

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2020-0083193
(43) 공개일자 2020년07월08일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/167 (2006.01) A61K 31/662 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 31/167 (2013.01)
A61K 31/662 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2019-0129397
(22) 출원일자 2019년10월17일
심사청구일자 2019년10월17일
- (30) 우선권주장
1020180172706 2018년12월28일 대한민국(KR)
- (71) 출원인
주식회사 이글벳
충청남도 예산군 신암면 추사로 235-34
- (72) 발명자
정연근
충청남도 예산군 예산읍 벚꽃로 175-17, 106동 1901호 (우방유헤아파트)
- 최성호
경기도 평택시 평택로 134, 203동 1203호(비전동, 태산신그린)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
박상훈

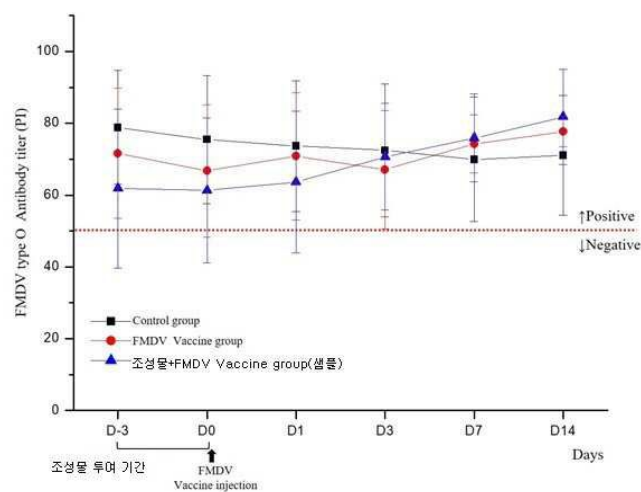
전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 백신 접종 동물의 스트레스 완화용 수의학적 조성물

(57) 요약

백신 접종 후 발생하는 동물 스트레스를 완화하고 생산성 저하를 막을 수 있는 수의학적 조성물이 개시된다. 본 발명은 아세트아미노펜 및 부타포스판을 유효성분으로 포함하는 백신 접종 동물의 스트레스 완화용 수의학적 조성물을 제공한다.

대표도 - 도3



(52) CPC특허분류

A61P 43/00 (2018.01)

(72) 발명자

이용석

충남 아산시 배방읍 배방로 58-43, 한성 필하우스
105동 503호

유민동

충청남도 예산군 예산읍 역전로 150-6 서오아파트
102동 402호

구봉성

서울특별시 성북구 종암로24길 35, 204동 1902호
(종암동, 종암2차SK뷰아파트)

이현철

경기도 성남시 분당구 새나리로 6번길 15, 그린빌
401호

김진숙

경기도 광명시 안현로 34 하안주공3단지아파트 40
8동 1006호

장승원

경기도 의정부시 체육로 298-12 녹양동 휴먼시아아
파트 202-205

박영균

서울특별시 관악구 조원로13길 60 마이빌 505호

김성연

전라북도 익산시 하나로 498-21, 102동1002호(어
양동, 동도미소드림아파트)

장보운

전라북도 익산시 선화로23길 40, 나동 101호 (모현
동1가, 모현이화아파트)

문정준

서울특별시 영등포구 도림로143길 32, 문래삼환아
파트 102동 1204호

손예훈

서울특별시 송파구 백제고분로36가길 19-5, 401호

명세서

청구범위

청구항 1

아세트아미노펜 및 부타포스판을 유효성분으로 포함하는 백신 접종 동물의 스트레스 완화용 수의학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

전체 조성물 대비 상기 상기 아세트아미노펜은 10~60중량% 및 상기 부타포스판은 0.01~30중량%로 포함된 것을 특징으로 하는 수의학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서

상기 백신은 구제역 또는 조류인플루엔자의 백신인 것을 특징으로 하는 수의학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 수의학적 조성물은 가축용 사료 전체 조성물의 함량 대비 0.005~2중량%인 것을 특징으로 하는 수의학적 조성물.

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 수의학적 조성물에 관한 것으로, 보다 상세하게는 백신 접종 동물의 스트레스 완화용 수의학적 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 구제역(FMD: Foot-and-Mouth Disease)은 소, 돼지, 양과 같이 발굽이 둘로 갈라진 형태의 동물군인 우제류(artiodactyla)에 감염되는 바이러스성 전염병이다. 구제역 바이러스에 의하여 전파되는 FMD에 감염되면, 동물에 발열, 발과 입의 물집, 물집으로 인한 파행 증상이 나타나며, 입, 혀, 코, 발 및 유두에 수포성 병변이 발생한다.

[0003] FMDV(Foot-and-Mouth Disease Virus)는 숙주의 인두에서 급속하게 복제되어 48시간 내에 혈류로 진입함으로써 입과 발에 병변을 유발하며, 에어로졸, 직접 접촉, 오염된 축산물을 통하여 전파된다. 최근 연구에 따르면 감염된 한 마리의 돼지가 단시간 내에 3000 마리의 소에 해당하는 에어로졸 바이러스를 방출하여, 돼지가 이 질병의 주요한 인자로서 질병 전파에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다(Moraes et al, 2002)

[0004] 이 질환은 전염성이 매우 강하고 국제교역상 피해규모가 크기 때문에, 국제수역사무국(OIE)에서는 A급 질병(List A)으로 분류하여 관리하고 있다. 또한, 구제역이 발생하면 이를 억제하기 위하여 이동제한, 검역, 위생방역, 살처분 등의 조치가 취해지며, 최초 발생 지역을 중심으로 불활성화 백신을 이용한 백신 프로그램이 가동된다. 국내의 경우 2010년 전국적으로 구제역이 발생하여 약 330만 마리의 돼지가 살처분 되어, 양돈 논가에 막대한 경제적인 손실과 함께 국내 양돈 산업에 막대한 피해를 초래한 바 있다.

[0005] 구제역은 치사율이 매우 높지는 않지만(약 5 내지 55%), 가축의 식욕 부진, 발열, 발육 저하 등으로 인해 가축의 상품가치를 크게 저하시키는 결과를 가져온다. 또한, 일단 발생하면 살처분 등에 의하여 축산 농가에 막대한 경제적 손실을 야기하기 때문에 구제역 예방을 위한 백신접종을 시행하는 것이 필수적이나, 백신을 접종한 가축에 백신 부작용이 발생하거나 스트레스 반응이 나타나기도 한다.

- [0006] 조류인플루엔자(Avian Influenza)는 닭, 칠면조 및 야생 조류 등 여러 종류의 조류에 감염되며, 주로 닭과 칠면조의 가금류에 피해를 주는 급성 바이러스성 전염병이다. 조류인플루엔자는 전파가 빠르고 병원성이 다양한 질병으로 세계동물보건기구(OIE)에서는 병원성에 따라 고병원성과 저병원성 조류인플루엔자로 분류하고 있다.
- [0007] 조류인플루엔자의 원인체는 오소믹소바이러스과(Orthomyxoviridae)의 A형 인플루엔자 바이러스(Influenza virustype A)로서, A형 인플루엔자의 혈청형은 두 가지 단백질인 헤마글루티닌(Hemagglutinin)과 뉴라미니다제(Neuraminidase)의 종류에 따라 구분되는 H 혈청형과 N 혈청형이 있다. 조류인플루엔자 바이러스의 혈청형은 각각의 H 혈청형과 N 혈청형으로 표시하며(예: H9N2형), H 혈청형이 16가지, N 혈청형이 9가지 종류가 있으므로, 산술적으로 존재 가능한 인플루엔자 바이러스의 혈청형은 144가지로 나타낼 수 있다. 1996년 첫 발생 이후 현재까지 국내에서 유행하고 있는 조류인플루엔자의 혈청형은 H9N2형에 속하는 저병원성 조류인플루엔자이다.
- [0008] 조류인플루엔자 바이러스 감염의 진단은 유전자 검사, 바이러스의 분리 및 혈청학적 검사가 있다. 유전자 검사는 감염된 닭의 분변, 기관, 맹장편도와 기타 실질장기의 시료로부터 유전자를 추출한 후 RT-PCR을 통해 바이러스 감염여부와 감염된 바이러스의 혈청형을 확인할 수 있다. 바이러스 분리는 감염된 시료를 SPF (Specific Pathogen Free) 종란에 접종하여 혈구응집성 바이러스를 확인 및 분리하여 H형 및 N형의 혈청형별 특이 항체를 이용하여 HI(혈구응집억제반응) 및 NI(뉴라미니다제 억제반응)를 통해 분리된 바이러스의 혈청형을 동정할 수 있다. 혈청학적 검사로는 혈액을 이용한 혈구응집억제반응(HI), 한천내침강반응(AGID) 및 효소결합면역흡수법(ELISA)을 통해 계군의 감염여부를 판단할 수 있으며 대량검사가 가능하여 모니터링 검사방법으로 사용하고 있다. 이러한 유전자 검사, 바이러스 분리 및 혈청학적 검사를 하기 위해서는 적절한 시약, 장비 및 전문적인 기술이 있는 실험실에서 이루어져야 하며, 진단시간은 빠르면 3시간에서 5일 정도의 시간이 소요된다.
- [0009] 구제역 및 조류인플루엔자 백신 부작용의 예로는, 백신 접종 후 발생하는 부종, 염증, 괴사 등의 국소적 부작용 증상과 전신적 반응의 형태로 발생하는 스트레스 증가, 면역 이상 반응, 발열, 식욕 감퇴, 기립 지연, 행동 둔화, 발적, 호흡 곤란, 신경이상 증상, 폐사 등을 들 수 있다. 이러한 부작용은, 불완전한 병원성의 제거에서 기인하는 백신 내에 잔존하는 병원성 때문에 면역능이 저하된 개체 등에서 나타나는 현상이거나, 백신에 첨가되는 오일 유래 면역보조제에 의해 발생하는 현상일 수 있으나, 명확하게 그 원인이 밝혀져 있지는 않다.
- [0010] 구제역 및 조류인플루엔자는 일단 전염이 시작되면 사회적, 경제적으로 막대한 피해를 발생시킬 뿐만 아니라, 가축매몰, 침출수 등에 따른 2차 피해 또한 상당하기 때문에, 적절한 시기에 백신 접종이 필수적이다. 그러나 위에서 언급한 백신의 부작용에 대한 우려, 그리고 백신 접종 후 부작용과 스트레스가 생산성 저하를 일으켜 출하지연을 발생시킨다는 우려 때문에, 일부에서는 백신 접종 자체를 기피하는 문제가 발생하고 있다.
- [0011] 따라서, 이렇듯 다양한 요인에 의해 가축이 스트레스를 느끼면서 발생하는 문제점들을 소거하여, 가축의 체중 및 생산성을 증가시키고, 폐사율을 감소시키기 위한 사료 첨가제에 대한 연구가 필요한 실정이고, 공개특허 제 2017-0015084호 또한 백신 스트레스 완화용 수의학적 조성물을 개시하고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 따라서, 본 발명은 상기 문제점을 해결하고자 안출된 것으로, 백신 접종 후 발생하는 동물 스트레스를 완화하고 생산성 저하를 막을 수 있는 수의학적 조성물을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0013] 상기 과제를 해결하기 위하여 본 발명은, 아세트아미노펜 및 부타포스판을 유효성분으로 함유하는 백신 접종 동물의 스트레스 완화용 수의학적 조성물을 제공한다.
- [0014] 또한, 전체 조성물 대비 상기 아세트아미노펜은 10~60중량% 및 상기 부타포스판은 0.01~30중량%로 포함된 것을 특징으로 하는 수의학적 조성물을 제공한다.
- [0015] 상기 백신은 구제역 또는 조류인플루엔자의 백신인 것을 특징으로 하는 수의학적 조성물을 제공한다.
- [0016] 상기 수의학적 조성물은 가축용 사료 전체 조성물의 함량 대비 0.005~2중량%인 것을 특징으로 하는 수의학적 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0017] 본 발명은 수의학적 조성물에 있어 특정 화합물을 혼합함으로써 바이러스 백신 접종에 의한 동물 스트레스를 완화시키고, 생산성 저하를 방지할 수 있는 수의학적 조성물을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 2주간의 직장온도를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 2는 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 2주간의 임상지수를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 3은 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 FMDV 항체가 변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 4는 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 코티솔의 농도 변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 5는 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IgG의 농도를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 6은 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IgM의 농도를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 7은 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IgA의 농도를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 8은 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 TNF- α 의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 9는 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IL- β 의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 10은 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IL-6의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 11은 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 PGE₂의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 12는 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 GM-CSF의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 13은 실험예 1에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IFN- γ 의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 14는 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 AIV 항체가 변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 15은 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 NDV 항체가 변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 16는 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 IBV 항체가 변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 17는 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 코티솔의 농도 변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 18은 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 TNF- α 의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 19는 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IL- β 의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 20은 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IL-6의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 21은 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 PGE₂의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 22는 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 GM-CSF의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프,
 도 23은 실험예 2에 따른 실험군의 백신 투여 후 혈청 내 IFN- γ 의 함량변화를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하에서는 본 발명의 바람직한 실시예를 상세하게 설명한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐리게 할 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략하기로 한다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한, 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있음을 의미한다.

[0021] 본 발명자들은 백신 접종 동물의 스트레스 완화용 수의학적 조성물에 있어서, 구제역 및 조류인플루엔자가 가축의 식욕 부진, 발열, 발육 저하 등으로 인해 가축의 상품가치를 크게 저하시키고, 일단 발생하면 살처분 등에 의하여 축산 농가에 막대한 경제적 손실을 야기하기 때문에 구제역 및 조류인플루엔자 예방을 위한 백신접종을 시행하는 것이 필수적이나, 백신을 접종한 가축에 백신 부작용이 발생하거나 스트레스 반응이 나타나고 이러한 백신의 부작용에 대한 우려, 그리고 백신 접종 후 부작용과 스트레스가 생산성 저하를 일으켜 출하 지연을 발생

시킨다는 우려 때문에, 일부에서는 백신 접종 자체를 기피하는 문제가 발생하고 있다는 사실에 직시하고, 이러한 문제점을 해결하기 위하여 예의 연구를 거듭한 결과, 아세트아미노펜 및 부타포스판을 혼합하여 수의학적 조성물을 제조하는 경우, 구제역 및 조류인플루엔자 백신을 접종하고 발생할 수 있는 부작용이나 동물이 받는 스트레스를 현저하게 감소시킬 수 있음을 발견하고 본 발명에 이르게 되었다.

[0022] 따라서 본 발명은 아세트아미노펜 및 부타포스판을 유효성분으로 함유하는 백신 접종 동물의 스트레스 완화용 수의학적 조성물을 개시한다.

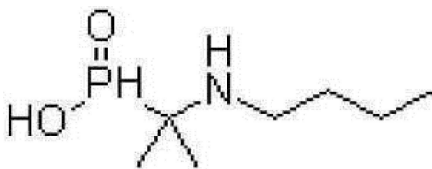
[0023] 수의학적으로 적용되고 있는 백신은, 바이러스 항원과 오일성분의 보조제(adjuvants)를 혼합한 불활화 오일백신과 같은 불활화 백신(inactivated vaccine)이거나 생백신(Live vaccine)으로, 오일 성분의 보조제가 원인이 되어 국소적 염증 등의 반응을 일으키거나, 질병에 이미 감염된 동물에 사용된 경우에는 사료섭취 저하 등의 백신 접종에 따른 스트레스가 발생한다고 알려져 있다. 또한, 구제역 바이러스 백신은 접종 시 부종, 염증 및 괴사 등 여러 가지의 부작용이 따르는 경우가 있다.

[0024] 이에 본 발명에 따른 상기 수의학적 조성물은 스트레스 호르몬 수치를 현저하게 감소시키며, 동물의 식욕억제 현상이 나타나지 않도록 조절하고, 백신 접종 동물에서 나타나는 백신 접종에 따른 스트레스를 완화하고 부작용을 예방 또는 치료할 수 있다.

[0025] 본 발명에서 상기 아세트아미노펜(acetaminophen)은 성분명이며, 1950년대에 미국에서 개발된 타이레놀(tylenol)이라는 단일제제의 상품명으로 잘 알려져 있다. 인체 내에서 통증을 전달하는 프로스타글란딘(Prostaglandin)의 생합성을 방해하여 진통 효과를 나타내며, 이밖에 해열 작용도 한다. 아스피린에 비하여 항염증 효과는 미미하지만, 진통 및 해열 효과가 뛰어나 발열이나 통증, 두통, 치통 등에 널리 쓰인다. 의사의 처방 없이 살 수 있는 일반의약품에 속한다. 그러나 허용된 용량보다 많이 복용하거나 아세트아미노펜이 포함된 여러 제품을 동시에 복용하는 경우에는 간에 치명적 손상을 초래할 수 있다. 또 아세트아미노펜 복용 중에 음주를 하는 경우에도 간 손상의 위험성이 높아질 수 있다.

[0026] 본 발명에서 상기 부타포스판은 하기 화학식 1로 표현되는 유기인화합물로서 대사를 활성화하고 면역시스템을 조절하는 기능을 지닌 약리활성 물질이다.

[0027] [화학식 1]



[0028]

[0029] 본 발명에서 상기 수의학적 조성물은 전체 조성물 대비 상기 아세트아미노펜을 10~60중량%, 바람직하게는 15~50중량%, 더욱 바람직하게는 20~40중량%를 포함할 수 있고, 상기 부타포스판을 0.01~30중량%, 바람직하게는 0.1~20중량%, 더욱 바람직하게는 1~10중량%를 포함할 수 있다.

[0030] 상기 아세트아미노펜 및 부타포스판의 함량이 상기 함량범위 미만이면, 구제역 또는 조류인플루엔자 백신 접종 시 부작용 및 스트레스 완화 효능이 저하될 수 있고, 상기 함량범위를 초과하면 약물 접종량이 과도하여 동물에게 스트레스가 발생하여 생산성이 저하될 수 있다.

[0031] 발명에 따른 상기 수의학적 조성물이 약학적 조성물의 형태로 제공이 되는 경우에는, 본 발명의 상기 혼합물 이외에 하나 이상의 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 함유할 수 있으며, 상기 부형제로 바람직하게 무수포도당을 사용할 수 있다.

[0032] 또한, 상기에서 "약학적으로 허용되는"이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 활성성분의 작용을 저해하지 않으며 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 비독성의 조성물을 말한다.

[0033] 약학적으로 허용되는 담체로는 예컨대, 경구 투여용 담체 또는 비경구 투여용 담체를 추가로 포함할 수 있다. 경구 투여용 담체는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체, 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 등을 포함할 수 있다. 아울러, 펩티드 제제에 대한 경구투여용으로 사용되는 다양한 약물전달물질을 포함할 수 있다. 또한, 비경구 투여용 담체는 물, 적합한 오일, 식염수, 수성 글루코오스 및 글리콜 등을 포함할 수 있으며, 안정화제 및 보존제를 추가로 포함할 수 있다. 적합한 안정화제로는 아황산수소나트륨, 아황산나트륨 또는 아스코르브산과 같은 항

산화제가 있다. 적합한 보존제로는 벤즈알코늄 클로라이드, 메틸- 또는 프로필-파라벤 및 클로로부탄올이 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제 등을 추가로 포함할 수 있다. 그 밖의 약학적으로 허용되는 담체 및 제제는 다음의 문헌에 기재되어 있는 것을 참고로 할 수 있다(Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1995).

[0034] 본 발명의 조성물이 포유동물에게 투여 시, 경구 또는 비경구적으로 투여할 수 있다. 비경구적인 투여방법으로는 이에 한정되지는 않으나, 정맥내, 근육내, 동맥내, 골수내, 경막내, 심장내, 경피, 피하, 복강내, 비강내, 장관, 국소, 설하 또는 직장내 투여될 수 있다.

[0035] 또한, 본 발명에 따른 상기 수의학적 조성물은 사료에 혼합되어 가축에게 제공될 수 있으며, 상기 수의학적 조성물은 가축용 사료 전체 조성물의 함량 대비 0.005~2중량%일 수 있고, 바람직하게는 0.01~1.5중량%일 수 있고, 더욱 바람직하게는 0.05~1중량%일 수 있다.

[0036] 상기 수의학적 조성물 함량이 가축용 사료 전체 조성물의 함량 대비 0.005중량% 미만이면, 백신 접종 시 스트레스 완화 효능이 저하될 수 있고, 2중량%를 초과하면, 첨가량 대비 스트레스 완화 효능이 향상되지 않아 경제적이 되지 못하고, 가축이 사료 섭취 시 과도한 약물을 섭취하여 스트레스가 증가할 수 있다.

[0037] 또한, 상기 수의학적 조성물은 영양 보충제, 소화 및 흡수 향상제, 성장 촉진제 등을 더 포함할 수 있으며, 상기 사료는 곡물(예를 들면, 분쇄 또는 파쇄된 밀, 귀리, 보리, 옥수수, 쌀), 식물성 단백질 사료(예를 들면, 평지, 콩, 및 해바라기를 주성분으로 하는 사료), 동물성 단백질 사료(예를 들면, 혈분, 육분, 골분 및 생선분), 당분 및 유제품(예를 들면 각종 분유 및 유장 분말로 이루어지는 건조 성분 등)을 더 포함할 수 있으며 동물에게 단독으로 투여하거나 식용 담체 중에서 다른 사료와 조합하여 투여할 수도 있고, 또한, 상기 사료는 탑 드레싱으로서 또는 이들을 동물 사료에 직접 혼합하거나 또는 사료와 별도의 경구 제형으로 용이하게 동물에게 투여할 수 있다.

[0038] 또한, 상기 수의학적 조성물을 동물 사료와 별도로 투여할 경우, 당해 기술분야에 잘 알려진 바와 같이 약제학적으로 허용 가능한 식용 담체와 조합하여, 즉시 방출 또는 서방성 제형으로 제조할 수 있다. 이러한 식용 담체는 고체 또는 액체, 예를 들어 옥수수 전분, 락토오스, 수크로오스, 콩 플레이크, 땅콩유, 올리브유, 참깨유, 물 및 프로필렌 글리콜일 수 있고, 고체 담체가 사용될 경우, 사료는 정제, 캡슐제, 산제, 트로키제 또는 함당 정제 또는 미분산성 형태의 탑 드레싱일 수 있으며, 액체 담체가 사용될 경우, 사료는 젤라틴 연질 캡슐제, 또는 시럽제나 현탁액, 에멀전제, 또는 용액제의 제형일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.

[0039] 이하, 본 발명에 따른 구체적인 실시예를 들어 설명한다.

[0041] 실시예

[0042] 아세트아미노펜(ANQIU LU'AN PHARMACEUTICAL CO. LTD) 300g, 부타포스판(NGL Fine-Chem Limited) 50g 및 무수 포도당(삼양제넥스) 650g을 혼합하여 조성물을 제조하였으며, 상기 제조는 동물약품공정서 제제총칙 중 산제 제법에 준하여 제조하였다.

[0044] 실험예 1

[0045] 1. 재료 및 방법

[0046] 시험동물 및 시험설계:

[0047] 육성돈 18두(수컷 9마리, 암컷 9마리, 6~7주령)(Conventional Landrace pig, 하나바이오)를 공시하였고, 동물 입수 후 1주간 동물실에서 순화 후 2주 동안 시험을 실시하였다.

[0048] 시험설계는 i)일반적인 사료인 CON(Basal diet)만을 제공한 대조군, ii) 일반사료를 공급하고 FMDV 백신을 투여한 FMDV 백신투여군, iii) FMDV 백신 투여 3일 전부터 FMDV 백신 투여 당일까지 총 4일간 사료 내에 상기 실시예에서 제조한 조성물을 톤당 1kg을 첨가하여 공급하고, FMDV 백신 투여 이후 일반사료를 공급한 조성물 및 FMDV 백신투여군(샘플)을 준비하여 각 군당 암수 3두씩 총 6두를 배치하였다.

[0050] **백신 및 사양관리:**

[0051] 온도 $22\pm3^{\circ}\text{C}$ 환기횟수 20회/시간, 조명주기 12시간 및 조도 200~250Lux의 환경조건으로 설정하여 사육을 실시하였고, 백신 접종은 대조군을 제외한 모든 육성돈에게 동일한 불활화 정제 구제역 백신(녹십자수의약품 주식회사)을 제조사의 매뉴얼에 따라 두당 2ml을 접종하였다.

[0053] **조사항목 및 방법:**

[0054] (1) 체중 측정

[0055] 백신스트레스 완화 효과를 알아보기 위하여 조성물투여 당일(D-3), 백신 투여 당일(D0), 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일에 체중을 측정하여 증체량의 변화를 조사하였으며, 일일 증체량은 시험종료 시점의 체중에서 백신 투여 개시체중을 뺀 값에 실험일수를 나눈 값으로 하였다.

[0057] (2) 사료 섭취량 측정

[0058] 시험사료는 NRC(2012) 요구량에 따라 배합한 사료(스페셜 젃돈, 대주산업주)로서 두당 2kg씩 모두 동일하게 제한급여를 실시하였으며, 물은 자유로이 섭취할 수 있도록 하였고, 매일 공급량과 잔량을 측정하여 사료섭취량을 측정하였으며, 상기 실시예에서 제조된 조성물을 사료에 혼합하여 공급한 4일의 사료섭취량도 측정하였다.

[0060] (3) 임상증상 관찰

[0061] 실험이 종료되는 14일간 하기 표 1에 따른 임상증상 지표에 따라 임상증상을 관찰한 후 배점하였다.

표 1

관찰 항목		임상지수
외관/행동이상	정상	0
	둔함, 무기력 침울	2
	황와	3
직장 체온 (2회/일)	정상 ($38\sim39.5^{\circ}\text{C}$)	0
	$39.51\sim40.0^{\circ}\text{C}$	1
	$40.1\sim40.5^{\circ}\text{C}$	2
	$>40.5^{\circ}\text{C}$	3
	$<38^{\circ}\text{C}$	3
분변양상	정상	0
	연변(모양이 있는 연한 변)	1
	설사(노란색의 묽은 변)	3
호흡기 및 신경증상	정상	0
	호흡 불규칙, 기침	3
	유연	3
	구토	3
	두드러기	3
백신접종부위 반응	정상	0
	부종 또는 피부색의 변화	2
	경결	3

[0063]

[0064] (4) 혈액학치 분석

[0065] 혈액학치를 분석하기 위하여 혈액학치 분석장비 (Urit-3000 Vet plus Hematology analyzer, Urit medical electronic)를 이용하여 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0066] 혈액학치 분석을 위해 경정맥에서 혈액을 채취하여 혈액 1 mL를 potassium EDTA(Ethylenediaminetetraacetic acid) 병에 넣어 섞은 후, 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 헤모글로빈(HGB), 적혈구용적(HCT), 적혈구 평균용적

(mean corpuscular volume, MCV), 적혈구평균혈색소(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 적혈구혈색소 평균농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) 및 혈소판(platelet, PLT)을 측정하였다.

[0068] (5) 혈청생화학치 분석

[0069] 혈청생화학치를 분석하기 위하여 자동화학분석장비(COBAS C702)를 이용하여 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0070] 혈청생화학치 분석을 위해 경정맥에서 혈액을 채취하여 응고시킨 후 원심분리하고, Alanine aminotransaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), Alkaline phosphatase (ALP), 총 단백질(Total protein, T-PRO), Albumin (ALB), 총 빌리루빈(Total bilirubin, T-BIL), Glucose (GLU), 총 콜레스테롤(Total cholesterol, T-CHO), Triglyceride (TG), Lactate Dehydrogenase (LDH), 혈중요소질소(Blood urea nitrogen, BUN) 및 Creatinine(CREA)을 측정하였다.

[0072] (6) 혈청 FMDV 항체가 측정

[0073] 혈청 내 FMDV type 0 항체를 분석하기 위하여 ELISA kit(PrioCHECK FMDV type 0)를 이용하여 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0074] FMDV type 0 antigen 이 부착된 웰에 ELISA buffer 90 μ l와 각각의 혈청 10 μ l를 분주한 후 상온(22 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C)에서 60 $\pm$ 5분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. 세척 후 conjugate를 ELISA buffer로 30배 희석하여 100 μ l씩 ELISA 플레이트에 분주한 후 상온(22 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C)에서 60 $\pm$ 5분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. 발색시약(TMB)를 각각 100 μ l씩 첨가하여 발색반응을 확인하였으며, 반응정지용액(stop solution)을 100 μ l첨가하여 발색반응을 정지시켰다. 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였고, 그 결과를 계산식 $\{100 - (\text{corrected OD}_{450} \text{ test sample} / \text{corrected OD}_{450\text{max}}) \times 100\}$ 에 따라 PI 수치를 얻어 50 이상일 경우 양성, 50 미만일 경우 음성으로 판정하였다.

[0076] (7) 혈청 코티솔(Cortisol) 함량 분석

[0077] 스트레스 지표 중 하나인 코티솔을 분석하기 위하여 ELISA kit(bioassay Technology Laboratory)를 이용하여, 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0078] Porcine cortisol antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti-cortisol antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시킨 후 washing buffer로 5회 세척하였다. 세척 후 Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지 용액(stop solution)을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0080] (8) 혈청 면역글로불린(IgG, IgM, IgA) 함량 분석

[0081] 특이적 면역계 활성을 조사하기 위하여 ELISA kit(Bioassay Technology Laboratory)를 사용하여 혈청 내 IgG, IgM 및 IgA의 함량을 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0082] Porcine IgG (또는 IgM, IgA) monoclonal antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l과 biotinylated Anti IgG (또는 IgM, IgA) antibody 10 μ l를 희석액 50 μ l 혼합하여 분주한 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시키고, 반응이 끝난 후 washing buffer로 3회 세척하였다. 세척 후 발색시약(TMB)A, B를 각각 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 확인하였으며, 반응정지 용액(stop solution)을 50 μ l 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0084] (9) 혈청 사이토카인 함량 측정

[0085] 1) TNF- α 함량 측정

- [0086] 혈청 TNF- α 분비에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Mybiosource)를 사용하여 혈청 내 TNF- α 함량을 하기와 같은 방법으로 측정하였다.
- [0087] Porcine TNF- α monoclonal antibody가 부착된 웰에 혈청 100 μ l씩을 분주하여 37 $^{\circ}$ C에서 90분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 2회 세척하였다. 세척 후 미리 준비한 biotinylated Porcine TNF- α antibody 용액 100 μ l씩을 분주한 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시키고, 3회 세척하였다. Enzyme-conjugate liquid 100 μ l를 분주하고 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시키고, washing buffer로 5회 세척하였다. Colour Reagent 용액 100 μ l씩을 각 웰에 분주한 후 37 $^{\circ}$ C에서 약 30분간 반응시키고, Colour Reagent C 100 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0089] 2) 혈청 IL- β 함량 분석
- [0090] 혈청 IL- β 에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory)를 사용하여 혈청 내 IL- β 함량을 하기와 같은 방법으로 분석하였다.
- [0091] Porcine IL- β antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti- IL- β antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지용액(stop solution)을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0093] 3) 혈청 IL-6 함량 분석
- [0094] 혈청 IL-6에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory)를 사용하여 혈청 내 IL-6 함량을 하기와 같은 방법으로 분석하였다.
- [0095] Porcine IL-6 antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti- IL-6 antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지용액(stop solution)을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0097] 4) 혈청 PGE₂ 함량 분석
- [0098] 돼지 혈중 PGE₂ 함량에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Mybiosource)를 사용하여 혈장 내 PGE₂ 함량을 분석하였다.
- [0099] Porcine PGE₂ monoclonal antibody가 부착된 웰에 혈청 100 μ l를 분주 후 37 $^{\circ}$ C에서 90분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 2회 세척하였다. 이 후 biotinylated PGE₂ antibody 100 μ l를 분주하고 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 3회 세척하였다. 세척 후 enzyme-conjugate liquid 100 μ l를 분주하고 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시키고, washing buffer로 5회 세척하였다. Colour reagent liquid 100 μ l씩 첨가하여 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 15~30분간 발색반응을 유도하였으며, colour reagent C 100 μ l를 첨가하여 발색반응을 정지하였다. 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0101] 5) 혈청 GM-CSF 함량 분석
- [0102] 혈청 GM-CSF 분비에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Mybiosource)를 사용하여 혈청 내 GM-CSF 함량을 분석하였다.
- [0103] Porcine GM-CSF monoclonal antibody가 부착된 웰에 혈청 100 μ l씩을 분주하여 37 $^{\circ}$ C에서 90분간 반응시켰으며,

반응이 끝난 후 washing buffer로 2회 세척하였다. 세척 후 미리 준비한 biotinylated Porcine GM-CSF antibody 용액 100 μ l씩을 분주한 후 37℃에서 60분간 반응시키고, 3회 세척하였다. Enzyme-conjugate liquid 100 μ l를 분주하고 37℃에서 30분간 반응시키고, washing buffer로 5회 세척하였다. Colour Reagent 용액 100 μ l씩을 각 웰에 분주한 후 37℃에서 약 30분간 반응시키고, Colour Reagent C 100 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0105] 6) 혈청 IFN- γ 함량 분석

[0106] 혈청 IFN- γ 에 대한 약물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory)를 사용하여 혈청 내 함량을 분석하였다.

[0107] Porcine IFN- γ antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti-IFN- γ antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37℃에서 60분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가한 후 37℃에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지용액(stop solution)을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0109] (10) 부검소견

[0110] 실험이 종료되는 14일째 돼지를 안락사시킨 후 백신접종 부위, 신장, 림프절, 비장 등 내부 실질장기의 이상 여부를 육안적으로 관찰하여 하기 표 2에 따라 배점하였다.

표 2

육안병리소견	지수
정상	0
병변 또는 이상세포의 국소적, 한정적 존재	1
병변 또는 이상세포의 일부 산재, 세포 괴사	2
심한 괴사 소견, 심한 경색, 병변이 장기내 전체적으로 퍼져 관찰됨	3

[0114] (11) 통계 처리

[0115] 통계처리는 STATISTICA 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA 분석을 하였고, 이후 DunCan's multiple range test(p<0.05)로 각각의 시험군별로 평균간의 유의성을 검정하였으며, 결과값은 평균값 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ SD)로 나타내었다.

[0117] 2. 실험결과

[0118] (1) 체중변화

표 3

시험군	체중변화 (kg)			총 증체량 (kg) (D14-D0)	일일 증체량 (kg/day)
	조성물 투여개시 (D-3)	백신투여 (D0)	실험종료 (D14)		
대조군	22.78±3.91	24.38±4.15	33.35±5.39	8.97±1.61	0.64±0.12
FMDV 백신투여군	22.02±2.641	23.82±2.46	30.83±1.94	7.02±1.11*	0.50±0.08*
조성물 및 FMDV백신투여군(샘플)	22.92±3.87	24.47±4.13	32.98±4.13	8.52±0.63*	0.61±0.05*

* $p<0.05$, significantly different from control group
 * $p<0.05$, significantly different from FMDV vaccine group

[0119]

[0120]

상기 표 3을 참조하면, 대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플의 백신투여 당일 체중은 각각 $24.38\pm4.15\text{kg}$, $23.82\pm2.46\text{kg}$ 및 $24.47\pm4.13\text{kg}$ 이었고, 실험종료 시 체중은 각각 $33.35\pm5.39\text{kg}$, $30.83\pm1.94\text{kg}$ 및 $32.98\pm4.13\text{kg}$ 이었으며, 샘플의 체중이 FMDV 백신투여군보다 높았으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다.

[0121]

대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플의 총 증체량은 각각 $8.97\pm1.61\text{kg}$, $7.02\pm1.11\text{kg}$, $8.52\pm0.63\text{kg}$ 이었으며, 일일 증체량은 각각 $0.64\pm0.12\text{kg/day}$, $0.50\pm0.08\text{kg/day}$ 및 $0.61\pm0.05\text{kg/day}$ 이었다. 샘플의 총 증체량 및 일일 증체량은 FMDV 백신투여군에 비하여 유의하게 높았으며, FMDV 백신투여군의 총 증체량 및 일일증체량은 대조군에 비하여 유의하게 낮았다.

[0123]

(2) 사료효율

표 4

시험군	총 증체량 (kg)	사료섭취량(kg/animal)		사료효율
		4일간 (D-3~D0)	14일간 (D0~D14)	
대조군	8.97±1.61	4.05±0.40	22.29±1.70	0.40±0.06
FMDV 백신투여군	7.02±1.11*	4.06±0.006	21.10±1.59	0.33±0.04*
조성물+ FMDV백신투여군 (샘플)	8.52±0.63*	4.03±0.35	21.74±0.45	0.39±0.03

* $p<0.05$, significantly different from control group

[0124]

표 5

시험군	평균체중(kg) (D-3~D0)	4일간 사료섭취량 (kg/animal) (D-3~D0)	조성물 섭취량	
			g/animal/day	g/kg bw/day
조성물+ FMDV백신투여군 (샘플)	23.69±4.00	4.03±0.35	1.34±0.12	0.06±0.01

[0125]

[0126]

상기 표 4를 참조하면, 대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플의 개체별 총 사료 섭취량은 각각 $22.29\pm1.70\text{kg}$, $21.10\pm1.59\text{kg}$ 및 $21.74\pm0.45\text{kg}$ 이었고, 사료효율은 0.40 ± 0.06 , 0.33 ± 0.04 , 0.39 ± 0.03 으로 FMDV 백신투여군의 사료효율이 대조군에 비하여 유의하게 낮았으며, 샘플은 대조군과 차이가 없었다.

[0127] 또한, 상기 표 5를 참조하면, 샘플의 두당 일일 조성물 섭취량은 $1.34 \pm 0.12 \text{g/animal/day}$ 이었으며 체중 1kg당 조성물 섭취량은 $0.06 \pm 0.01 \text{g/kg bw/day}$ 이었다.

[0129] (3) 임상증상

[0130] 도 1은 직장 내 온도 변화를 나타낸 그래프이고, 도 2는 임상 지수 변화를 나타낸 그래프이다.

[0131] 도 1을 참조하면, FMDV 백신투여군의 체온은 백신 투여 후 8시간째부터 7일째까지 대조군에 비하여 유의하게 높았으나, 이후 대조군과 비교 시 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 그러나 8일째부터 12일째까지 일부 개체에서 일시적인 체온상승이 관찰되었다.

[0132] 또한, 샘플은 백신 투여 후 8시간째에 대조군에 비해 유의하게 높았으나, FMDV 백신투여군 보다는 유의하게 낮았다. 백신투여 후 5일째와 7일째를 제외하고는 대조군과 유의한 차이는 관찰되지 않았다. 백신 투여 후 1일째부터 실험종료일까지 FMDV 백신투여군 보다 체온이 낮았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0133] 도 2를 참조하면, 백신 투여 후 체온 이외의 임상증상을 관찰한 결과, 백신 투여에 의한 행동 둔화나 점종부위의 부종 및 경결은 관찰되지 않았다. 다만, 백신 투여 후 1일째에 한 개체에서 일시적인 기침이 관찰되었으며, 피모 거침은 11~14일째까지 관찰되었다.

[0134] 또한, 샘플에서도 백신 접종에 의한 행동 둔화나 점종 부위 부종 및 경결은 관찰되지 않았으며, 백신 투여 후 1일째에 한 개체에서 일시적인 기침이 관찰되었으며, 일부 개체에서 피모거침은 13일째까지 관찰되었다.

[0135] 또한, FMDV 백신투여군과 샘플의 백신접종에 의한 임상증상을 관찰한 결과, 조성물 투여에 의해 FMDV 백신 투여에 의한 임상증상이 개선됨이 확인되었다.

[0137] (4) 혈액학치 검사

[0138] 각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, FMDV 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈액학치를 검사하였고, 그 결과를 하기 표 6에 나타내었다.

표 6

Parameters	Group	Day -3 (조성물투여)	Day 0 (백신투여)	Day 1	Day 3	Day 7	Day 14
WBC ($\times 10^9/\text{L}$)	대조군	20.9 $\pm$ 1.9	20.4 $\pm$ 3.3	21.3 $\pm$ 2.0	21.1 $\pm$ 2.0	21.2 $\pm$ 1.8	21.6 $\pm$ 2.9
	FMDV 백신투여군	20.1 $\pm$ 2.1	19.9 $\pm$ 2.5	30.8 $\pm$ 6.0**	27.2 $\pm$ 5.2*	29.5 $\pm$ 8.6*	24.7 $\pm$ 2.2
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	20.8 $\pm$ 1.4	20.8 $\pm$ 2.9	28.6 $\pm$ 3.6**	25.2 $\pm$ 4.4	25.0 $\pm$ 3.2	22.6 $\pm$ 3.7
RBC ($\times 10^{12}/\text{L}$)	대조군	6.5 $\pm$ 0.6	6.1 $\pm$ 0.5	6.8 $\pm$ 0.7	6.7 $\pm$ 0.6	16.2 $\pm$ 24.7	6.2 $\pm$ 0.7
	FMDV 백신투여군	6.0 $\pm$ 0.4	6.0 $\pm$ 0.8	6.4 $\pm$ 0.7	6.1 $\pm$ 0.6	6.2 $\pm$ 0.5	5.9 $\pm$ 0.2
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	6.1 $\pm$ 0.8	6.1 $\pm$ 0.6	6.4 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 0.8	6.0 $\pm$ 0.3	6.3 $\pm$ 0.4
HGB (g dL)	대조군	11.1 $\pm$ 0.9	10.8 $\pm$ 0.7	11.8 $\pm$ 1.0	11.0 $\pm$ 0.9	10.3 $\pm$ 0.6	10.8 $\pm$ 1.2
	FMDV 백신투여군	10.6 $\pm$ 0.5	10.5 $\pm$ 1.0	11.2 $\pm$ 1.0	10.2 $\pm$ 0.9	10.4 $\pm$ 0.9	10.4 $\pm$ 0.5
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	10.4 $\pm$ 1.3	10.7 $\pm$ 1.0	11.1 $\pm$ 0.7	10.0 $\pm$ 1.3	10.0 $\pm$ 0.4	10.8 $\pm$ 0.8
HCT (%)	대조군	37.4 $\pm$ 3.6	35.3 $\pm$ 1.6	39.7 $\pm$ 3.9	38.2 $\pm$ 3.7	34.8 $\pm$ 3.0	35.6 $\pm$ 4.2
	FMDV 백신투여군	35.7 $\pm$ 1.7	35.6 $\pm$ 3.7	38.0 $\pm$ 3.7	35.2 $\pm$ 2.9	35.8 $\pm$ 3.2	34.7 $\pm$ 1.8
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	35.7 $\pm$ 4.8	36.0 $\pm$ 3.3	38.9 $\pm$ 3.0	35.6 $\pm$ 5.5	35.0 $\pm$ 1.4	36.3 $\pm$ 2.6
MCV (fL)	대조군	57.6 $\pm$ 2.3	58.4 $\pm$ 2.9	58.2 $\pm$ 2.3	57.4 $\pm$ 2.3	56.0 $\pm$ 2.1	57.3 $\pm$ 2.0
	FMDV 백신투여군	59.7 $\pm$ 2.9	60.0 $\pm$ 2.5	59.4 $\pm$ 2.8	58.0 $\pm$ 2.3	57.8 $\pm$ 2.8	58.6 $\pm$ 3.4
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	58.3 $\pm$ 1.9	58.7 $\pm$ 1.8	60.8 $\pm$ 2.1	59.2 $\pm$ 2.4	58.4 $\pm$ 2.0	57.9 $\pm$ 1.8
MCH (Pg)	대조군	17.0 $\pm$ 0.5	17.7 $\pm$ 0.4	17.2 $\pm$ 0.5	16.5 $\pm$ 0.5	16.5 $\pm$ 0.9	17.2 $\pm$ 0.5
	FMDV 백신투여군	17.70.7*	17.7 $\pm$ 0.9	17.4 $\pm$ 0.5	16.8 $\pm$ 0.2	16.6 $\pm$ 0.3	17.5 $\pm$ 0.5
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	16.9 $\pm$ 0.4	17.5 $\pm$ 0.4	17.3 $\pm$ 0.7	16.7 $\pm$ 0.2	16.7 $\pm$ 0.2	17.2 $\pm$ 0.5
MCHC (g dL)	대조군	29.6 $\pm$ 0.8	30.4 $\pm$ 1.0	29.6 $\pm$ 1.1	28.8 $\pm$ 0.7	29.7 $\pm$ 2.0	30.1 $\pm$ 0.6
	FMDV 백신투여군	29.8 $\pm$ 0.9	29.6 $\pm$ 1.0	29.4 $\pm$ 1.2	29.1 $\pm$ 0.9	28.9 $\pm$ 1.0	30.1 $\pm$ 1.0
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	29.2 $\pm$ 1.1	29.8 $\pm$ 0.5	28.5 $\pm$ 1.1	28.3 $\pm$ 1.1	28.7 $\pm$ 0.8	29.8 $\pm$ 0.8
PLT ($\times 10^9/\text{L}$)	대조군	370.8 $\pm$ 53.6	395.7 $\pm$ 109.6	357.0 $\pm$ 84.3	338.5 $\pm$ 64.6	347.3 $\pm$ 75.1	359.5 $\pm$ 89.7
	FMDV 백신투여군	364.0 $\pm$ 61.9	391.7 $\pm$ 125.5	354.0 $\pm$ 80.2	363.3 $\pm$ 72.0	351.2 $\pm$ 82.7	390.5 $\pm$ 92.2
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	330.2 $\pm$ 42.5	408.7 $\pm$ 71.6	385.5 $\pm$ 43.1	396.8 $\pm$ 81.8	380.5 $\pm$ 58.5	340.5 $\pm$ 79.6

WBC: white blood cell, HGB: hemoglobin, HCT: hematocrit (적혈구용적률), MCV: mean corpuscular volume(적혈구 평균용적), MCH: mean corpuscular hemoglobin(적혈구평균혈색소), MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration(적혈구혈색소 평균농도), PLT: platelet(혈소판)
* $p < 0.05$, ** $p < 0.05$, significantly different from control group

[0139]

[0140] 상기 표 6을 참조하면, FMD 백신 투여 후 1일째의 FMDV 백신투여군과 샘플의 총 백혈구수는 각각 $30.8 \pm 6.0 \times 10^9/\text{L}$ 및 $28.6 \pm 3.6 \times 10^9/\text{L}$ 으로 대조군($21.3 \pm 2.0 \times 10^9/\text{L}$)에 비하여 유의하게 증가하였다. FMDV 백신 투여 후 3일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 총 백혈구수는 각각 $27.2 \pm 5.2 \times 10^9/\text{L}$ 및 $25.2 \pm 4.4 \times 10^9/\text{L}$ 으로 FMDV 백신투여

군은 대조군($21.1 \pm 2.0 \times 10^9/L$)에 비하여 유의하게 높았다.

[0141] 또한, 백신 투여 후 7일째의 FMDV 백신투여군의 총 백혈구수는 $29.5 \pm 8.6 \times 10^9/L$ 으로 대조군($21.2 \pm 1.8 \times 10^9/L$)에 비하여 유의하게 높은 반면, 샘플 ($25.0 \pm 3.2 \times 10^9/L$)의 총 백혈구 수는 대조군과 통계적 유의성은 관찰되지 않았다.

[0142] 백신 투여 후 14일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 총 백혈구 수는 각각 $24.7 \pm 2.2 \times 10^9/L$ 및 $22.6 \pm 3.7 \times 10^9/L$ 으로 대조군($21.6 \pm 2.9 \times 10^9/L$)과의 유의성은 관찰되지 않았고, 그 외 다른 혈액학적 검사 수치는 정상범위로 측정되었다.

[0144] (5) 혈청생화학치 검사

[0145] 각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, FMDV 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청생화학치를 검사하였고, 그 결과를 하기 표 7에 나타내었다.

표 7

Parameters	Group	Day -3 (조성물투여)	Day 0 (백신투여)	Day 1	Day 3	Day 7	Day 14
ALT (U/L)	대조군	37.83±8.21	37.83±4.71	45.33±6.41	43.67±3.83	45.33±6.95	49.00±4.29
	FMDV 백신투여군	40.50±7.99	39.83±8.93	43.50±5.24	44.17±9.60	47.50±8.36	49.33±6.38
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	40.33±6.28	40.67±7.00	46.50±6.95	45.67±10.48	43.50±9.54	48.83±7.14
AST (U/L)	대조군	65.17±6.11	51.00±5.40	47.83±4.88	54.67±6.12	52.50±7.50	50.33±9.75
	FMDV 백신투여군	60.83±4.54	50.33±9.37	48.33±8.80	53.67±7.63	55.33±8.45	54.50±8.87
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	62.00±5.80	48.67±10.23	43.00±5.93	51.50±5.75	52.33±10.73	53.33±8.26
ALP (U/L)	대조군	225.67±29.49	206.33±16.39	238.00±23.32	241.33±35.46	244.00±37.22	247.67±38.29
	FMDV 백신투여군	235.00±22.53	225.00±19.68	221.67±37.70	252.00±42.65	235.33±38.98	240.67±35.88
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	228.50±38.80	207.33±39.77	223.17±31.71	233.33±34.73	232.67±27.01	215.83±51.13
T-PRO (g/dL)	대조군	5.17±0.20	5.15±0.34	6.11±0.77	5.71±0.33	5.33±0.26	6.39±1.09
	FMDV 백신투여군	5.03±0.29	5.02±0.23	6.13±0.68	5.29±0.40	5.63±0.44	6.61±0.85
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	5.31±0.30	5.23±0.26	6.11±0.52	5.71±0.54	5.59±0.19	6.21±0.65
ALB (g/dL)	대조군	2.93±0.40	2.94±0.33	2.85±0.29	3.13±0.55	2.84±0.31	2.87±0.25
	FMDV 백신투여군	2.82±0.38	2.75±0.60	2.82±0.40	2.85±0.59	2.81±0.47	2.81±0.45
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	3.05±0.66	3.19±0.90	3.20±0.52	3.22±0.92	3.09±0.58	3.08±0.70
T-BIL (mg/dL)	대조군	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00
	FMDV 백신투여군	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00	0.15±0.00
GLU (mg/dL)	대조군	100.33±8.09	97.50±6.35	96.00±7.69	96.50±6.98	101.17±7.86	96.83±9.91
	FMDV 백신투여군	100.17±6.55	96.33±9.07	91.50±6.80	100.33±10.86	101.67±8.16	95.83±6.65
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	99.33±6.44	95.50±13.55	93.33±9.40	97.33±5.79	96.67±25.41	87.17±17.83
T-CHO (mg/dL)	대조군	86.67±8.31	84.33±9.24	91.50±8.02	87.00±10.56	89.83±7.31	82.00±8.02
	FMDV 백신투여군	85.33±6.09	87.83±8.61	91.17±9.70	85.33±10.33	88.00±8.07	81.33±10.29
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	86.83±6.71	88.00±10.12	93.33±9.40	87.00±7.56	86.00±10.49	81.00±4.56
TG (mg/dL)	대조군	77.50±8.73	66.67±8.31	74.67±6.89	89.33±9.77	77.83±9.02	78.17±8.91
	FMDV 백신투여군	77.83±9.56	66.17±9.91	72.17±5.91	87.17±8.13	77.50±8.60	81.83±5.91
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	76.50±8.12	68.50±12.99	68.33±6.98	88.33±8.04	77.67±8.55	75.50±9.03
BUN (mg/dL)	대조군	9.35±1.21	8.70±0.94	9.37±0.85	9.48±1.88	9.83±1.84	8.82±0.54
	FMDV 백신투여군	9.25±1.90	8.42±0.80	9.00±0.95	9.33±1.42	9.87±1.06	9.00±0.80
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	9.87±1.74	9.82±2.18	9.72±1.12	9.33±1.72	10.22±2.39	9.40±2.74
Creatinine (mg/dL)	대조군	0.80±0.09	0.80±0.10	1.06±0.19	0.85±0.08	0.84±0.07	0.97±0.29
	FMDV 백신투여군	0.82±0.06	0.83±0.10	1.01±0.20	0.84±0.09	0.90±0.10	0.91±0.09
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	0.88±0.09	0.80±0.16	0.93±0.14	0.90±0.19	0.95±0.09	0.91±0.18
LDH (U/L)	대조군	713.17±163.34	618.33±64.17	608.17±78.59	696.67±118.75	657.17±108.27	705.67±79.30
	FMDV 백신투여군	701.67±129.80	607.50±84.64	622.33±110.80	670.67±160.40	648.33±119.16	706.50±89.39
	조성물+FMDV백신투여군(샘플)	651.00±66.32	696.83±76.70	602.17±70.47	649.00±89.77	692.50±53.25	641.67±151.49

ALT: Alanine aminotransaminase, AST: Aspartate transaminase, ALP: Alkaline phosphatase, T-PRO: Total protein, ALB: Albumin, T-BIL: Total bilirubin, T-BIL: Total bilirubin, T-BIL: Total bilirubin, GLU: Glucose, T-CHO: Total cholesterol, TG: Triglyceride, BUN: Blood urea nitrogen, CREA: Creatinine, LDH: Lactate Dehydrogenase

[0146] 상기 표 7을 참조하면, 대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플의 혈청생화학치 검사결과 간기능(Albumin, ALT, AST) 및 신장질환 지표(BUN, Creatinine) 및 기타 대사기능 지표가 정상범위 값을 나타내었다.

[0149] (6) 혈청 FMDV 항체가 변화

[0150] 각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, 백신 투여당일, 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취

하여 혈청 내 FMDV type 0 항체가 변화를 관찰하였고 그 결과를 하기 표 8 및 도 3에 나타내었다.

표 8

(Percentage Inhibition, PI)			
Day	대 조 군	FMDV 백신투여군	조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day -3 (조성물투여)	78.81±15.86	71.61±18.15	61.82±22.15
Day0 (백신투여)	75.49±17.83	66.75±18.43	61.32±20.11
Day1	73.69±18.21	70.79±17.71	63.62±19.73
Day3	70.79±17.71	67.09±16.48	70.68±14.87
Day 7	69.94±17.31	74.29±8.02	75.92±12.27
Day 14	71.06±16.72	77.73±4.24	81.80±13.29

[0151]

[0152]

상기 표 8 및 도 3을 참조하면, 대조군의 경우 혈청 내 FMDV type 0 항체가가 시험 종료 시까지 계속 감소되는 것으로 확인되었고, FMDV 백신투여군과 샘플의 경우 FMDV 백신 투여 후 7일째에 PI 값이 각각 74.29±8.02 및 75.92±12.27으로 FMDV type 0에 대한 항체가 형성되었으며, 14일째의 각군의 PI 값은 77.73±4.24와 81.80±13.29으로 확인되었다.

[0153]

샘플의 FMDV type 0에 대한 항체가는 FMDV 백신투여군보다 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 관찰되지 않았다.

[0155]

(7) 혈청 코티솔 함량의 변화

[0156]

각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 코티솔 함량의 변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 9 및 도 4에 나타내었다.

표 9

			(ng/mL)
Day	대 조군	FMDV 백신투여군	조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물투여)	245.07±37.62	252.43±39.41	258.79±41.47
Day 0 (백신 투여)	262.81±53.01	264.74±28.12	267.80±37.52
Day1	252.08±26.54	323.56±35.46**	308.77±29.90**
Day3	275.62±21.85	304.81±23.88*	273.02±17.74*
Day 7	257.98±14.09	295.87±29.77**	276.68±15.14
Day 14	232.43±23.07	254.95±47.28	227.24±32.79

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, significantly different from control

* $p<0.05$, significantly different from FMDV vaccine group

[0157]

[0158]

상기 표 9 및 도 4를 참조하면, FMDV 백신투여군과 샘플의 백신 투여 후 1일째 코티솔 함량이 각각 323.56±35.46ng/mL과 308.77±29.90ng/mL으로 대조군(252.08±26.54 ng/mL)에 비하여 유의하게 증가하였으며, 투여 후

3일째에는 각각 $304.81 \pm 23.88 \text{ ng/mL}$ 과 $273.02 \pm 17.74 \text{ ng/mL}$ 으로 샘플의 혈중 코티솔 농도가 FMDV 백신투여군에 비하여 유의하게 낮았다.

[0159] 백신투여 후 7일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 혈중 코티솔은 각각 $295.87 \pm 29.77 \text{ ng/mL}$ 과 $276.68 \pm 15.14 \text{ ng/mL}$ 이었으며, FMDV 백신 투여군의 경우 대조군($257.98 \pm 14.09 \text{ ng/mL}$)에 비하여 유의하게 높았다.

[0160] 실험종료 시 FMDV 백신투여군과 샘플의 코티솔 농도는 각각 $254.95 \pm 47.28 \text{ ng/mL}$ 및 $227.24 \pm 32.79 \text{ ng/mL}$ 으로 샘플이 FMDV 백신투여군보다 코티솔 함량이 낮은 경향을 보였다.

[0162] (8)혈청 면역 글로불린 함량의 변화

[0163] 1) 혈청 내 IgG 함량 변화

[0164] 각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 IgG의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 10 및 도 5에 나타내었다.

표 10

(mg/mL)			
Day	대 조군	FMDV 백신투여군	조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	17.231±3.622	20.112±5.250	19.237±4.080
Day 0 (백신 투여)	15.297±2.063	17.587±2.708	20.667±4.256*
Day1	18.334±2.835	20.195±2.650	22.102±3.953
Day3	18.965±2.320	20.261±2.665	23.706±3.998*
Day 7	17.556±4.036	17.707±3.787	22.607±3.523*#
Day 14	17.783±3.836	17.016±4.242	19.375±3.317

* p<0.05, significantly different from control group
p<0.05, significantly different from FMDV vaccine group

[0165]

[0166] 상기 표 10 및 도 5를 참조하면, 대조군 및 FMDV 백신투여군의 혈청 내 IgG의 함량변화 양상은 유사하였다. 즉, 약물투여 당일(Day-3) 백신투여 당일(Day 0)까지 혈청 내 IgG 농도가 감소하다가 백신투여 후 1일째부터 3일째까지 소폭 증가한 후, 백신투여 후 1일째부터는 다시 감소하였다.

[0167] 샘플의 경우 백신투여 당일(Day 0) 혈청 내 IgG 농도는 약물투여 당일(Day-3)보다 높았으며, 백신투여 후 3일째에 가장 높았으며, 7일째에는 다시 감소하였으나, 대조군, FMDV 백신투여군보다는 높은 농도를 유지하였다.

[0168] 즉, 백신투여 당일 샘플의 혈중 IgG 농도는 $20.667 \pm 4.256 \text{ mg/mL}$ 로 대조군($15.297 \pm 2.063 \text{ mg/mL}$)에 비하여 유의하게 높았으며, 백신투여 후 3일째의 혈중 IgG 농도는 $23.706 \pm 3.998 \text{ mg/mL}$ 으로 대조군($18.965 \pm 2.320 \text{ mg/mL}$)보다 유의하게 높았다.

[0169] 또한, 백신투여 후 7일째의 샘플의 혈중 IgG 농도가 $22.607 \pm 3.523 \text{ mg/mL}$ 이었으며, 이는 대조군($17.556 \pm 4.036 \text{ mg/mL}$)과 FMDV 백신투여군(Day 7 : $17.707 \pm 3.787 \text{ mg/mL}$)에 비하여 유의하게 높았다.

[0171] 2) 혈청 내 IgM 함량 변화

[0172] 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 IgM의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 11 및 도 6에 나타내었다.

표 11

(mg/mL)			
Day	대조군	FMDV 백신투여군	조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물투여)	3.158±0.415	3.394±0.251	3.165±0.584
Day 0 (백신 투여)	3.569±0.499	3.870±0.339	3.586±0.409
Day1	3.195±0.438	3.815±0.562	3.518±0.460
Day3	3.665±0.657	3.628±0.358	3.524±0.448
Day 7	3.136±0.323	2.962±0.617	3.341±0.441
Day 14	3.148±0.336	3.093±0.486	3.249±0.446

[0173]

[0174]

상기 표 11 및 도 6을 참조하면, 백신투여 당일 대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플의 혈중 IgM 농도는 각각 3.569±0.499mg/mL, 3.870±0.339mg/mL 및 3.586±0.409mg/mL 이었으며, 백신투여 후 1일째에는 각각 3.195±0.438mg/mL, 3.815±0.562mg/mL 및 3.518±0.460 mg/mL이었고, 백신투여 후 14일째에는 각각 3.148±0.336mg/mL, 3.093±0.486mg/mL 및 3.249±0.446mg/mL이었다.

[0176]

3) 혈청 내 IgA 함량 변화

[0177]

조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 IgA의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 12 및 도 7에 나타내었다.

표 12

			(μg/mL)
Day	대조군	FMDV 백신투여군	조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물투여)	421.41±81.98	427.15±47.00	421.36±81.92
Day 0 (백신 투여)	378.60±81.07	429.12±56.93	428.74±57.30
Day1	406.70±69.80	461.23±62.66	492.78±103.56
Day3	444.82±63.92	544.20±92.54	651.48±95.80**.#
Day 7	499.03±72.35	462.86±54.82	507.84±87.20
Day 14	404.82±52.57	385.10±79.31	429.15±76.02

** p<0.01, significantly different from control group

p<0.05, significantly different from FMDV vaccine group

[0178]

[0179]

상기 표 12 및 도 7을 참조하면, 대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플의 백신투여 당일 (Day 0)의 IgA 농도는 각각 378.60±81.07 μg/mL, 429.12±56.93 μg/mL 및 428.74±57.30 μg/mL이었으며, 백신투여 후 1일째에는 각각 406.70±69.80 μg/mL, 461.23±62.66 μg/mL 및 492.78±103.56 μg/mL으로 각 군간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0180]

백신투여 후 3일째의 샘플의 혈중 IgA 농도는 651.48±95.80 μg/mL이었으며, 대조군(444.82±63.92 μg/mL)과 FMDV 백신투여군 (544.20±92.54 μg/mL)에 비하여 유의하게 높았다.

[0181] 백신투여 후 7일째 대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플의 혈중 IgA 농도는 각각 $499.03 \pm 72.35 \mu\text{g/mL}$, $462.86 \pm 54.82 \mu\text{g/mL}$ 및 $507.84 \pm 87.20 \mu\text{g/mL}$ 이었으며, 백신투여 후 14일째에는 시험군 모두 혈중 IgA가 감소하였으며, 각 군간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0183] (9)혈청 사이토카인 함량의 변화

[0184] 1) 혈청 내 TNF- α 함량 변화

[0185] 각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 TNF- α 의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 13 및 도 8에 나타내었다.

표 13

Day	대조군	FMDV 백신투여군	(pg/mL)
			조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	80.32 $\pm$ 13.17	84.94 $\pm$ 14.51	100.17 $\pm$ 27.29
Day 0 (백신 투여)	79.59 $\pm$ 12.76	81.02 $\pm$ 17.76	91.34 $\pm$ 19.16
Day1	86.75 $\pm$ 8.71	114.77 $\pm$ 29.21	113.80 $\pm$ 23.01
Day3	87.42 $\pm$ 18.43	120.99 $\pm$ 34.05*	82.22 $\pm$ 15.54*
Day 7	89.63 $\pm$ 14.31	114.07 $\pm$ 38.66	98.12 $\pm$ 17.89
Day 14	87.45 $\pm$ 15.55	95.14 $\pm$ 28.10	84.73 $\pm$ 14.97

* $p < 0.05$, significantly different from control group

* $p < 0.05$, significantly different from FMDV vaccine group

[0186]

[0187] 상기 표 13 및 도 8을 참조하면, 백신투여 후 1일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 혈중 TNF- α 의 함량이 각각 $114.77 \pm 29.21 \text{pg/mL}$ 및 $113.80 \pm 23.01 \text{pg/mL}$ 으로 대조군($86.75 \pm 8.71 \text{pg/mL}$)과 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0188] 백신투여 후 3일째 대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플의 혈중 TNF- α 는 각각 $87.42 \pm 18.43 \text{pg/mL}$, $120.99 \pm 34.05 \text{pg/mL}$ 및 $82.22 \pm 15.54 \text{pg/mL}$ 으로 FMDV 백신투여군은 대조군과 샘플보다 유의하게 높았다.

[0189] 백신투여 후 7일째와 14일째의 샘플의 혈중 TNF- α 는 각각 $98.12 \pm 17.89 \text{pg/mL}$ 및 $84.73 \pm 14.97 \text{pg/mL}$ 으로 FMDV 백신투여군보다 낮았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0191] 2) 혈청 내 IL- β 함량 변화

[0192] 각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 IL- β 의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 14 및 도 9에 나타내었다.

표 14

Day	대조군	FMDV 백신투여군	(ng/L)
			조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	32.63±2.88	33.87±3.22	36.78±4.27
Day 0 (백신 투여)	33.60±3.52	35.57±3.56	34.99±3.72
Day1	32.91±3.37	43.65±4.82**	41.64±5.21**
Day3	34.39±3.18	41.13±5.45*	34.79±3.22*
Day 7	31.21±4.14	37.46±6.28	31.78±3.98
Day 14	28.68±4.10	32.10±5.48	29.10±4.70

** p<0.01, significantly different from control group
* p<0.05, significantly different from FMDV vaccine group

[0193]

[0194]

상기 표 14 및 도 9를 참조하면, 백신투여 후 1일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 혈중 IL-β의 함량이 각각 43.65±4.82ng/L과 41.64±5.21ng/L로 대조군(32.91±3.37 ng/L)보다 유의하게 높았다. 그러나 백신투여 후 3일째 샘플의 혈중 IL-β 농도가 34.79±3.22ng/L로 FMDV 백신투여군(41.13±5.45ng/L)보다 유의하게 낮았고, FMDV 백신투여군은 대조군(34.39±3.18ng/L)보다 유의하게 높았다.

[0195]

백신투여 후 7일째와 14일째의 샘플의 혈중 IL-β 함량은 FMDV 백신투여군보다 낮았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0197]

3) 혈청 내 IL-6 함량 변화

[0198]

각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 IL-6의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 15 및 도 10에 나타내었다.

표 15

Day	대조군	FMDV 백신투여군	(ng/L)
			조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	1040.7±121.8	1111.6±220.3	1139.7±172.6
Day 0 (백신 투여)	1080.0±174.9	1180.2±162.2	1078.9±155.8
Day1	1010.1±169.1	1388.7±197.0**	1296.6±139.0*
Day3	1080.2±94.52	1281.6±165.6	1083.5±196.8*
Day 7	973.1±185.0	1164.9±176.8	1075.6±170.6
Day 14	1021.6±101.6	1100.7±168.9	958.7±175.3

* p<0.05, ** p<0.01, significantly different from control group
* p<0.05, significantly different from FMDV vaccine group

[0199]

[0200]

상기 표 15 및 도 10을 참고하면, 백신투여 후 1일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 혈중 IL-6의 함량이 각각 1388.7±197.0ng/L과 1296.6±139.0ng/L로 대조군(1010.1±169.1ng/L)에 비하여 유의하게 높았다.

[0201]

백신투여 후 3일째에는 FMDV 백신투여군의 혈중 IL-6 함량(1281.6±165.6 ng/L)은 샘플(1083.5±196.8ng/L)보다 유의하게 높았다.

[0202] 백신투여 후 7일째와 14일째의 샘플의 혈중 IL-6 함량은 FMDV 백신투여군 보다 낮았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0204] 4) 혈청 내 PGE₂ 함량 변화

[0205] 각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 PGE₂의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 16 및 도 11에 나타내었다.

표 16

Day	대조군	FMDV 백신투여군	(pg/mL)
			조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	252.66±67.60	242.07±43.33	266.70±70.68
Day 0 (백신 투여)	238.00±63.08	254.53±48.48	233.84±41.50
Day1	234.59±65.61	318.73±51.30*	302.10±32.07*
Day3	243.20±58.07	326.58±62.39*	255.95±41.37*
Day 7	225.92±69.84	299.04±54.03*	251.62±39.61
Day 14	230.54±57.83	268.86±38.94	234.48±48.39

* p<0.05, significantly different from control group
* p<0.05, significantly different from FMDV vaccine group

[0206]

[0207] 상기 표 16 및 도 11을 참조하면, 백신투여 후 1일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 혈중 PGE₂ 함량이 각각 318.73 ± 51.30pg/mL과 302.10 ± 32.07pg/mL로 대조군(234.59 ± 65.61 pg/mL)에 비하여 유의하게 높았다.

[0208] 백신투여 후 3일째 FMDV 백신투여군의 혈중 PGE₂ 농도(326.58 ± 62.39pg/mL)가 샘플(255.95 ± 41.37pg/mL)과 대조군(243.20 ± 58.07pg/mL)보다 유의하게 높았다.

[0209] 백신투여 후 7일째와 14일째의 샘플의 혈중 PGE₂함량은 FMDV 백신투여군 보다 낮았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0211] 5) 혈청 내 GM-CSF 함량 변화

[0212] 각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 GM-CSF의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 17 및 도 12에 나타내었다.

표 17

(pg/mL)			
Day	대조군	FMDV 백신투여군	조성물+ FMDV 백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	34.46±5.73	32.02±11.44	34.53±8.88
Day 0 (백신 투여)	36.79±7.29	39.05±10.85	32.42±5.72
Day1	32.87±7.63	62.13±19.79*	48.99±12.20
Day3	30.93±7.74	59.81±10.11**	38.94±11.91*
Day 7	29.76±4.95	40.28±5.09	33.77±8.15
Day 14	24.70±7.12	43.51±11.49*	34.53±9.60

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, significantly different from control group
* $p<0.05$, significantly different from FMDV vaccine group

[0213]

[0214]

상기 표 17 및 도 12를 참조하면, 백신투여 후 1일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 GM-CSF의 함량이 각각 $62.13 \pm 19.79 \text{ pg/mL}$ 과 $48.99 \pm 12.20 \text{ pg/mL}$ 으로 FMDV 백신투여군은 대조군($32.87 \pm 7.63 \text{ pg/mL}$)에 비하여 유의하게 높았다.

[0215]

백신투여 후 3일째 FMDV 백신투여군의 혈중 GM-CSF 농도($59.81 \pm 10.11 \text{ pg/mL}$)가 샘플($38.94 \pm 11.91 \text{ pg/mL}$) 및 대조군($30.93 \pm 7.74 \text{ pg/mL}$)보다 유의하게 높았다.

[0216]

백신투여 후 7일째와 14일째의 샘플의 혈중 GM-CSF 함량은 FMDV 백신투여군 보다 낮았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았으며, 14일째 FMDV 백신투여군의 GM-CSF농도($43.51 \pm 11.49 \text{ pg/mL}$)는 대조군($24.70 \pm 7.12 \text{ pg/mL}$)에 비하여 유의하게 높았다.

[0218]

6) 혈청 내 IFN- γ 함량 변화

[0219]

각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 IFN- γ 의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 18 및 도 13에 나타내었다.

표 18

(pg/mL)			
Day	대 조 군	FMDV 백신 투여 군	조성물 + FMDV 백신 투여 군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	71.14±4.56	74.74±19.29	82.81±6.92
Day 0 (백신 투여)	77.66±17.16	85.24±3.43	84.98±7.03
Day1	83.14±2.58	87.46±5.35	79.62±6.57
Day3	78.31±1.73	83.60±13.63	81.10±4.48
Day 7	78.16±12.28	97.95±9.49*	84.51±8.97
Day 14	68.95±7.95	82.55±15.49	80.76±4.72

* $p<0.05$, significantly different from control group

[0220]

[0221]

상기 표 18 및 도 13을 참조하면, 백신투여 후 1일째 FMDV 백신투여군과 샘플의 IFN- γ 의 함량이 각각 $87.46 \pm 5.35 \text{ pg/mL}$ 과 $79.62 \pm 6.57 \text{ pg/mL}$ 으로 샘플이 FMDV 백신투여군 낮았으나 유의한 차이는 없었다.

- [0222] 백신투여 후 3일째의 FMDV 백신투여군 및 샘플의 혈중 IFN- γ 농도는 각각 $83.60 \pm 13.63 \text{ pg/mL}$ 및 $81.10 \pm 4.48 \text{ pg/mL}$ 로 유의한 차이는 없었다.
- [0223] 백신투여 후 7일째와 14일째에도 샘플의 혈중 IFN- γ 함량은 FMDV 백신투여군 보다 낮았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다.
- [0225] (10) 부검 소견
- [0226] 백신투여 후 14일째에 돼지를 안락사시켜 부검한 후 간, 신장, 비장, 소장, 대장, 림프절 등 실질 장기에 대한 육안적 변화를 관찰한 결과, 대조군, FMDV 백신투여군 및 샘플에서 특별한 육안적 병변이 나타나지 않았다.
- [0228] 상기 실험예 1의 결과를 참조하면, 본원발명에 따른 수의학적 조성물의 경우 FMDV 백신에 대한 항체가 형성에는 약간 높은 경향을 보였으나 유의한 영향을 미치지 않으며, 면역글로블린 IgG, IgA 등을 백신투여군에 비해 증가시켜 면역증진 효과가 있음이 확인되었다.
- [0229] 또한, 발열과 염증반응을 유발하는 사이토카인인 TNF- α , GM-CSF, IFN- γ , IL- β , IL-6 및 PGE₂을 억제하여 백신투여에 의한 발열반응과 스트레스호르몬 증가 등 백신투여에 의해 과도한 염증반응 및 이로 인한 스트레스 발현을 억제하여 이로 인한 증체량 저하를 방지하는 등 백신스트레스를 유효하게 경감시키는 효과가 있음이 확인되었다.
- [0231] **실험예 2**
- [0232] **1. 재료 및 방법**
- [0233] **시험동물 및 시험설계:**
- [0234] 산란계 암컷 30마리(Hy-line brown, 하나바이오, 128일령)를 공시하였고, 동물 입수 후 4주간 동물실에서 순화 후 2주 동안 시험을 실시하였다.
- [0235] 시험설계는 i)일반적인 사료인 CON(Basal diet)과 일반음수를 제공한 군인 대조군, ii)일반사료 및 일반음수를 공급하고 AI(조류인플루엔자)/ND(뉴캐슬병)/IB(전염성 기관지염) 백신을 투여한 백신투여군, iii)음수에 상기 실시예에서 제조한 조성물을 톤당 1kg을 첨가하여 백신 투여 3일 전부터 투여 당일까지 총 4일간 일반사료와 함께 경구 투여 후, 백신 투여 후 일반사료와 일반음수를 공급하고 AI/ND/IB 백신을 투여한 조성물 및 백신 투여군(샘플)을 준비하여 각각 10두씩 배치하였다.
- [0237] **백신 및 사양관리:**
- [0238] 온도 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 환기횟수 20회/시간, 조명주기 12시간 및 조도 25~30Lux의 환경조건으로 설정하여 사육을 실시하였고, 백신 접종은 대조군을 제외한 모든 산란계에게 동일한 대성 ANBBE-Q 오일 치큰백(주식회사 대성미생물연구소)을 제조사의 매뉴얼에 따라 두당 0.5ml를 접종하였다.
- [0240] **조사항목 및 방법:**
- [0241] (1) 체중측정
- [0242] 백신스트레스 완화 효과를 알아보기 위하여 조성물 투여 당일(D-3), 조성물 투여 종료 및 백신 투여 당일(D0), 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일에 체중을 측정하여 증체량의 변화를 조사하였으며, 일일 증체량은 시험종료 시점의 체중에서 백신 투여 개시체중을 뺀 값에 실험일수를 나눈 값으로 하였다.
- [0244] (2) 사료 및 음수 섭취량 측정
- [0245] 시험사료는 NRC(2012) 요구량에 따라 배합한 사료(산란 스페셜, 대주산업㈜)로서 두당 150g씩 제공하였으며, 매

일 사료 무게를 측정하여 시험군별로 케이지에 설치된 급이통에 공급하고, 다음날 사료 급이 전에 급이통에 있는 사료 무게를 측정하여 잔량을 확인하였으며, 공급량에서 잔량을 뺀 값을 사료섭취량으로 산출하였다.

[0246] 음수는 두당 350~400 mL씩 공급하였으며, 매일 니플이 달린 물병(1.8L)에 물을 담아 무게를 측정한 후, 케이지에 장착하였으며, 니플이 있는 부분 밑에는 물받이 컵을 고정하여 니플에서 떨어지는 물을 받았고, 잔량측정은 다음날 음수 공급 전, 물병에 남아있는 양과 물받이 컵에 있는 양을 측정하였으며, 음수섭취량은 공급량에서 잔량을 뺀 값으로 산출하였다.

[0248] (3) 산란율 및 난중 측정

[0249] 매일 오전 10:30~11:30 사이에 시험군 별로 케이지 내에 있는 알의 수를 계수하였으며, 알 회수 후 난중을 측정하였다.

[0251] (4) 임상증상 관찰

[0252] 실험이 종료되는 14일간 하기 표 19에 따른 임상증상 지표에 따라 임상증상을 관찰한 후 배점하였다.

표 19

	임상증상	임상지수
행동이상	정상	0
	작은 소리에 예민한 반응	1
	소리에 둔감	2
	무관심, 눈이 감김, 균형 소실	3
	무관심, 소리에 무반응, 눈이 감김, 의식없음(졸음), 기립불능	4
외관	정상	0
	깃털조강 (깃털이 거칠고, 윤기가 없음)	1
	벼슬 이상(청색증, 어둡게 보임)	2
	관절종창	3
분변	정상(회흑색)	0
	항문주위 깃털이 지저분함	1
	황녹색변	2
	녹색변	3
폐사	폐사	20

[0253]

[0255] (5) 혈액학치 분석

[0256] 혈액학치를 분석하기 위하여 혈액학치 분석장비 (Urit-3000 Vet plus Hematology analyzer, Urit medical electronic)를 이용하여 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0257] 혈액학치 분석을 위해 익정맥에서 혈액을 채취하여 혈액 1 mL를 potassium EDTA(Ethylenediaminetetraacetic acid) 병에 넣어 섞은 후, 백혈구수(WBC), 적혈구수(RBC), 헤모글로빈(HGB), 적혈구용적(HCT), 적혈구 평균용적(mean corpuscular volume, MCV), 적혈구평균혈색소(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 적혈구혈색소 평균농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) 및 혈소판(platelet, PLT)을 측정하였다.

[0259] (6) 혈청생화학치 분석

[0260] 혈청생화학치를 분석하기 위하여 자동화학분석장비(COBAS C702)를 이용하여 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0261] 혈청생화학치 분석을 위해 익정맥에서 혈액을 채취하여 응고시킨 후 원심분리하고, Alanine aminotransaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), Alkaline phosphatase (ALP), 총 단백질(Total protein, T-PRO), Albumin (ALB), 총 빌리루빈(Total bilirubin, T-BIL), Glucose (GLU), 총 콜레스테롤(Total cholesterol, T-

CHO), Triglyceride (TG), Lactate Dehydrogenase (LDH), 혈중요소질소(Blood urea nitrogen, BUN) 및 Creatinine(CREA)을 측정하였다.

[0263] (7) 혈청 AIV, NDV, IBV 항체가 측정

[0264] 혈청 내 AIV, NDV, IBV항체가를 분석하기 위하여 ELISA kit(IDEXX, USA)를 이용하여 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0265] AIV antigen, NDV antigen 또는 IBV antigen이 부착된 웰에 500배로 희석한 혈청 100 μ l를 분주한 후 상온(22 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C)에서 30분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 3차 증류수로 5회 세척하였다. 세척 후 conjugate 100 μ l씩 플레이트에 분주한 후 발색시약(TMB)을 각각 100 μ l씩 첨가하여 발색반응을 확인하고, 반응정지용액을 100 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 650nm에서 흡광도를 측정하였고, 그 결과를 계산식 (Sample OD₆₅₀-mean NC OD₆₅₀)/(mean PC OD₆₅₀-mean NC OD₄₅₀)에 따라 S/P 지수를 산출하여, AIV의 S/P 지수가 0.5 초과일 경우 양성, 0.5 이하일 경우 음성으로 판정하였으며, NDV와 IBV의 경우 S/P 지수가 0.2 초과일 경우 양성, 0.2 이하일 경우 음성으로 판정하였다.

[0266]

[0267] (8) 혈청 코티솔(Cortisol) 함량 분석

[0268] 스트레스 지표 중 하나인 코티솔을 분석하기 위하여 ELISA kit(Bioassay Technology Laboratory)를 이용하여, 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0269] chicken cortisol antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti-cortisol antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시킨 후 washing buffer로 5회 세척하였다. 세척 후 Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지 용액을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0271] (9) 혈청 사이토카인 함량 측정

[0272] 1) TNF- α 함량 측정

[0273] 혈청 TNF- α 분비에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory)를 사용하여 혈청 내 TNF- α 함량을 하기와 같은 방법으로 측정하였다.

[0274] Chicken TNF- α antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti-TNF- α antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지용액(stop solution)을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0276] 2) 혈청 IL- β 함량 분석

[0277] 혈청 IL- β 에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory)를 사용하여 혈청 내 IL- β 함량을 하기와 같은 방법으로 분석하였다.

[0278] Chicken IL- β antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti-IL- β antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지용액(stop solution)을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0280] 3) 혈청 IL-6 함량 분석

- [0281] 혈청 IL-6에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory)를 사용하여 혈청 내 IL-6 함량을 하기와 같은 방법으로 분석하였다.
- [0282] Chicken IL-6 antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti- IL-6 antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37℃에서 60분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가한 후 37℃에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지용액(stop solution)을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0284] 4) 혈청 PGE₂ 함량 분석
- [0285] 산란계 혈중 PGE₂ 함량에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Mybiosource)를 사용하여 혈장 내 PGE₂ 함량을 분석하였다.
- [0286] Chicken PGE₂ monoclonal antibody가 부착된 웰에 혈청 100 μ l를 분주 후 37℃에서 90분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 2회 세척하였다. 세척 후 미리 준비한 biotinylated PGE₂ antibody 100 μ l를 분주하고 37℃에서 60분간 반응시키고, washing buffer로 3회 세척하였다. Enzyme-conjugate liquid 100 μ l를 분주하고 37℃에서 30분간 반응시키고, washing buffer로 5회 세척하였다. Colour reagent liquid 100 μ l씩 첨가하여 혼합한 후 37℃에서 15~30분간 발색반응을 유도하였으며, colour reagent C 100 μ l를 첨가하여 발색반응을 정지하였다. 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0288] 5) 혈청 GM-CSF 함량 분석
- [0289] 혈청 GM-CSF 분비에 대한 조성물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Mybiosource)를 사용하여 혈청 내 GM-CSF 함량을 분석하였다.
- [0290] Chicken GM-CSF monoclonal antibody가 부착된 웰에 혈청 100 μ l씩을 분주하여 37℃에서 90분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 2회 세척하였다. 세척 후 미리 준비한 biotinylated Chicken GM-CSF antibody 용액 100 μ l씩을 분주한 후 37℃에서 60분간 반응시키고, washing buffer로 3회 세척하였다. Enzyme-conjugate liquid 100 μ l를 분주하고 37℃에서 30분간 반응시키고, washing buffer로 5회 세척하였다. Colour Reagent 용액 100 μ l씩을 각 웰에 분주한 후 37℃에서 약 30분간 반응시키고, Colour Reagent C 100 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0292] 6) 혈청 IFN- γ 함량 분석
- [0293] 혈청 IFN- γ 에 대한 약물의 영향을 분석하기 위하여 ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory)를 사용하여 혈청 내 함량을 분석하였다.
- [0294] Chicken IFN- γ antibody가 부착된 웰에 혈청 40 μ l, Anti-IFN- γ antibody 10 μ l 및 streptavidin-HRP 50 μ l를 분주하여 혼합한 후 37℃에서 60분간 반응시켰으며, 반응이 끝난 후 washing buffer로 5회 세척하였다. Substrate A와 B를 각각 50 μ l씩 첨가한 후 37℃에서 10분간 반응시켰으며, 반응정지용액(stop solution)을 50 μ l씩 첨가하여 발색반응을 멈춘 후 UV spectrophotometer(Hidex sense, Turku, Finland)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.
- [0296] (10) 부검소견
- [0297] 실험이 종료되는 14일째 산란계를 안락사시킨 후 백신접종 부위, 신장, 림프절, 비장 등 내부 실질장기의 이상 여부를 육안적으로 관찰하여 하기 표 20에 따라 배점하였다.

표 20

육안병리소견	지수
정상	0
병변 또는 이상세포의 국소적, 한정적 존재	1
병변 또는 이상세포의 일부 산재, 세포 괴사	2
심한 괴사 소견, 심한 경색, 병변이 장기내 전체적으로 퍼져 관찰됨	3

[0298]

[0300] (11) 통계 처리

[0301] 통계처리는 STATISTICA 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA 분석을 하였고, 이후 DunCan's multiple range test($p < 0.05$)로 각각의 시험군별로 평균간의 유의성을 검정하였으며, 결과값은 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었다.

[0303] 2. 실험결과

[0304] (1) 체중변화

표 21

시험군	체중변화 (kg)			총 증체량 (kg) (D14-D0)	일일 증체량 (kg/day)
	조성물 투여개시 (D-3)	백신투여 (D0)	실험종료 (D14)		
대조군	1.850±0.106	1.863±0.106	1.915±0.115	0.052±0.022	0.004±0.002
백신투여군	1.867±0.104	1.889±0.103	1.940±0.112	0.051±0.029	0.004±0.002
조성물+백신투여군 (샘플)	1.938±0.135	1.954±0.119	2.012±0.124	0.058±0.017	0.004±0.001

[0305]

[0306] 상기 표 21을 참조하면, 대조군, 백신투여군 및 샘플의 백신투여 당일 체중은 각각 1.863±0.106kg, 1.889±0.103kg 및 1.954±0.119kg이었고, 실험종료 시 체중은 각각 1.915±0.115kg, 1.940±0.112kg 및 2.012±0.124kg이었다.

[0307] 대조군, 백신투여군 및 샘플의 총 증체량은 각각 0.052±0.022kg, 0.051±0.029kg 및 0.058±0.017kg이었으며, 일일 증체량은 각 군 모두 0.004±0.002kg/day로 각 군간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0309] (2) 사료 섭취량 및 음수 섭취량

표 22

시험군	사료섭취량(g/bird)		일일 사료섭취량 (D0~D14) (g/bird/day)
	4일간 (D-3~D0)	14일간 (D0~D14)	
대조군	275.20±24.25	1602.16±45.83	114.44±3.27
백신투여군	292.30±9.85	1594.94±57.22	113.92±4.09
조성물+백신투여군 (샘플)	310.20±18.83	1677.80±54.38	119.84±3.88

[0310]

표 23

시험군	음수섭취량(g/bird)		일일 음수섭취량 (D0~D14) (g/bird/day)
	4일간 (D-3~D0)	14일간 (D0~D14)	
대조군	637.70±22.48	3155.85±282.14	225.42 ±20.15
백신투여군	630.80±25.42	3218.39±283.47	229.89±20.25
조성물+백신투여군 (샘플)	639.80±34.08	3482.67±403.45	248.76±28.82

[0311]

표 24

시험군	평균체중(kg) (D-3~D0)	4일간 음수섭취량 (g/bird) (D-3~D0)	백스프리 섭취량	
			g/bird/day	g/kg bw/day
조성물+백신투여군 (샘플)	1.946±0.126	213.27±11.36	0.213±0.011	0.110±0.011

[0312]

[0313] 상기 표 22를 참조하면, 실험기간 동안 대조군, 백신투여군 및 샘플의 개체별 총 사료섭취량은 각각 1602.16±45.83g, 1594.94±57.22g 및 1677.80±54.38g 이었으며, 일일 사료섭취량은 114.44±3.27g/bird/day, 113.92±4.09g/bird/day 및 119.84±3.88g/bird/day이었다.

[0314] 또한, 상기 표 23 및 24를 참조하면, 실험기간 동안 대조군, 백신투여군 및 샘플의 개체별 일일 음수섭취량은 각각 225.42±20.15g/bird/day, 229.89±20.25g/bird/day 및 248.76±28.82g/bird/day이었으며, 샘플의 체중 kg당 조성물 섭취량은 0.110±0.011g/kg bw/day이었다.

[0316] (4) 산란율 및 난중 변화

표 25

Day 시험군	산란율(%)			난중(g)		
	대조군	백신 투여군	조성물+백 신투여군 (샘플)	대조군	백신투여군	조성물+백 신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물투여전)	90	80	80	53.30±3.16	53.08±5.42	53.85±3.35
Day-2	90	70	90	54.01±3.71	52.88±4.45	55.13±3.37
Day-1	100	90	90	54.08±3.88	54.05±5.46	54.15±3.37
Day0 (조성물 투여종료)	100	80	80	57.17±5.66	54.45±4.94	56.70±6.73
Day1	90	70	90	54.90±2.52	54.04±2.07	56.08±6.73
Day2	80	90	100	53.48±3.17	54.13±3.59	54.23±3.46
Day3	100	60	90	56.46±3.60	55.02±2.84	55.72±2.95
Day4	100	90	90	55.63±4.19	55.64±3.41	55.92±3.31
Day5	90	80	100	56.44±3.27	55.93±4.34	54.89±3.31
Day6	100	70	90	57.56±6.42	56.65±3.05	56.28±3.00
Day7	100	80	90	56.26±3.03	55.70±2.90	55.57±3.00
Day8	80	80	100	55.68±2.28	55.86±1.93	55.83±4.85
Day9	100	80	100	53.62±5.62	55.69±2.85	56.74±3.72
Day10	100	80	100	57.95±5.77	56.18±2.42	56.19±4.05
Day11	100	90	100	55.53±2.78	55.78±3.06	55.42±4.45
Day12	100	100	100	56.29±3.31	55.9±02.04	55.14±3.63
Day13	90	80	90	57.09±4.43	56.90±2.37	57.10±4.24
Day14	90	90	90	56.91±2.56	57.45±2.80	55.50±4.10
조성물 투여기간 (Day-3~Day0)	96.7±5.8	80.0±10.0	86.7±5.8	55.16±4.64	53.78±4.82	55.23±5.77
W1 (D1~D7)	94.3±7.9	77.1±11.1**	92.9±4.9**	55.92±4.01	55.32±3.21	55.50±3.78
W2 (D8~D14)	94.3±7.9	85.7±7.9*	97.1±4.9**	56.15±3.98	56.25±2.53	55.96±3.91
D1~D14	94.3±7.6	81.4±10.3***	95.0±5.2**	55.79±3.33	56.78±2.78	55.74±3.90

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, significantly different from control
 ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, significantly different from AIV/NDV/IBV vaccine group

[0317]

[0318]

상기 표 25를 참조하면, 조성물 투여 전 대조군, 백신투여군 및 샘플의 평균산란율은 각각 90%, 80% 및 80%이었으며, 조성물 투여기간 동안의 평균산란율은 96.7±5.8%, 80.0±10.0% 및 86.7±5.8%이었다. 또한, 조성물 투여 종료 후 14일간의 대조군, 백신투여군 및 샘플의 평균산란율은 각각 94.3±7.6%, 81.4±10.3% 및 95.0±5.2%으로 샘플의 산란율이 백신투여군보다 유의하게 높았다.

[0319]

또한, 대조군, 백신투여군 및 샘플의 조성물 투여 전 평균 난중은 각각 53.30±3.16g, 53.08±5.42g 및 53.85±3.35g이었으며, 조성물 투여기간 동안의 평균 난중은 55.16±4.64g, 53.78±4.82g 및 55.23±5.77g이었다. 또한, 조성물투여 종료 후 14일간 대조군, 백신투여군 및 샘플의 평균 난중은 각각 55.79±3.33g과 56.78±2.78g 및 55.74±3.90g으로 각 군간의 차이는 관찰되지 않았다.

[0321] (5) 임상증상

[0322] 백신투여군과 샘플에 백신을 0.5mL씩 가슴근육에 투여한 후 임상증상을 확인한 결과, 모든 시험군에서 행동이상, 잇털 조강, 벼슬 창백 등의 증상은 관찰되지 않았다.

[0324] (6) 혈액학치 검사

[0325] 각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈액학치를 검사하였고, 그 결과를 하기 표 26에 나타내었다.

표 26

Parameters	Group	Day -3 (조성물투여)	Day 0 (백신투여)	Day 1	Day 3	Day 7	Day 14
WBC ($\times 10^9/L$)	대조군	14.3 $\pm$ 4.7	12.9 $\pm$ 1.3	11.7 $\pm$ 3.6	8.5 $\pm$ 2.5	9.7 $\pm$ 2.0	11.5 $\pm$ 2.1
	백신투여군	11.2 $\pm$ 3.6	12.2 $\pm$ 3.5	14.7 $\pm$ 3.7	7.8 $\pm$ 2.3	10.7 $\pm$ 1.3	13.5 $\pm$ 3.4
	조성물+백신투여군(샘플)	12.2 $\pm$ 3.3	11.4 $\pm$ 2.5	12.9 $\pm$ 2.5	9.2 $\pm$ 2.4	10.9 $\pm$ 0.9	13.6 $\pm$ 3.0
RBC ($\times 10^{12}/L$)	대조군	2.3 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.4	2.0 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.2	2.1 $\pm$ 0.2
	백신투여군	2.2 $\pm$ 0.2	2.7 $\pm$ 0.3	2.6 $\pm$ 0.2	2.0 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.2
	조성물+백신투여군(샘플)	2.2 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.1	2.1 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.2
HGB (g/dL)	대조군	13.1 $\pm$ 0.9	12.5 $\pm$ 1.9	10.9 $\pm$ 0.7	11.0 $\pm$ 0.8	11.2 $\pm$ 0.5	12.0 $\pm$ 0.4
	백신투여군	13.1 $\pm$ 1.2	12.4 $\pm$ 1.0	11.5 $\pm$ 0.8	11.2 $\pm$ 0.5	11.2 $\pm$ 0.8	12.3 $\pm$ 0.8
	조성물+백신투여군(샘플)	12.9 $\pm$ 1.1	12.1 $\pm$ 1.1	11.1 $\pm$ 1.0	10.7 $\pm$ 1.0	11.4 $\pm$ 0.8	12.2 $\pm$ 0.8
HCT (%)	대조군	36.7 $\pm$ 2.5	36.9 $\pm$ 5.5	32.8 $\pm$ 1.9	32.8 $\pm$ 2.5	34.2 $\pm$ 1.6	35.7 $\pm$ 1.7
	백신투여군	37.2 $\pm$ 3.3	36.1 $\pm$ 2.8	33.9 $\pm$ 2.3	32.5 $\pm$ 1.6	33.8 $\pm$ 2.5	36.2 $\pm$ 2.3
	조성물+백신투여군(샘플)	36.2 $\pm$ 2.9	36.1 $\pm$ 4.6	32.6 $\pm$ 3.3	32.0 $\pm$ 2.7	34.3 $\pm$ 2.7	36.7 $\pm$ 2.8
MCV (fL)	대조군	159.4 $\pm$ 19.9	141.2 $\pm$ 21.5	131.7 $\pm$ 21.0	162.2 $\pm$ 15.4	174.5 $\pm$ 14.4	171.1 $\pm$ 14.8
	백신투여군	167.3 $\pm$ 19.8	135.3 $\pm$ 14.7	131.0 $\pm$ 13.4	159.6 $\pm$ 14.4	160.7 $\pm$ 17.0	166.9 $\pm$ 7.5
	조성물+백신투여군(샘플)	169.0 $\pm$ 12.9	148.2 $\pm$ 24.7	140.1 $\pm$ 12.1	166.1 $\pm$ 14.3	161.7 $\pm$ 19.8	167.4 $\pm$ 19.0
MCH (Pg)	대조군	57.1 $\pm$ 7.0	48.0 $\pm$ 7.5	43.8 $\pm$ 6.2	54.2 $\pm$ 4.7	57.3 $\pm$ 4.6	57.4 $\pm$ 4.7
	백신투여군	58.9 $\pm$ 6.4	46.5 $\pm$ 5.1	44.3 $\pm$ 4.4	54.8 $\pm$ 4.0	53.1 $\pm$ 5.6	57.0 $\pm$ 4.7
	조성물+백신투여군(샘플)	60.1 $\pm$ 3.6	49.7 $\pm$ 5.7	47.7 $\pm$ 4.3	55.3 $\pm$ 4.9	53.7 $\pm$ 6.2	55.9 $\pm$ 5.9
MCHC (g/dL)	대조군	35.8 $\pm$ 0.9	34.0 $\pm$ 1.0	33.4 $\pm$ 2.5	33.5 $\pm$ 2.5	32.9 $\pm$ 0.9	33.5 $\pm$ 0.7
	백신투여군	35.2 $\pm$ 1.1	34.4 $\pm$ 1.2	33.9 $\pm$ 1.2	34.4 $\pm$ 1.4	33.1 $\pm$ 0.8	34.1 $\pm$ 1.9
	조성물+백신투여군(샘플)	35.6 $\pm$ 1.3	33.8 $\pm$ 2.8	34.0 $\pm$ 0.7	33.3 $\pm$ 0.8	33.2 $\pm$ 1.5	33.4 $\pm$ 1.0

WBC: white blood cell, HGB: hemoglobin, HCT: hematocrit (적혈구용적률), MCV: mean corpuscular volume(적혈구 평균용적), MCH: mean corpuscular hemoglobin (적혈구평균혈색소), MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration(적혈구혈색소 평균농도)

[0326]

[0327] 상기 표 26을 참조하면, 총 백혈구 및 다른 혈액학적 검사 수치는 정상범위로 측정되었으며, 시험군 간의 유의성은 관찰되지 않았고, 총 백혈구 및 다른 혈액학적 검사 수치는 정상범위로 측정되었다.

[0329] (7) 혈청생화학치 검사

[0330] 각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청생화학치를 검사하였고, 그 결과를 하기 표 27에 나타내었다.

표 27

Parameters	Group	Day -3 (조성물투여)	Day 0 (백신투여)	Day 1	Day 3	Day 7	Day 14
ALT (U/L)	대조군	5.1±0.3	5.1±0.3	5.6±1.3	5.0±0.0	5.4±1.0	5.1±0.3
	백신투여군	5.6±1.0	5.1±0.3	5.4±1.0	5.1±0.3	5.1±0.3	5.4±1.0
	조성물+백신투여군(샘플)	5.2±0.4	5.0±0.0	5.0±0.0	5.0±0.0	5.1±0.3	5.0±0.0
AST (U/L)	대조군	154.7±25.5	176.7±14.4	165.2±24.0	150.4±24.9	157.9±30.7	150.1±13.1
	백신투여군	164.7±17.3	164.4±34.8	159.4±34.8	155.0±34.8	157.2±36.8	155.2±29.9
	조성물+백신투여군(샘플)	169.6±23.2	167.5±30.4	172.7±24.8	164.4±39.2	146.3±25.0	150.7±13.8
ALP (U/L)	대조군	629.8±155.1	515.0±143.9	461.9±97.9	519.7±123.9	425.6±71.5	461.9±117.6
	백신투여군	615.6±151.0	561.6±106.1	506.7±101.1	554.4±55.3	498.3±62.4	539.1±132.6
	조성물+백신투여군(샘플)	545.7±82.4	501.3±84.8	492.2±279.9	480.2±82.4	425.3±50.9	440.1±299.0
T-PRO (g/dL)	대조군	4.9±0.8	5.2±0.4	5.1±0.5	5.0±0.5	5.0±0.6	5.1±0.6
	백신투여군	4.9±0.7	4.9±0.8	5.0±0.8	5.0±0.8	4.9±0.8	5.0±0.5
	조성물+백신투여군(샘플)	4.5±0.6	4.7±0.4	4.8±0.5	4.6±0.4	4.9±0.6	4.8±0.4
ALB (g/dL)	대조군	1.9±0.4	2.0±0.2	2.0±0.2	1.9±0.2	1.8±0.5	2.0±0.3
	백신투여군	1.9±0.4	1.9±0.2	1.7±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4	1.9±0.4
	조성물+백신투여군(샘플)	2.0±0.4	2.0±0.2	1.9±0.3	1.9±0.2	1.7±0.3	1.9±0.3
T-BIL (mg/dL)	대조군	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	백신투여군	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	조성물+백신투여군(샘플)	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
GLU (mg/dL)	대조군	200.6±30.0	119.2±23.3	110.0±31.8	121.0±29.6	177.2±18.3	235.8±22.7
	백신투여군	202.1±23.6	132.2±26.5	126.4±18.9	123.9±31.8	189.9±24.7	227.7±28.7
	조성물+백신투여군(샘플)	176.5±38.4	130.9±32.0	111.7±30.1	134.5±25.8	166.4±32.9	228.7±36.7
T-CHO (mg/dL)	대조군	132.5±30.9	131.5±18.6	132.4±21.7	114.9±20.2	118.7±16.8	127.5±26.5
	백신투여군	121.7±39.5	118.5±27.7	133.0±23.4	127.9±18.7	123.6±29.7	132.0±26.2
	조성물+백신투여군(샘플)	138.3±24.3	124.4±21.0	129.7±20.0	127.2±13.8	128.0±17.6	139.1±13.6
TG (mg/dL)	대조군	1002.0±218.2	1197.9±213.8	1433.5±289.5	1170.1±178.5	1115.6±247.0	1239.6±253.5
	백신투여군	1061.7±272.3	1042.2±256.5	1475.0±204.3	1351.9±255.4	1203.5±229.8	1334.9±276.6
	조성물+백신투여군(샘플)	1138.7±134.4	1169.4±166.3	1476.2±236.1	1153.5±250.5	1238.9±145.9	1328.1±240.9
BUN (mg/dL)	대조군	1.5±0.1	1.6±0.2	1.5±0.2	1.6±0.3	1.4±0.0	1.4±0.0
	백신투여군	1.7±0.7	1.6±0.3	1.5±0.2	1.6±0.3	1.4±0.1	1.5±0.1
	조성물+백신투여군(샘플)	1.4±0.0	1.7±0.5	1.4±0.1	1.7±0.2	1.5±0.2	1.4±0.0
Creatinine (mg/dL)	대조군	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	백신투여군	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	조성물+백신투여군(샘플)	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
LDH (U/L)	대조군	1004.8±196.9	1333.2±274.4	1512.9±250.3	1495.6±281.4	1472.4±195.1	1173.1±302.0
	백신투여군	1164.0±296.9	1234.0±289.2	1462.3±299.4	1300.3±289.7	1382.1±264.8	1100.2±308.2
	조성물+백신투여군(샘플)	1150.8±247.5	1189.0±192.5	1420.8±229.7	1456.8±252.6	1454.2±168.2	1151.7±188.9

ALT: Alanine aminotransaminase, AST: Aspartate transaminase, ALP: Alkaline phosphatase, T-PRO: Total protein, ALB: Albumin, T-BIL: Total bilirubin, GLU: Glucose, T-CHO: Total cholesterol, TG: Triglyceride, BUN: Blood urea nitrogen, CREA: Creatinine, LDH: Lactate Dehydrogenase

[0331]

[0332]

상기 표 27을 참조하면, 간기능 (Albumin, ALT, AST) 및 신장질환 지표(BUN, Creatinine) 및 기타 대사기능 지표가 정상범위 값을 나타내었다.

[0334]

(8) 혈청 AIV, NDV 및 IBV 항체가 변화

[0335]

1) 혈청 AIV 항체가 변화

[0336]

각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취 하여 혈청 내 AIV 항체가 변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 28 및 도 14에 나타내었다.

표 28

(S/P ratio)			
Day	대 조군	백신투여군	조성물+백신투여군(백신)
Day -3 (조성물투여)	0.441±0.442	0.422±0.246	0.277±0.243
Day0 (백신투여)	0.333±0.265	0.408±0.202	0.229±0.198
Day1	0.313±0.189	0.430±0.305	0.306±0.190
Day3	0.367±0.327	0.486±0.286	0.403±0.119
Day 7	0.399±0.357	0.733±0.579	0.551±0.178
Day 14	0.324±0.302	2.293±1.491**	2.454±1.033**

** $p < 0.01$, significantly different from control group

[0337]

[0338] 상기 표 28 및 도 14를 참조하면, 대조군의 경우 약물투여 당일부터 백신투여 후 14일째까지 2마리에서 AIV에 대한 항체가가 양성으로 확인되었으며, 나머지 8마리에서는 AIV 항체가가 음성으로 확인되었다.

[0339] 백신 투여군에서는 2마리는 약물투여 당일부터 백신투여 후 14일째까지 AIV 항체가가 양성으로 확인되었고, 2마리는 7일째부터, 6마리는 14일째에 AIV에 대한 항체가가 양성으로 확인되었다.

[0340] 샘플의 경우 1마리는 약물투여 당일부터 백신투여 후 14일째까지 AIV 항체가가 양성이었으며, 3마리는 백신투여 후 7일째부터, 나머지 6마리는 백신투여 후 14일째에 AIV 항체가가 양성으로 확인되었다.

[0341] 백신투여 후 14일째의 백신투여군 및 샘플의 AIV 항체가는 대조군에 비하여 유의하게 높았다.

[0343] 2) 혈청 NDV 항체가 변화

[0344] 각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 NDV 항체가 변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 29 및 도 15에 나타내었다.

표 29

(Log ₁₀ titer)			
Day	대 조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day -3 (조성물투여)	3.841±0.490	4.011±0.124	3.854±0.172
Day0 (백신투여)	3.746±0.476	4.020±0.125	3.870±0.094
Day1	3.736±0.644	4.066±0.085	3.843±0.149
Day3	3.706±0.464	3.904±0.17	3.834±0.238
Day 7	3.696±0.516	3.920±0.107	3.878±0.134
Day 14	3.608±0.562	3.988±0.125*	4.009±0.122*

* $p < 0.05$, significantly different from control group

[0345]

[0346] 상기 표 29 및 도 15를 참조하면, 대조군, 백신투여군 및 샘플의 백신투여 전 NDV 항체가 (Log₁₀ titer)는 각각 3.746±0.476, 4.020±0.125 및 3.870±0.094이었고, 백신투여 후 1일째에는 3.736±0.644, 4.066±0.085 및 3.843±0.149이었다.

[0347] 백신투여 후 14일째 대조군, 백신투여군 및 샘플의 NDV 항체가는 각각 3.608±0.562, 3.988±0.125 및 4.009±

0.122으로 백신투여군과 샘플의 NDV 항체가가 대조군보다 유의하게 높았다.

[0348] NDV 항체형성에 있어 백신투여군과 샘플간의 유의적인 차이는 관찰되지 않았다.

[0350] 3) 혈청 IBV 항체가 변화

[0351] 각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취 하여 혈청 내 IBV 항체가 변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 30 및 도 16에 나타내었다.

표 30

Day	(Log ₁₀ titer)		
	대조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day -3 (조성물투여)	3.799±0.224	3.834±0.223	3.785±0.207
Day0 (백신투여)	3.774±0.214	3.935±0.061	3.803±0.153
Day1	3.750±0.269	3.941±0.080	3.890±0.175
Day3	3.825±0.262	3.952±0.148	3.846±0.134
Day 7	3.768±0.245	4.014±0.130*	3.988±0.160*
Day 14	3.776±0.209	3.875±0.133	3.814±0.118

* $p<0.05$, significantly different from control group

[0352]

[0353] 상기 표 30 및 도 16을 참조하면, 대조군, 백신투여군 및 샘플의 백신투여 전 IBV 항체가 (Log₁₀ titer)는 각각 3.774±0.214, 3.935±0.061 및 3.803±0.153이었고, 백신투여 후 1일째에는 3.750±0.269, 3.941±0.080 및 3.890±0.175이었다.

[0354] 백신투여 후 7일째 대조군, 백신투여군 및 샘플의 IBV 항체가는 각각 3.768±0.245, 4.014±0.130 및 3.988±0.160으로 백신투여군과 샘플의 IBV 항체가가 대조군 보다 유의하게 높았다.

[0355] 백신투여 후 14일째의 대조군, 백신투여군 및 샘플의 IBV 항체가는 각각 3.776±0.209, 3.875±0.133 및 3.814±0.118으로 시험군간의 유의성은 관찰되지 않았다.

[0357] (9) 혈청 내 코티솔 함량의 변화

[0358] 각 시험군에 대하여 조성물투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취 하여 혈청 내 코티솔 함량 변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 31 및 도 17에 나타내었다.

표 31

(ng/mL)			
Day	대조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물투여)	1.709±0.661	1.597±0.819	1.663±0.603
Day 0 (백신투여)	1.862±0.648	1.405±0.561	1.572±0.481
Day1	1.634±0.529	3.530±0.791***	3.347±0.675***
Day3	2.051±0.755	3.417±1.265*	3.122±0.645*
Day 7	2.105±0.486	3.871±1.202***	2.790±0.754*
Day 14	2.172±0.281	3.759±0.929***	2.846±0.851*

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$, significantly different from control
 * $p<0.05$, significantly different from AIV/NDV/IBV vaccine group

[0359]

[0360]

상기 표 31 및 도 17을 참조하면, 백신투여 전 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 코티솔 농도는 각각 $1.862 \pm 0.648 \text{ ng/mL}$, $1.405 \pm 0.561 \text{ ng/mL}$ 및 $1.572 \pm 0.481 \text{ ng/mL}$ 이었으나, 백신투여 후 1일째에 백신투여군 및 샘플의 혈중 코티솔 농도는 각각 $3.530 \pm 0.791 \text{ ng/mL}$ 및 $3.347 \pm 0.675 \text{ ng/mL}$ 으로 대조군($1.634 \pm 0.529 \text{ ng/mL}$)에 비하여 유의하게 높았다.

[0361]

백신투여군의 경우 백신투여 후 14일째까지 혈중 코티솔 농도가 대조군에 비하여 유의하게 높은 반면, 샘플의 경우 백신투여 후 3일째에 대조군에 비하여 높았으나, 백신투여 후 7일째와 14일째에는 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

[0362]

샘플의 백신투여 후 7일째와 14일째의 혈중 코티솔 농도가 각각 $2.790 \pm 0.754 \text{ ng/mL}$ 와 $2.846 \pm 0.851 \text{ ng/mL}$ 으로 백신투여군(Day 7: $3.871 \pm 1.202 \text{ ng/mL}$, Day 14: $3.759 \pm 0.929 \text{ ng/mL}$)에 비하여 유의하게 낮았다.

[0364]

(10)혈청 사이토카인 함량의 변화

[0365]

1) 혈청 내 TNF- α 함량 변화

[0366]

각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 TNF- α 의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 32 및 도 18에 나타내었다.

표 32

(pg/mL)			
Day	대조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물투여)	32.580±19.497	27.942±7.556	37.299±8.133
Day 0 (백신투여)	29.714±17.104	31.897±10.104	34.688±15.831
Day1	33.598±12.584	54.605±16.070**	37.750±10.883*
Day3	29.951±9.785	43.640±12.053	38.194±17.194
Day 7	38.523±13.167	61.464±15.270**	56.323±17.767*
Day 14	38.323±12.924	68.447±23.778**	54.603±13.428

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, significantly different from control group
 * $p<0.05$, significantly different from AIV/NDV/IBV vaccine group

[0367]

[0368] 상기 표 32 및 도 18을 참조하면, 백신투여 전 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 TNF- α 농도는 각각 $29.714 \pm 17.104\text{pg/mL}$, $31.897 \pm 10.104\text{pg/mL}$ 및 $34.688 \pm 15.831\text{pg/mL}$ 이었으나, 백신투여 후 1일째에 백신투여군과 샘플의 혈중 TNF- α 농도는 $54.605 \pm 16.070\text{pg/mL}$ 과 $37.750 \pm 10.883\text{pg/mL}$ 이었으며, 백신투여군은 대조군($33.598 \pm 12.584\text{pg/mL}$)과 샘플에 비하여 유의하게 높았다.

[0369] 모든 시험군에서 백신투여 후 3일째에 혈중 TNF- α 농도가 감소하였다가 백신투여 후 7일째에 다시 증가하는 경향을 보였으며, 백신투여 후 7일째의 백신투여군과 샘플의 혈중 TNF- α 농도가 각각 $61.464 \pm 15.270\text{pg/mL}$ 과 $56.323 \pm 17.767\text{pg/mL}$ 이었고, 백신투여 후 14일째에는 각각 $68.447 \pm 23.778\text{pg/mL}$ 과 $54.603 \pm 13.428\text{pg/mL}$ 이었다. 백신투여군의 경우 대조군(Day 7: $38.523 \pm 13.167\text{pg/mL}$, Day 14: $38.323 \pm 12.924\text{pg/mL}$) 보다 유의하게 높았고, 샘플의 경우 혈중 TNF- α 가 백신투여 후 14일째까지 대조군에 비하여 높고, 백신투여군에 비하여는 낮았으나 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0371] 2) 혈청 내 IL- β 함량 변화

[0372] 각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 IL- β 의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 33 및 도 19에 나타내었다.

표 33

(pg/L)			
Day	대조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	211.56 $\pm$ 81.96	267.21 $\pm$ 119.69	274.02 $\pm$ 105.67
Day 0 (백신 투여)	218.16 $\pm$ 60.46	270.76 $\pm$ 151.75	195.98 $\pm$ 23.35
Day1	227.73 $\pm$ 69.69	292.74 $\pm$ 85.28	296.73 $\pm$ 129.69
Day3	173.56 $\pm$ 15.43	233.65 $\pm$ 69.86*	169.56 $\pm$ 6.61*
Day 7	371.14 $\pm$ 94.67	423.61 $\pm$ 243.68	405.25 $\pm$ 168.25
Day 14	402.58 $\pm$ 78.84	628.07 $\pm$ 203.80*	511.00 $\pm$ 121.84

* $p < 0.05$, significantly different from control group

* $p < 0.05$, significantly different from AIV/NDV/IBV vaccine group

[0373]

[0374] 상기 표 33 및 도 19를 참조하면, 백신투여 전 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 IL- β 농도는 각각 $218.16 \pm 60.46\text{pg/L}$, $270.76 \pm 151.75\text{pg/L}$ 및 $195.98 \pm 23.35\text{pg/L}$ 이었으나, 백신투여 후 1일째에 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 IL- β 농도는 각각 $227.73 \pm 69.69\text{pg/L}$, $292.74 \pm 85.28\text{pg/L}$ 및 $296.73 \pm 129.69\text{pg/L}$ 이었으며, 각 시험군 간의 유의한 차이는 없었다..

[0375] 모든 시험군에서 백신투여 후 3일째에 혈중 IL- β 농도가 감소하였다가 백신투여 후 7일째에 다시 증가하는 경향을 보였으며, 백신투여 후 3일째의 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 IL- β 농도가 각각 $173.56 \pm 15.43\text{pg/L}$, $233.65 \pm 69.86\text{pg/L}$ 및 $169.56 \pm 6.61\text{pg/L}$ 이었고, 백신투여군은 대조군과 샘플에 비하여 유의하게 높았다. 백신투여 후 14일째에는 백신투여군 혈중 IL- β 농도가 $628.07 \pm 203.80\text{pg/L}$ 으로 대조군($402.58 \pm 78.84\text{pg/L}$) 보다 유의하게 높았으나, 샘플($511.00 \pm 121.84\text{pg/L}$)과의 유의한 차이는 없었다.

[0378] 3) 혈청 내 IL-6 함량 변화

[0379] 각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채

취하여 혈청 내 IL-6의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 34 및 도 20에 나타내었다.

표 34

(ng/L)			
Day	대조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	47.429±6.957	48.923±10.891	47.397±12.513
Day 0 (백신 투여)	40.763±15.473	46.265±15.863	38.099±7.896
Day1	50.038±16.502	79.159±20.581**	72.237±24.795
Day3	45.946±17.231	88.110±21.034***	61.690±19.177*
Day 7	40.018±10.106	79.114±23.108**	67.538±22.984*
Day 14	56.817±17.293	93.726±39.506*	63.671±22.602

p<0.05, ** *p*<0.01, *** *p*<0.001, significantly different from control group
* *p*<0.05, significantly different from AIV/NDV/IBV vaccine group

[0380]

[0381]

상기 표 34 및 도 20을 참조하면, 백신투여 전 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 IL-6농도는 각각 40.763±15.473ng/L, 46.265±15.863ng/L 및 38.099±7.896ng/L이었으나, 백신투여 후 1일째에 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 IL-6 농도는 각각 50.038±16.502ng/L, 79.159±20.581ng/L 및 72.237±24.795ng/L이었으며, 백신투여군은 대조군에 비하여 유의하게 높았다.

[0382]

백신투여 후 3일째에 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 IL-6 농도는 각각 45.946±17.231ng/L, 88.110±21.034ng/L 및 61.690±19.177ng/L으로 백신투여군은 대조군과 샘플에 비하여 유의하게 혈중 IL-6 농도가 높았다.

[0383]

백신투여 후 7일째의 백신투여군 및 샘플의 혈중 IL-6 농도는 각각 79.114±23.108ng/L 및 67.538±22.984ng/L로 대조군(40.018±10.106ng/L)보다 유의하게 높았다.

[0384]

백신투여 후 14일째에는 백신투여군 및 샘플의 혈중 IL-6가 각각 93.726±39.506ng/L 및 63.671±22.602ng/L이었으며, 백신투여군은 대조군(56.817±17.293ng/L)보다 유의하게 높았고, 샘플은 백신투여군보다 낮았으나, 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0386]

4) 혈청 내 PGE₂ 함량 변화

[0387]

각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 PGE₂의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 35 및 도 21에 나타내었다.

표 35

(pg/mL)			
Day	대조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	119.61±24.80	111.10±29.41	101.16±34.21
Day 0 (백신 투여)	127.91±54.05	120.70±36.17	92.45±21.20
Day1	124.20±42.93	157.25±56.08	135.12±45.99
Day3	108.52±37.66	173.50±49.47**	144.90±47.27
Day 7	115.04±39.94	144.29±57.56	138.37±34.45
Day 14	102.60±27.99	165.05±56.82*	119.10±44.78

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, significantly different from control group

[0388]

[0389]

상기 표 35 및 도 21을 참조하면, 백신투여 전 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 PGE₂농도는 각각 127.91±54.05pg/mL, 120.70±36.17pg/mL 및 92.45±21.20 pg/mL이었으며, 백신투여 후 1일째에는 각각 124.20±42.93pg/mL, 157.25±56.08pg/mL 및 135.12±45.99pg/mL으로 각 시험군간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0390]

백신투여 후 3일째에 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 PGE₂ 농도는 각각 108.52±37.66pg/mL, 173.50±49.47pg/mL 및 144.90±47.27pg/mL으로 백신투여군은 대조군에 비하여 유의하게 혈중 PGE₂ 농도가 높았다.

[0391]

백신투여 후 14일째에는 백신투여군 및 샘플의 혈중 PGE₂가 각각 165.05±56.82pg/mL 및 119.10±44.78pg/mL이었으며, 백신투여군은 대조군(102.60±27.99 pg/mL)보다 유의하게 높았고, 샘플은 백신투여군보다 낮았으나, 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

[0393]

5) 혈청 내 GM-CSF 함량 변화

[0394]

각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 GM-CSF 의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 36 및 도 22에 나타내었다.

표 36

(pg/mL)			
Day	대조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	145.74±43.29	154.65±40.59	158.88±62.08
Day 0 (백신 투여)	127.44±23.35	135.90±40.86	140.06±53.71
Day1	125.02±35.86	178.97±55.74	162.50±60.50
Day3	109.62±28.90	149.27±41.83	132.88±53.32
Day 7	113.61±50.99	154.59±51.68	100.70±43.42*
Day 14	134.85±45.98	209.49±85.24*	146.79±46.30

* $p<0.05$, significantly different from control group
* $p<0.05$, significantly different from AIV/NDV/IBV vaccine group

[0395]

[0396]

상기 표 36 및 도 22를 참조하면, 백신투여 전 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 GM-CSF 농도는 각각 127.44

$\pm 23.35\text{pg/mL}$, $135.90 \pm 40.86\text{pg/mL}$ 및 $140.06 \pm 53.71\text{pg/mL}$ 이었으며, 백신투여 후 1일째에는 각각 $125.02 \pm 35.86\text{pg/mL}$, $178.97 \pm 55.74\text{pg/mL}$ 및 $162.50 \pm 60.50\text{pg/mL}$ 이었고, 백신투여 후 3일째에는 각각 $109.62 \pm 28.90\text{pg/mL}$, $149.27 \pm 41.83\text{pg/mL}$ 및 $132.88 \pm 53.32\text{pg/mL}$ 으로 각 군간의 유의한 차이는 없었다.

[0397] 백신투여 후 7일째에 샘플의 혈중 GM-CSF가 각각 $100.70 \pm 43.42\text{pg/mL}$ 으로 백신투여군($154.59 \pm 51.68 \text{ pg/mL}$)보다 유의하게 낮았다.

[0398] 백신투여 후 14일째에 백신투여군 및 샘플의 혈중 GM-CSF는 각각 $209.49 \pm 85.24\text{pg/mL}$ 및 $146.79 \pm 46.30\text{pg/mL}$ 이었으며, 백신투여군은 대조군보다 유의하게 높았다.

[0400] 6) 혈청 내 IFN- γ 함량 변화

[0401] 각 시험군에 대하여 조성물 투여 당일, 백신 투여 당일 및 백신 투여 후 1일, 3일, 7일 및 14일째에 혈액을 채취하여 혈청 내 IFN- γ 의 함량변화를 관찰하였고, 그 결과를 하기 표 37 및 도 23에 나타내었다.

표 37

(pg/mL)			
Day	대조군	백신투여군	조성물+백신투여군 (샘플)
Day-3 (조성물 투여)	67.831 $\pm$ 31.273	59.384 $\pm$ 20.191	58.401 $\pm$ 15.395
Day 0 (백신 투여)	61.962 $\pm$ 21.686	72.414 $\pm$ 24.669	55.519 $\pm$ 16.676
Day1	51.810 $\pm$ 19.164	123.641 $\pm$ 34.535***	113.328 $\pm$ 24.426***
Day3	61.068 $\pm$ 23.687	114.880 $\pm$ 36.126**	108.511 $\pm$ 29.447**
Day 7	54.542 $\pm$ 19.410	109.010 $\pm$ 23.532***	96.913 $\pm$ 23.933**
Day 14	60.949 $\pm$ 12.777	126.741 $\pm$ 52.676**	89.646 $\pm$ 18.595#

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ significantly different from control group
$p<0.05$, significantly different from AIV/NDV/IBV vaccine group

[0402]

[0404] 상기 표 37 및 도 23를 참조하면, 백신투여 전 대조군, 백신투여군 및 샘플의 혈중 IFN- γ 농도는 각각 $61.962 \pm 21.686\text{pg/mL}$, $72.414 \pm 24.669\text{pg/mL}$ 및 $55.519 \pm 16.676\text{pg/mL}$ 이었으며, 백신투여 후 1일째에는 각각 $51.810 \pm 19.164\text{pg/mL}$, $123.641 \pm 34.535\text{pg/mL}$ 및 $113.328 \pm 24.426\text{pg/mL}$ 이었고, 백신투여 후 3일째에는 각각 $61.068 \pm 23.687\text{pg/mL}$, $114.880 \pm 36.126\text{pg/mL}$ 및 $108.511 \pm 29.447\text{pg/mL}$ 이었으며, 백신투여 후 7일째에는 백신투여군과 샘플의 혈중 IFN- γ 가 각각 $109.010 \pm 23.532\text{pg/mL}$ 및 $96.913 \pm 23.933\text{pg/mL}$ 으로 백신투여군 및 샘플의 혈중 IFN- γ 는 대조군보다 유의하게 높았다.

[0405] 백신투여 후 14일째에는 백신투여군 및 샘플의 혈중 IFN- γ 농도가 각각 $126.741 \pm 52.676\text{pg/mL}$ 및 $89.646 \pm 18.595\text{pg/mL}$ 로 백신투여군의 혈중 IFN- γ 농도는 대조군($60.949 \pm 12.777\text{pg/mL}$)과 샘플보다 유의하게 높았다.

[0407] (11) 부검 소견

[0408] 백신투여 후 14일째에 산란계를 안락사시켜 부검한 후 간, 신장, 비장 등 실질 장기에 대한 육안적 변화를 관찰한 결과, 대조군, 백신투여군 및 샘플에서 특별한 육안적 병변이 나타나지 않았다.

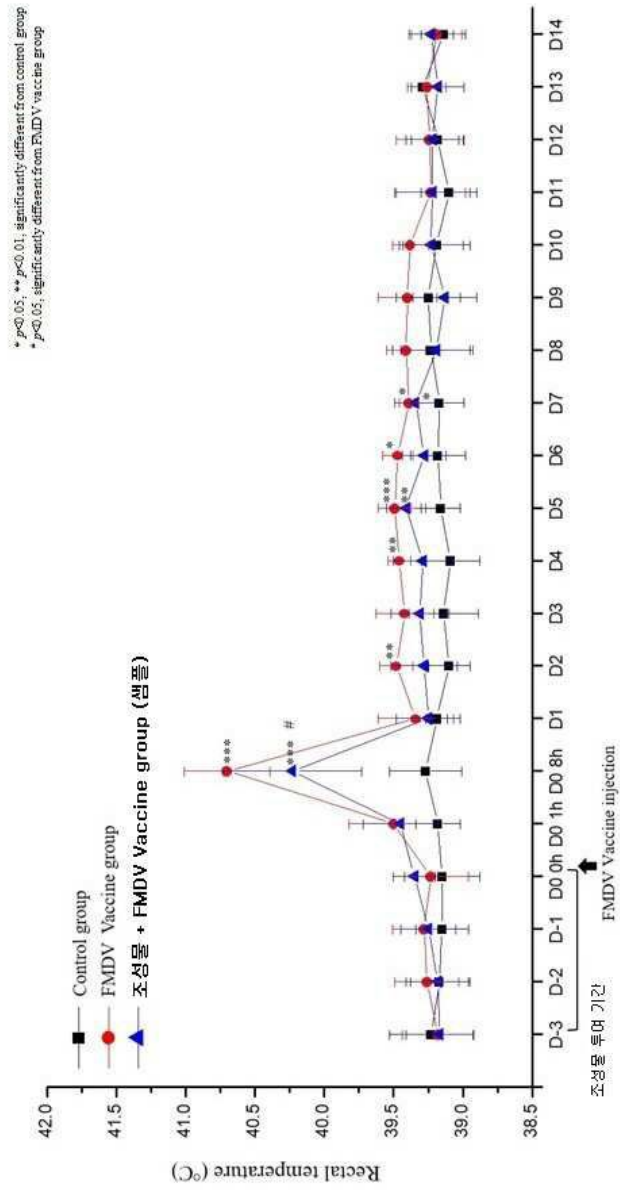
[0410] 상기 실험예 2의 결과를 참조하면, 본원발명에 따른 수의학적 조성물의 경우 음수에 첨가하여 투여하면 조성물의 유효성분인 아세트아미노펜 및 부타포스판이 생체 내에서 염증전단계 사이토카인(proinflammatory cytokine)인 TNF- α , GM-CSF, IL- β , IL-6 등을 효과적으로 억제하며, 스트레스호르몬인 코티솔 발현을 억제하여 산란

계 백신접종 스트레스를 완화함으로써 산란율 감소를 억제하고 있음이 확인되었다.

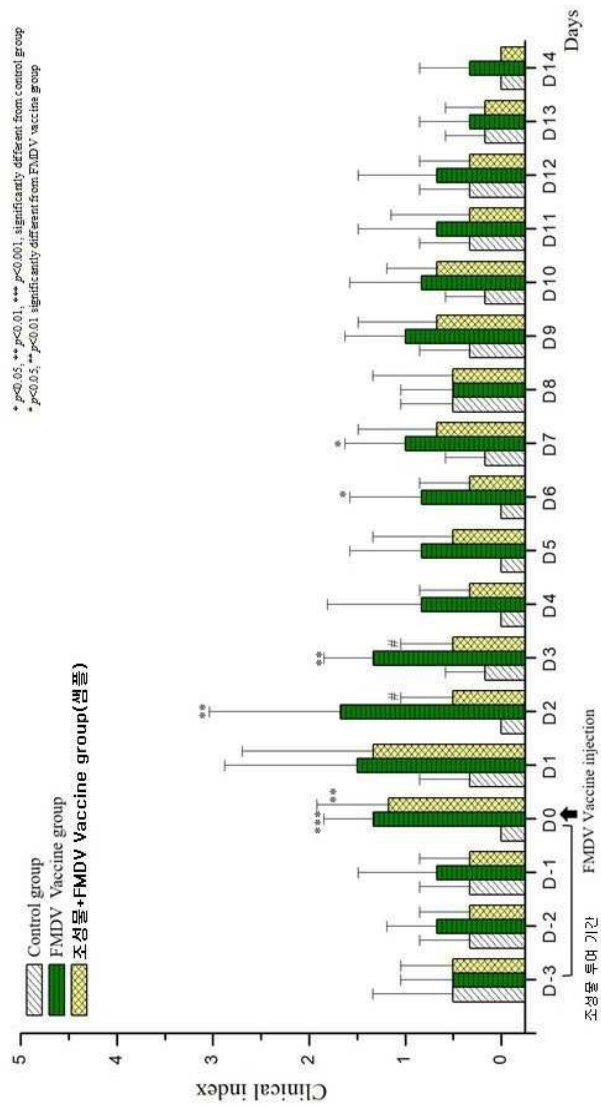
- [0412] 이와 같이, 본 발명에 따른 수의학적 조성물의 경우, 아세트아미노펜 및 부타포스판을 혼합함으로써 구제역 또는 조류인플루엔자 백신 접종 시 발생하는 스트레스를 완화시켜 생산량 저하를 방지할 수 있는 수의학적 조성물을 제공할 수 있게 된다.
- [0413] 이상으로 본 발명의 바람직한 실시예를 상세하게 설명하였다. 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다.

도면

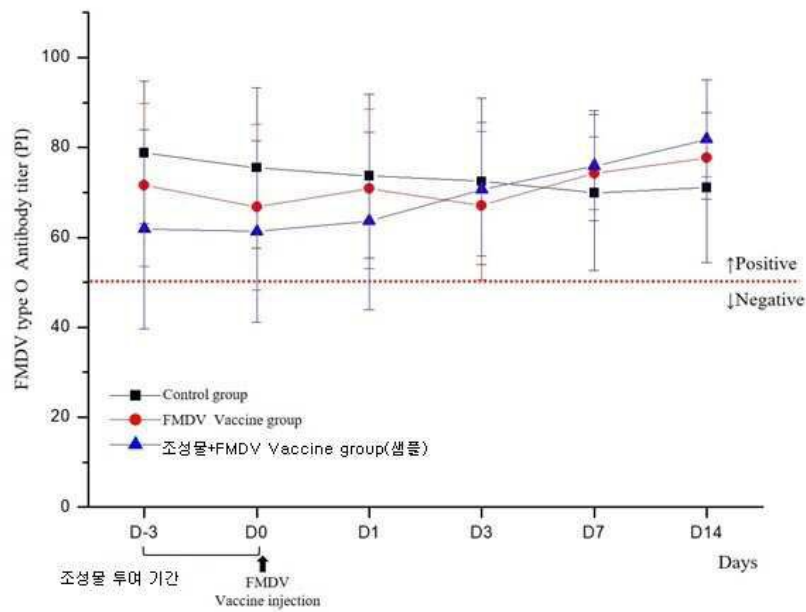
도면1



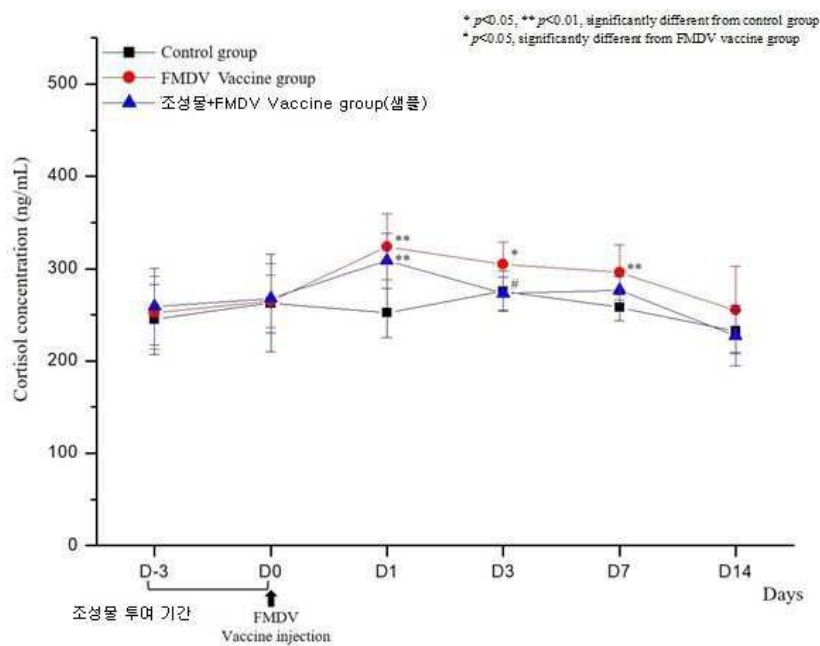
도면2



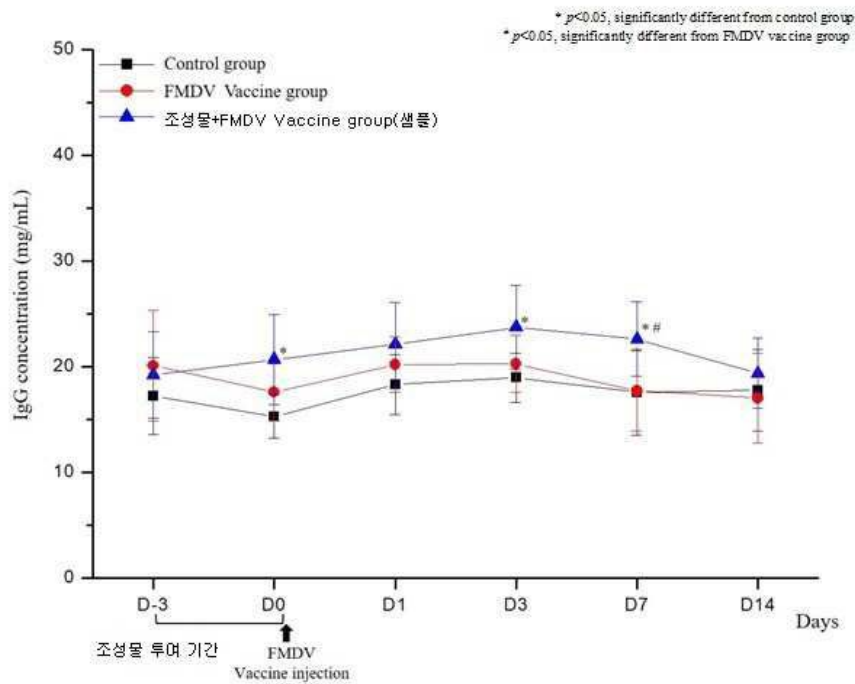
도면3



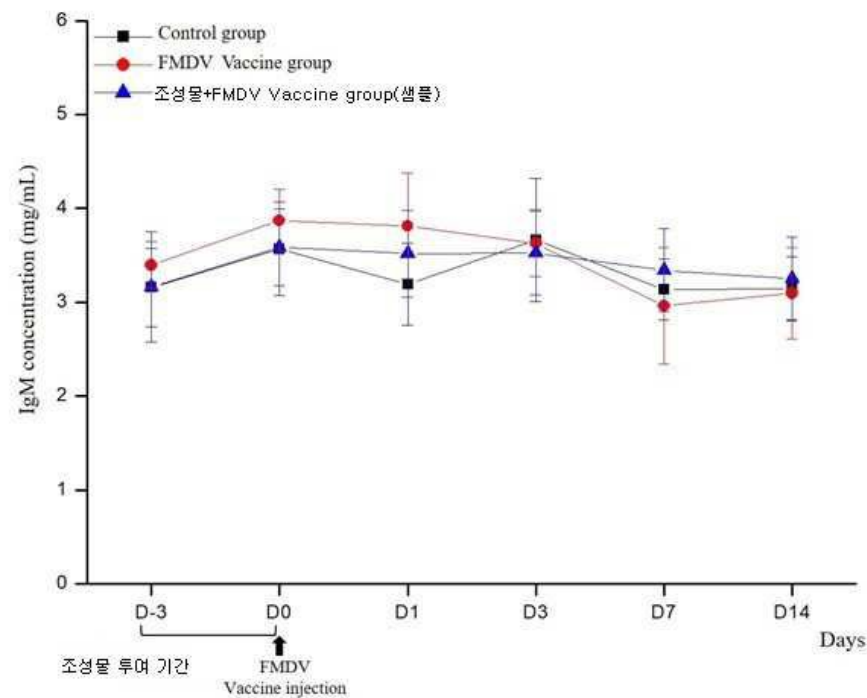
도면4



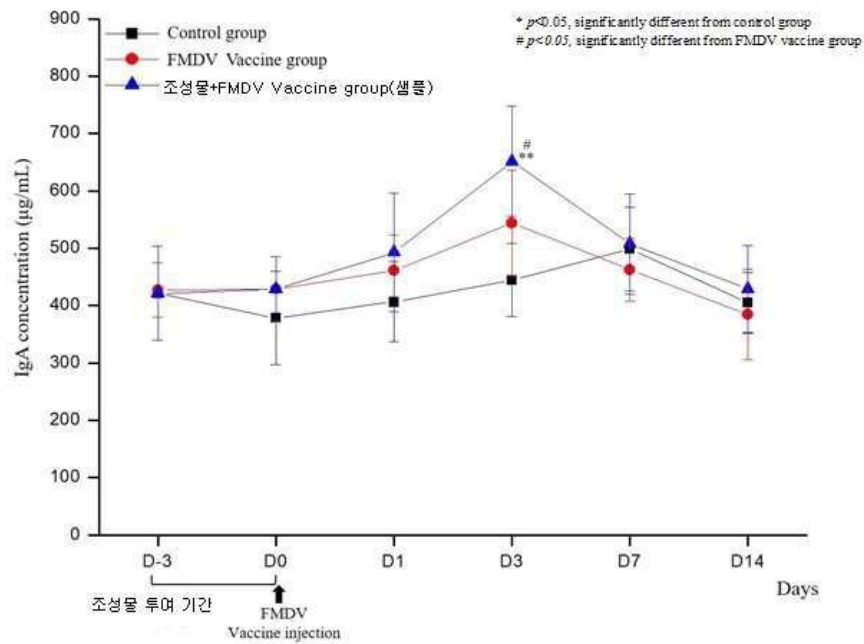
도면5



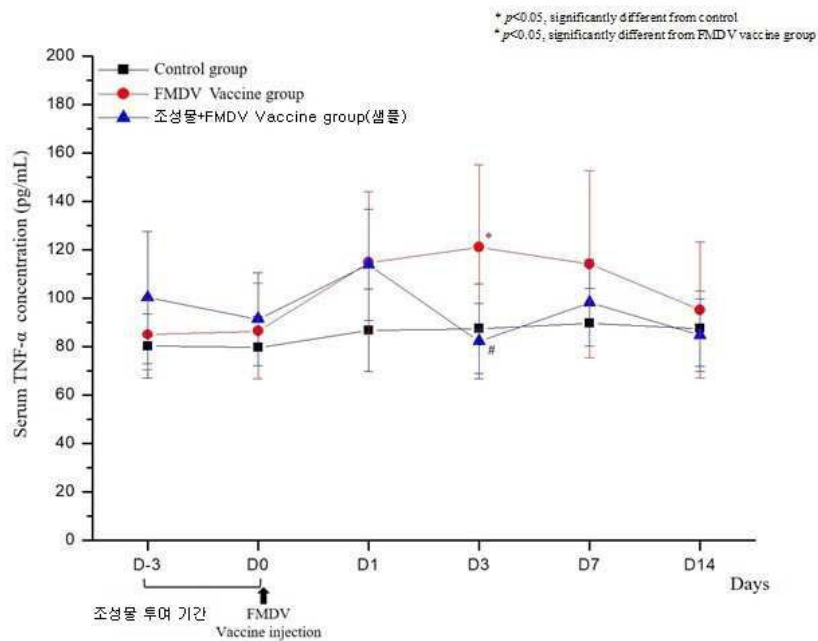
도면6



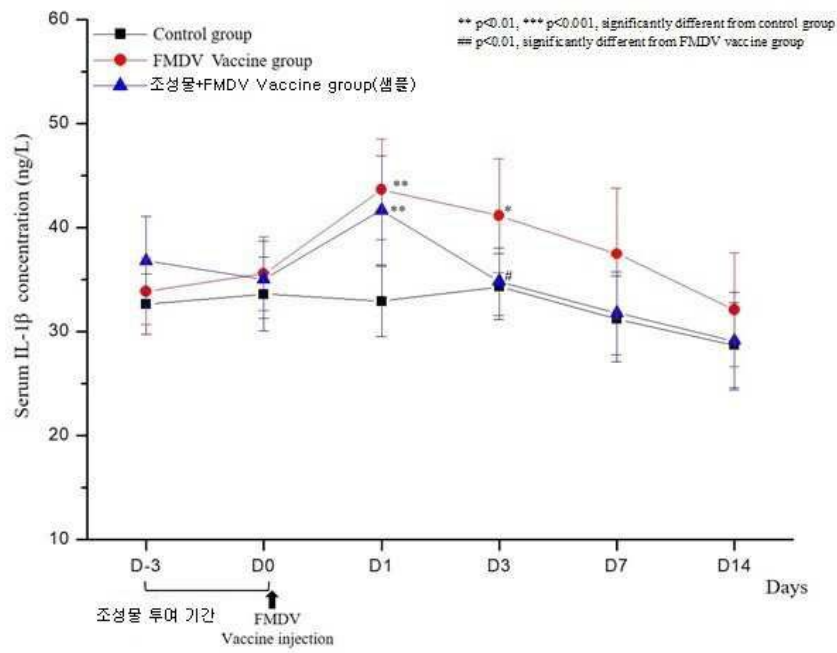
도면7



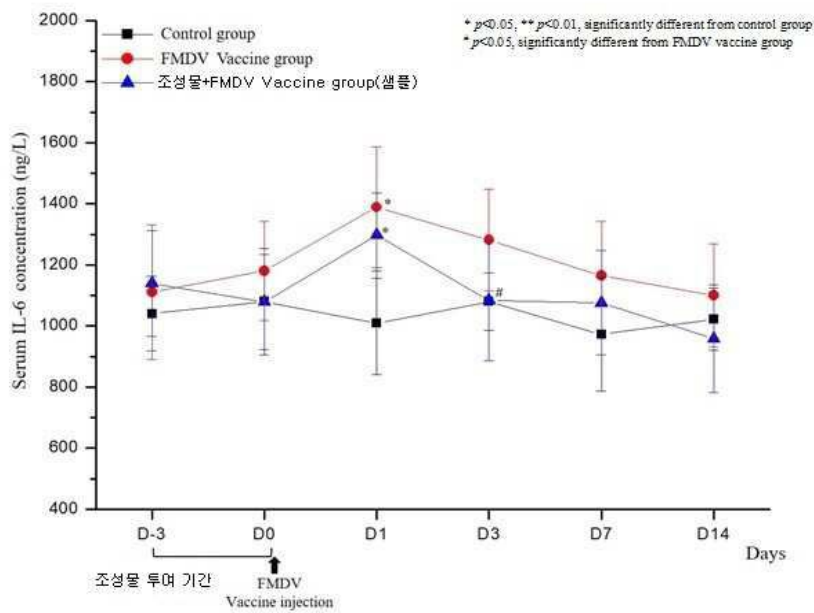
도면8



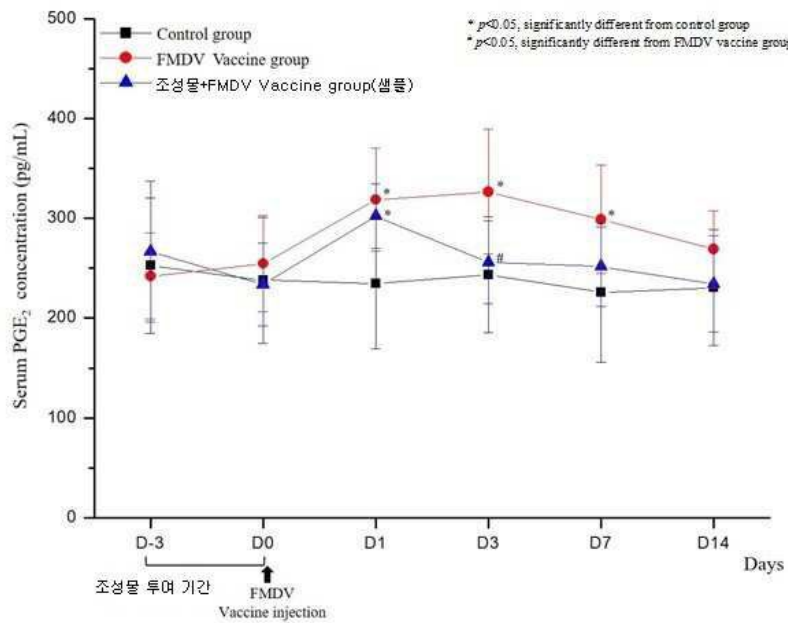
도면9



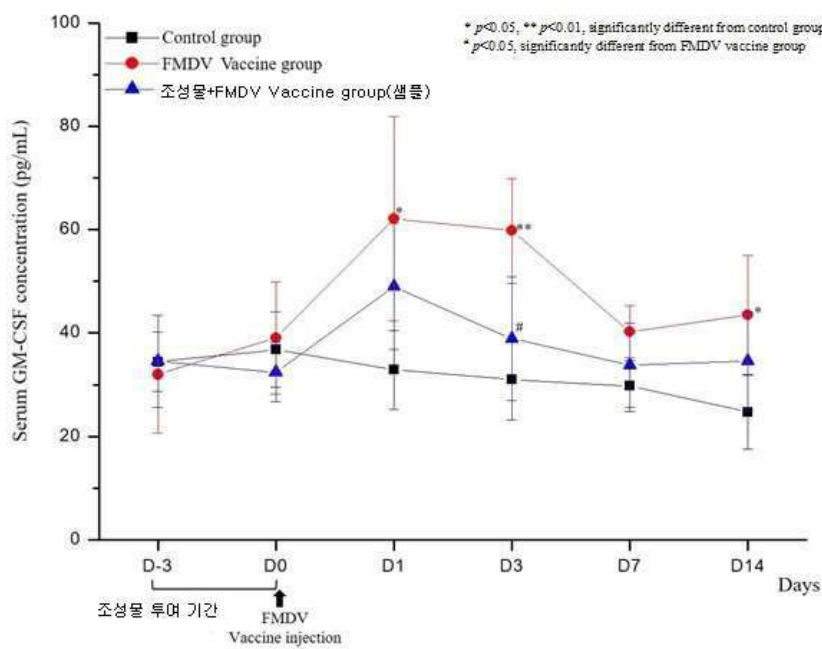
도면10



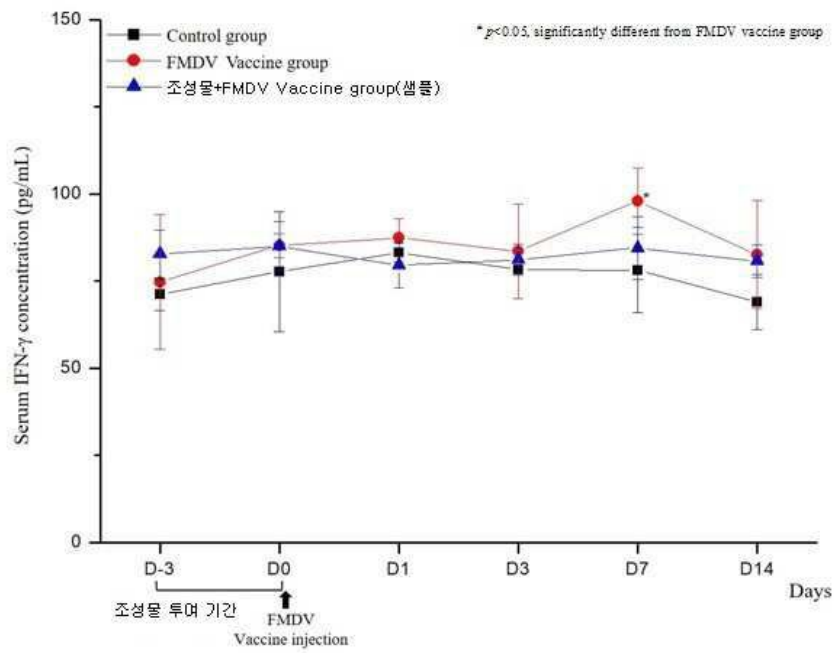
도면11



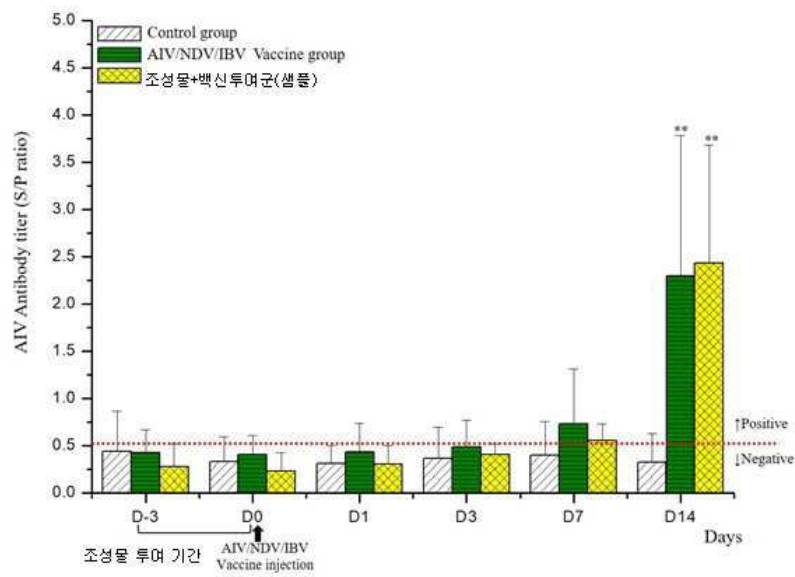
도면12



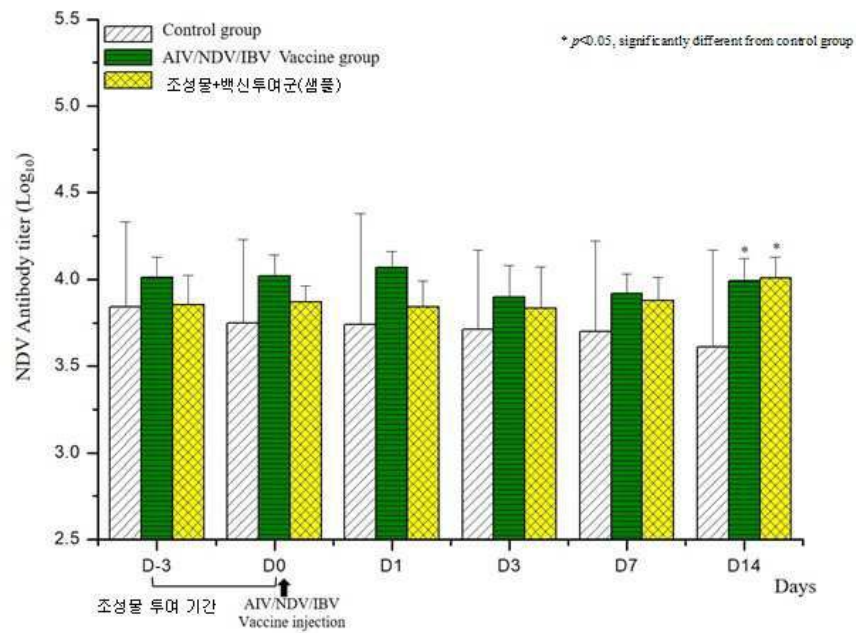
도면13



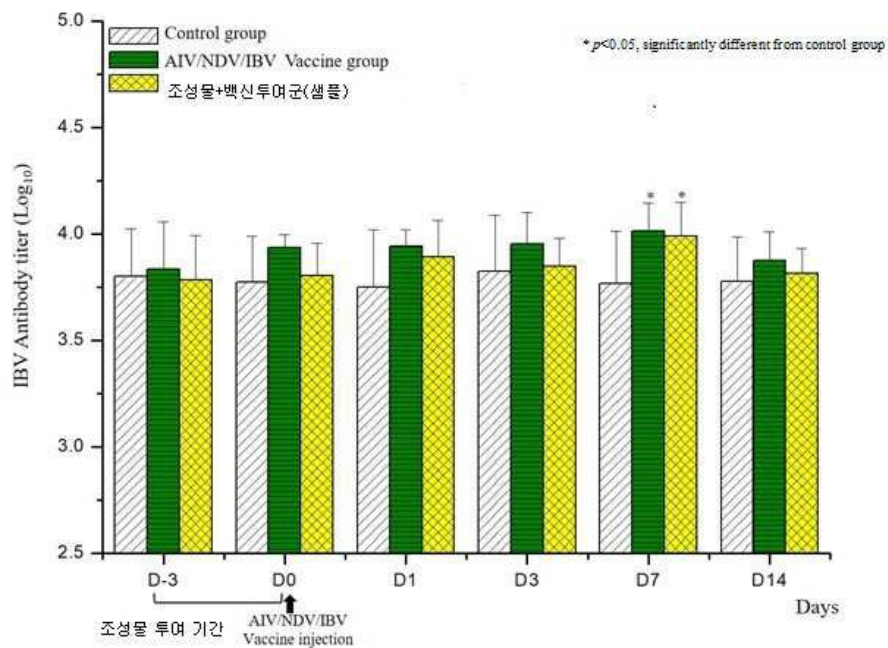
도면14



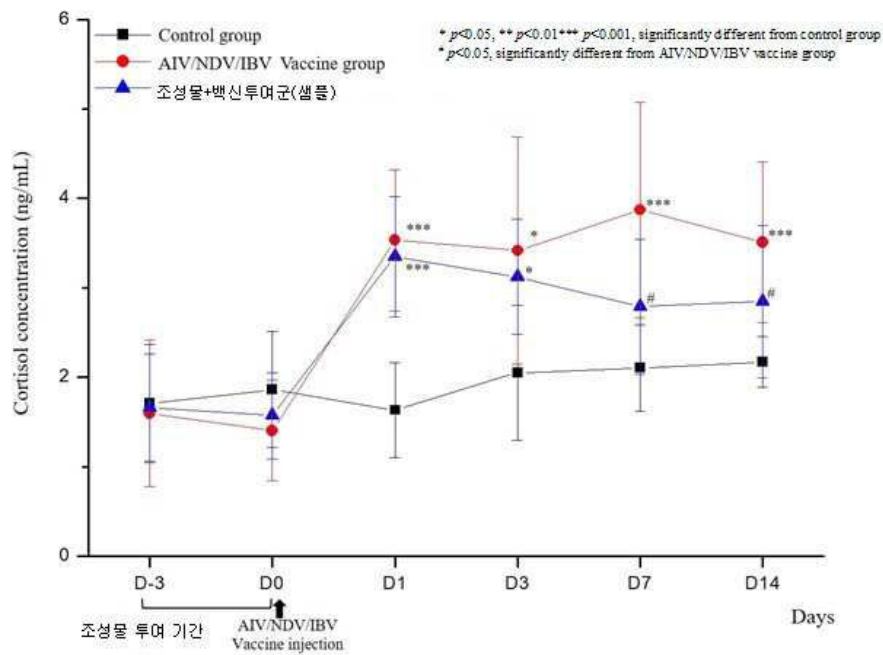
도면15



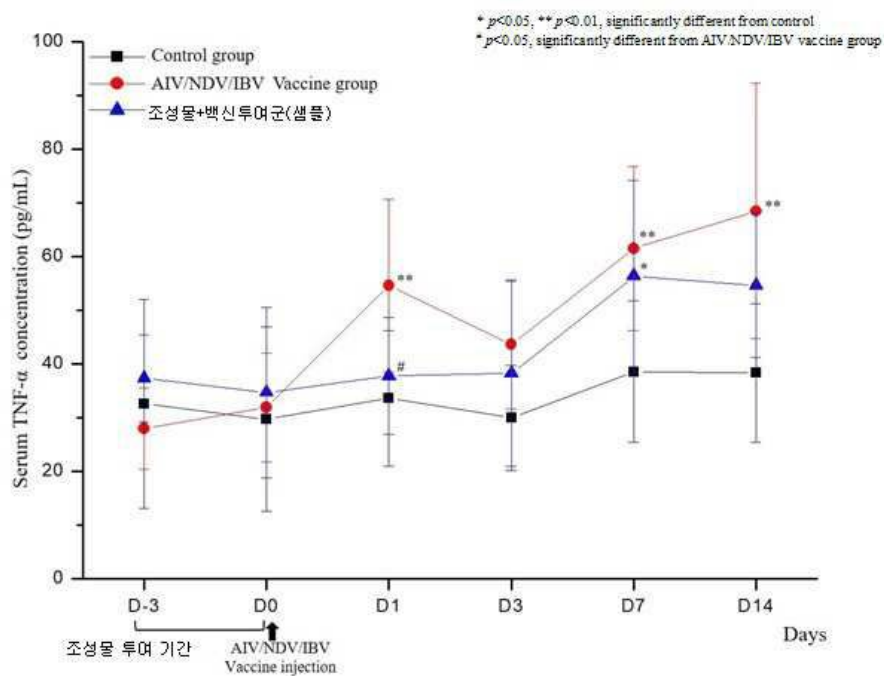
도면16



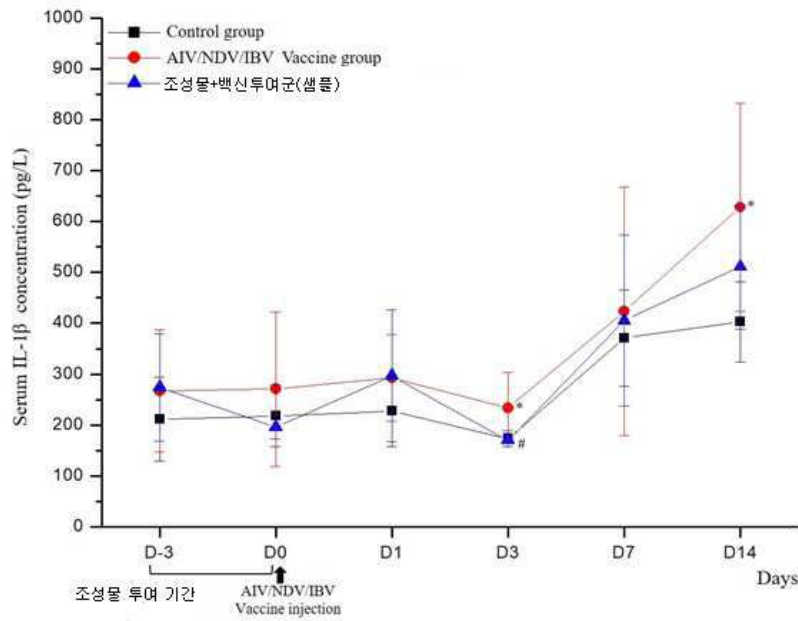
도면17



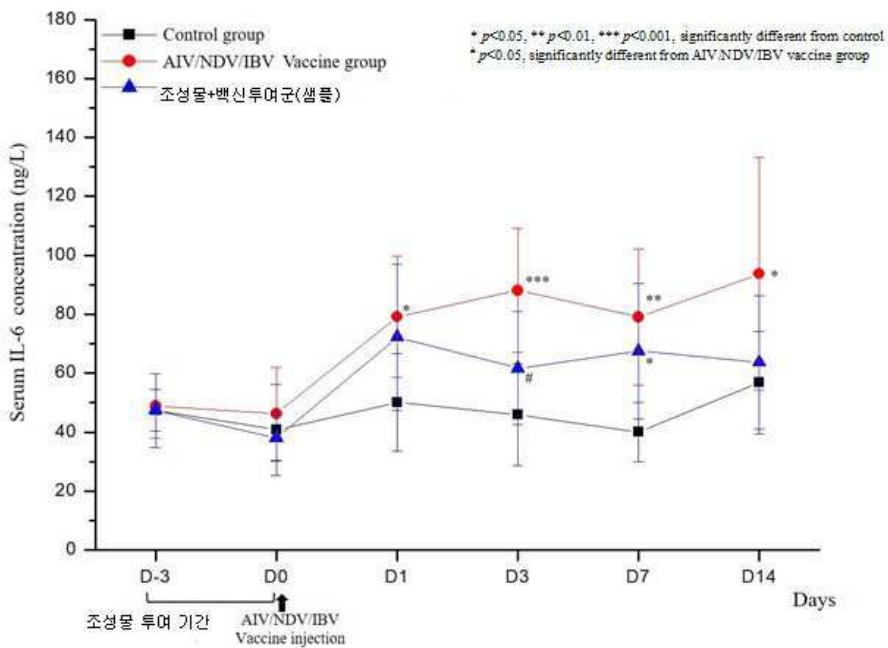
도면18



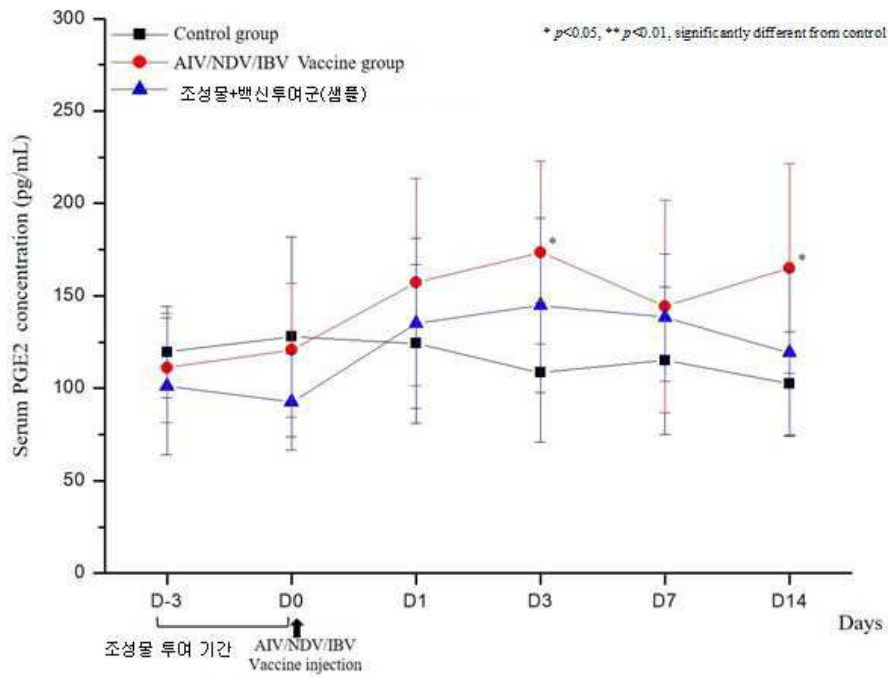
도면19



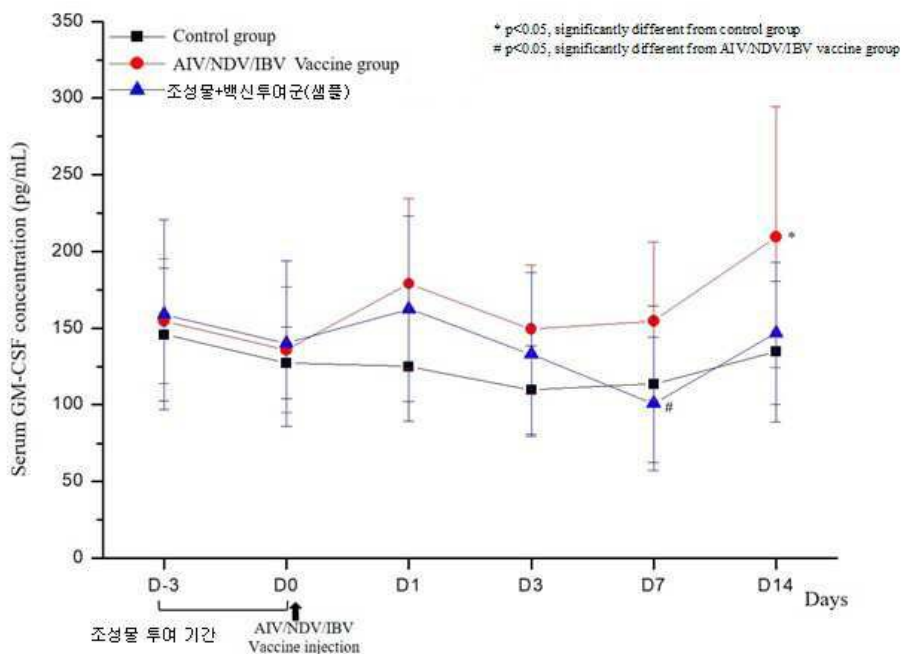
도면20



도면21



도면22



도면23

