

Chapter 4.

실험동물 사육 취급 및 관리

식품생명과학부/영양생화학실험
이 혜 련



인제대학교
INJE UNIVERSITY

목차

1. 성별 판정
2. 개체식별
3. 보정
4. 투여
5. 채혈
6. 마취
7. 안락사

동물실험의 적절한 실시 요령

● 신뢰성과 재현성 확보

1. 동물의 선정

- 실험목적에 적합한 동물 선정(**실험동물 규격화, 유전적으로 균질화**)

2. 적절한 사육관리

- 설정된 **환경조건** 하에서 사육하고 충분한 **영양분**을 급여하고, **감염**의 방지에 노력하며, 엄격히 규제된 사육환경과 표준화된 시설에서 사육

3. 실험 담당자

- 각 실험행위를 분담하여 담당 책임자를 두고, 계획에 따라 실시하도록

4. 동물개체의 식별

- 동물의 개체식별을 완벽하게 실시

5. 기록

- 실험결과에 영양을 미친다고 생각되는 사항에 관하여 상세하게 기록·보존하고 결과 해석에 이용

1. 성별 판정(Sexing)

마우스, 랫드

- 항문에서 생식돌기 (genital papilla)까지의 거리로 구별
- 신생자의 경우 항문으로부터 생식 돌기의 거리로 판정함

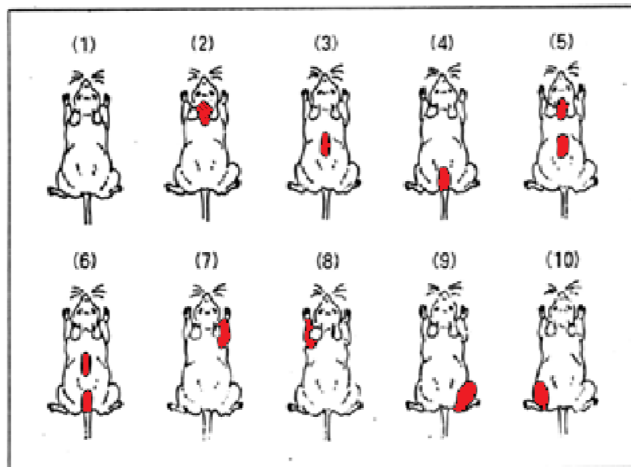


- ✓ 성체의 경우 암컷은 질구의 존재, 수컷은 음낭부의 존재로 구별가능

2. 개체식별법-단기간

1. 유색법(색소 도포법)

- 피모에 색소를 칠해서 구별하는 방법.
- 머리, 등, 허리, 다리 등을 도포하여 식별 (2~3개월 실험에 적합)
- picric acid(황색),
fuchsin(적색),
methylene blue(청색),
crystal violet (자주색).

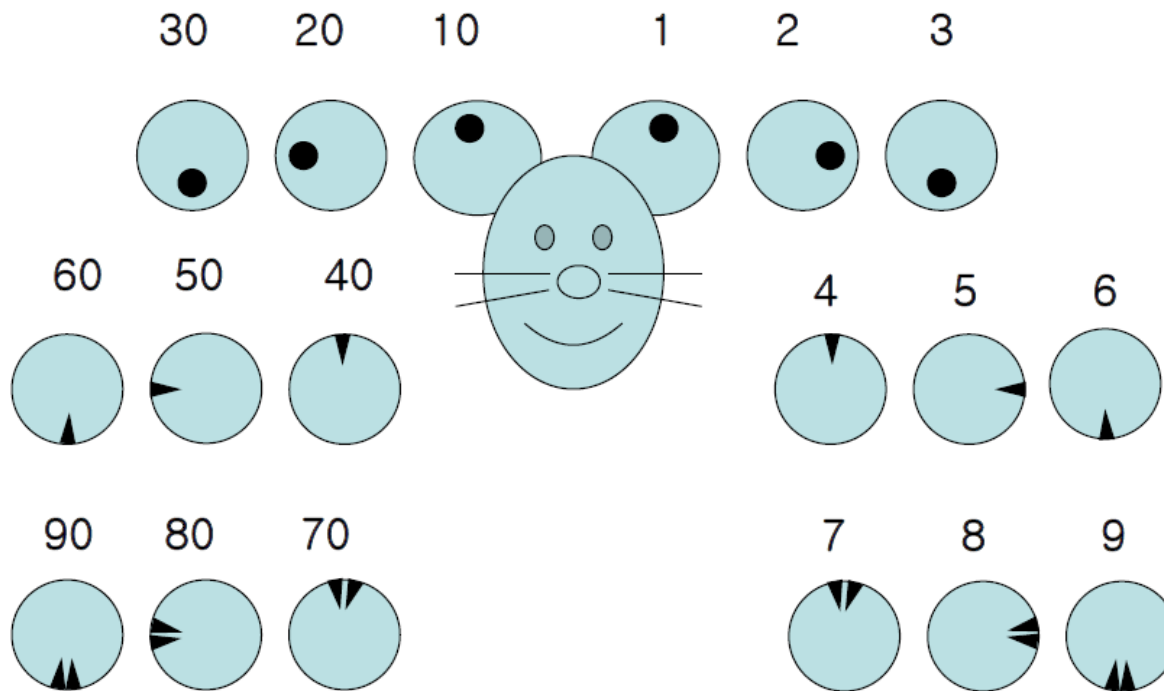


2. 제모법 (scraping method)

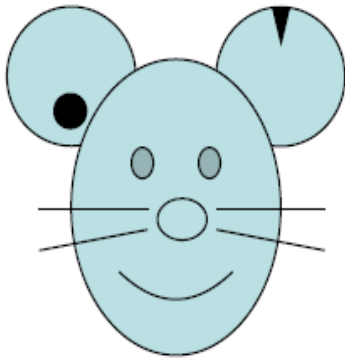
2. 개체식별법-영구식별법

1. 귀천공법(Ear punch법)

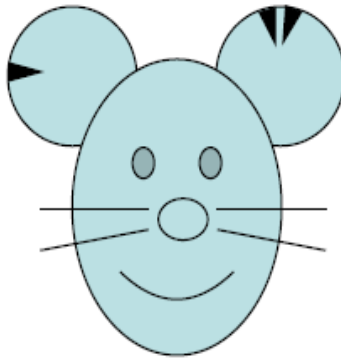
- 귀에 구멍을 뚫어서 식별하는 방법



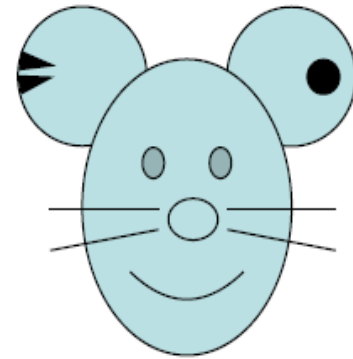
2. 개체식별법-영구식별법



()



()



()

2. 개체식별법-영구식별법

2. 내장법 : 초소형 IC칩 (직경2mm, 길이 12mm)



2. 개체식별법-기타방법

1. 손(발)가락 제거법
2. 유성펜으로 꼬리에 숫자나 기호를 하여 식별 하는 방법
3. 표지판 사용 : 번호가 찍혀 있는 알루미늄판을 목에 걸어주는 장치



3. 보정법(Restraint Technique)

- 1) 실험자는 동물에게 고통을 주지 않고 취급할 수 있는 능력의 보유
- 2) 작업시 실험동물이 스트레스를 받거나 놀라지 않게 주의
- 3) 감염, 창상의 방지를 위하여 **장갑** 착용
- 4) 알레르기 방지를 위하여 **마스크** 착용

- 동물의 **allergen**과의 직접 접촉에 의한 알러지 반응을 차단
- 어미가 있는 **새끼**를 취급해야 한다면, 사람의 체취가 남지 않도록 **장갑** 착용



3. 보정법-Mouse

1) 손으로 보정

- 2주령 이하 마우스, 배리어시설에서 사육하는 동물- 포셉 이용



꼬리를 잡고 이송



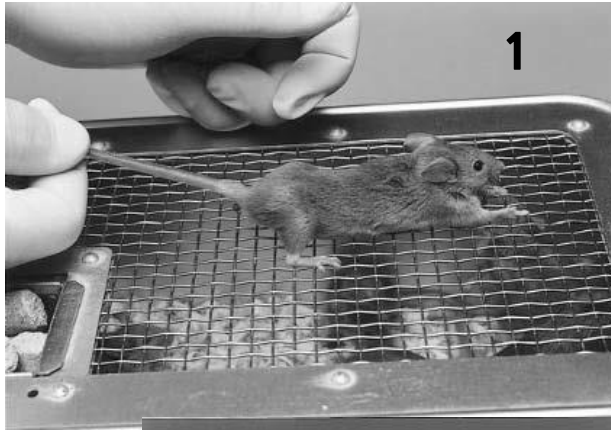
Cage 뚜껑 이용



목덜미 잡고 이송

3. 보정법-Mouse

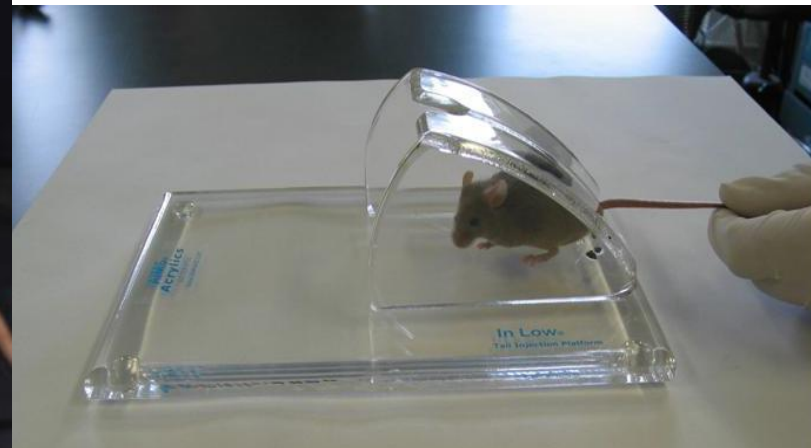
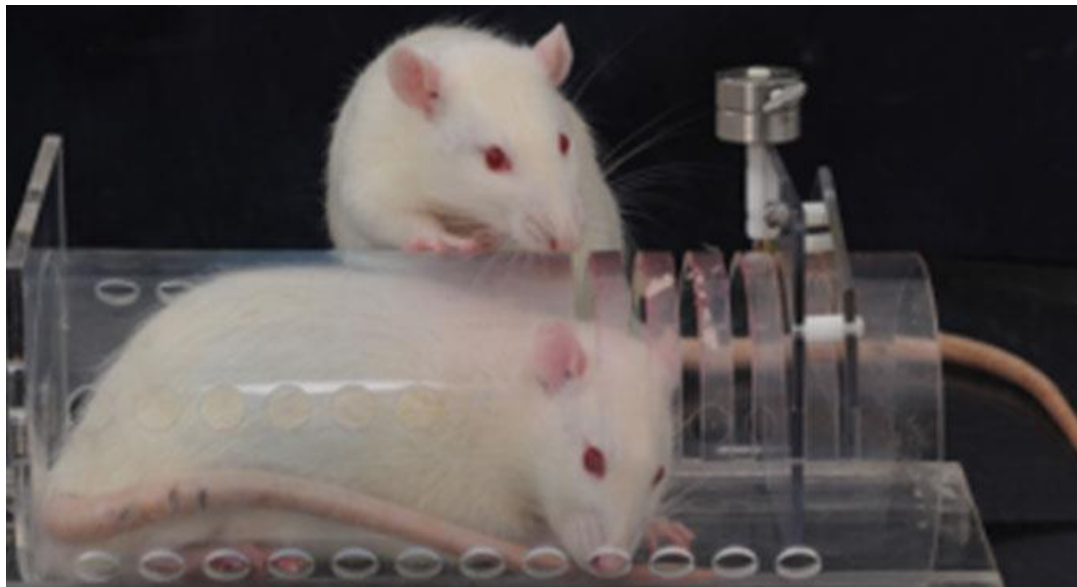
2) 마우스의 보정 순서



3. 보정법-Mouse

3) 보정기구를 사용한 보정

- 마우스가 몸을 반대 방향으로 돌지 못하게 하면서 꼬리나 다리의 접근이 용이



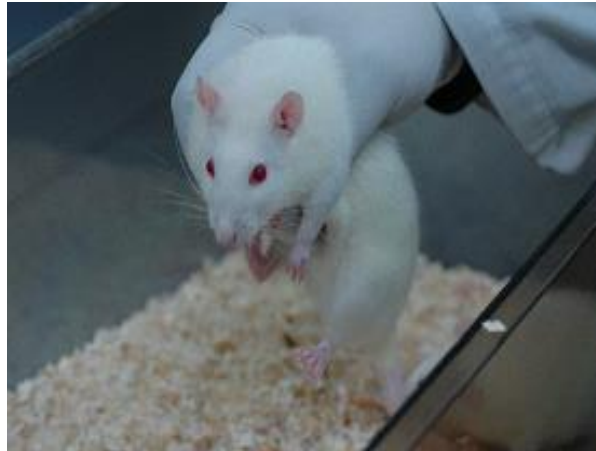
3. 보정법-Rat

1) 손으로 보정

- 꼬리 잡고 이송(단거리 이외 ×)
 - 도망가려는 습성, 심하게 돌기 때문에 (꼬리 피부가 벗겨짐)
- 일반적으로 손바닥으로 등 쪽의 몸 전체를 감싸는 방법
- 랫드의 앞다리(forelimbs)까지 잡게 되면 잘 보정



꼬리를 잡고 이송



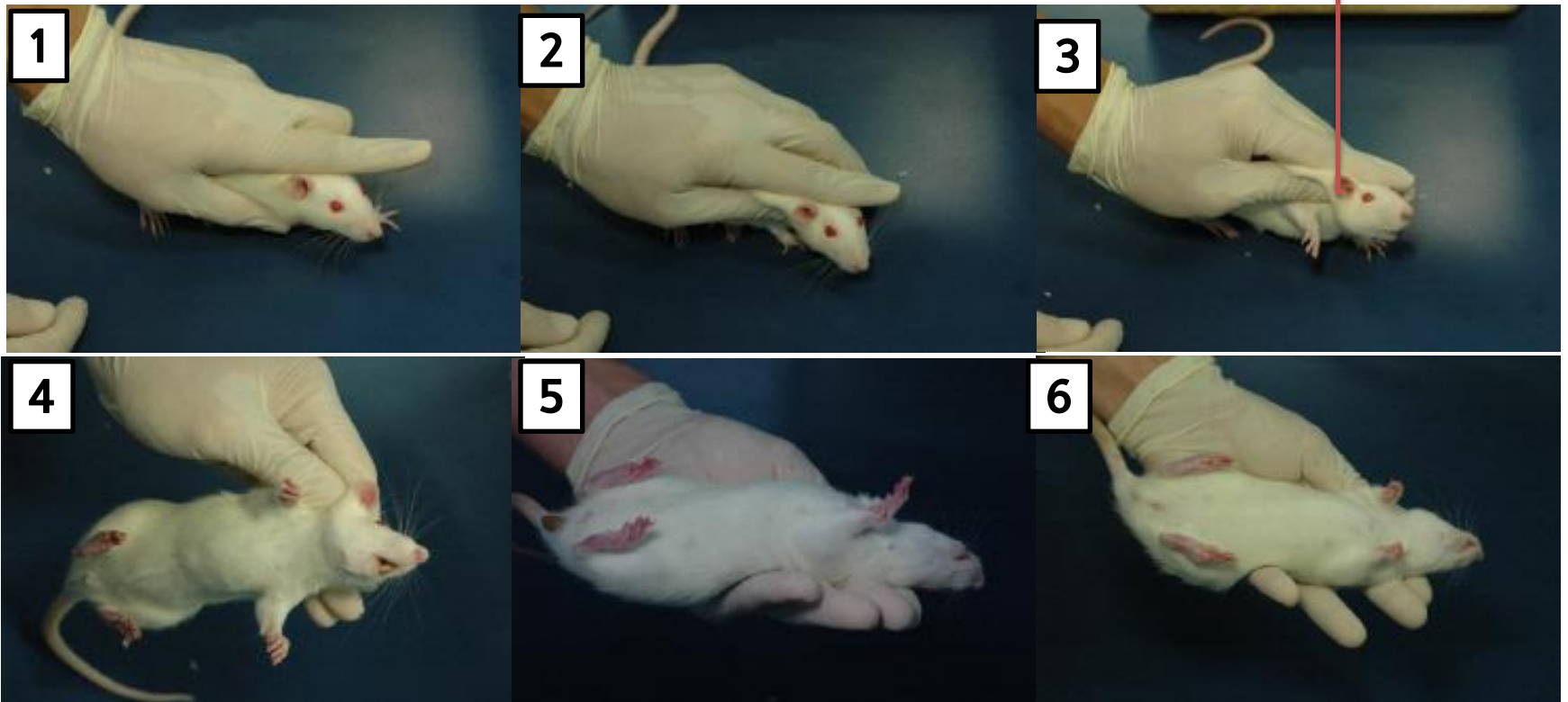
몸 전체를 감싸고 이송



3. 보정법-Rat

2) 랫드의 보정 순서

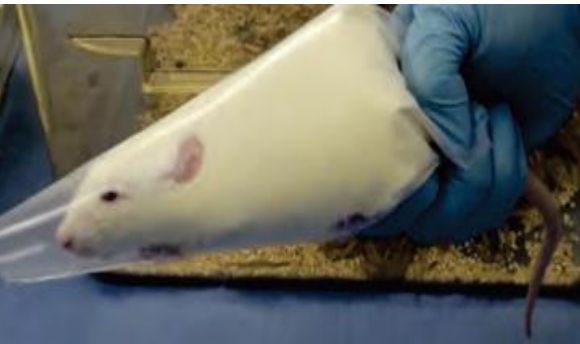
엄지와 검지는 귀 주위 피부를 강하게 잡아야 함



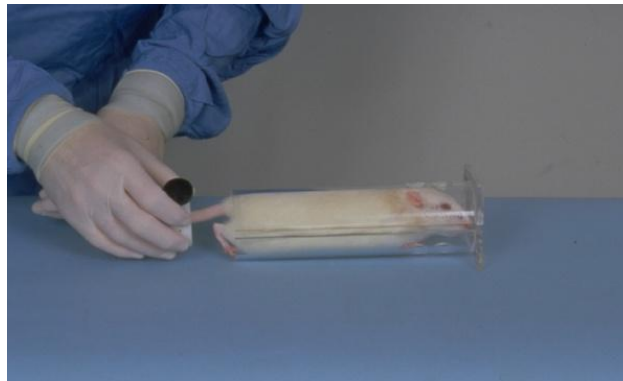
3. 보정법-Rat

3) 보정장치의 이용

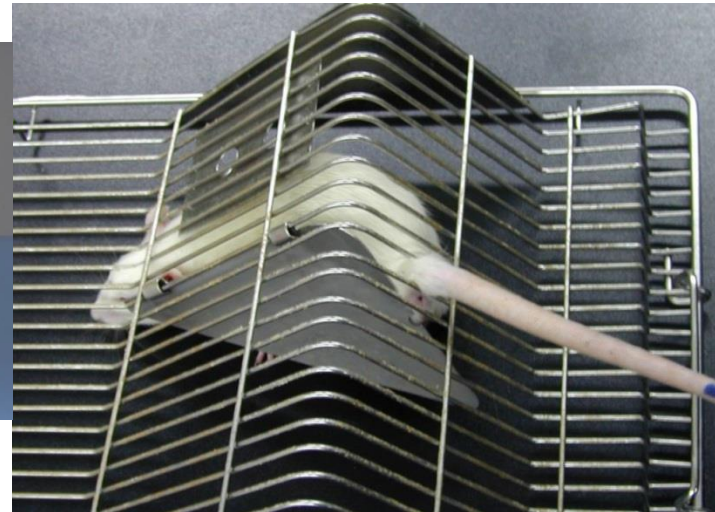
- 작은 수건 이용
- 투명 플라스틱 보정틀 이용 (내부직경 4~5.5cm 적당)
- 미정맥 투여시- 케이지 철망을 뒤집어서 형성된 공간에 랫드를 두고 철선 사이의 공간으로 꼬리를 노출시켜 랫드가 도는 것을 방지함



Wrapping 이용

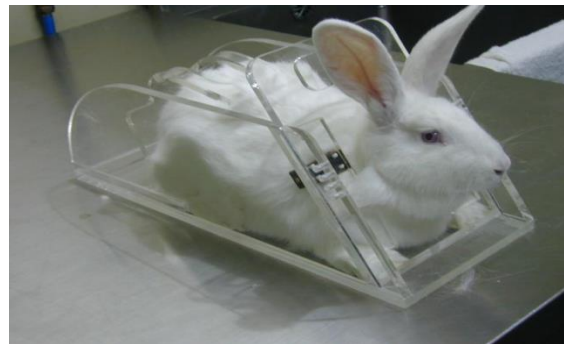


보정틀 이용



Cage 철망 이용

3. 보정법-Rabbit



4. 투여법(Administration)

1) 투여 전 주의사항

- 투여 액 - 멸균, 비독성, 등장성(같은 삼투압을 가지고 있는 용액)
 - 용해제 선택 : 수용성 용해제 / 지용성 용해제
- 주사 량 - 동물 종의 투여경로에 따라 투여 최대 용량은 다르다.
- 주사 속도 - 천천히 투여하여야 한다.
- 주사바늘 크기 - 얇으면서 날카로울 수록 침윤되어 통증이 더 적다
- 주사 전 피부 소독용 준비 - 소독용 alcohol 솜

4. 투여법(Administration)

2) 투여량

마우스(25g)

- ① 위내투여 0.2~0.5 ml
- ② 피하투여 0.15~0.25 ml
- ③ 복강내투여 0.2~0.5 ml
- ④ 근육내투여 0.1~0.2 ml
- ⑤ 정맥내투여 0.1~0.2 ml
- ⑥ 피내투여 0.05~0.1ml
- ⑦ 뇌내투여 1~2 μ l

랫드(250g)

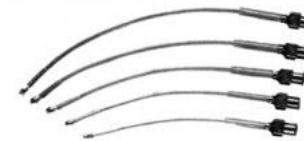
- ① 위내투여 0.25~2.5 ml
- ② 피하투여 0.25~1.0 ml
- ③ 복강내투여 0.25~2.5 ml
- ④ 근육내투여 0.1~0.25 ml
- ⑤ 정맥내투여 0.2~0.5 ml
- ⑥ 피내투여 0.05~0.3ml
- ⑦ 뇌내투여 2~10 μ l

4. 투여법(Administration)

1. 경구 투여 [Per Oral(PO) Administration]

- 경제적, 간편함, 시료 투여량을 정확히 하기 위해 사용 (**Zonde 사용**)
 - 흡수가 느리고 불규칙함 (**흡수량 측정이 부정확**)
- [강제 투여법(위내투여 intragastric administration)
첨가식 투여법(사료나 음수에 시료를 혼합하여 투여)

Oral zonde
needle



Extend the mouse's head



4. 투여법(Administration)

2. 피하투여 [Subcutaneous(S.C.) injection]

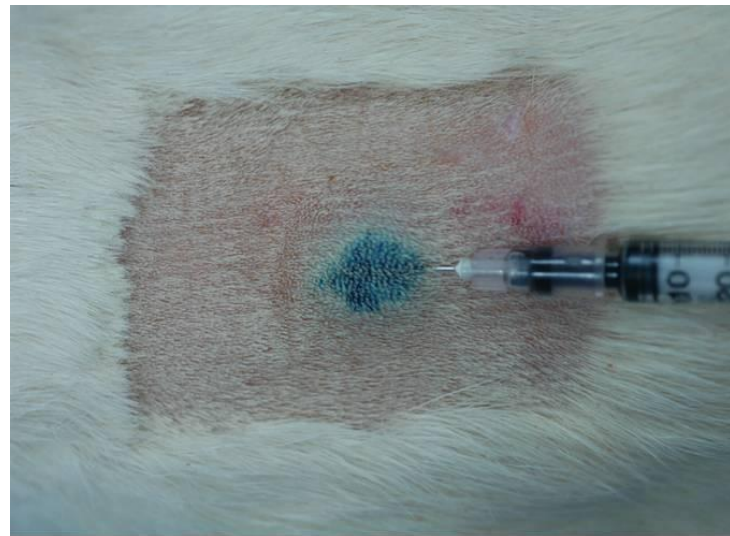
- 진피와 근육사이에 있는 피하조직에 시료를 주입하는 방법
- 투여부위 : 목덜미, 허리부위
- ✓ 약물이 누출되지 않도록 주사침이 들어간 부위를 잠시 눌러 줌.



4. 투여법(Administration)

3. 피내 주사 [Intracutaneous (I.C.) injection]

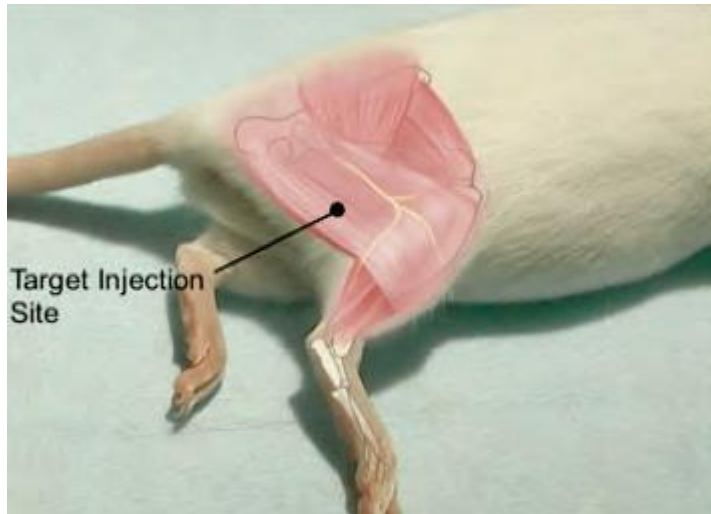
- 면역 알러지 시험에 많이 사용
- 피부 조직 속에 주사되므로 수포(bleb)가 형성
- 주사액량은 피부의 두께에 따라 0.05 ~ 0.3 ml까지 투여 가능
- 주의사항: 수포가 형성되지 않으면 피하에 주입 된것이므로 다시 주사



4. 투여법(Administration)

4. 근육내 주사 [Intramuscular (IM) injection]

- Rat에서 주로 사용 (마우스는 근육량 ×)
- 투여량은 마우스 0.05 mL, 랫드 0.3 mL까지 가능
- 주의 사항 : 잡아당겨 혈액이 나오지 않는지 확인 후 투여

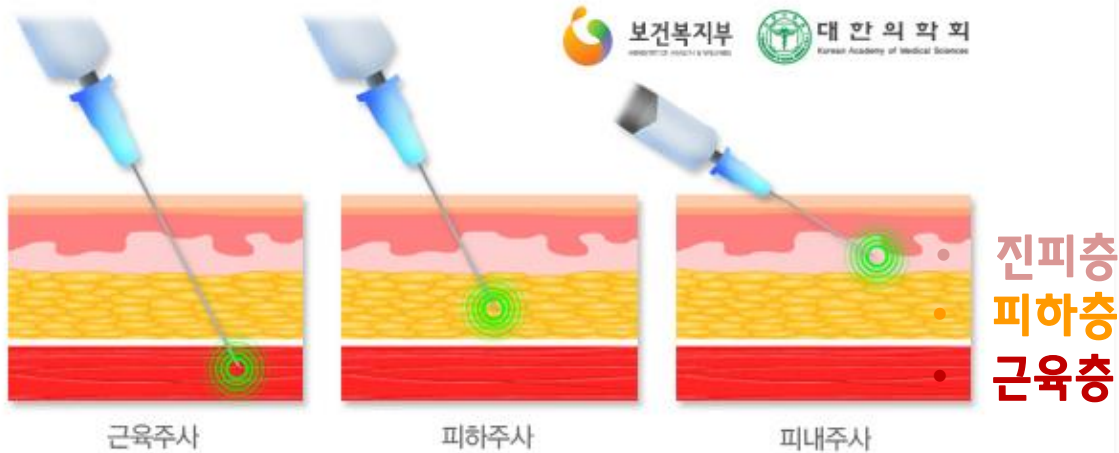


- 뒷다리 근육 이용 (랫드)

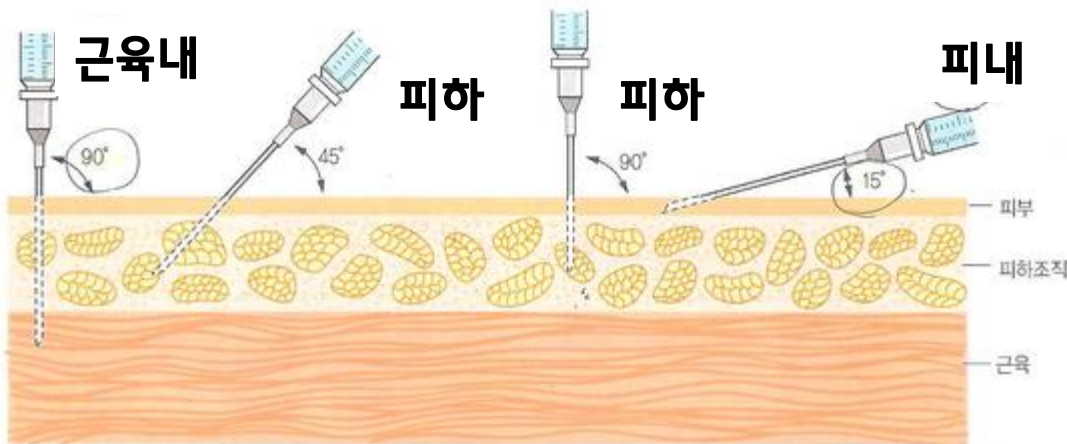


4. 투여법(Administration)

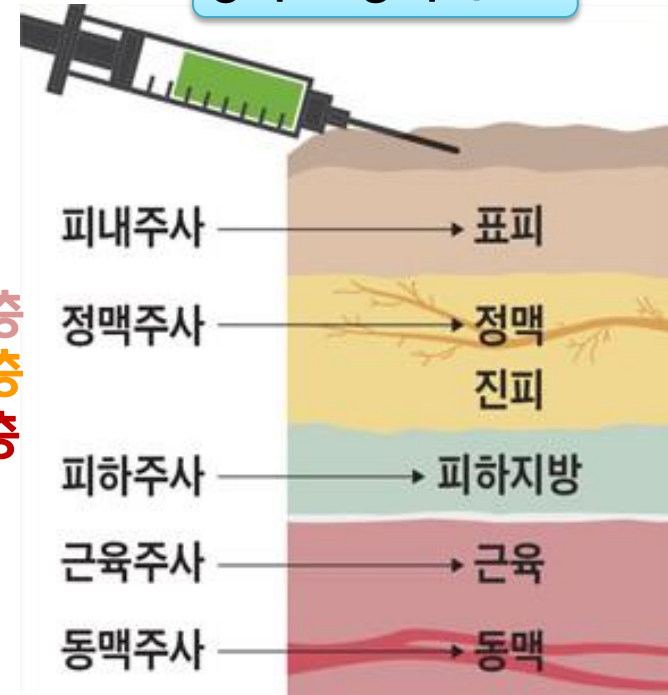
● 근육, 피하, 피내 주사 시 삽입 위치



● 근육, 피하, 피내 주사 시 바늘의 삽입각도



● 정맥 & 동맥 주사



4. 투여법(Administration)

5. 복강내 주사 Intraperitoneal (IP) injection

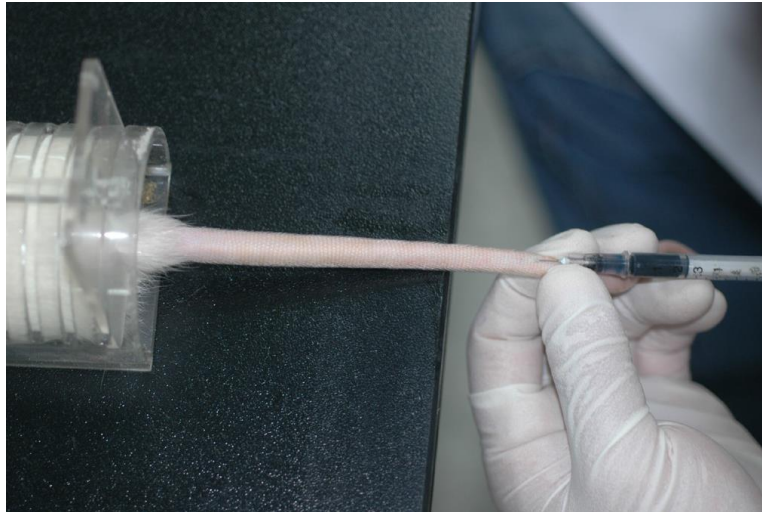
- 마우스, 랫드와 같은 소형동물에 있어서 **가장 빈번히 이용**
- 흡수면적이 넓어 약제의 흡수속도가 빠름
- ✓ **주의 사항** : 삽입여부 확인필요
 - 주사기를 수평이 되도록 피하로 1 cm 정도 삽입
 - 45° 로 들어 복막을 관통



4. 투여법(Administration)

6. 정맥내 투여 Intravenous (IV) injection

- 더운 물 (40°C)에 꼬리를 담그거나 heating lamp 등을 사용하여 혈관 확장 뒤에 투여
- 투여 물질에 대해 혈액 삼투압이나 pH에 미치는 영향을 고려



- 꼬리정맥내 주사(Injection into the caudal vein)

4. 투여법(Administration)

6. 정맥내 투여 Intravenous (IV) injection



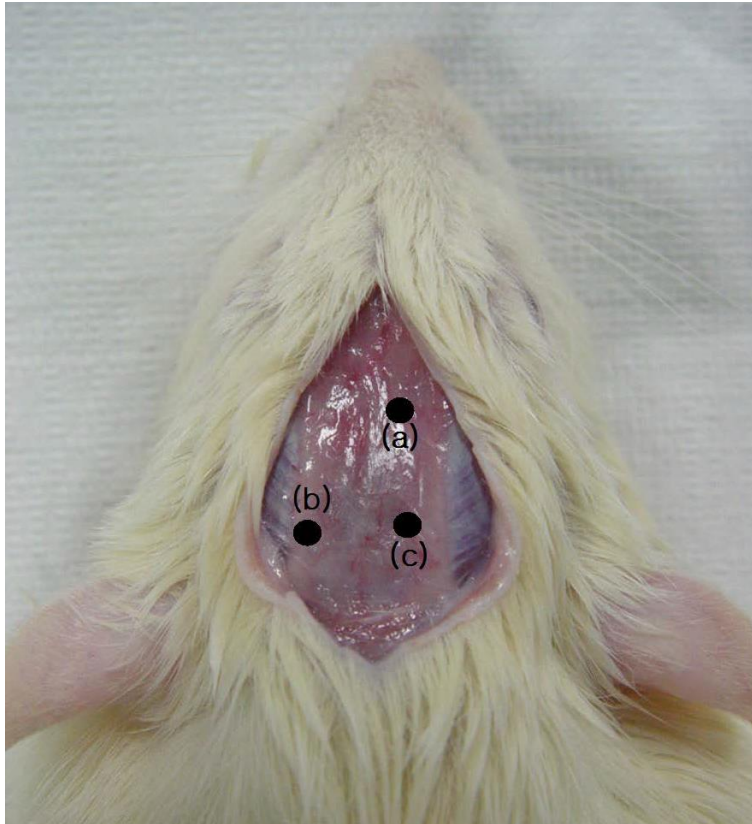
- 설하정맥 주사(Injection into the sublingual vein)



- 귀정맥 주사(Injection into the ear vein)

4. 투여법(Administration)

7. 뇌대 및 뇌실내 주사 intracerebral(IC), intracerebroventricular(ICV) injection

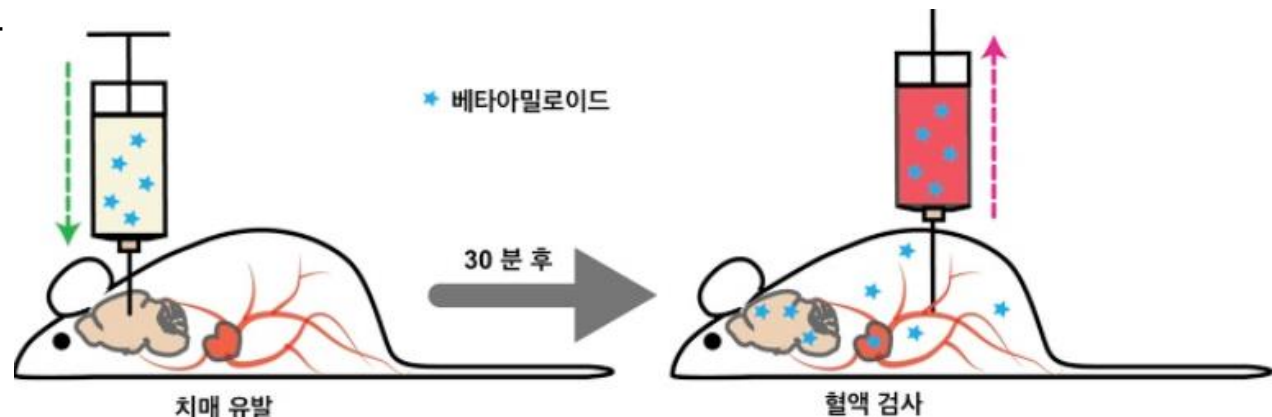


- 뇌대 주사 (뇌대 영역에 따라 a,b,c 등 위치를 정하여 두개공에 구멍을 낸 후 주사

5. 채혈(Blood collection)

1) 혈액, 뇨 및 변의 채취목적

- 혈액 생화학적 성상을 조사하여 동물의 건강상태를 파악
- 약물의 생체 내에서 흡수, 분포, 대사 및 배설에 대한 다양한 정보를 얻기 위한 절차



2) 채혈의 종류

- 전 채혈법: 다량의 혈액을 얻기 위한 방법으로 채혈 후 사망함
- 부분 채혈법: 동물을 사망케 하지 않고 소량의 혈액을 채취하는 방법

5. 채혈(Blood collection)

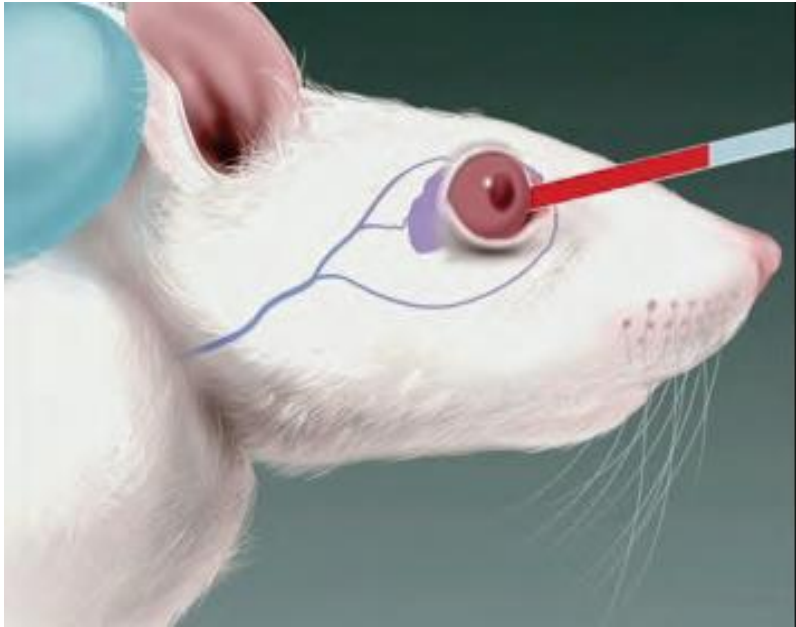
3) 채혈 시 고려사항

- 채혈하는 동물의 종류 · 크기
- 원하는 샘플의 형태 (예: 혈청, 전혈 등등)
- 샘플의 양
- 샘플의 품질 (조직액 오염, 청정 등등)
- 채혈 빈도
- 채혈대상 동물의 건강 상태
- 채혈자의 훈련 및 숙달 정도
- 일반적으로 마취 상태에서 채혈 행함
- 체중의 8%가 혈액

5. 채혈법(Blood collection)

1. 안와정맥얼기 (Orbital venous plexus) 채혈

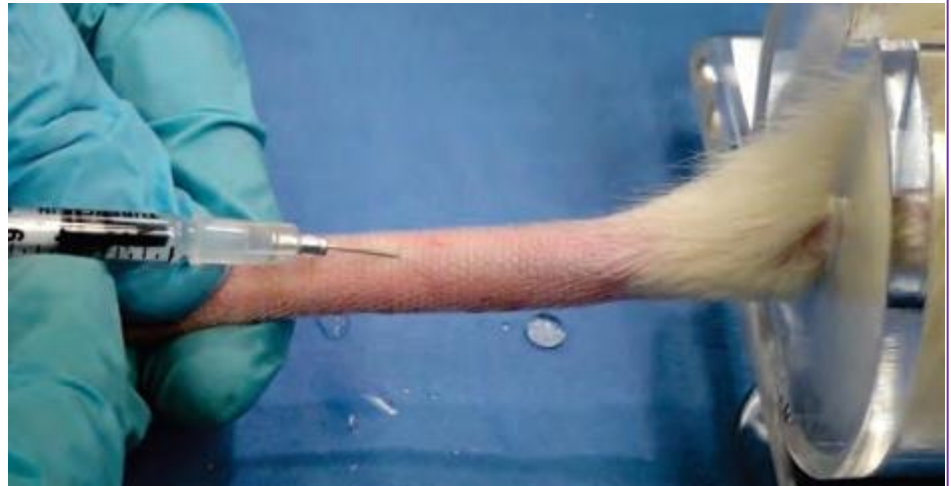
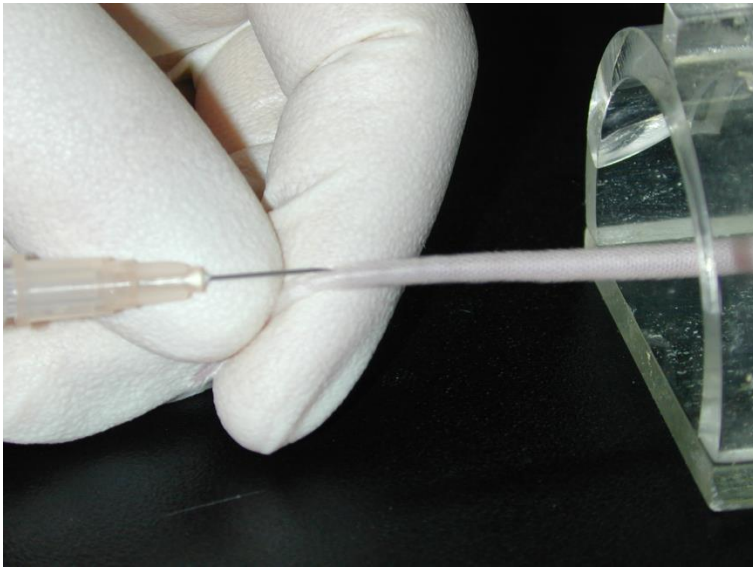
- 눈 뒤쪽에 큰 혈관이나 신경얼기를 가진 설치류에서 행해짐
- 안구 뒤쪽 혈관에 capillary tube 이용하여 채혈
- 연속채혈 가능한 채혈법



5. 채혈법(Blood collection)

2. 꼬리정맥(tail vein) 채혈

- 마우스, 랫드 등 설치류에 주로 이용되는 채혈법
- **무마취**로 연속 채혈



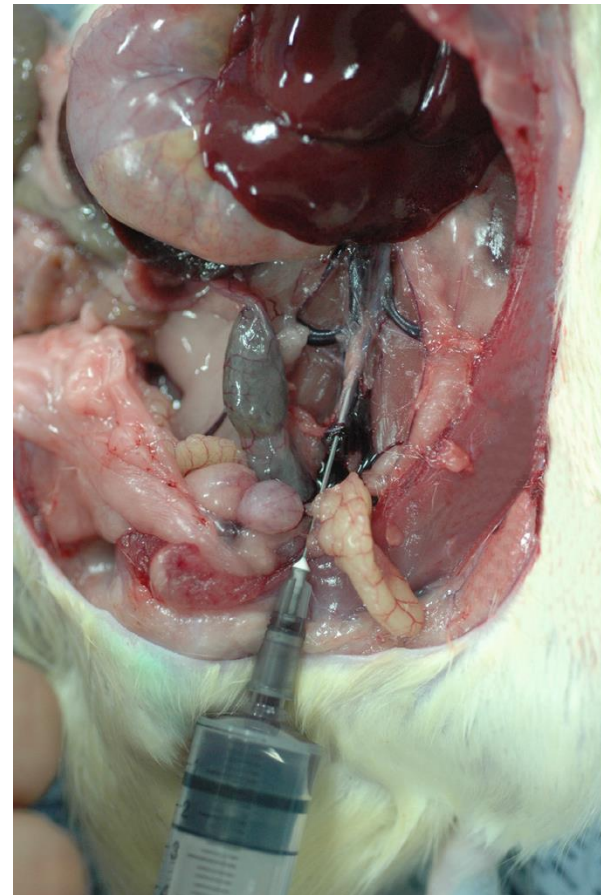
5. 채혈법(Blood collection)

3. 배대 정 · 동맥 (Abdominal vein·aorta) 채혈

- 대표적인 전 채혈법



배대동맥 (abdominal aorta) 채혈



5. 채혈법(Blood collection)

4. 심장 채혈(Cardiac puncture)

- 마취 후 **심박동**이 가장 잘 느껴지는 부위에 삽입하여 채혈



5. 채혈법(Blood collection)

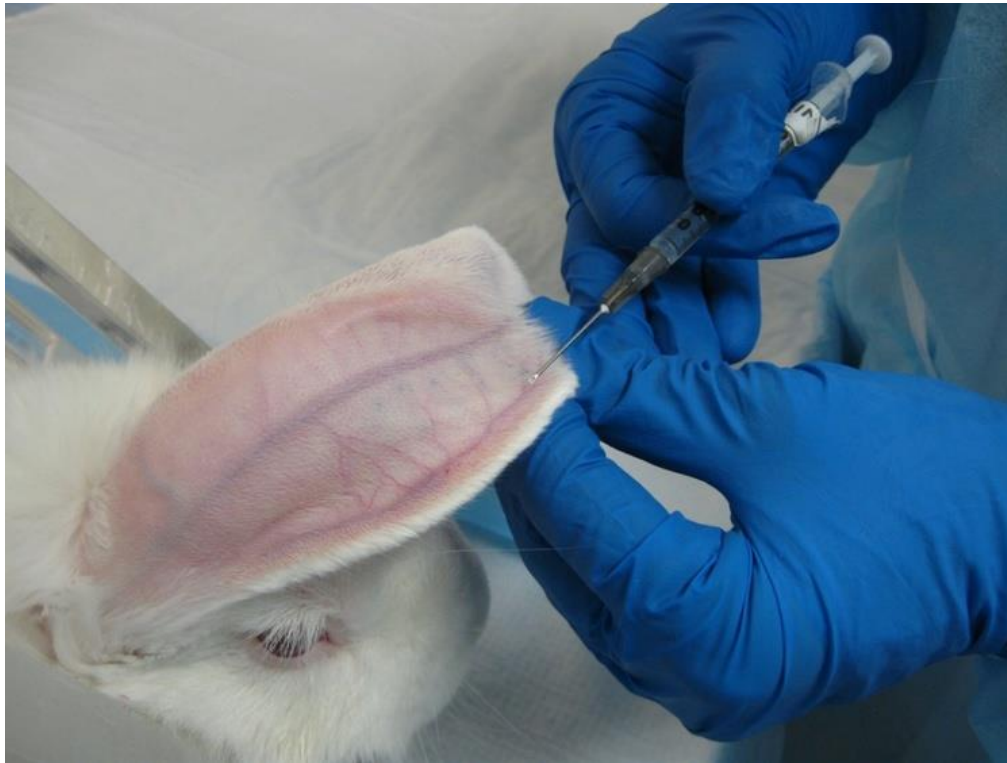
5. 목정맥 (Jugular vein) 채혈

- 동물을 희생시키지 않고 **연속채혈이 가능**
- 꼬리정맥 채혈 시의 혈액학적 지표 변화
- 심장채혈시의 심장에 대한 영향 등을 **배제**할 수 있어 **가장 좋은 채혈법**



5. 채혈법(Blood collection)

6. 귀동맥(ear artery) 채혈 (토끼)



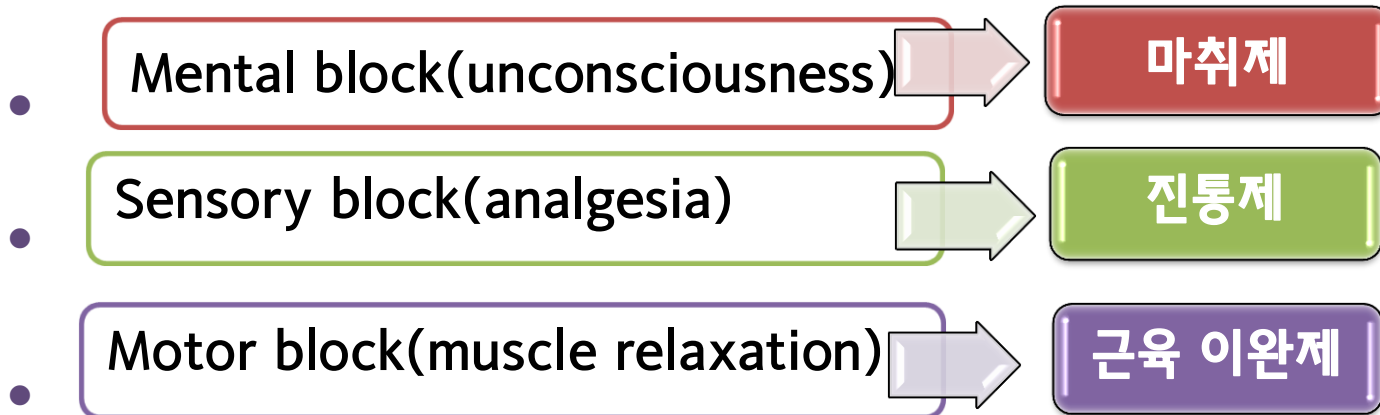
5. 채혈법(Blood collection)

표. 주요 실험동물의 채혈부위와 채혈량 (mL)

채혈부위	Mouse	Rat	guinea pig	rabbit	dog
꼬리정맥(부분)	0.03~0.05	0.3~0.5			
안와정맥(부분)	0.05~1.0	3~5			
귀정맥(부분)			<0.5	2~5	
단두(전체)	0.5~1.0	5~10			
목정맥(전체)	0.5~1.0	3~5	3~5	80~120	10~30
심장(전체)	0.5~1.0	3~5	5~10	80~100	
뒤대정맥(전체)	0.5~1.0	2~4	3~5		
배대동맥(전체)	0.5~1.0	5~8	5~10		

6. 마취(Anesthesia)

- 마취제의 적절한 사용은 윤리적, 과학적으로 필요
- 전신마취의 요구사항(예: 외과수술)
 - 의식소실의 마취상태, 충분한 근육이완, 진통작용요구



(by Woodbridge, PD. Anesthesiology. 1957;18(4):536-50)

6. 마취(Anesthesia)

1. 마취의 준비

- 안전한 마취 유도
- 사료는 6시간 전에 물은 2시간 전에 공급 중단
- 음식물이 남아있는 경우가 있으므로 절식이 요구
- 마취 동안에 구토로 인한 흡인성 폐렴 발생 예방
- But. 소형실험동물은 소화나 수술 및 연구의 목적상 절식이 필요한 경우를 제외하고 바로 마취 가능

6. 마취(Anesthesia)

1. 전마취(preanesthetic drug)

- 본마취를 하기에 앞서 투여되는 마취
- 마취전 투약효과
 - 마취 도입 시 스트레스 제거를 도와 공포심과 불안감 감소
 - 전신마취의 유도에 필요한 마취약의 용량 줄여 부작용 감소
 - 보다 원활한 마취유도와 각성효과
 - 타액 및 기관지로부터의 분비물 감소
 - 수술 전 동증 완화, 수술 후 통증 최소화
 - 진정 및 근육 이완작용

6. 마취(Anesthesia)

2. 진통제(analgesic)

- 수술 후 통증완화를 위해 사용

[마약성(Opioid) 진통제 : 중추신경에 작용

[비스테로이드성(NSAID) 진통제 : 말초신경에 작용

- 종류

- Fentanyl – 발현시간이 빠른 강력한 진통제
- Buprenorphine
- Butorphanol • Morphine • Pethidine 등 – 마약성 진통
- Acetyl salicylic acid(Aspirin) • Carprofen • Ketoprofen
- Meloxicam 등

6. 마취(Anesthesia)

3. 주사마취(Parenteral anesthesia)

- 특별한 장비 없이, 주사기로 간단히 적용할 수 있는 장점
- 단시간 내에 안정된 마취상태를 유지
- 마취의 심도 조절이 어려운 단점
- 단시간 동안 할 수 있는 수술 시 이용
- 부작용이 있어 마취전투약제 등과 병용

6. 마취(Anesthesia)

- 주사 마취 종류

- 1) Barbiturate계 마취제

- ex) pentobarbital, thiopental, methohexital 등

- 2) Non barbiturate계 마취제

-ex) propofol, etomidate, α -chloralose, Urethane 등

- 3) 해리성(dissociative) 마취제-ex) Ketamine HCl

- 랫드 주사마취

진정/마취제	투여량(mg/kg)	투여경로
• Pentobarbital	37	IP
• Ketamine+Xylazine	40+5	IP
• Ketamine+ Medetomidine	40+0.5	IP
• Tiletamine/Zolazepam + Xylazine	60+5	IP

6. 마취(Anesthesia)

● 마우스 주사마취

진정/마취제	투여량(mg/kg)	투여경로
• Pentobarbital	40~60	IP
• Thiopental	20~40	IV
• Ketamine+Xylazine	60~90+6~9	IP
• Ketamine+Medetomidine	1000~1500	IP
• Tiletamine/Zolazepam+Xylazine	40~50+5~10	IP
• Tribromoethanol	300	IP

6. 마취(Anesthesia)

4. 흡입마취 (Inhalational anesthesia)

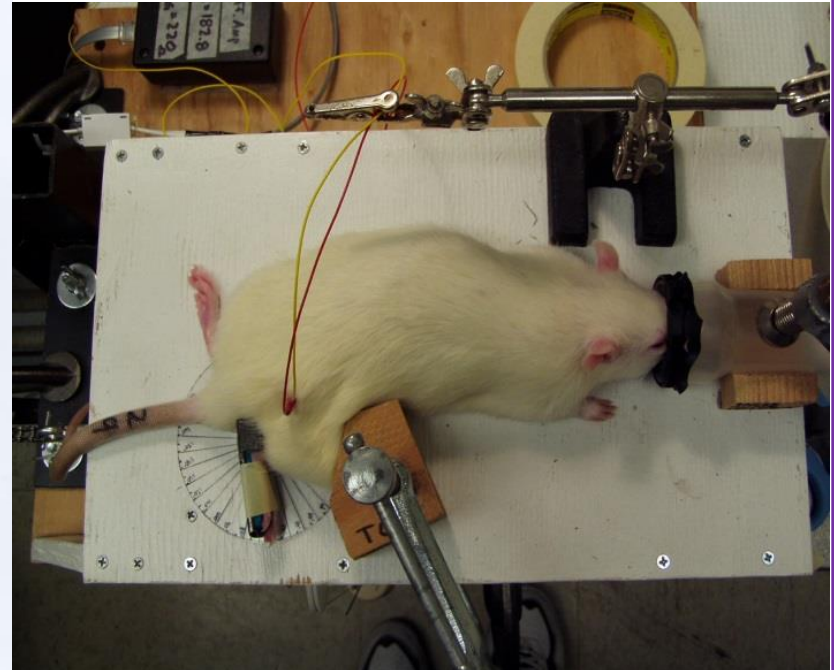
- 마취제를 기화시켜 폐를 통해 흡입시켜 마취상태에 이르게 함
- **장기간** 마취상태의 실험이나 수술에 이용
- 마취의 심도 조절이 용이
- 폐를 통한 마취제의 배출로 빠르게 깨어날 수 있는 장점



6. 마취(Anesthesia)

4. 흡입마취 (Inhalational anesthesia)

- 정밀한 기화장치, 환기장치 등 특수장비 필요

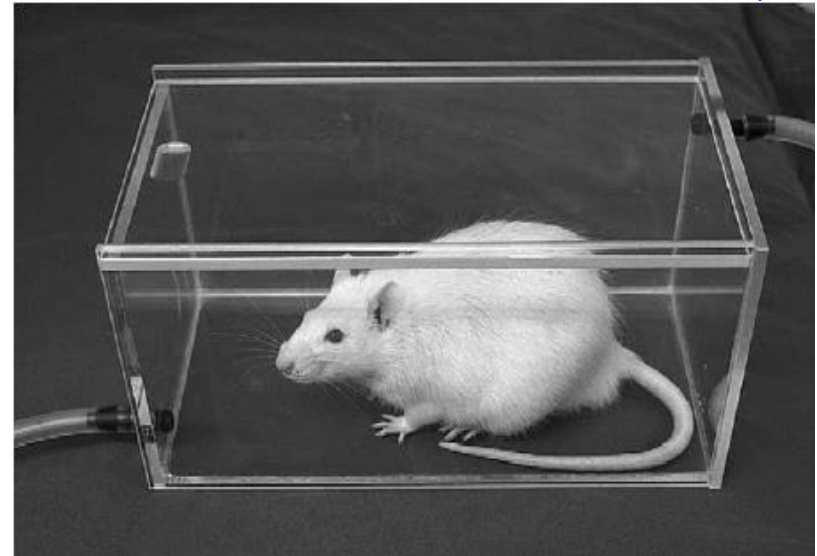


- Shown with Anesthesia machine, vaporizer & 6-place supply manifold.

6. 마취(Anesthesia)

4. 흡입마취 (Inhalational anesthesia)

- 일반적으로 비활성 투명재질의 마취상자를 이용
- 마우스, 랫드, 기니픽 흡입마취
 - Isoflurane, halothane, enflurane
 - 일반적으로 3~4% 유도, 2% 유지
- 마취상자 이용 시 흡입마취제 용량



흡입마취제 액상용량/1L마취상자	0.05mℓ	0.1mℓ	0.2mℓ	0.3mℓ
Isoflurane 가스농도	1%	2%	4%	6%

6. 마취(Anesthesia)

1) Diethyl ether

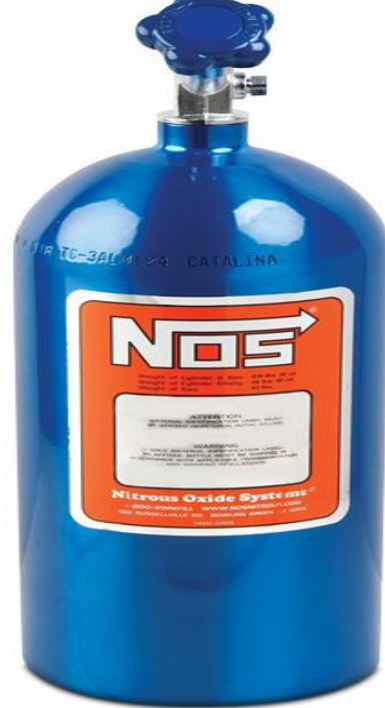
- 용이하게 기화하여 수술 마취 적기를 얻기 쉽고 마취 관리간단
- 인화성, 폭발성
- 기관, 기관지 점막 자극
→ 타액분비 항진 및 후두 경련
- 마취 후 회복지연 및 오심 등 부작용
- 드물게 사용



6. 마취(Anesthesia)

2) Nitrous oxide(아산화질소, N_2O)

- 흡입용 마취약으로서는 **가장 오래되고 안정된 약품**
- 그러나 효력은 에테르의 15% 정도임
- Thiopental sodium의 마취유도 후 마취유지용



3) Isoflurane(Forane)

- 뛰어난 **휘발성** 흡입마취약
- 마취의 유도, 각성이 enflurane 보다 빠르고,
- 마취심도 조절이 용이하며, 마취작용의 지연이 없음
- **고가제품**



6. 마취(Anesthesia)

4) Halothane(Fluothane,Somnothane)

- 강력한 마취약, 인화성, 발암성 없고,
- 기도 자극성도 적어서 대개의 동물종에 안전하게 사용
- 장시간 마취시 각성이 현저히 늦어지는 경우도 있음
- 호흡 억제 작용이 많음
- 사람에게서 **간독성** 있음

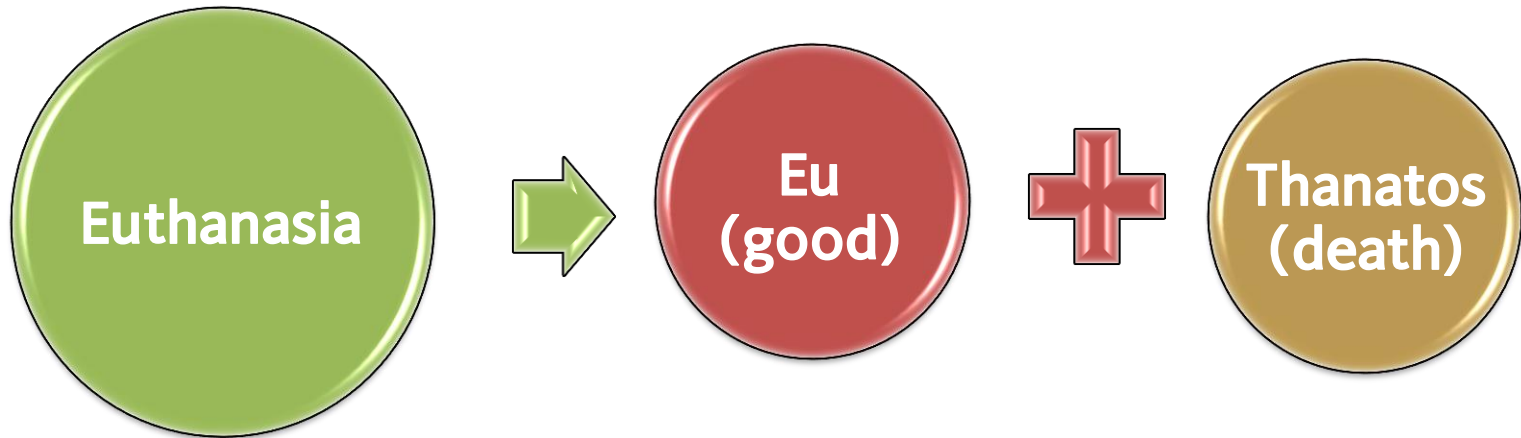
5) Enflurane

- 호흡순환의 억제는 Halothane과 유사



7. 안락사(Euthanasia)

실험동물에 가능한 고통을 주지 않고 단시간 내에 무의식
상태로 유도한 후 죽음에 이르게 하는것

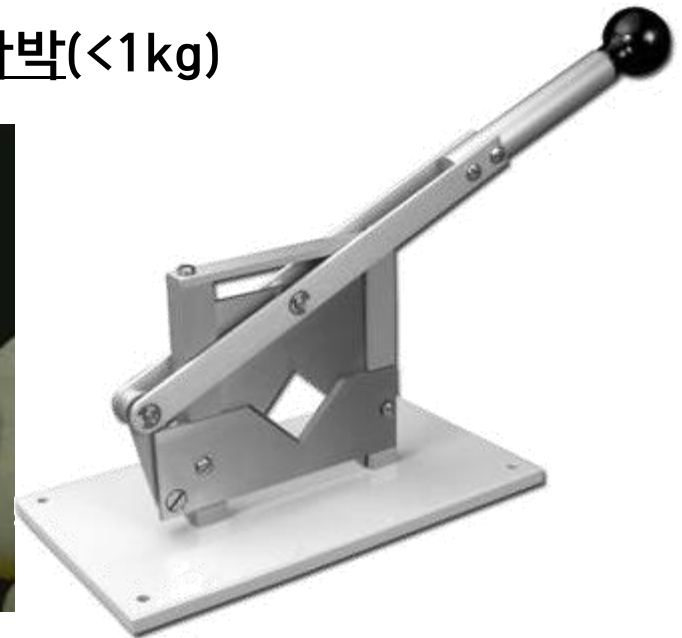


“Good death”(with minimal pain & distress)

7. 안락사 (Euthanasia)

1. 물리적 손상을 유발하는 방법

- 진정제나 마취제를 사용해서는 안 되는 실험에서 권장
- Electrocution(전기충격): 중추신경억압, 저산소증유발
- Decapitation(단두대)
- Cervical Dislocation(경추탈골), 두부타박(<1kg)
- 급냉법 등



7. 안락사 (Euthanasia)

2. 화학적 방법

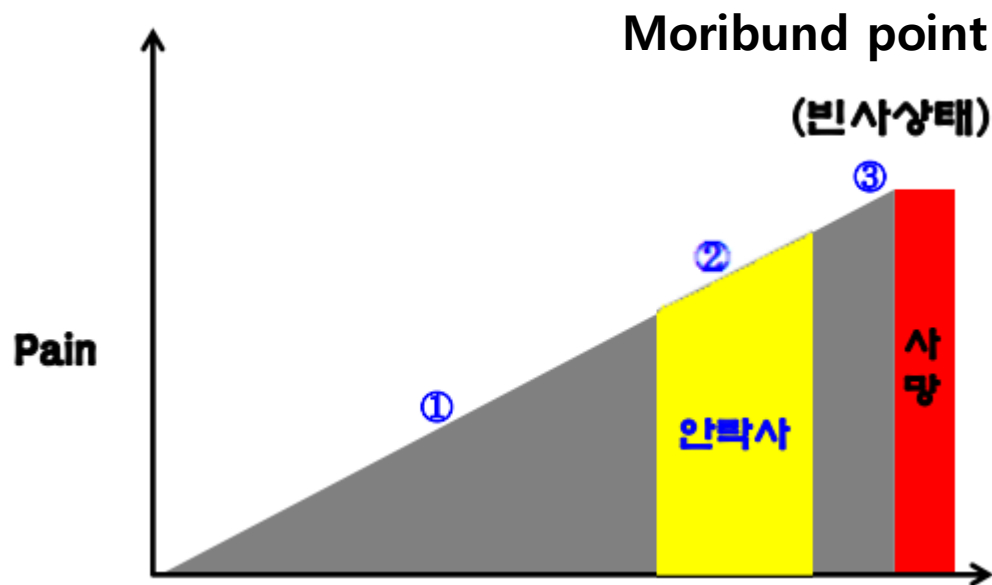
- 마취제 과량 투여법-Pentobarbital, Zoletil 등 투여
- 마취제 흡입 -Ether
- 저산소증 유발법
 - ① 이산화탄소(CO_2)를 이용한 방법
 - ② 간접적 저산소증 유발
 - 근이완제 투여(succinylcholine)
 - 심정지 유발 약물(KCl)



8. 인도적인 종료시점(humane Endpoints)

- 치료 또는 허용 가능한 안락사를 통해 통증 유발 실험(시험)을 **조기에** 종료할 수 있는 **예측** 가능하며 **비가역적인 기준을 설정**하는 것

연구목적에 영향을 주지 않으며, 통증과 고통이 시작되기 전에 실험을 종료하는 것이 가장 이상적



8. 인도적인 실험종료

주요 임상증상 및 행동 관찰 사항

행동의 변화

- 외부 자극에 대한 반응 변화 (e.g. 과도한 반응 또는 무반응)
- 고통과 통증으로 인한 행동의 빈도
- 실험과 관련된 부정적인 행동 (e.g. 관절염연구에서의 발절음과 부종)

외관의 변화

- Body condition 악화
- 자세 변화 (e.g. 웅크린 자세)
- 움푹 들어간 눈 (탈수의 척도)
- 사경(Head tilt)
- 신체 일부 없어짐 (꼬리 벗겨짐, 발가락 소실)
- 명백한 부종 또는 종양
- 직장탈 또는 질탈
- 털세움 (털 헝클어짐)

체중의 변화

- 체중 10% 이상 감소시 영양 공급 등의 조치가 필요함
- 원래 체중의 20% 이상 감소시 안락사 실시

8. 인도적인 실험종료

주요 임상증상 및 행동 관찰 사항

식욕 부진과 탈수 증상

- 사료와 음수 섭취 감소
- 2일 이상 지속 : 설치류
- 4일 이상 지속 : 비설치류
- 동물이 사료와 음수에 접근하기 어려운 상태인지 관찰 필요

죽음에 가까운 상태

- 34°C미만 체온, 자극에 대한 무반응, 명백한 무의식 상태시

감염

- 화농 또는 점액성 분비물
- 체온 상승, WBC 증가, 항생제 처치 실패, 전신적 증상 등

기관계 기능 장애

- 신장, 간 또는 심장 기능 장애
- 호흡 곤란
- 심각한 전신 감염
- 심박동수, 호흡수, 혈액학적 지표의 변화

내 용		점수
체중 변화(사료와 음수 섭취 변화 포함)		
0	정상	
1	10% 체중 감소	
2	10~15% 체중 감소	
3	20% 이상 체중 감소	
Body Condition Score		
0	BCS 3 이상	
1	BCS 2 ~ 3	
2	BSC 1 ~ 2	
3	BSC 1 미만	
신체적 외관		
0	정상	
1	털손질 감소	
2	거친 털, 눈/코 분비물	
3	매우 거친 털, 비정상적인 자세, 동공 커짐	
측정 가능한 임상 증상		
0	정상	
1	미미한 변화	
2	체온 1~2도 변화, 심박동과 호흡수가 30%까지 증가함	
3	체온 2도 이상 변화, 심박동과 호흡수가 50%까지 증가 또는 현저히 감소	

내 용		점수
행 동		
0	정상	
1	미미한 변화	
2	비정상, 감소된 움직임, 민첩함 감소, 활동 없음	
3	자가 상해, 쉬지 않고 움직이거나 움직임 전혀 없음	
외부 자극에 대한 반응		
0	정상	
1	약간 침울 또는 과장된 반응	
2	중등도의 이상 반응	
3	난폭한 반응 또는 혼수 상태	
기타(연구자가 실험별 특이적으로 정한 기준)		
0		
1		
2		
3		
총 점수		

총 점수 5 이상 또는 한 가지 항목에서 3인 경우,
안락사 실시

By Morton & Griffiths(1985)

실험동물 사료 조제

결 과

1) 체중 증가량, 식이 섭취량 및 식이효율

Table 1. Body weight gain, food intake and feed efficiency ratio in rats fed experimental diets

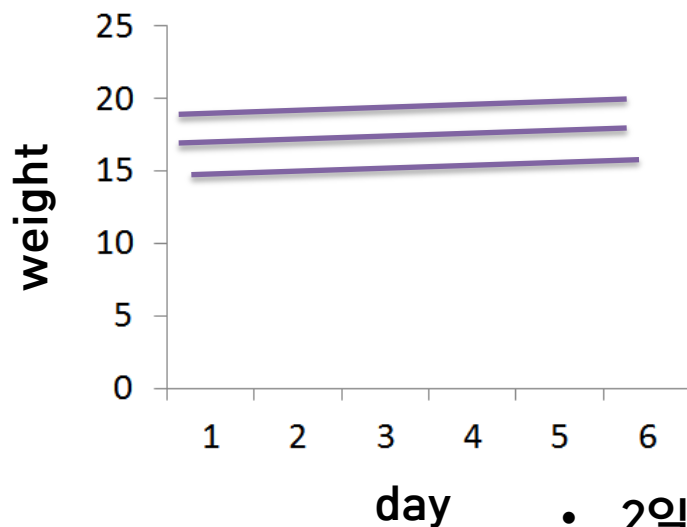
Groups	Body weight gain(g/day)	Food intake (g/day)	FER
ND			
HFC			
HFC-Q			

* Food efficiency ratio: FER(body weight gain/food intake)

실험동물 사료 조제

2) 체중 증가량 및 식이섭취량 그래프

	1회	2회	3회	4회	5회	6회
① 정상(ND)						
② 대조군 (HFD)						
③ 실험(HFD-Q)						



• 2일에 한번

