지의 관점에서도 실험동물의 올바른 이용방법이 정립되어야 하며, 의약품의 안전성 확보를 위한 시험에 있어서의 GLP 규제와 같은 동물실험의 내용을 엄격히 감시하는 시스템도 갖추어져야 한다.

실험동물을 다루기 위한 환경은 실험중의 동물을 유지하는 장소, 즉 실험동물시설 같은 것들이 여기에 해당된다 하겠다. 실험동물시설에 대한 컨트롤 대상이 되는 환경적 요인은 표 1과 같으며, 이 중에서 유해미생물은 실험동물에 악영향을 미쳐 실험성적을 저하시키는 요인이 된다. 이러한 것들을 방제(防除)하는 것이 실험동물시설을 운용하는데 중요한 과제가 되는 것이다. 여기에서는 현재 실험동물시설에 있어서 미생물컨트롤 방법에 있어서 살균작업의 실제적인 부분에 대하여

이야기하고자 한다.

표 1. 실험동물 주위의 환경요인

물리·화학적 요인	기 후 인 자	온도·습도 풍량·풍속·기압 소음·진동 조명 천기 진준
	주 거 인 자	사육용 gage·송부 급취기·급수기
생물적 요인	영양인자	사료·물
	미 생 물 인 자	유해미생물 상재미생물
	이 종 동 물 인 자	사 람 동물종
	동 종 동 물 인 자	수용밀도 사회성

2. 실험동물시설의 미생물 컨트롤

실험동물시설에 있어서 미생물인자(因子)의 컨트롤에 있어서 기본적으로 고려되어야 할 사항으로

- ① 시설에서의 유해미생물의 침입을 방지한다.
- ② 만약에 침입하였을 경우에는 시설내에 유해미생물이 오랜시간 정체되는 것을 방지하여야 한다.
- ③ 시설내에 침입한 유해미생물을 빠른 시간내에 제거되어야 한다.

여기에 따라 시설내에 사육하는 실험동물이 오염되는 것을 방지하는 것이 실험동물 위생관리라 할 수 있다.

실험동물시설에서의 미생물 컨트롤은 그림 1에서 보는 것처럼 3가지 방법이 있다.

● Open System(이하 OS로 약칭함)은 동물을 수용하기 위한 건물의 구조나 설비면에 있어서도 특별한 사양으로 설계되어 있지 않다. 시설의 관리·운용에 대해서는 일상적으로 가능한 범위에서의 위생관리가 이루어져야 한다. 이것은 일반적으로 동물사육실에 있어서 시설자체가 미생물 컨트롤의 등급으로 다르게 볼 수 있기 때문이다.

이러한 사육 시스템은 실험동물이나 사람에서의 감염병 발생의 위험성이 높으나, 여러 종류의 동물을 수용하는 동물실험이나 사육 관리가 간단하므로 많이 이용되고 있는 실정이다. 이 때문에 시설의 구조나 실험동물위생

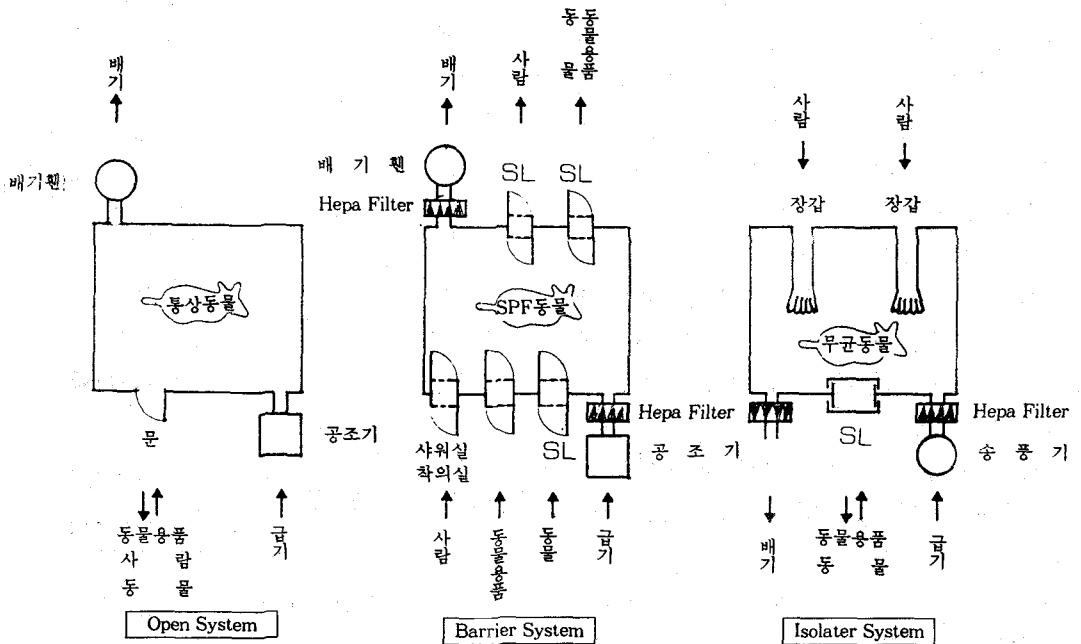


그림 1 실험동물의 미생물 컨트롤

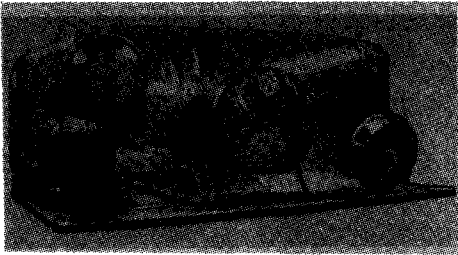


사진 1 Isolater

관리면에서 공부해야 할 점이 많다 하겠다.

● Barrier System(이하 BS로 약칭함)은 사육실과 외부와의 사이에 Barrier(벽)을 설치하여 기밀성이 높은 건물과 청정한 공기를 공급할 수 있는 공조설비를 준비하여, 유해미생물의 침입을 근본적으로 처음부터 완벽하게 방지하기 위한 위생관리의 수법을 준비하여 실험동물을 유지하는 방식이다. 이러한 사육실은 실험동물의 유해미생물에 의한 오염을 방지하여 실험동물의 번식이나 장기간의 동물실험에 매우 유용하게 이용될 수 있는 시설이라 하겠다.

● Isolater System(이하 IS로 약칭함)은 무균환경이 유지가능한 장치(사진 1) 속에서 동물을 유지하여 실험을 행하는 방식이다.

이 시스템은 미생물인자의 컨트롤에는 가장 적합한 방식이기는 하나, 무균조작에 수련을 요하며 한편으로는 대량의 동물유지가 곤란한 것이 흠이며, 사용목적이 한정되어 있는 것이기도 하다.

3. BARRIER SYSTEM의 동물사육실

실험동물시설에서 사육되고 있는 동물이 유해미생물에 의하여 오염되는 것을 방지하기

위하여 BS사육실에는 다음과 같은 사항이 고려되어져야 한다.

- 건축부분에 관련하여서는, 사육실을 중심으로 하여 양측에 복도를 설치하여 한쪽방향의 복도에는 미사용물품이나 동물들이 지입할 수 있도록 하고, 사람의 입실등의 전용복도(청정복도)와 함께, 다른 한쪽 방향 복도를 사용하는 물품이나 실험에 사용하는 동물의 반출, 사람의 퇴실등의 전용복도(오염복도)로 하는 실배치가 일반적이다. 즉, 실험의 전작업, 후작업에 해당하는 실배치가 타당하다 하겠다.

여기서, 외부로부터 청정복도까지의 동물용품, 동물, 사람의 여러가지의 동선상에서의 살균이 가능한 장소(barrier)가 설치되어야 한다.(그림 2 참조)

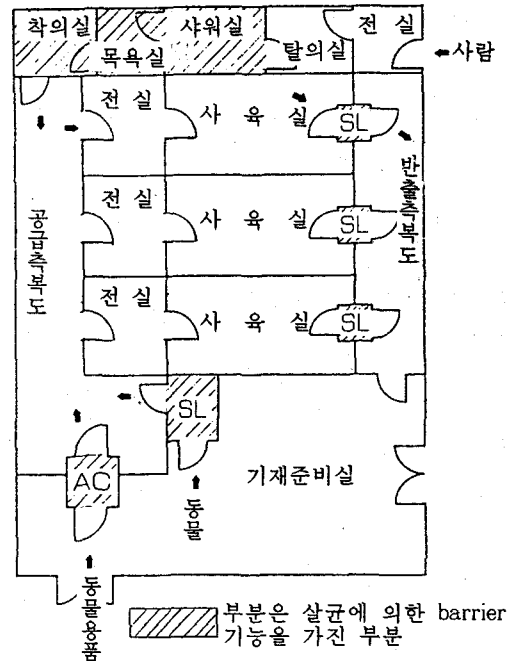


그림 2 Barrier System 동물사육실

- 설비부분에 관련하여서는 공조설비의 급기 계통에 멸균장치(Barrier)를 설치하고,
- 전기부분의 전기설비에는 외부와 접속하는 배관이나 기구등을 밀봉(Barrier)를 실시 하며
- 급수설비에는 약제첨가장치나 제균장치(Barrier)가 있어야 하며
- 배수설비에는 트랩(Barrier)이나 물이오래 정체되는것을 방지하는 장치가 설치되어야 한다.

한편으로, 실험동물시설의 관리·운용에 관해서는, 동물용품, 동물, 사람, 시험물질은 일정의 동선(그림 3 참조)에 따라 이동하고, 청정지역(청정복도)에 들어가기 직전에 가능한 살균을 하고 들어가야 한다.

기타 시설전체에는 일상적으로 오염되기 쉬운 장소나 동물용품의 정기적인 소독도 필요하다.

이러한 실험동물시설을 정상적인 기능을 발휘하기 위해서는 공사부분과 설계부분 양면에서의 미생물컨트롤이 필요하다.

이러하기 위해서는 실험동물의 위생관리를 제일주의로 하여 효율적인 살균작업의 실시가 요구된다.

살균에는 전체적인 미생물을 죽이기 위한 멸균과 병원미생물의 종자(원균)를 죽이기 위한 소독이 있다. 이러한 것을 행하기 위해서는 미생물학적 지식과 기술을 습득하는 것에 따라 확실하게 실시하지 않으면 높은 효과는 기대하기 어렵게 된다.

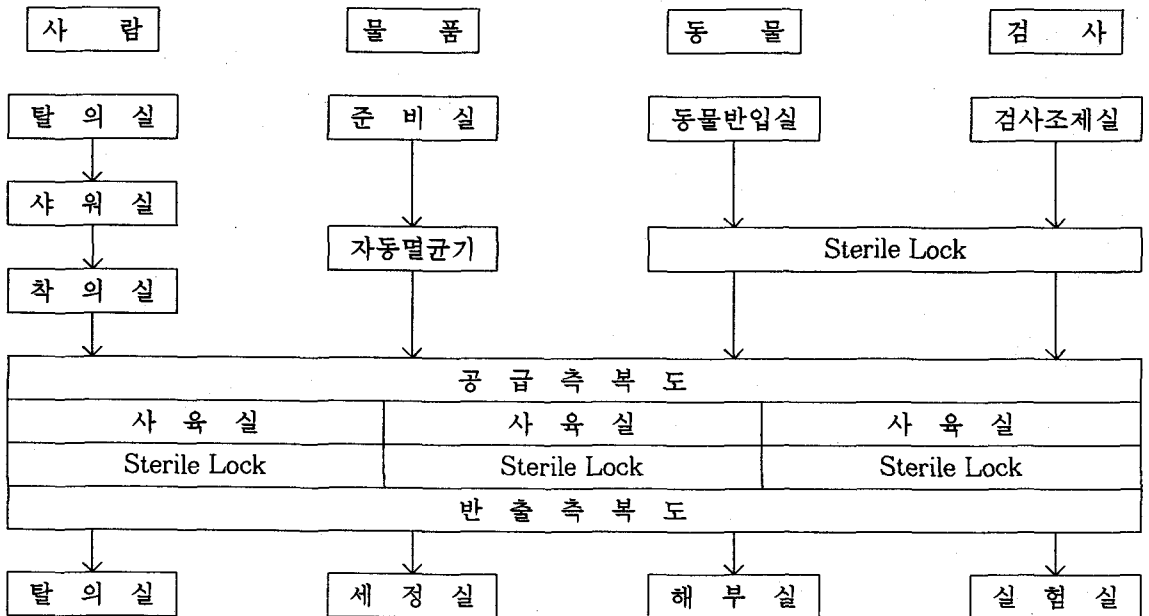


그림 3 Barrier System 동물사육실의 동선

실험동물시설의 미생물컨트롤을 하는 경우의 중요한 작업에 있어서 세정, 청소가 있다.

시설전체를 상시 청결하게 보전하는 것은 유해미생물의 오염원을 줄임과 살균효과를 높이는데 특별한 관계가 있는 것이다. 본고에 기술하는 살균작업은 먼저 충분한 세정과 청소를 실시하는 것을 전제로 하는 것을 이해해 주기를 바란다.

4. 건물·설비에 관련한 살균

처음 실험동물시설의 완성시나 동물실험이 끝난후에 동물들이 살지 않는(사육되지 않는 상태) 상태의 청정지역공간(그림 4)의 살균에는 포르말린으로 훈증을 실시한다.

훈증효과(燻蒸效果)를 높이기위하여 사전에 청소 또는 약제에 의한 방식에 따라 순서에 의하여 실시하는 것을 고려하여야 한다 (표 2 참조).

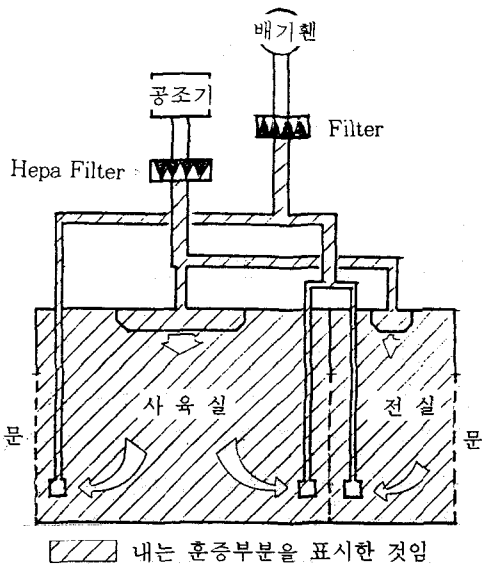


그림 4 실험동물시설의 포르말린 훈증

표 2. 동물사육실(빈방)의 살균작업

구분	항 목	작 업 내 용
① 청 소	진애제거	* 대형 청소기를 이용하여 먼지를 제거한다.
	세 정	* 천정, 벽, 바닥, 문, 창문, 설비 등을 물로 충분히 세척한다. * 오물이 떨어져 있는 부분은 중성세제를 사용하여 세척한다.
② 살 균	소 독	* 분무기를 이용하여 약액을 살포한다.
	훈 증	* 포르말린 훈증대상의 실내에 문이나 창문이 있는 경우 틈새를 잘 막는다. * 포르말린 가스를 발생시킨다. * 즉시 사람은 실외밖으로 나간다. * 출입문틈이나 공조용 급기구를 가스가 새어나오지 않도록 잘 막는다. * 24~48시간 방치한다.
③ 환 기	환 기	* 공조기를 운전하여 환기를 시킨다.
	소 독	* 포르말린 가스 발생용기를 밖으로 내보낸다. * 약액으로 바닥이나 기재에 묻은 오염부분을 닦아낸다.
④ 검 사	세균검사	* 실내의 바닥에 배지를 넣어서 샤레를 세우고 30분간 개방한다. * 샤레를 배양시 Colony를 수개 채취한다. * 멸균수를 적신 가제로 일정범위의 벽면을 닦는다. * 가제를 배지속에 배양하여 세균증식의 유무를 확인한다. * Colony에서 분리한 균이나 배지중에서 증식한 균의 상태를 조사한다.

감염동물 사육실이나 오염된 사육실의 배기계통의 필터참바와 덕트의 살균에도 포르말린 훈증이 필요하다.

포르말린 훈증방법은 먼저 대상이 되는 실내의 청소, 세정과 문이나 창 등의 틈새간의 밀폐, 필요에 따라서 강제배기용 팬이나 호스를 설치한다. 그 다음은 적당한 크기의 용기에 실내공간용적 1m³당 포르말린 20ml와 물 20ml를 넣은 후에 과망간갈륨을 투입 폼알데히드 가스를 발생시킨다.

가스발생시에는 끓기 때문에 넘치는 경우가 있으므로 조금 큰 용기를 준비하는 것이 좋다. 필자의 시설에는 사진 2와 같은 용기를 사용하였다.

과망간산갈륨을 투입하는 직후에 가스가 발생하는 위험이 있으므로 사전에 퇴실용 통로를 확보해 두는 것이 바람직하다 하겠다.

사람이 실외로 나간것을 확인한 후에 신속

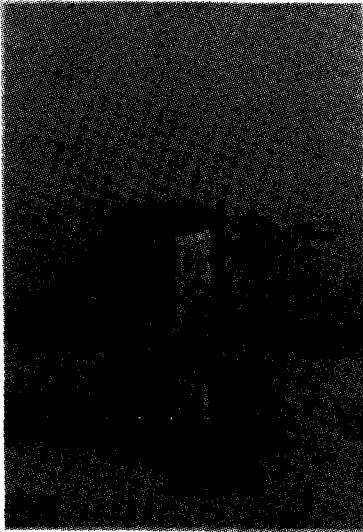


사진 2. 포르말린 훈증장치

하게 문을 잠그고 틈새를 밀봉한다. 하룻밤 방치한 후 공조기를 운전하여 환기를 실시한다. 이 때에 위에서와 같이 강제배기장치를 설치하여 이용하므로써 환기시간이 단축될 수 있다.

폼알데히드가스가 주변에 영향을 끼치지 않는 장소에서 배출시켜야 한다. 이외에 포르말린을 가열증발시키는 전기식 포르말린 가스 발생장치도 사용되고 있다.

동물을 수용하고 있는 사육실의 살균은 작업종료시에 청소후 사육선반이나 실험작업대 등의 비품 및 바닥을 약액으로 닦고, 기타의 청소지역(청정복도, 착의실)이나 샤워실, 탈의실은 퇴실시에는 약액분사식으로 닦는다. 여기에 사용하는 약제의 종류나 농도는 시설마다 틀리므로 명확하게 구분할 수는 없지만 주로 제4암모늄염이나 염소 등을 사용하고 있다.

청정지역에서의 급기는 외기를 고성능필터로 제균하여 공급한다. 고성능필터는 필터 챔버에 장착하기전에 멸균기로 멸균한다. 고성능필터의 전처리로 중성능필터, Pre-Filter를 설치하여 여과성능의 조기저하를 막는 것이 좋다.

5. 동물용품에 관련한 살균

사육기재로 사용되는 케이스, 용기, 급배기, 급수병, 가드홀더 등의 금속이나 플라스틱제품은 세정후 자동멸균기로 120°C 온도로 약 20분간의 멸균을 실시한 후 청정지역에 반입하여야 한다. 가열에 의하여 손상이 가는 기재의 멸균에는 산화에틸렌이 이용된다.

OS사육실에 사용하는 사육기재의 살균에

는 약액의 침적이나 분무로 하는 방법이 있다. 이러한 경우에는 물세척에 의하여 약제를 충분히 제거할 필요가 있다.

사육선반은 대형 자동멸균기(사진 3 참조)를 설치된 시설에서는 케이스를 장착한 상태로 가열멸균이 가능하다. 이러한 시설이외의 시설에는 위에서 말한 바와 같이 동물이 없는 상태의 사육실 소독시에 사육선반을 설치하여 포르말린 훈증하도록 한다.

청정지역에 반입하는 사육자재의 살균은, 사료에는 자동멸균기에 의한 멸균이 통상적이기는 하나, 가열에 의한 사료의 변성이 문제되는 경우에 감마선(γ)선의 조명을 한다. 조사선(照射線)량은 3Mard~5Mard가 적당한 것으로 고려된다. 바닥은 자동멸균기에 121°C 온도로 약 20분간 멸균한 바닥내부에 수증기를 침투시키기 쉽게 하기 위하여 감압식도 이용된다. 동물음료수는 급수병으로 먹

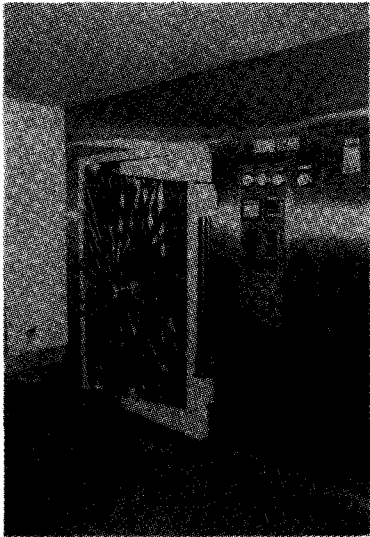


사진 3 대형 자동멸균기

이는 경우에는 자동멸균기로 멸균, 자동급수장치를 사용하여 주는 경우에는 차아염소산나트륨의 첨가에 의한 살균을 한다.

6. 사람에 대한 살균

실험동물시설의 청정지역의 Barrier에 대한 살균작업 가운데 사람에 관한 부분이 가장 불확실성이 높다. 여기에서는 사람의 외부(착의 포함)의 부착에 있어서의 유해미생물을 가능한한 제거하여, 동물사육실 중에 사람에 의하여 동물이 오염기회를 적게하기 위하여 다음과 같은 방법들이 있다.

- (1) 전신세정의 경우 : 사람은 탈의실에서 입은 옷을 전부 탈의 한다. 샤워실에서 온수 샤워와 약용비누로 전신을 세정후 멸균제 타올로 닦는다. 손발을 약액조에 담그었다가 소독한 후 착의실로 이용하여 멸균된 작업복, 모자, 장화를 착용, 소독된 장갑·슬리퍼 등을 신는다. 그 다음에 청정지역에 들어간다.
- (2) 전신피복의 경우 : 사람은 탈의실에 하의 이외의 착의한 것을 탈의한다. 샤워실에서 수족을 온수샤워와 약용비누를 이용하여 세정한다. 손과 발을 약액조에 담그어 소독한 후 착의실로 이동하여 전신을 거의 완전히 덮을 멸균제 작업복을 착용, 소독된 장갑·슬리퍼(사진 4 참조)를 신고 청정지역에 들어간다.

여기서 사용하는 작업복, 모자, 마스크, 신발은 섬유로 만든 주머니 속에 넣어 자동멸균기로 멸균하여 착의실(청정지역)에 반입한다. 장갑, 신발은 착의실내에서 먼저 별도로 약액조에 담그어 소독된 것을 사용한다.

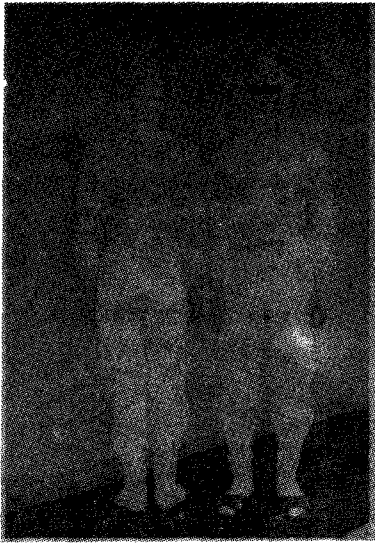


사진 4 청정지역 전용착용의복

그 외에 실험동물 시설의 이용자가 사용하는 의복을 정기적으로 세정약액조에 담그어 소독해 두어야 할 필요가 있다.

7. 동물에 대한 살균

시설내에 동물을 들여오는 경우는 관련동물의 미생물 콘트롤의 등급에 따라 취급하는 방법이 틀리다.

SPF(검사의 대상이 되는 병원미생물이 아님) 동물은 필터가 부착된 수송용 상자에 넣어 동물취급실에 들어가게 된다. 이곳에서 수송상자의 외부를 약액분무에 의하여 소독한다. 이 동물을 BS사육실에 들여보내는 경우는 수송상자 같은 전용용기에 넣는 Sterile Lock(SL로 약칭함)내에 들여보내 약액분무에 따라 SL 내부를 소독 후 청정지역에서부

터 문을 열어서 수송상자를 들여보내 청정복도에 반입한다.

통상동물은 동물취급에 수송상자의 외부(외측)를 소독한 후 검역실에 들어가 일정기간 검역을 한다. 유해미생물의 오염은 없는가를 확인한 동물은 OS 사육실에 반입한다.

검역실은 다른 동물사육실과 떨어져 있는 것이 좋으나, 검역실 내부와 그 주변은 약액에 의한 소독을 하며 감염병 전염의 방지에 노력하여야 한다. 시설로부터 반출하는 동물(죽은 상태의 것)에서 유해미생물의 오염의 의심되는 경우는 약액침적 또는 소각에 따라 살균처리할 필요가 있다.

8. 동물사육장치에 대한 살균

Isolater는 실험동물을 무균환경으로 유지하기 위한 장치이다. 따라서, 장치를 조립한 시점에서 약액분무에 의하여 내부를 완전히 살균한다. Isolater 내부에 동물용품을 들여놓은 경우는 먼저 동물용품을 자동멸균을 한 멸균 함에 슬리브를 준비하여 Sterile Lock에 접속하여, 접속부분이나 슬리브 내부에 약액을 분무하여 완전히 살균한 후 밖으로 나가게 한다. 반입 한 다음 2대의 Isolater 간에 동물이나 동물용품의 이동을 할 때에도 같은 방법으로 한다.

여기서, 일련의 살균 작업에는 과취산이 사용된다. 무균동물 실험시의 태어나 가열되지 않는 실험재료는 싸미사이탈트렌을 통하여 들여 보낸다. 여기에 사용하는 약제는 제4급 암모늄염이다.

자동사육장치는 통상 OS사육실에서 사용되고 있다. 이러한 장치는 설치후의 이동이

표 3. 실험동물의 감염증 검사

방 법	병 원 체	주	토 기
배 양	Dermatophytes	○	
	Bordetella bronchiseptica		○
	Corynebacterium kutscheri		○
	Escherichia coli 0115 a. c : K(B)	○	
	Pasteurella pneumotropica	○	○
	Pseudomonas aeruginosa	○	○
	Salmonella spp.	○	○
	Staphylococcus aureus	○	○
	Streptococcus pneumoniae		○
	Mycoplasma pulmonis	○	○
혈 청 반 응	Corynebacterium kutscheri	○	○
	Salmonella typhimurium	○	○
	Typper's organism	○	○
	Mycoplasma pulmonis	○	○
	Ectromelia virus	○	
	Mouse adenovirus	○	○
	Mouse hepatitis virus	○	○
Sendai virus	○	○	
현 미 경 검 사	Giardia muris	○	○
	Spironucleus muris	○	○
	Syphacia spp.	○	○
부 검 소 견	새로운 변화상태의 인정	○	○
	이 상	○	○

○ 표는 검사를 실시하는 항목임.

곤란하므로 장기간동안에 오물이 부착하여 오염의 원인이 되기 쉬우므로 일상적인 청소와 약액에 의한 소독이 필요하다.

자동급수장치는 노즐을 깔끔하게 한다. 배

관내가 오염되기 쉽다. 정기적으로 분해하여 수조속에서 초음파 세정후 약액의 침적에 따라 소독을 한다. 소독물 세척을 해 약제를 충분히 제거하기 위하여 사용한다. 오바플로워

장치를 설치한다. 일정기간 동안에 배관내의 물을 자주 갈아서 오염빈도를 낮추도록 노력하지 않으면 안된다.

9. 맺음말

실험동물시설의 정상적인 관리·운용의 포인트는 실험동물이나 사람에 대하여 유해미생물 오염을 어떻게 방제(防除)하느냐에 있다. 그러므로, 이러한 것을 위한 멸균이나 소독을 목적으로 한 일련의 살균작업은 매우 중요한 의미를 가지고 있다 하겠다.

이러한 효과는 실험동물의 감염증 검사(표 3 참조)의 성과에 따라 상시 확인을 하지 않으면 안된다. 반면 이러한 살균에 이용되는 각종의 약제는 동물이나 사람에 대하여 직접적으로는 유독작용이, 간접적으로는 자연환경에의 영향을 끼쳐 위해롭다. 이러한 것을 위하여 사용하는 약제에 대하여 충분한 검토를 하지 않으면 안된다. 가능한 한 적지않은 종류나 양의 약제로 충분한 효과가 발휘되도록 살균방법을 갖추기를 바란다. 근래 이 분야에서는 사육실의 살균에 포르말린 훈증의 대체법에 대하여 오존훈증 살균법을 가지고 연구가 정력적으로 이루어지고 있으며 성과보고되고 있다. 이러한 방법의 하나라도 하루빨리 실용화 되기 바란다. 한편 시설면에 대해서도 실험동물의 위생관리가 중요한 시설의 노후화에 의한 성능저하 방지가 용이한 구조, 설비를 가진 실험동물사육의 개발이 필요하다. 필자의 입장으로는 1사육실·1공조방식의 시설을 준비하여 장기적으로 상호 유해 미생물

의 오염이 없는 사육환경을 유지하고 있다.

실험동물시설의 개발연구나 건설계획에 있어서는 시설의 관리·운용에 대하여 깊은 이해를 바란다. 참고문헌 1)은 이러한 것을 위하여 필히 읽어야 할 전문서이다.

- 참고 문 헌 -

- 1) 전도일숙타 : 실험동물 위생관리를 위한 소독과 멸균, 소프트사이언스사 (1980).
- 2) 전학가웅감수 : 실험동물학, 조창서점 (1991).
- 3) 홍수. 계, 전도일숙 편집, 속의약품의 개발 제1권, 실험동물의 사육과 이용, 광천서점, (1991).
- 4) 일본건축학회편 : 실험동물시설의 설계, 창국사, (1989).
- 5) 산내충평 : 실험동물의 환경과 관리·출판과학 총합연구소, 1985.
- 6) 초전일타감수 : Biological Clean Room의 설계와 유지관리·환경제어기술, Soft 기연출판부, (1986).
- 7) 번 감미타 : 실험동물시설 위생관리를 위한 오존 훈증살균법의 유효성·실험동물 4, P.181, 1992.

필 자 소 개

Takahasi Dokutaryou. : 현재 (주)야쿠르트 본사 중앙연구소 수석연구원.