



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년12월17일

(11) 등록번호 10-1474188

(24) 등록일자 2014년12월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 35/74 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01)

A61P 3/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2013-7030884(분할)

(22) 출원일자(국제) 2007년09월14일

심사청구일자 2013년11월21일

(85) 번역문제출일자 2013년11월21일

(65) 공개번호 10-2014-0002069

(43) 공개일자 2014년01월07일

(62) 원출원 특허 10-2009-7006213

원출원일자(국제) 2007년09월14일

심사청구일자 2012년07월02일

(86) 국제출원번호 PCT/US2007/020033

(87) 국제공개번호 WO 2008/042101

국제공개일자 2008년04월10일

(30) 우선권주장

60/848,662 2006년10월02일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2006054135 A1

US20040072794 A1

FEMS Microbiology Ecology, 2005, 52, Page. 145-152

J. Dairy Sci., 1999, 82(4), Pages. 649-660

전체 청구항 수 : 총 9 항

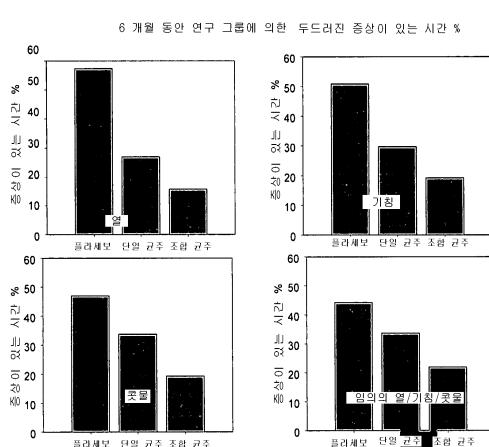
심사관 : 이기철

(54) 발명의 명칭 질병의 발병률 및 지속기간의 감소에 사용하기 위한 프로바이오틱

(57) 요약

본 발명은 인간 질병의 발병률 및 지속기간의 감소에 적합한 프로바이오틱 조성물을 제공한다. 특히, 본 발명은 어린 아이의 질환 예방에 적합한 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 본 발명은 아이의 호흡기 질환의 예방에 사용할 수 있다.

대 표 도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) 의 배양물을 포함하는, 아이의 호흡기 질환의 증상을 감소시키거나 예방하기 위한 프로바이오틱 조성물로서,

- a) 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) 의 배양물을 수득하고;
- b) 호흡기 질환에 걸릴 위험이 있는 아이를 준비시키고;
- c) 아이의 호흡기 질환의 증상이 감소되는 조건하에서 또는 호흡기 질환 증상을 발생시킬 수 있는 유기체에 대한 아이의 수반된 노출시 호흡기 질환의 증상 발병이 예방되는 조건하에서, 위험이 있는 아이에게 락토바실러스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) 의 배양물을 투여하는 것을 특징으로 하며,

상기 호흡기 질환의 증상이 열, 기침, 콧물, 두통, 근육통, 인후통, 코막힘, 권태감, 설사 및 구토 중 하나 이상의 증상을 포함하는 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 배양물이 하나 이상의 부가적인 박테리아 균주를 추가로 포함하고, 상기 박테리아 균주는 비피도박테리움 락티스 (*Bifidobacterium lactis*) 인 조성물.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 박테리아 균주가 비피도박테리움 락티스 (*Bifidobacterium lactis*) Bi-07 인 조성물.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 아이가 취학전 연령인 조성물.

청구항 5

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 투여가 가을 또는 겨울철 동안 수행되는 조성물.

청구항 6

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 아이에게 상기 배양물을 입으로 투여하는 조성물.

청구항 7

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 배양물이 영양 보충제로 제공되는 조성물.

청구항 8

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 아이의 호흡기 질환을 치료하기 위한 항균제 투여의 필요성을 감소시키는 조성물.

청구항 9

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조성물이 상기 호흡기 질환으로 인한 아이의 결석을 방지하는 조성물.

청구항 10

삭제

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 인간 질병의 발병률 및 지속기간의 감소에 적합한 프로바이오틱 조성물을 제공한다. 특히, 본 발명은 어린 아이의 질환 예방에 적합한 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 본 발명은 아이의 호흡기 질환의 예방에 사용할 수 있다.

배경기술

[0002] 호흡기관 감염은 모든 감염성 질환 중 가장 흔한 질환으로 알려져 있다. 상부 호흡기관 감염에는 주로 코, 부비동, 중이, 후두-후두개 조직, 및 입인두를 포함하는 다수의 급성, 염증성 과정이 포함된다. 이러한 급성 감염은 모든 연령의 환자가 병원 치료를 받아야 하는 가장 흔한 원인으로 분류된다. 또한, 모든 감염성 호흡기관 질환 중 대부분은 하부 호흡기관 감염이다.

[0003] 대부분의 상부 호흡기 질환이 자가-제한적이고 양성임에도 불구하고, 이들은 집단에게 상당한 사회 경제적 부담으로 다가온다. 대조적으로, 하부 호흡기관 감염은 종종, 특히 변형된 폐 기능을 가진 개인에서 말단 폐포 폐 기도계를 심각하게 악화시킬 수 있는 생명 위협 과정이 된다.

[0004] 아이 및 어른은 상부 및 하부 호흡기 감염으로 인한 중증 질환의 큰 위험이 있다. 다른 개인과 아주 근접해 있는 개체가 위험이 더 크다. 게다가, 어린이집에 위탁된 아이들은 가정 또는 소가족 집단에서 보호되는 아이들보다 위장관 및 호흡기관 감염 위험이 1.5 내지 3 배로 증가된다 (예를 들어, Hatakka et al., BMJ 322:1-5 [2001] 참조). 이러한 감염과 관련된 직접적인 의료 비용 외에도, 아픈 아이를 돌보기 위해 부모가 일을 하지 못하는데서 발생하는 간접적인 비용도 있다. 많은 이러한 질환에 대한 효과적인 백신의 부재는 이러한 질환과 관련되어 부담을 준다. 그러므로, 호흡기 질환의 경중도를 예방 및/또는 감소시키는데 도움을 주는 조성물 및 방법이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명은 인간 질병의 발병률 및 지속기간의 감소에 적합한 프로바이오틱 조성물을 제공한다. 특히, 본 발명은 어린 아이의 질환 예방에 적합한 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 본 발명은 아이의 호흡기 질환의 예방에 사용할 수 있다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명은 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)의 배양물을 제공하고; 호흡기 질환에 걸릴 위험이 있는 아이를 준비시키고; 호흡기 질환의 발병 위험이 감소되는 조건하에서, 위험이 있는 아이에게 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)의 배양물을 투여하는 것을 포함하는, 아이의 호흡기 질환을 감소시키기 위한 방법을 제공한다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 배양물을 부가적인 박테리아 균주를 추가로 포함한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 상기 부가적인 박테리아 균주는 *B. 락티스* (*B. lactis*)이다. 부가적인 바람직한 구현예에서, 아이는 취학전 연령이다. 일부 바람직한 구현예에서, 아이의 연령은 약 3 세 내지 약 5 세이다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 투여는 가을 또는 겨울철 동안 수행된다. 일부 구현예에서, 상기 배양물을 입으로 투여된다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 배양물은 하나 이상의 영양 보충제로 제공된다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 상기 방법은 아이의 호흡기 질환을 치료하기 위한 항균제 투여의 필요성을 감소시킨다. 또 다른 추가의 바람직한 구현예에서, 상기 방법은 상기 호흡기 질환으로 인한 아이의 결석을 방지한다.

[0007] 또한 본 발명은 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)의 배양물을 수득하고; 호흡기 질환에 걸릴 위험이 있는 아이를 준비시키고; 아이의 호흡기 질환의 증상이 감소되는 조건하에서, 위험이 있는 아이에게 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)의 배양물을 투여하는 것을 포함하는, 아이의 호흡기 질환의 증상을 감소시키기 위한 방법을 제공한다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 배양물을 부가적인 박테리아 균주를 추가로 포함한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 상기 부가적인 박테리아 균주는 *B. 락티스* (*B. lactis*)이다. 부가적인 바람직한 구현예에서, 아이는 취학전 연령이다. 일부 바람직한 구현예에서, 아이의 연령은 약 3 세 내지 약 5 세이다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 투여는 가을 또는 겨울철 동안 수행된다. 일부 구현예에서, 상기 배양물을 입으로 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 배양물은 하나 이상의 영양 보충제로 제공된다. 일부 구현예에서, 호흡기 질환의 증상은 열, 기침, 콧물, 두통, 근육통, 인후통, 코막힘, 권태감, 설사 및 구토 중 하나 이상의 증상을 포함한다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 상기 방법은 아이의 호흡기 질환을 치료하

기 위한 항균제 투여의 필요성을 감소시킨다. 또 다른 추가의 바람직한 구현예에서, 상기 방법은 상기 호흡기 질환으로 인한 아이의 결석을 방지한다.

[0008] 본 발명은 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)의 배양물을 제공하고; 아이를 준비시키고; 호흡기 질환을 발생시킬 수 있는 유기체에 대한 수반된 노출시 아이가 호흡기 질환을 경험하지 않은 조건하에서, 아이에게 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)의 배양물을 투여하는 것을 포함하는, 아이의 호흡기 질환을 예방하기 위한 방법을 추가로 제공한다.

일부 특히 바람직한 구현예에서, 상기 배양물은 부가적인 박테리아 균주를 추가로 포함한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 아이는 취학전 연령이다. 일부 바람직한 구현예에서, 아이의 연령은 약 3 세 내지 약 5 세이다. 그러나, 본 발명이 다양한 다른 연령에서 사용될 수 있을 것으로 고려되므로, 본 발명이 상기 연령 범위에 제한되는 것으로 의도되는 것은 아니다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 투여는 가을 또는 겨울철 동안 수행된다. 그러나, 본 발명이 다른 계절에서 사용될 수 있을 것으로 고려되므로, 본 발명은 상기 특정 계절에 제한되는 것으로 의도되는 것은 아니다. 일부 구현예에서, 상기 배양물은 입으로 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 배양물은 하나 이상의 영양 보충제로 제공된다. 일부 구현예에서, 호흡기 질환의 증상은 열, 기침, 콧물, 두통, 근육통, 인후통, 코막힘, 권태감, 설사 및 구토 중 하나 이상의 증상을 포함한다.

또 다른 부가적인 구현예에서, 상기 방법은 아이의 호흡기 질환을 치료하기 위한 항균제 투여의 필요성을 감소시킨다. 또 다른 추가의 바람직한 구현예에서, 상기 방법은 상기 호흡기 질환으로 인한 아이의 결석을 방지한다.

[0009] 또한 본 발명은 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)의 배양물을 제공하고; 아이를 준비시키고; 호흡기 질환 증상을 발생시킬 수 있는 유기체에 대한 아이의 수반된 노출시 호흡기 질환의 증상 발병이 예방되는 조건하에서, 아이에게 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)의 배양물을 투여하는 것을 포함하는, 아이의 호흡기 질환의 증상을 예방하기 위한 방법을 제공한다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 배양물은 부가적인 박테리아 균주를 추가로 포함한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 상기 부가적인 박테리아 균주는 *B. 락티스* (*B. lactis*)이다. 부가적인 바람직한 구현예에서, 아이는 취학전 연령이다. 일부 바람직한 구현예에서, 아이의 연령은 약 3 세 내지 약 5 세이다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 투여는 가을 또는 겨울철 동안 수행된다.

일부 구현예에서, 상기 배양물은 입으로 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 배양물은 하나 이상의 영양 보충제로 제공된다. 일부 구현예에서, 호흡기 질환의 증상은 열, 기침, 콧물, 두통, 근육통, 인후통, 코막힘, 권태감, 설사 및 구토 중 하나 이상의 증상을 포함한다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 상기 방법은 아이의 호흡기 질환을 치료하기 위한 항균제 투여의 필요성을 감소시킨다. 또 다른 추가의 바람직한 구현예에서, 상기 방법은 상기 호흡기 질환으로 인한 아이의 결석을 방지한다.

[0010] 또한 본 발명은 아이의 호흡기 질환의 위험을 감소시키기에 적합한 조성물의 제조를 위한, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) 단독 또는 *B. 락티스* (*B. lactis*) 와의 조합으로의 사용 방법을 제공한다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 또한 본 발명은 아이의 호흡기 질환의 증상을 감소시키기에 적합한 조성물의 제조를 위한, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) 단독 또는 *B. 락티스* (*B. lactis*) 와의 조합으로의 사용 방법을 제공한다. 또 다른 추가의 구현예에서, 또한 본 발명은 아이의 호흡기 질환을 발생시킬 수 있는 유기체에 대한 수반된 노출시 아이가 호흡기 질환을 경험하지 않도록 하는데 적합한 조성물의 제조를 위한, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) 단독 또는 *B. 락티스* (*B. lactis*) 와의 조합으로의 사용 방법을 제공한다. 또 다른 추가의 구현예에서, 또한 본 발명은 아이의 호흡기 질환을 발생시킬 수 있는 유기체에 대한 수반된 노출시 아이가 호흡기 질환의 증상을 경험하고/하거나 발병되지 않도록 하는데 적합한 조성물의 제조를 위한, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) 단독 또는 *B. 락티스* (*B. lactis*) 와의 조합으로의 사용 방법을 제공한다. 또 다른 부가적인 구현예에서, 상기 방법은 아이의 호흡기 질환을 치료하기 위한 항균제 투여의 필요성을 감소시킨다. 또 다른 추가의 바람직한 구현예에서, 상기 방법은 상기 호흡기 질환으로 인한 아이의 결석을 방지한다.

[0011] 또한 모든 상기 방법은 단독으로 또는 다른 방법 각각과 조합으로 사용될 수 있을 것으로 고려된다. 추가로 상기 방법은 호흡기 질환 및/또는 호흡기 질환의 증상의 예방 및/또는 감소를 위한 다른 수단과 조합으로 사용될 수 있을 것으로 고려된다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1 은 연구 그룹에 의한 두드러진 증상이 있는 시간% 를 보여주는 그래프를 제시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명은 인간 질병의 발병률 및 지속기간의 감소에 적합한 프로바이오틱 조성물을 제공한다. 특히, 본 발명은 어린 아이의 질환 예방에 적합한 방법 및 조성물을 제공한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 본 발명은 아이의 호흡기 질환의 예방에 사용할 수 있다.

[0014] 특히, 본 발명은 인간 대상에 사용하기에 적합한 락토바실루스 (*Lactobacillus*) 및 비피도박테리움 (*Bifidobacterium*) 의 프로바이오틱 배양물을 제공한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) 가 제공되며, 일부 대안적으로 바람직한 구현예에서, *B. 아니말리스* (*B. animalis*) 가 제공된다. 또 다른 추가의 구현예에서, *B. 아니말리스* (*B. animalis*) 아종 락티스 (*lactis*) (또한 본원에서 "B. 락티스 (*B. lactis*)"로 언급됨) 가 제공된다. 또한 추가로 특히 바람직한 구현예에서, 이들 유기체의 조합이 제공된다.

[0015] 본 발명의 개발 동안, 독감과 유사한 증상 (예를 들어, 열, 기침, 콧물, 등) 의 예방에 유의한 보호 효과가 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) 단독 및 *B. 아니말리스* (*B. animalis*) 아종 락티스 (*lactis*) 와의 조합에 의해 제공되었다는 것이 발견되었다. 독감과 유사한 증상의 예방 외에도, 이러한 유기체 단독 또는 조합으로의 투여는 개인이 증상을 앓는 날짜를 유의하게 감소시킨다.

[0016] 그러므로, 본 발명은 아이의 질병 예방에 관련해 많은 장점을 제공하며, 또한 가족 중 질환으로 인한 경제적인 부담감을 덜어줄 뿐 아니라 (예를 들어, 직접적인 의료 비용), 아픈 아이를 돌보기 위해 부모가 결근하지 않아도 된다. 호흡기 감염이 나타내는 현저한 영향으로 인해, 이러한 질환의 경증도의 예방 및 감소에 대한 많은 연구가 진행되어 왔다. 예를 들어, *B. 락티스* (*B. lactis*) (BB-12) 및 *L. 류테리* (*L. reuteri*) (ATCC 55730) 를 포함하는 프로바이오틱 조합을 포함하여, 아이의 건강을 증진시키는데 효과적인 것으로 주장되는 영양 보충제가 개발되었다. 이러한 프로바이오틱이 보충된 유동액을 어린이집에 있는 유아에게 투여하였더니 유아에서 설사의 빈도가 더 적고 더 짧아졌으나, 호흡기 증상에는 영향을 주지 않았다는 것을 발견하였다 (Weitzman and Alsheikh, *Pediatrics* 115:5-9 [2005]).

[0017] 본 발명의 전개 동안, 취학전 연령의 아이에 의한 프로바이오틱 제품의 소비와 관련된 효과를 평가하였다. 이러한 제품은 질병이 아이 뿐 아니라 어른에게도 더욱 유행하는 시기인 1 년 중 6 개월 (즉, 9 월 중순에서 2 월 중순) 동안 1 일 2 회 섭취되었다. 특히, 표준화된 유제품 (예를 들어, 1% 유지방 우유 또는 다른 프로바이오틱 제품) 중의 프로바이오틱의 소비를, 어린이집에 다니는 취학전 연령 아이의 질병의 독감과 유사한 증상의 감소에 대해 평가하였다. 아이가 아픈 날의 수를, 그러나 어린이집/유아원에 출석한 날의 수, 뿐 아니라 초기 질병으로부터 회복되는 기간을 또한 상기 평가에 포함시켰다. 또한, 다른 질환의 존재/부재 뿐 아니라, 영양학적 변수 (체중 증가 또는 감소 포함) 를 또한 평가하였다.

정의

[0019] 다르게 언급되지 않는다면, 본 발명의 실시에는 식품 미생물학, 영양 보충학, 소아 질환학, 역학, 분자생물학, 미생물학, 단백질 정제 및 산업 효소 사용 및 개발에 일반적으로 사용되는 통상의 기술이 포함되고, 상기 모두는 당업계 내의 것이다. 상기 및 이하 본원에 언급된 모든 특히, 특히 출원, 논문 및 문헌은 참조로서 본원에 표현적으로 인용된다.

[0020] 게다가, 본원에 제시된 제목은 본 발명의 다양한 양상 또는 구현예에 대한 제한이 아니며, 이것은 전체로서 본 명세서에 대한 참조로 할 수 있다. 따라서, 바로 아래에 정의된 용어는 전체로서 본 명세서에 대한 참조로 더욱 완전히 정의된다. 그럼에도 불구하고, 본 발명의 이해를 돋기 위해, 다수의 용어에 대한 정의를 하기에 제시한다.

[0021] 본원에 다르게 정의되지 않는다면, 본원에 사용된 모든 기술적 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업자에게 일반적으로 이해되는 의미와 동일하다. 예를 들어, [Singleton and Sainsbury, *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*, 2d Ed., John Wiley and Sons, NY (1994)]; 및 [Hale and Margham, *The Harper Collins Dictionary of Biology*, Harper Perennial, NY (1991)] 은 본 발명에 사용되는 많은 용어의 일반적 사전적 의미를 당업자에게 제공한다. 본원에 기재된 것과 유사한 또는 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실시에 사용될 수 있긴 하지만, 바람직한 방법 및 물질이 본원에 기재된다. 따라서, 바로 아래에 정의된 용어는 전체로서 본 명세서에 대한 참조로 더욱 완전히 기재된다. 또한, 본원에 사용된 바와 같은, 단수형

에는 문맥이 명백하게 다르게 지시하지 않는 한 복수형 참조도 포함된다. 기재된 특정 방법론, 프로토콜, 및 시약은 당업자에 의해 사용되는 문맥에 따라 달라질 수 있으므로 본 발명이 이들에 제한되는 것은 아님을 이해해야 한다.

[0022] 본 명세서 전반에서 제시된 모든 최대 수치한계에는, 보다 낮은 수치한계가 본원에 표현적으로 적혀있듯이, 이러한 모든 보다 낮은 수치한계가 포함되는 것으로 의도된다. 본 명세서 전반에서 제시된 모든 최소 수치한계에는, 보다 높은 수치한계가 본원에 표현적으로 적혀있듯이, 이러한 모든 보다 높은 수치한계가 포함될 것이다. 본 명세서 전반에서 제시된 모든 수 범위에는, 보다 좁은 수 범위가 모두 본원에 표현적으로 적혀있듯이, 이러한 보다 넓은 수 범위 내에 있는 모든 보다 좁은 수 범위가 포함될 것이다.

[0023] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "음식"은 식물 및/또는 동물에 양분을 공급하는 임의의 영양 물질을 말한다. 상기 용어는 식물 또는 동물에 의해 섭취 흡수되어 이들을 살아있게 유지시켜 주는 임의의 성분을 말하는 것으로 사용되기 때문에, 임의의 특정 물질에 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 액체 양분도 정의에 포함되므로 상기 용어가 "고체" 음식에 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 게다가 일부 구현예에서, 액체 양분이 고체 음식 물질보다 바람직하다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 용어는 인간이 소비하는 음식을 참조로 하여 구체적으로 사용된다.

[0024] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "먹이"는 비인간 동물에게 양분을 공급하는 임의의 영양 물질을 말한다. 상기 용어는 식물 또는 동물에 의해 섭취 흡수되어 이들을 살아있게 유지시켜 주는 임의의 성분을 말하는 것으로 사용되기 때문에, 임의의 특정 물질에 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 액체 양분도 정의에 포함되므로 상기 용어가 "고체" 음식에 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 게다가 일부 구현예에서, 액체 양분이 고체 음식 물질보다 바람직하다.

[0025] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "영양 보충제" 및 "식이 보충제"는 규정식에 첨가되는 임의의 제품을 말한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 영양 보충제는 입으로 섭취되며, 종종 비타민, 미네랄, 허브, 아미노산, 효소 및 유기체의 배양물을 포함하나 이에 제한되지 않는 하나 이상의 식이 성분을 종종 함유한다.

[0026] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "기능식품"은 건강에 유익함을 주는 것으로 믿어지고/거나 취급되는 음식/식이 보충제를 말한다.

[0027] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "프로바이오틱 (probiotic)"은 건강에 유익한 살아있는 미생물 음식 성분을 말한다.

[0028] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "프레바이오틱 (prebiotic)"은 프레바이오틱을 섭취하는 인간 및/또는 다른 동물에게 유익하게 영향을 주는 소화불가능 음식 성분을 말한다. 바람직한 구현예에서, 프레바이오틱은 장관내 하나 이상의 유형의 박테리아의 성장 및/또는 활성을 선택적으로 촉진하여, 인간 및/또는 다른 동물의 건강을 향상시킨다.

[0029] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "신바이오틱 (synbiotic)"은 프레바이오틱 및 프로바이오틱의 혼합물을 말한다.

[0030] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "질병" 및 "질환"은 특정적인 일련의 증상 및 징후에 의해 명백해지는 임의의 신체 일부, 기관 또는 계의 정상 구조 및/또는 기능으로부터의 임의의 이탈 또는 방해를 말한다. 상기 용어는 공지된 또는 비공지된 병인 및/또는 병원체 (pathology)를 가진 상태를 포함한다.

[0031] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "치료"는 질환, 장애, 또는 질환 또는 상태의 증상을 개선, 경감 및/또는 치유하는 조성물을 제공하는 것을 말한다.

[0032] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "경구 투여," 및 "입으로 (per os)"는 입으로 (by mouth) 음식 및/또는 보충제를 섭취하는 것을 말한다.

[0033] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "질방의 예방" 및 "질환의 예방"은 질병/질환의 발생을 피하기 위해 취해진 측정을 말한다. 일부 구현예에서, "예방" 측정은 질환/질병을 피하기 위해 취해진다.

[0034] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "질환의 증상"은 질환의 임의의 주관적 상태 및/또는 환자의 상태를 말한다. 이것은 환자에 의해 인지되는 임의의 증거를 참조로 사용된다.

[0035] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "질환의 정후"는 질환/질병의 존재의 표시를 말한다. 이것은 주치의 및/또는 다른 건강관리자의 평가에 의해 인지되는 질환의 임의의 객관적인 증거를 참조로 사용된다.

[0036] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "결석률"은 질병으로 인해 어린이집 및/또는 유아원에 결석하는 비율을 말한다. 이것은 또한 질병으로 인해 학교 및/또는 직장에 결석하는 것을 말한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 본 발명의 방법은 질병 (예를 들어, 호흡기 질환)으로 인한 아이의 어린이집 및/또는 유아원 결석률을 감소시킨다.

[0037] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "유병률"은 질병/질환을 말한다.

[0038] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "사망률"은 죽음을 말한다.

[0039] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "발병률"은 특정 기간 동안 발생하는 특정 질환의 신규한 경우의 수로서, 특정 사건이 발생하는 비율을 말한다.

[0040] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "유행"은 특정 시간에 제시된 집단에 존재하는 특정 질환 및/또는 상태의 경우의 총 수를 말한다.

[0041] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "호흡기관"은 숨쉬기와 관련된 계를 말한다. 호흡기관은 종종 세가지 구획, 즉 상부 호흡기관 (즉, 코, 콧구멍, 부비동, 목구멍/인두), 호흡기 기도 (즉, 후두, 기관, 기관지, 및 세기관지), 및 하부 호흡기관 (즉, 호흡기 세기관지, 폐포관, 폐포낭, 및 폐포로 구성된 폐)으로 나누어진다.

[0042] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "호흡기 질환"은 임의의 호흡기관의 질환을 말한다.

[0043] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "독감" 및 "인플루엔자"는 임의의 인플루엔자 바이러스에 의해 야기된 전염성 호흡기 질환을 말한다.

[0044] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "독감과 유사한 증상"은 기침, 콧물, 코 울혈 (즉, "코막힘"), 목쓰림, 열, 근육 통증 (즉, 근육통 (myalgia)), 속쓰림, 두통, 권태감, 설사, 구토, 귀앓이, 중이염, 등을 포함하나 이에 제한되지 않는 인플루엔자와 일반적으로 관련된 증상을 말한다.

[0045] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "후유증"은 상태 및/또는 질병 사건의 결과로서 발생하는 질병/질환 및 증상/징후를 말한다. 일부 구현예에서, 후유증은 초기 질환/질병이 치유되고 난 뒤 오랜 후에 일어난다.

[0046] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "준임상적 (sub-clinical) 감염"은 질환의 징후 또는 증상의 발생/탐지를 야기하지 않는 감염을 말한다. 종종, 환자는 질환을 유발하는 유기체로 감염되나 감염을 인지하지 못한다.

[0047] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "감염"은 체내에서의 병원성 미생물의 침입 및 증식을 말한다.

[0048] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "위장관" ("GI")은 구강에서 직장에 이르는, 전체적인 소화관을 말한다. 상기 용어는 근육이 움직이고 호르몬 및 효소를 분비하여 음식을 소화시키는, 입으로부터 항문까지 확장된 관을 포함한다. 위장관은 입으로부터 시작하여, 식도, 위, 소장, 대장, 직장 및 마지막으로 항문에 이른다.

[0049] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "위장관 상재균"은 인간 및 다른 동물의 위장관계에 서식하는 미생물을 말한다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 상기 용어는 박테리아 유기체를 참조하여 사용되나, 상기 용어가 이에 제한되는 것으로 의도되는 것은 아니다.

[0050] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "아이" 및 "아이들"은 연령이 18 세 이하인 어린 인간을 말한다.

[0051] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "영아"는 1 세 이하의 아이를 말한다. "신생아"는 최근에 태어난 영아이다 (즉, 출생 ~ 약 4 주의 연령).

[0052] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "유아"는 걷기를 배운 아이를 말한다. 일반적으로, 상기 용어는 1 세에서 3 세 연령의 어린 아이를 참조로 사용된다.

[0053] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "취학전 아동"은 유아원에 다니는 아이, 뿐 아니라 유치원에 다니기엔 너무 어린 아이를 말한다. 일부 바람직한 구현예에서, 상기 용어는 유아 내지 취학 연령기의 아이를 참조로 사용된다 (예를 들어, 대략 2 세 연령 내지 5 세 연령).

[0054] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "취학 연령기 아이"는 학교, 특히 유치원에서 고등학교에 다니기에 적합한 연령의 아이를 말한다.

[0055] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "배양물"은 하나 이상의 미생물을 함유하는 임의의 샘플 또는 항목을 말한다. "순수 배양물"은 존재하는 유기체가 특정 속 및 종의 것인 오직 하나의 균주인 배양물이다. 이것은 미생물의 속 및/또는 종이 1 가지 초과로 존재하는 배양물인 "혼합 배양물"과는 대조적이다. 본 발명의 일부

구현예에서, 순수 배양물을 사용할 수 있다. 예를 들어, 일부 특히 바람직한 구현예에서, 락토바실러스 (*Lactobacillus*) (예를 들어, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*)) 의 순수 배양물을 사용할 수 있다. 그러나, 대안적인 구현예에서, 혼합 배양물을 사용할 수 있다. 예를 들어, 일부 특히 바람직한 구현예에서, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) 와 비피도박테리움 (*Bifidobacterium*)으로 구성된 배양물을 사용할 수 있다.

[0056] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "락토바실러스 (*Lactobacillus*)"는 락토바실라세아에 (*Lactobacillaceae*) 과의, 락토바실러스 (*Lactobacillus*) 속의 일원을 말한다. 이를 박테리아는 "락트산 박테리아"로 종종 불리는 박테리아 군의 주요 부분을 나타내는 그램-양성 통성 혐기성 박테리아이다. *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*), *L. 불가리кус* (*L. bulgaricus*), *L. 카세이* (*L. casei*), *L. 델브루액키이* (*L. delbrueckii*), *L. 페르멘툼* (*L. fermentum*), *L. 플란타룸* (*L. plantarum*), *L. 레우테리* (*L. reuteri*) 등을 포함하나 이에 제한되지 않는, 락토바실러스 (*Lactobacillus*)의 다양한 종이 확인되었다. 본 발명이 락토바실러스 (*Lactobacillus*)의 임의의 특정 종에 제한되는 것으로 의도되지 않지만, 일부 특히 바람직한 구현예에서, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) NFCM이 본 발명에서 사용될 수 있다. 속에는 재분류된 종이 포함되는 것으로 의도된다 (예를 들어, 유전적 및 기타 조사 결과 유기체의 종분화의 변경으로 인함).

[0057] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "비피도박테리움 (*Bifidobacterium*)"은 비피도박테리움 (*Bifidobacterium*) 속의 일원을 말한다. 이를 박테리아는 위장관 상재균에 존재하는 박테리아의 주요 군주 중 하나인 그램-양성 혐기성 박테리아이다. 본 발명이 비피도박테리움 (*Bifidobacterium*)의 임의의 특정 종에 제한되는 것으로 의도되지 않지만, 일부 특히 바람직한 구현예에서, *B. 락티스* (*B. lactis*) Bi-07이 본 발명에서 사용될 수 있다. 속에는 재분류된 종이 포함되는 것으로 의도된다 (예를 들어, 유전적 및 기타 조사 결과 유기체의 종분화의 변경으로 인함).

[0058] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "항균제"는 미생물의 성장을 억제하거나 이를 죽이는 임의의 화합물을 말한다. 넓은 의미로 사용된 상기 용어에는 자연적으로 또는 합성적으로 생성된 항생제와 같은 화합물을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한 상기 용어는 미생물의 성장을 억제하거나 이를 죽이는데 유용한 화합물 및 요소를 포함하는 것으로 의도된다. 일부 바람직한 구현예에서, 본 발명은 호흡기 질환을 경험하거나 이의 위험이 있는 아이에게 항균제 투여의 필요성을 감소시킨다.

[0059] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "미생물성 배지," "배양 배지," 및 "배지"는 미생물의 성장 및 번식을 위한 임의의 적합한 성분을 말한다. 상기 용어는 고체 플레이트 배지 뿐 아니라 반고체 및 액체 미생물 성장 시스템을 포함한다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "가을철"은 가을 동안 일어나는 것들이 통상 인지되는 달이다. 북반구에서는, 이를 달에는 9월, 10월 및 11월이 포함된다. 남반구에서는, 이를 달에는 3월, 4월 및 5월이 포함된다.

[0061] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "겨울철"은 겨울 동안 일어나는 것들이 통상 인지되는 달이다. 북반구에서는, 이를 달에는 12월, 1월 및 2월이 포함된다. 남반구에서는, 이를 달에는 6월, 7월 및 8월이 포함된다.

[0062] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "봄철"은 봄 동안 일어나는 것들이 통상 인지되는 달이다. 북반구에서는, 이를 달에는 3월, 4월 및 5월이 포함된다. 남반구에서는, 이를 달에는 9월, 10월 및 11월이 포함된다.

[0063] 본원에 사용된 바와 같은, 용어 "여름철"은 여름 동안 일어나는 것들이 통상 인지되는 달이다. 북반구에서는, 이를 달에는 6월, 7월 및 8월이 포함된다. 남반구에서는, 이를 달에는 12월, 1월 및 2월이 포함된다.

[실시예]

[0065] 하기 실시예는 본 발명의 특정 바람직한 구현예 및 양상을 증명하고 추가로 설명하기 위해 제공되며, 이의 범위를 제한하는 것으로는 계획되지 않는다.

[0066] 하기 실험 설명에서, 하기 약어는 다음과 같이 적용된다: °C (섭씨 온도); H₂O (물); gm (그램); μg 및 ug (마이크로그램); mg (밀리그램); ng (나노그램); μl 및 ul (마이크로리터); ml (밀리리터); mm (밀리미터); nm (나노미터); μm 및 um (마이크로미터); M (몰); mM (밀리몰); μM 및 uM (마이크로몰); U (유닛); sec (초); min(s) (분); hr(s) (시간); sd 및 SD (표준 편차); PBS (인산염 완충 식염수 [150 mM NaCl, 10 mM 나트륨 인

산염 완충액, pH 7.2]); w/v (중량 대 부피); v/v (부피 대 부피); CFU (콜로니 형성 단위); 및 NCFM (North Carolina Food Microbiology Department); Becton Dickinson (Becton Dickinson Diagnostic Systems, Sparks, MD); (Difco Laboratories, Detroit, MI); GIBCO BRL 또는 Gibco BRL (Life Technologies, Inc., Gaithersburg, MD); ATCC (American Type Culture Collection, Manassas, VA).

[0067] 본 발명의 전개에 사용된 유기체는 *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) NCFM (PTA-4797) 및 *B. 아니말리스* (*B. animalis*) 아종 *락티스* (*lactis*) Bi-07 (PTA-4802) 였다. 상기 균주를 37°C, 0.05% 시스테인 함유 MRS 배지 (예를 들어, Difco, Becton Dickinson)에서 성장시켰다. 배양물을 H₂/CO₂ 분위기 (Becton-Dickinson)를 함유하는 BBL GASPAK™ 협기성 용기에서 48 내지 72 시간 동안 인큐베이션하였다. 대량 생산을 위해, 균주를 발효 배지에서 성장시키고, 원심분리에 의해 수확하고, 당업계에 공지된 방법을 사용하여 냉동안정화 (cryostabilized) 시켰다. 냉동안정화된 용액을 동결건조시켰다. 동결건조된 배양물을 표준화하고, 당업계에 공지된 바와 같이 수행되는 계수 방법을 위한 희석제로서 텍스트로오스를 사용하여, 각 배양물 중에 바람직한 박테리아 갯수를 제공하였다.

[0068] 본 발명의 전개에 사용된 사켓은 저수분 투과율 (low moisture vapor transmission rate) 흐일 사켓 패키지에 프로바이오틱 물질 및 적합한 담체 부형제를 함유하는 분말을 첨가하여, 5⁹ 박테리아/물질 g 을 제공하도록 제조하였다. 2 개의 사켓을 우유에 첨가하고, 일일 투여량 1¹⁰ 박테리아를 매일 섭취 소비하였다. 그러나, 다양한 투여량 범위가 본 발명에서 사용될 수 있는 것으로 고려되므로, 본 발명이 임의의 특정 투여량 수준에 제한되는 것이라고는 의도되지 않는다.

[0069] 본 발명의 전개 동안 수득된 데이터의 검토시, 프로바이오틱을 처리하여 건강에 어떠한 영향을 주는지를 결정하기 위해, 설문지로부터의 정보, 주치의 방문 (가능한 경우), 질병의 일 수, 발병률, 지속기간 및 특정 질병의 개입 (예를 들어, 설사)을 수집하였다. 프로바이오틱 시험군 1 및 2에게, 어린이 집에서는 1 주일에 5 일 동안만, 1 주일 중 남은 2 일은 집에서 투여하여, 1 주일에 7 일 동안 매일 2 투여량의 프로바이오틱을 수여하였다. 군 3 (플라세보 군)에는 군 1 및 2 와 동일한 스케줄로, 1 주일에 7 일 동안 1 일 2 회로 플라세보를 수여하였다.

A. 연구 계획

[0070] 연구 계획은 6 개월 기간에 걸친 랜덤화, 이중 블라인드, 플라세보-대조 연구로 이루어졌다. 각 어린이집에서 블록 랜덤화 절차에 의해 대상을 보충군 (군 1 및 2) 또는 대조군 (군 3) 유동식으로 나누고, 어린이집에 머무르는 동안 할당된 유동식을 수여하였다.

[0071] 연구 참가자들은 3 세에서 5 세 사이의, 성별 구분 없는, 이전에 존재하는 질환 또는 잦은 질병에 걸리게 되는 해부학적 변형이 없는 취학전 연령 아이였다. 유제품 (예를 들어, 락토오스 불내증, 또는 소 단백질 반응 [우유 알러지])에 금기가 있는 취학전 연령 아이는 연구에서 제외하였다. 또한, 염증성 질환, 장 질환, 크론 질환, 대장염, 만성소화장애증, 반복 호흡 곤란 관련 질환으로 인한 만성 기침, 히르슈슈프룽 질환, 낭성섬유증, 또는 임의의 기타 대사성, 신경성, 해부학적 변형, 예컨대 변비 또는 위장 기능성 곤란 (만성 설사)의 증상의 이력을 가진 참가자들은 연구에서 제외하였다. 또한, 어떠한 다른 형태의 프로바이오틱 보충제 (예를 들어, 야쿠르트 (Yakult))를 현재 섭취한 아이들도 또한 참여시키지 않았다. 그러나, 본 발명이 널리 사용될 수 있으며 상기 그룹들에서 질환 예방에 유용하다고 입증될 것이 고려되므로, 본 발명이 이전에 존재하는 질환 및/또는 잦은 질병에 걸리게 되는 해부학적 변형이 없는 아이에서만 단독으로, 질환의 예방에 사용되는 것으로 제한되는 것이라고는 의도되지 않는다.

[0072] 상기 지시된 바와 같이, 각 그룹 당 85 명의 참가자를 포함하여, 총 3 개 그룹이 있었다 (즉, 총 255 명의 아이). 3 개 그룹 각각에 다른 지정된 가변 명칭보다는 "군 1," "군 2," 및 "군 3" 이라는 명칭을 붙였다. 그러므로, 일부 예에서, 상기 군을 하기 기재되는 바와 같이 95, 94 및 93 으로 언급하였다. 군 3에게는 어린이 집에서는 1 주일에 5 일 동안 1 일 2 회, 1 주일 중 나머지 2 일은 집에서 1 일 2 회 플라세보를 수여하였다. 집에서의 투여는 부모, 보호자 또는 지정된 가족 일원에 의해 제공되었다. 어린이집에서의 투여는 지정된 어린이집 감독자에 의해 제공되었다. 군 1 및 2에게는 프로바이오틱 제품을 수여하였다. 군 1 및 군 2 의 모두의 일원에게는 군 3 과 동일한 투여 스케줄로 프로바이오틱을 수여하였다. 프로바이오틱의 전형적인 1 일 투여량은 1¹⁰ 내지 10¹⁰ 콜로니 형성 단위/균주 ml 였다. 그러나, 본 발명이 상기 특정 투여량 또는 투여 섭생에 제한되는 것으로 의도되는 것은 아니다. 일부 바람직한 구현예에서, 투여량은

약 10^8 내지 약 10^{12} CFU/일이며, 다른 바람직한 구현예에서, 투여량은 약 10^9 내지 약 10^{11} CFU/일이다. 또한, 일부 구현예에서, 프로바이오틱 제품은 1 일 1 회 투여되며, 대안적인 구현예에서, 투여는 매일 2 회 이상 실시된다. 일부 특히 바람직한 구현예에서, 투여는 1 일 2 회 실시된다.

[0074] 군 1 의 85 명의 참가자에게는 락토바실루스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) NCFM (프로바이오틱 제품 A) 을 함유하는 프로바이오틱 제품을 수여하고, 군 2 의 85 명의 참가자에게는 2 가지 균주, 즉 락토바실루스 아시도필루스 (*Lactobacillus acidophilus*) NCFM 및 비피도박테리움 (*Bifidobacterium*), Bi-07 (프로바이오틱 제품 B) 을 함유하는 프로바이오틱 제품 (각 균주는 일일 투여량의 절반씩을 포함함) 을 수여하였다.

[0075] 군 1 및 군 2 모두에 대한 프로바이오틱 제품 (또는 사켓) 의 섭취 투여량은 170 ~ 250 ml 의 표준 1% 유지방 우유로 이루어졌다. 프로바이오틱 제품은 사용 및 이동의 편의성을 위해 호일 사켓에 함유되었다. 투여량을 10^{10} 박테리아의 일일 총 투여량을 위해 170 ~ 250 ml 우유 중 5^9 박테리아로 투여하였다. 호일 사켓의 내용물은 소비시 우유에 분배되었다. 호일 사켓은 플라세보 및 프로바이오틱이 함유되도록 제공되어, 우유에 사켓 내용물을 첨가하는 것이 모든 군에 공통이 되도록 하였다. 투여량은 6 개월 동안, 1 일당 총 170 ~ 250 ml 으로 1 일 2 회 제공되었다. 이러한 투여는 스낵 또는 식사로 이루어진 음식으로 섭취되었다. 보충제는 18 내지 20°C 로 유지된 온도의 제조실에서 제조되었다. 보충제 분말을 우유에 첨가하고, 교반하고, 아이에게 5 분 내에 제공하였다. 아이에게 통상의 지정된 위치에서 보충제를 수여하였다.

[0076] 연구는 11 월에 N=326 명의 아이 (군 3:104, 군 1:112 및 군 2:110) 로 시작하고, 5 월에 N=248 (군 3:92, 군 1:77, 및 군 2:79) 로 종료하였다. 11 월과 5 월의 순 차이는 78 명의 아이 (군 3:12, 군 1:35, 및 군 2:31) 의 손실이였다. 3 세 ~ 5 세 연령의 144 명의 남자 아이 및 182 명의 여자 아이 참가자가 있었고, 모두 중국계였다.

[0077] 아이는 매일 6:40 a.m. ~ 8:40 a.m. 의 시간 대에 도착하고, 3:50 p.m. ~ 4:40 p.m. 의 시간대에 돌아갔다. 오직 섭취가능한 음료는 (연구 보충제 이외의) 물이었다. 아이의 가족은 농부, 공무원 및 교사로 이루어졌다. 아이는 중국에서 아이들에게 제공되는 표준 백신을 맞도록 요구되었다.

[0078] 지역의 미취학 아이에서 유행하는 질병에 대해 지역 의사 조사자의 투입에 근거해, 이 아이들이 프로바이오틱 제품 (프로바이오틱 제품 A 또는 프로바이오틱 제품 B) 을 함유 또는 소비하여 이러한 질병의 발병률이 감소되었는지의 여부를 결정하기 위해, 상기 연구에 상기 질환의 빈도를 포함시켰다. 게다가, 170 명의 참가자에 대해 (군 1 및 2 조합됨), 중간 ~ 큰 영향의 측정을 위한 t-검정은 적어도 80% 의 파워 (power) 및 0.05 의 알파 수준으로 제공되었다. 상기 연구는 또한 미취학 아이의 건강에 대한 본 제품의 이점을 측정하기 위해 지역 소아과 의사/의사에 의해 선행 정의되는 기타 파라미터의 혼입을 허용하였다. 또한 상기 연구는 프로바이오틱 제품이 투여되는 경우 항균제를 좀 덜 사용할 수 있어, 항균제의 사용 감소를 가져오는지의 여부를 측정하기 위해 사용되었다.

[0079] 참가자에 대한 자격 및 비자격 인자 (또는 포함 및 제외 범주) 를 측정하기 위해, 각 참가자에게 설문지를 제공하였다. 예를 들어, 제품을 알맞게 냉장 보관하도록 참가자의 가족이 필요하였으며, 집에서 보충제를 제공하고, 어린이집 감독자에게 질병의 임의의 징후/증상을 추적 및 보고하는데 동의하는 증서에 사인하기 위해 각 아이 (각 군 중) 의 부모 또는 보호자가 필요하였다.

[0080] 초기 설문지는 부모 또는 보호자에 의해 제공된 정보를 사용하여, 각 어린이집에서 지정된 어린이집 감독자에 의해 완료되었다. 부모 및 지정된 어린이집 감독자는 정보의 초기 입증을 제공하였다. 연구를 위해 임상 조정자 (즉, 의사 연구원) 는 어린이집 원장 (즉, 어린이집 책임자, 또는 원장) 각각으로부터, 모든 어린이집으로부터 완료된 형태를 수집하였다. 각각의 취학전 아이의 어린이집 감독자 및 부모/보호자는 질병의 임의의 증상, 어린이집 결석 및 결석 사유, 임의의 의사의 진단, 항균제의 처방 (상세사항), 및 결석에 이르게 한 특이적 증상 (모든 증상이 결석을 야기하는 것은 아니므로) 에 대한 증상 체크 리스트 품으로 매일의 기록을 제공하였다. 어린이집 감독자는 부모/보호자로부터 아이가 어린이집에 결석한 각 시간에 대한 정보의 조합을 확실히 하였다. 지정된 어린이집 감독자는 매일 증상 시트를 검토하고, 부가적으로 어린이집 원장이 포함된 정규 주간 회의에서 임상 조정자 (의사) 에게 증상 시트를 제공하였다. 지정된 어린이집 감독자, 어린이집 원장, (및 임상 조정자 (의사)) 는 모두 어떤 유동식이 대조군에게 투여되는지, 어떤 유동식이 프로바이오틱군에게 투여되는지를 알지 못했다.

B. 어린이집의 인증

[0082] 의사 조사자 (또는 의사의 지정 간호사) 가 12 ~ 15 개의 어린이집을 조사하여 아시아의 서구화 지역에서 선택된 8 개의 어린이집을 최종적으로 선택하였다. 모든 프로바이오틱 제품 및 모든 플라세보 제품은 어린이집으로 전달될 때까지 저장을 위해 아시아의 지정된 위치에서 냉동 저장고에 보관하였다.

[0083] 어린이집은 연구 설정이 서로 비교가능하다는 것을 확실히 하기 위해 인증되었다. 그러므로 어린이집은 일반적으로, 각 어린이집에서의 유사한 인원의 등록된 취학전 아동, 가능한 스텝, 어린이집 비용, 및 냉장 설비를 제공하는 곳에 위치하였다. 취학전 아동 인원, 고용인의 인원, 고객의 분류 (수입), 취학전 아동 당 비용, 취학전 아동이 급식을 받는지 도시락을 싸오는지의 여부, 취학전 아동을 데려다주고 데리러오는 일반적 시간 등과 관계된 질문을 포함하여, 설비와 관련된 정보를 수집하기 위해 설문지를 사용하였다. 완료된 설문지는 어린이집 원장이 우편으로 되돌려보냈다. 선별 전, 의사 조사자 또는 의사 조사자의 지정 간호사가 각 어린이집의 청결 및 위생 상태를 평가하였다. 연구 시작 전, 의사 조사자는 설문이 의미가 있는지의 여부를 인증하고, 피드백을 도출해내고 추적 방법 및 도구 (예컨대 결석률과 관련해 부모와의 추적 면담) 를 평가하기 위해 어린이집 소유자 및 스텝을 만났다. 설문지가 적합한 데이터를 제공한다는 것을 좀 더 확실히 하기 위해, 의사 조사자는 통계학자가 연구에 통계 분석을 수행하여, 연구 디자인과 관련된 임의의 문제가 확인되고 연구의 필요성을 충족시키도록 수정할 수 있도록 확실히 한다.

C. 출석부

[0085] 매일, 어린이집 감독자는 출석부를 작성하였다. 각 시트에는 장소, 담당자 (즉, 정보 수집자), 수업 또는 그룹의 크기, 및 참석자 명단이 적혀있었다. 체크란은 참석자가 출석한지의 여부 (예/아니오), 참석자가 아파보였는지의 여부 (예/아니오), 참석자가 독감과 유사한 증상을 보였는지 또는 다른 질병 관련 증상을 보였는지의 여부 (예/아니오), 참석자가 설사를 경험하였는지의 여부 (예/아니오) 를 물어보았다. 설사를 한 경우, 참가자가 하루에 2 회 초과의 설사를 경험하였는지의 여부 (예/아니오), 제품의 첫번째 투여량을 섭취하였는지의 여부 (예/아니오), 및 제품의 두번째 투여량을 섭취하였는지의 여부 (예/아니오) 에 대한 질문이 있었다. 아이가 결석한 경우, 복귀했을 때, 아이가 병원을 방문했는지의 여부 (예/아니오), 임의의 항균제를 처방 받았는지의 여부 (예/아니오) 및 아이가 임의의 다른 질환-관련 치료를 받았는지의 여부 (예/아니오) 와 관련된 항목을 채워 넣었다. 데이터 수집을 인증하기 위해, 의사 (또는 의사의 지정 간호사) 가 어린이집을 랜덤 방문하여, 기록을 검토하고 기록이 매일 완료되었는지를 확실히 하였다. 각 어린이집의 원장은 어린이집 감독자가 의사 조사자를 위해 모든 설문지 및 임의의 기타 관련 연구 형태를 수집하였음을 확실히 하였고, 어린이집 원장은 상기 정보가 의사 조사자에게 제공되었음을 확실히 하였다. 참가자의 부모는 질병의 증상 및 질병이 결석률과 관련되었는지의 유무를 보고하는, 증상 체크 리스트를 사용하였다.

[0086] 결석률은 증상과 관련된 측정 인자인 것으로 간주되었다. 그러므로, 아이가 직면한 증상에 대해 결석률의 영향을 평가하였다. 부모 또는 감독자의 회상 능력에 따르지 않고, 공식 학교 기록 정보만으로 결석 데이터를 조직적 및 포괄적 방식으로 수집하였다. 실제 결석일 수를 독감과 유사한 증상, 다른 질병 및 개인적인 또는 알 수 없는 원인 각각에 대해 추적하였다.

D. 결과 측정

[0088] 측정에는 질병-관련 또는 독감과 유사한 증상이 있는 일 수, 질병 또는 열로 인해 어린이집에 결석한 일 수, 의사에 의해 진단된 "독감", 질병 또는 "독감과 유사한" 증상 및 임의의 예비-영향 인자, 예컨대 척방alien은 항균제 처방이 포함되었다. 기록된 다른 증상에는 설사의 빈도 및 지속기간 및 임의의 기타 질병-관련 증상이 포함되었다. 예를 들어, 다른 증상, 예컨대 귀 감염 또는 두통 또는 참가자의 결석을 유발시킨 이유를 적었다. 각 참가자에 대해 일반적 건강관리 점수를 측정하였다. 항균제의 투여로 인해 결과가 왜곡되지 않았다는 것을 확실히 하기 위해, 항균제 및 프로바이오틱을 섭취하는 참가자의 데이터를 분리하여, 오직 프로바이오틱만을 섭취한 참가자와 이를 참가자들의 분리 추적을 가능하게 하였다. 또한, 항균제가 질병으로 인한 결석일 수를 감소시킬 수 있기 때문에, "독감과 유사한" 증상으로 인해 대조군의 참가자에게 항균제를 투여한 것을 기록하였다. 또한, 상기 지시된 바와 같이, 참가자의 체중을 연구 전 및 연구 완료시 측정하였다.

[0089] 연구 과정 동안, 메스꺼움, 구토/설사, 몸살, 두통, 후두통 (후두염), 콧물, 두통, 및 열을 포함하여 하기 증상 표 대로 8 가지 증상을 평가하여 "독감과 유사한" 증상인 것을 측정하였다. 구토 및 설사는 하나의 카테고리로 취급되나, 구토의 기록은 개별적으로 추적하였고, 연구 과정 동안 오직 6 명의 아이만이 구토를 경험하였다. 연구 과정 동안 2 차 증상은 기록되지 않았다.

[0090] 병원 (의사를 방문하는 통상의 장소) 을 방문한 아이는, 통상의 의약 이외에 전형적으로 서구 의약 프로토콜에

따라 치료를 받았다. 이러한 방문에는 전형적으로 아이의 체온 및 적합한 항균제 처방의 기록이 포함되었다. 항균제 사용은 플라세보 군에서 더욱 우세한 것으로 밝혀졌음이 기록되었다.

[0091] 소비된 프로바이오틱 양과 증상이 있는 날짜 사이의 관계는 증상 점수 시트에 열거되었다. 부가적으로, 열로 인해 결석한 날짜 수, 및 감기 증상, 설사 횟수 (발병률 및 지속기간), 및 항균제 처방 문서 (의약의 종류 및 투여량) 뿐 아니라, 질병 관련 증상으로 인해 섭취된 다른 의약의 섭취도 기록하였다. 섭취된 프로바이오틱의 양의 로그 시트는 매일 기록되었고, 1 일 당 200 ml 미만의 섭취는 임상 조정자가 체크하였다. 증상 점수 시트는 각 2 차 측정에 따라 질병 증상의 정도를 측정하기 위해 사용되었다.

E. 통계 분석

[0093] 분석 계획에는 연령, 성별 및 체중과 관련해서 3 개의 연구 그룹 간의 균형 측정; 연령 및 연구 그룹을 포함하는 영향 인자에 의한 증상 비율의 계산; 및 증상 비율 및 지속기간에 관해 그룹 간의 차이의 크기 및 유의성에 대한 검정의 단변량 및 다변량 측정이 포함되었다. 연령 및 체중과 같은 연속 변수에 대해 (균형을 검정하기 위해) 그룹 간의 유의한 차이의 단변량 검정을 위해, 변량 분석 (ANOVA) 기술을 사용하였다. 결석률에 있어서, 요약 통계가 3 개 연구 그룹에 대해 제공되었고, 평균, 표준 편차, 25 번째, 50 번째 (중앙), 및 75 번째 백분위 절단점 (cut-point), 뿐 아니라 최대 및 최소 값 (즉, 외부값) 이 포함되었다. 연구 그룹 사이의 결석률 차이의 초기 분석은 ANOVA 기술을 사용하여 조사하였다. 단일 및 이중 균주 군 대 플라세보의 비교는 다중 비교를 위한 뒤넷 (Dunnett) 검정을 사용하여 수행하였다.

[0094] 인구통계학적 변수 (예를 들어, 연령, 성별 및 초기 체중), 생활 환경, 프로바이오틱 소비량, 증상의 빈도 등에 대해 기술 통계학을 사용하였다. 질병, "독감과 유사한" 증상, 기타 질병-관련 증상이 있는 일 수, 또는 질병으로 인한 총 결석을 t-검정으로 연속적으로 측정하여, 상이한 군의 다중 비교를 하도록 하였다. ANOVA 검정의 완료 후 상기 분석을 진행하였다. 혼동 인자 (예컨대 연령)에 대한 조정을 위해 콕스 (Cox) 또는 유사한 회기 분석법을 수행하였다. "독감과 유사한" 증상 및 프로바이오틱 섭취의 수는 둘로 나뉘지고 (무/1 이상), 피셔 추출 (Fisher's exact) 또는 유사한 검정으로 분석하였다. 우유 (또는 지정 제품) 소비와 질병이 있는 일 수 사이에서 부분적인 연관성이 계산되었다. ANOVA.

[0095] 상이한 그룹의 다중 비교는 1 차 결과 변수에 대한 t-검정을 사용하여 수행되었다. 일단 데이터 및 통계학적 차이가 측정되면, t-검정을 사용하여 어떤 그룹이 차이가 나는지를 측정하고, 알파를 적정화하여 유형 I 오류 인플레이션을 피하였다. 시간 기간 (6 개월)에 걸쳐 일어나는 그룹의 검정으로, 3 개 그룹이 있었으므로 유형 I 오류가 일어나는 것을 예상하지 않았다. 연구 종료시에, 독립성의 카이 제곱 (chi-square) 검정을 종료 지점이었을 때 사용하여, 독감과 유사한 또는 질병-관련 증상을 경험한 및 경험하지 않은 참가자의 수에 근거하여 처리 및 비처리 참가자를 비교하는 결과를 나타냈다. 이러한 분석을 위해, 총 105 명의 총 참가자가 90% 의 파워 (power) 및 0.05 의 알파 수준을 확보하기 위해 필요하였다. 그러나, 기타 구현예에서, 상이한 파워 및/또는 알파 수준 (예를 들어, 0.05 알파 수준) 을 사용할 수 있다는 것이 계획된다. 통계 분석은 SPSS 또는 기타 컴퓨터 통계 패키지로 수행하였다.

[0096] 결과 측정 (증상의 존재) 및 성별을 포함하는 양자택일 변량에 대한 그룹 사이의 검정을 카이 제곱 및/또는 피셔 (Fisher) 추출법을 사용하여 수행하였다. 결과 측정에 대한 유력 인자 (예를 들어, "혼동 인자 (confounder)"), 예컨대 연령 및 체중을 조정하기 위해, 로지스틱 회귀 분석을 사용하여, 연령, 연구 그룹 체중 및 성별의 선형 함수로 증상의 존재의 확률의 로그를 모델링하였다. 증상을 갖는 확률은 증상을 겪을 가능성을 증상을 겪지 않을 가능성으로 나눈 값과 같았다.

[0097] 예를 들어, 100 명의 개인 중 10 명에게 열이 있는 경우, 증상의 가능성은 0.10 이고, 증상에 대한 확률은 1/9 (0.10/0.90) 이다. 다변량 분석의 제시는 확률 비율의 개념을 사용한다. 예를 들어, 하나의 군 (예를 들어, 조합 균주)에 할당된 아이가 특이적 증상을 겪을 위험을 또 다른 군 (예를 들어, 플라세보)에 할당된 아이와 비교하여 측정하였다. 확률 비율이 1.0 또는 1.0에 가깝다면, 분석된 2 개의 군은 증상에 대한 위험과 관련하여 유사할 것이다. 확률 비율이 1.0 초과라면, 위험의 잠재적인 증가가 있는 반면, 위험이 1.0 미만인 경우, 위험의 잠재적인 감소가 있다. 결과는 95% 신뢰성 한계를 갖는 확률 비율에 대한 추정치를 사용하여 제시된다. 예를 들어, 플라세보 군과 비교하여 조합 균주 군에 대한 열의 확률 비율이 0.33 이고, 상응하는 신뢰성 한계에는 값 "1" 이 포함되지 않는; 예를 들어, (0.15, 0.70) 인 경우, 조합 균주 군에 대한 열의 위험은 플라세보 군의 약 1/3 이다. 다시 말하면, 열에 대한 위험은 조합 균주 군과의 합동으로 인해 67% 감소하였다.

[0098]

또한 연구 그룹과 연령과의 상관관계를 로지스틱 회귀 모델링 분야에서 조사하였다. 분석으로 제시되는 바와 같이, 연령에 의한 군주 (및 플라세보) 의 하위군이 증상의 존재와 관련하여 평가되는 경우 샘플 크기의 축소로 인해, 상호작용 인자로서 작용하는 능력이 통계적 유의성에 도달하지 않은 때에도 연령은 가능한 상호작용 인자였다. 그러므로, 로지스틱 회귀 모델 결과가 상호작용 인자로서 그 효과의 인지시 연령에 의해 제시된다 할지라도, 결과는 전제적으로 (상호작용 인자로서 연령을 고려하지 않음) 제시된다. 또한, 쌍 방식 군 비교를 다중 비교 법칙 및 벌점에 추가로 적용하였다. 요약하면, 증상 지속기간과 관련한 연구 그룹 사이의 차이의 평가는, 연구 그룹, 연령, 성별 및 체중의 함수로서 모델 지속기간에 대한 다중 선형 회귀 분석을 사용하여 수행하였다.

[0099]

F. 결과

[0100]

표 1 은 3 개 연구 그룹 사이의 연령, 체중 및 성별 분포를 제공한다. 이것은 상기 그룹이 성별 및, 어느 정도 체중에 대해 균형이 잡혀있다는 증거이다. 그러나, 플라세보 군에 할당된 아이들이 단일 또는 조합 군주 군에 할당된 아이들보다 평균 연령이 약 4 ~ 5 개월 많은 것으로 보였다. 이러한 발견은 모든 후속 분석에서 연령에 대한 필연적 포함 (조정)에 대해 고려되었다.

표 1. 연구 그룹에 의한 기준 특성화				
	연구 그룹			
	플라세보 (군 3)	L. 아시도필루스 NCFM (군 1)	L. 아시도필루스 NCFM 과 B. 락티스 Bi-07 (군 2)	P-값
연령 (세)				
N	104	110	112	
평균 + SD	4.1 + 0.54	3.7 + 0.7	3.8 + 0.6	<0.001
25 번째 백분위	3.9	3.1	3.3	
중앙값	4.2	3.5	4.1	
75 번째 백분위	4.5	4.3	4.1	
체중 (lbs)				
N	104	110	112	
평균 + SD	17.1 + 2.30	18.0 + 5.4	16.9 + 2.0	0.06
25 번째 백분위	15.3	15.5	15	
중앙값	17	17	17	
75 번째 백분위	18.5	18	18	
성별				
N	104	110	112	
남성 (%)	44(42.3)	47(42.0)	53(48.2)	0.58

[0101]

성별 및 체중에 의해 증상을 평가하였지만, 이들로는 증상 (열, 기침, 콧물 또는 임의의 증상) 을 겪을 가능성에 대해 상당한 영향은 없는 것으로 밝혀졌다. 그러나, 연령은 증상의 존재의 가능성 뿐 아니라 지속기간 (모든 달에 대한 p-값은 일관적으로 < 0.05 였다) 에 상당한 영향 (연구 그룹에 독립적으로) 을 주는 것으로 보였다.

[0102]

열, 기침 및 콧물 발생과 관련하여 군주군에서 통계학적으로 유의한 보호 효과가 관찰되었다. 표 2 는 랜덤화 군에 의한, 6 개월 추적 연구 기간에 걸친 증상 지속기간의 분포를 보이는 데이터를 제공한다. 이는 또한 연구 그룹 사이의 연령 조정된 차이를 평가한다. 본 표에 근거하여, 조합 군주군 ($p<0.001$) 및 단일 군

주군 ($p=0.0023$), 각각에 대해 평균 3.2 및 2.2 일로, 플라세보 군이 좀더 긴 증상 지속기간을 경험하는 것이 명백하다. 본 표에서, 이러한 데이터 제시의 편의를 위해, 플라세보 군 (군 3) 을 숫자 "93" 으로, 단일 군 주군 (군 1) 을 숫자 "94" 로, 조합 군주군 (군 2) 을 숫자 "95" 로 표시하였다.

표 2. 6 개월 추적 기간에 걸친 연구 그룹에 의한 증상 지속기간 (일) 의 분포			
통계	플라세보 (93)	L. 아시도필루스 NCFM (94)	L. 아시도필루스 NCFM 과 B. 락티스 Bi-07 (95)
N	104	110	112
평균 + Sd	6.5 + 7.3	4.5 + 4.7	3.4 + 3.7
25 번째 백분위	1	1	1
50 번째 백분위	4	3	2
75 번째 백분위	10	6	5
	그룹 간의 연령-조정 차이		
	95 대 93	94 대 93	95 대 94
평균 + Sd	-3.2 + 0.76	-2.17 + 0.71	-1.06 + 0.81
P- 값	< 0.001	0.0023	0.195

[0104]

그룹 간의 연령-조정 차이에 관련해, 연구 그룹과 연령의 함수로 선형 회귀를 사용하여 증상의 누적 지속기간을 모델링하였다. 이들 차이는 연령의 효과에 대해 계산할때 이러한 모델에서 회귀 계수를 반영한다.

[0105]

또한 결과는 6 개월 연구 기간 동안, 단일 (군 1) 및 조합 군주 (군 2) 군에서는, 참가자가 열, 기침 또는 콧물의 독감과 유사한 증상을 경험한 시간 % 의 유의한 감소를 보였다는 것을 나타내었다. 하기 표 (표 3) 은 그룹 간에 관찰된 증상 뿐 아니라 항균제의 투여를 포함하는 데이터를 제공한다. 본 표에서, 확률 비율, 95% 신뢰 수준 및 P-값이 제공된다. 본 표에서, 1 미만의 확률 비율은 보호 효과를 나타낸다. 예를 들어, 군 94 와 군 93 의 비교시 0.52 의 확률 비율은 군 94 의 아이가 군 93 의 아이와 비교해 증상을 경험하는 위험이 약 절반이라는 것을 나타낸다. 본 표에서, 굵게 표시한 값은 특히 유의한 결과를 나타낸다.

표 3. 증상의 발생 및 항균제 투여의 6 개월 비교 (확률 비율 , 신뢰성 한계 및 P- 값)					
그룹 비교	증상				
	열	기침	콧물	임의의 증상	투여된 항균제
94 대 93	0.52 (0.31, 0.88) P=0.013	0.58 (0.36, 0.94) P=0.027	0.91 (0.56, 1.46) P=0.68	1.06 (0.54, 2.1) P=0.86	0.32 (0.18, 0.59) P=0.0002
95 대 93	0.37 (0.20, 0.67) P=0.01	0.46 (0.27, 0.79) P=0.005	0.56 (0.33, 0.94) P=0.03	0.52 (0.27, 0.99) P=0.045	0.20 (0.09, 0.43) P<0.0001
95 대 94	0.71 (0.37, 1.36) P=0.30	0.80 (0.46, 1.40) P=0.43	0.62 (0.36, 1.10) P=0.088	0.49 (0.24, 0.98) P=0.04	0.63 (0.27, 1.47) P=0.29

[0107]

84 명의 참가자 중에 항균제를 투여받은 사람은, 대부분이 플라세보 군 (군 3) 에 속하였다 (67.9%). 대조적으로, 단일 군주군에서는 백분율이 21.4% 였고, 조합 군주군에서는 10.7% 였다.

[0108]

연구 시작 및 가능하다면 3 월을 제외하고, 항균제 사용 및 병원 방문 모두 플라세보 군에서 더욱 우세하였다. 이러한 경향에 대한 하나의 가능한 해석은 병원 방문을 필요로 하는 독감과 유사한 증상 (또는 기타 증상)

이 더욱 많았다는 결과가 가능할 수 있다. 또한, 연구 그룹과 명확한 관련성이 없이, 설사 빈도가 연구 시 작시 비교적 좀더 높았다.

[0110] 표 1에 제시되는 바와 같이, 연구 개월 동안 플라세보 군은 다른 2개 군주군에 비해 나이가 좀 더 많은 아이의 %가 유의하게 좀 더 높았다. 그러므로 플라세보 군이 독감과 유사한 증상에 대해 좀 더 내성을 보일 것이라고 다소 예상되었다. 그러나, 나이가 좀 더 많은 아이는 좀 더 어린 아이에 비해, 11월 ~ 1월 동안 증상에 좀더 걸리기 쉬운 것으로 나타났다. 또한, 이러한 영향은 나머지 2월 ~ 5월 동안에 반대가 되거나 고려할만하게 사라졌다.

[0111] 이러한 경향에 대해 하나의 가능한 설명은 겨울철의 가장 추운 달 (11월 ~ 1월) 동안에는 모든 아이들 (어리거나 나이가 많거나) 이 독감과 유사한 증상에 매우 걸리기 쉬웠다는 것이다. 그러나, 이 계절 동안, 군주 효과는 이러한 증상에 대해 유의하게 보호적이였다. 또한 다음의 이러한 국면이, 연구 그룹 간의 연령 균형 결핍은 군주의 잠재적인 장점에 부정적으로 영향을 줄 수 있다는 것을 주목하는 것이 흥미롭다.

[0112] 요약하면, 상기 결과는 11월, 12월, 1월, 2월, 3월, 4월 및 5월 동안 열, 기침 및 콧물의 독감과 유사한 증상 (임의의 증상)을 예방하는데 군주군 대 플라세보의 유의한 보호 효과가 있었다는 것을 나타내었다. 4월 ~ 5월 동안에는 보호 효과가 감소하는 것이 관찰되었다. 그러나, 상기 시기에도 일부 보호는 제공되었다. 게다가, 전체적으로, 플라세보 군에 할당된 아이들과 비교하여 단일 또는 조합 군주군에서 유의하게 적은 아이들이 열, 기침 또는 콧물의 독감과 유사한 증상을 경험하였다. 또한, 단일 군주군과 비교시 플라세보 군의 아이들이 3배 더 많이 독감과 유사한 증상으로 인해 항균제를 처방받았다. 게다가, 조합 군주군과 비교시 플라세보 군의 아이들이 5배 더 많이 독감과 유사한 증상으로 인해 항균제를 처방받았다. 또한, 플라세보 군과 비교시, 단일 및 조합 군주군의 참가자에서 증상이 나타난 날이 유의하게 더 적었다. 단일 군주에서도 장점이 또한 관찰되었으나, *L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) NCFM 와 *B. 락티스* (*B. lactis*) Bi-07과의 조합이 증상의 예방에 있어서 단일 군주 (*L. 아시도필루스* (*L. acidophilus*) NCFM) 보다 다소 우세하다.

[0113] 또한, 본 발명은 병에 걸린 날 수를 50%로 감소시킴으로써 단일 군주 및 이중 군주군 양쪽에 장점을 제공하는 것으로 밝혀졌다. 표 4로부터, 플라세보 군에 할당된 아이들이 단일 또는 이중 군주군에 할당된 아이들보다 총 결석일 수가 평균, 37% - 44% 더 많았다는 것이 증명된다.

표 4. 6개월 추적 기간에 걸친 연구 그룹에 의한
총 결석일 수의 분포

통계	플라세보 (군 93)	<i>L. 아시도필루스</i> NCFM (군 94)	<i>L. 아시도필루스</i> NCFM 과 <i>B. 락티스</i> Bi-07 (군 95)
N	104	110	112
평균 ± 표준 편차	5.2 ± 5.7	3.6 ± 3.7	3.8 ± 3.9
최소값	0	0	0
25 번째 백분위	1	1	1
50 번째 백분위	3	3	3
75 번째 백분위	8	5	5
최대값	26	18	23

[0114]

[0115] 실제로, 상기 데이터는 단일 및 이중 군주군 모두가 플라세보 군보다 결석일 수를 유의하게 감소시키는 것을 증명하는 것으로 제시된다.

[0116] 표 5는 뒤넷 방법을 사용하는 다중 비교를 위해 조정된 ANOVA 기술을 사용하여 그룹 간의 총 결석일 수의 차이의 통계학적 유의성 검정의 결과를 제시한다. 단일 군주 또는 이중 군주군 대 플라세보 사이의 차이는 통계적으로 유의하다 (p -값 = 0.01). 부가적으로, 다중 비교를 위해 조정된 동시 95% 신뢰 구간에 의해 제시되는 바와 같이, 단일 또는 이중 군주군 대 플라세보를 비교하는 차이는 통계적으로 유의하다. 상기 차이는 총 결석일 수가 0.1 또는 0.24 일 정도로 작을 수 있으나, 또한 2.7 또는 3.0 일 정도로 많을 수 있을 것이다.

표 5. 3 개 그룹 사이의 다중 비교 조정된* 차이			
	94 대 93**	95 대 93**	94 대 95
평균	-1.6	-1.5	-0.21
동시 95% 신뢰 구간	-2.9678 대 -0.2489	-2.7389 대 -0.0569	-1.1502 대 1.5711

* 다중 비교 조정을 위해 뒤넷법 (Dunnett) 을 사용함
** 전체적 0.05 α -수준을 사용하여 통계적으로 유의함.

[0117]

[0118] 요약하면, 총 결석일 수 분석은 단일 또는 이중 균주 프로바이오틱이 유치원 또는 어린이집으로부터의 결석일 수를 유의하게 감소시킨다는 것을 나타낸다.

[0119] 본 명세서에 언급된 모든 특허 및 문헌은 본 발명이 속하는 당업자의 수준의 명시이다. 모든 특허 및 문헌은 각각의 개별적인 문헌이 참조로서 인용되는 것으로 구체적이고 개별적으로 지시되는 바와 같이 동일한 범주로 본원에 참조로서 인용된다.

[0120] 본 발명의 바람직한 구현예를 기재함에 있어, 당업자는 기재된 구현예에 다양한 변형이 가능할 수 있으며, 이러한 변형도 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 의도됨을 인지할 것이다.

[0121] 당업자는 본 발명이 목적을 달성하고 언급된 결론 및 장점, 뿐 아니라 그 본래의 것을 수득하기 위해 잘 채택될 수 있을 것이라는 것을 쉽게 인지한다. 본원에 기재된 조성물 및 방법은 바람직한 구현예의 대표적인 것이고, 예시이고, 본 발명의 범주에 대한 제한이 아닌 것으로 의도된다. 본 발명의 범주 및 취지를 벗어나지 않고 본원에 기재된 본 발명에 대해 다양한 대체 및 변경이 이뤄질 수 있다는 것을 당업자는 쉽게 인지한다.

[0122] 본원에 예시적으로 기재된 본 발명은 적합하게는 본원에 구체적으로 기재되지 않은 임의의 요소(들), 제한(들)의 부재에서 실시될 수 있다. 사용된 용어 및 표현은 설명을 위한 용어로 사용되는 것이지 제한하여 하는 것이 아니며, 제시되고 기재된 특징의 임의의 동일한 점 및 그의 일부를 제외한 이러한 용어 및 표현의 사용이 의도되지 않으나, 다양한 변형이 청구된 본 발명의 범주 내에서 가능하다는 것이 인지된다. 그러므로, 본 발명이 바람직한 구현예 및 선택 사항에 의해 구체적으로 기재되고, 당업자에 의해 본원에 기재된 개념의 변형 및 변경이 이뤄질 수 있다 하더라도, 이러한 변형 및 변경이 청구의 범위에 의해 정의된 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 이해되어야만 한다.

[0123] 본 발명은 본원에 포괄적이고 일반적으로 기재되어 있다. 속 기재에 포함되는 더 좁은 종 및 하위속 그룹 각각이 또한 본 발명의 일부를 형성한다. 이것에는 제외된 물질이 구체적으로 본원에 언급되었는지의 여부와 상관없이, 속으로부터 임의의 대상을 제거하는 단서 또는 음성적 제한과 함께 본 발명의 속 기재가 포함된다.

수탁번호

[0124]

기탁기관명 : 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션

수탁번호 : PTA-4797

수탁일자 : 20021115

기탁기관명 : 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션

수탁번호 : PTA-4802

수탁일자 : 20021115

도면

도면1

6 개월 동안 연구 그룹에 의한 두드러진 증상이 있는 시간 %

