



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년10월30일

(11) 등록번호 10-2724420

(24) 등록일자 2024년10월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/12 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/02 (2006.01) A61P 31/14 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 39/12 (2013.01)

A61K 39/0241 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7029516

(22) 출원일자(국제) 2018년04월12일

심사청구일자 2021년03월09일

(85) 번역문제출일자 2019년10월08일

(65) 공개번호 10-2019-0134650

(43) 공개일자 2019년12월04일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/059389

(87) 국제공개번호 WO 2018/189290

국제공개일자 2018년10월18일

(30) 우선권주장

17166590.4 2017년04월13일

유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌

FANGMAN, T. et al., Allen D. Leman Swine Conference Abstract (2011)*

국제공개공보 WO2009/127684(2009.10.22.)*

미국 특허출원공개공보 US2013/0266602

호(2013.10.10.)*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

인터벳 인터내셔널 비.브이.

네덜란드 안 북스메어 5831 빔 데 쿼르페어슈트라아트 35

(72) 발명자

위트블리트, 마르텐, 헨드리크

네덜란드 안 북스메어 5831 빔 데 쿼르페어슈트라아트 35

반 덴 보른, 에르빈

네덜란드 안 북스메어 5831 빔 데 쿼르페어슈트라아트 35

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 8 항

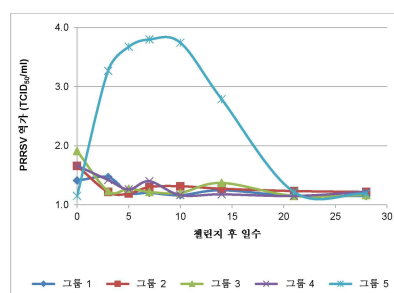
심사관 : 김윤선

(54) 발명의 명칭 연합된 비-혼합 사용을 위한 돼지 병원체를 함유하는 백신

(57) 요약

본 발명은 동물에게의 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니애의 비-복제 면역원을 포함하는 제1 백신 및 살아있는 약독화된 돼지 생식기 호흡기 증후군 (PRRS) 바이러스를 포함하는 제2 백신의 연합된 비-혼합 투여에 의해, 돼지 서코 바이러스 타입 2로의 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니애로의 감염 및 PRRS 바이러스로의 감염에 대해 동물을 예방적으로 치료하는데 사용하기 위한, 상기 제1 백신과 상기 제2 백신의 배합물에 관한 것이다. 본 발명은 또한 제1 백신 및 제2 백신을 포함하는 부분들의 키트 및 이들 백신을 사용하여 이러한 감염에 대해 동물을 보호하는 방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 39/105 (2013.01)

A61P 31/14 (2018.01)

A61K 2039/521 (2013.01)

A61K 2039/522 (2013.01)

A61K 2039/54 (2013.01)

A61K 2039/545 (2013.01)

A61K 2039/552 (2013.01)

A61K 2039/70 (2013.01)

(72) 발명자

스노, 멜라니

네덜란드 안 북스메어 5831 빔 데 쿼르페어슈트라
아트 35

야콥스, 안토니우스, 아놀두스, 크리스티안

네덜란드 안 북스메어 5831 빔 데 쿼르페어슈트라
아트 35

명세서

청구범위

청구항 1

인간을 제외한 동물에 대한 제1 백신 및 제2 백신의 연합된 비-혼합 투여에 의해, 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)에 의한 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니에 (*Mycoplasma hyopneumoniae*)에 의한 감염 및 돼지 생식기 호흡기 증후군 (PRRS) 바이러스에 의한 감염에 대해 상기 동물을 예방적으로 치료하는 방법으로서,

여기서 제1 백신은 PCV2의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니에의 비-복제 면역원을 포함하고, 제2 백신은 살아있는 약독화된 PRRS 바이러스를 포함하는 것이고,

여기서 연합된 비-혼합 투여는 동시에 일어나는 것이고,

여기서 제2 백신은 동물의 진피에 투여되는 것이고,

여기서 제1 및 제2 백신은 단일 용량으로 투여되는 것인, 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1 백신이 로소니아 인트라셀룰라리스 (*Lawsonia intracellularis*)의 비-복제 면역원을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 로소니아 인트라셀룰라리스의 면역원이 백신 투여 전 24시간 내에 제1 백신에 첨가되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 로소니아 인트라셀룰라리스의 면역원이 로소니아 인트라셀룰라리스의 동결건조된 사멸된 전체 세포를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, PCV2의 비-복제 면역원이 PCV2의 ORF2 유전자에 의해 코딩되는 재조합적으로 발현된 단백질인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서, PCV2의 비-복제 면역원이 PCV2의 배칼로바이러스 발현된 단백질인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 마이코플라스마 하이오뉴모니에의 비-복제 면역원이 사멸된 전체 마이코플라스마 하이오뉴모니에를 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 8

돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니에의 비-복제 면역원을 포함하는 제1 백신 및 살아있는 약독화된 PRRS 바이러스를 포함하는 별도의 제2 백신을 포함하고,

동물에 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니에의 비-복제 면역원을 포함하는 제1 백신 및 살아있는 약독화된 PRRS 바이러스를 포함하는 제2 백신의 연합된 비-혼합 투여에 의해, 돼지 서코 바이러스 타입 2에 의한 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니에에 의한 감염 및 PRRS 바이러스로 인한 감염에 대해 동물을 예방적으로 치료하는데 사용하기 위한 것이고,

여기서 연합된 비-혼합 투여는 동시에 일어나는 것이고,

여기서 제2 백신은 동물의 진피에 투여되는 것이고,
여기서 제1 및 제2 백신은 단일 용량으로 투여되는 것인,
부분들의 키트.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 일반적으로 돼지 건강 분야에 관한 것이다. 돼지는 많은 병원성 미생물에 걸리기 쉽다. 감염의 통제는 일반적으로 농장 및 사료 관리, 의약품, 예컨대 항바이러스 약물 및 항생제로의 치료 또는 백신을 사용하는 예방적 치료에 의해 수행된다. 특히, 본 발명은 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2 또는 PCV-2), 마이코플라스마 하이오뉴모니아 (*Mycoplasma hyopneumoniae*), 돼지 생식기 호흡기 증후군 (PRRS) 바이러스 및 임의적으로 로소니아 인트라셀룰라리스 (*Lawsonia intracellularis*)에 대한 백신 및 이러한 백신을 사용하여 이러한 감염에 대해 동물을 보호하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] PCV-2는 어린 돼지에서 관찰되는 이유후 전신 소모성 증후군 (PMWS)과 연관된다. 이 질환은 1991년 캐나다에서 처음으로 나타났다. 임상 징후 및 병리는 1996년에 처음으로 발표되었으며, 점진적인 소모, 호흡곤란, 빈호흡 및 때때로 황달 (icterus 및 jaundice)을 포함한다. 나야르 등 (Nayar et al., Can. Vet. J. Volume 38, June 1997)은 PMWS의 임상 증상을 갖는 돼지에서 돼지 서코 바이러스를 검출하고, PK-15 세포의 자연 거주자로서 인식된 공지된 PCV 이외의 다른 PCV가 PMWS와 연관될 수 있다고 결론지었다. 이후의 공개 (Hamel et al., J.Virol., 72(6), 5262-5267, 1998; Meehan et al., J. Gen.Virol., 79, 2171-2179, 1998)는 이들 발견을 확인하였으며, 최초의 PK-15 세포 배양 분리주 (Tischer et al., Nature 295, 64-66, 1982)는 PCV-1로 지칭되어야 하는 반면, 새로운 병원성 PCV는 PCV-2로 지칭하는 것이 제안되었다 (Meehan et al., 상기 참조). PCV-2는 원형의 단일 가닥 DNA 게놈을 함유하는 작은 (17-22 nm) 이십면체 비-외피보유 바이러스이다. PCV-2 게놈의 길이는 약 1768 bp이다. 전세계의 상이한 지역에서 유래하는 PCV-2 분리주는 서로 밀접하게 관련되는 것으로 보이며 약 95 내지 99% 뉴클레오타이드 길이 동일성을 나타낸다 (Fenaux et al., J.Clin. Microbiol., 38(7), 2494-2503, 2000). PCV의 ORF2는 바이러스의 캡시드 단백질을 코딩한다. PCV-2의 ORF2 유전자는 약 233개 아미노산의 단백질을 코딩한다. 모든 PCV-2 분리주의 ORF2 유전자는 91-100% 뉴클레오타이드 길이 동일성 및 90-100% 추론된 아미노산 길이 동일성을 공유한다.

[0003] 마이코플라스마 하이오뉴모니아 (Mhyo)는 돼지에 영향을 끼치는 매우 전염적이고 만성적인 질환인 돼지 유행성

폐렴 질환을 유발하는 것으로 공지된 세균 중이다. Mhyo는 크기가 작고 (400 - 1200 nm), 작은 게놈을 갖고 (893 - 920 킬로-염기쌍 (kb)), 세포벽이 없다. Mhyo는 돼지 폐의 상피 세포의 섬모에 부착한다. 그들은 섬모가 비팅하는 것을 멈추게 하고 클럼핑 및 섬모의 상실을 유발하여, 결국 상피 세포 죽음을 초래한다. 이는 돼지 유행성 폐렴을 갖는 돼지의 폐에서 발견되는 병변의 공급원이다. 이 손상은 정상적인 섬모 제거를 방해하고, 종종 이차 감염이 발생한다. 이는 동물의 체중 증가를 상당히 감소시킨다. 미국에서의 손실은 이전에 연간 최대 10억 달러로 추정되었다. 돼지 유행성 폐렴은 전세계적으로 풍토병이며, Mhyo는 거의 모든 돼지 무리에 존재한다. 돼지에서 Mhyo의 존재에 의해 유도되는 면역 반응은 느리고 비효과적이다. 따라서, 이 질환의 치료가 가장 중요하지만, 항생제에 한정되며, 항생제가 감염을 완전히 제거하지 않기 때문에 현재 단지 부분적으로만 효과적이다. 백신은 질환의 중증도를 감소시키는 것으로 밝혀졌지만, 질환이 감염된 돼지에서 발생하는 것을 완전히 예방하지 못한다.

[0004] PRRS 바이러스는 1987년 북미 및 중앙 유럽에서 처음으로 보고되었다. PRRS 바이러스는 작은 외피보유 RNA 바이러스이다. 이는 약 15 킬로염기의 크기를 갖는 단일-가닥의 포지티브-센스 RNA 게놈을 함유한다. 게놈은 9개의 개방 판독 프레임을 함유한다. 바이러스는 니도비랄레스 (*Nidovirales*) 목, 아르테리비리데 (*Arteriviridae*) 과, 아르테리비루스 (*Arterivirus*) 속의 구성원이다. PRRSV의 2종의 원형 스트레인은 북미 스트레인인 VR-2332 및 유럽 스트레인인 렐리스타드 (*Lelystad*) 바이러스 (LV)이다. 유럽 및 북미 PRRSV 스트레인은 유사한 임상 증상을 유발한다. 최근에, 중국에서 북미 유전형의 높은 병원성 스트레인이 나타났다. 이 스트레인 HP-PRRSV는 모든 다른 스트레인보다 병독성이고, 아시아 국가에서 큰 손실을 초래한다. 임상 징후는 암태지에서의 생식기 기능상실, 예컨대 유산 및 사산 및 미이라화된 태아의 출산, 및 귀 및 외음부의 청색증을 포함한다. 신생아 돼지에서, 질환은 호흡 곤란을 유발하여 호흡기 감염, 예컨대 글래스 (Glasser) 질환에 대해 감수성이 증가된다.

[0005] 로소니아 인트라셀룰라리스는 전세계적으로 이유후 돼지의 흔한 장 질환인, 회장염으로도 공지된, 증식성 장병증을 유발한다. 특징적 병변은 회장염에서 미성숙 장세포의 증식이며; 이들 세포는 일반적으로 그들의 정단 세포질 내에 원인 세균을 함유한다. 부검 시, 조직 병변은, 특히 장세포에서, 그러나 또한 종종 움 사이의 고유관 및 장간막 림프절에 위치한 대식세포 내에서, 1.5 - 2.5 μm 길이의 비브리오이드 형태의 세균의 가시화에 의해 로소니아-양성으로 확인될 수 있다. 장세포로부터 세균을 제거하면 연관된 증식 병변이 해결되며, 이는 세균의 움에 대한 직접적 국소 효과를 나타낸다. 이들 병변에서 로소니아 인트라셀룰라리스의 존재는 무증상 감염만을 나타내는 동물에서와 같이 질환을 나타내는 동물에서 모두 PCR을 이용하여 입증되었다. 임상 사례는 일반적으로 그로워-피니셔 (grower-finisher) 기간에 존재하며; 일부 나이트 피니셔 돼지에서 급성 출혈성 형태가 기록되었다.

[0006] 상기 확인된 병원체에 대한 백신은 일반적으로 공지되어 있다. PCV2로의 감염에 대해 동물, 특히 돼지를 예방적으로 치료하기 위한 기존 백신은 (비-복제) 면역원으로서 전체 불활성화된 PCV-2 바이러스에 기반할 수 있다. 또한, 관련 기술분야에서, ORF2 코딩된 캡시드 단백질 (예컨대, 재조합적으로 발현되는 경우)이 적합한 백신에 사용하기 위한 돼지 서코 바이러스 타입 2의 서브유닛 면역원으로 적합한 것으로 밝혀졌다. 이는 순환계에서 이 서브유닛이, 본질적으로 DNA 및 비-구조 단백질이 캡시드 내부에 존재하지 않는다는 사실만이 차이일 뿐, 바이러스 자체와 동일한 방식으로 나타나기 때문인 것으로 이해될 수 있다 (이는 바이러스-유사 입자를 형성함). 관련 기술분야에서, PCV2에 대한 수개의 백신이 상업적으로 구입 가능하다. 포르실리스(Porcilis)® PCV (MSD 애니멀 헬스(MSD Animal Health)로부터 구입 가능, 네덜란드 북스미어)는 3주 이상의 돼지에서 사용하기 위한 돼지 서코 바이러스 타입 2에 대한 돼지 보호용 백신이다. 2회 접종 (2회 용량) 백신으로 주어지는 경우, 면역 지속기간 (DOI)은 22주이며, 돼지의 비육 기간을 거의 완전히 커버한다. 인겔박스 서코플렉스(Ingelvac CircoFlex)® (베링거 인겔하임(Boehringer Ingelheim)으로부터 구입 가능, 인겔하임)은 2주 이상의 돼지에서 사용하기 위한 돼지 서코 바이러스 타입 2에 대한 돼지 보호용 백신이다. 이는 1회 접종 (1회 용량) 백신만으로 등록되어 있다. 서코박(Circovac)® (메리알(Merial)로부터 구입 가능, 프랑스 리옹)은 3주 이상의 돼지에서 사용하기 위한 돼지 서코 바이러스 타입 2에 대한 돼지 보호용 백신이다. 수박신(Suvaxyn)® PCV (조에티스(Zoetis)로부터 구입 가능, 네덜란드 카펠레 a/d 이젤)은 3주 이상의 돼지에서 사용하기 위한 돼지 서코 바이러스 타입 2에 대한 돼지 보호용 백신이다. 다른 PCV2 백신은, 예컨대 WO2007/028823, WO 2007/094893 및 WO2008/076915에 기재되어 있다.

[0007] 마이코플라스마 하이에뉴모니애와 관련하여, 많은 상업용 백신이 존재하며, 이들은 대부분의 상업용 돼지 양식 운영에서 일상적으로 사용된다. 일반적으로, 이들 백신은, 전형적으로 비경구 주사에 의해 투여되는, 비-복제 면역원, 예컨대 서브유닛 단백질 및/또는 박테린 (즉, 사멸된 세균을 전체 세포, (부분적으로) 분해된 것, 균질

화된 것, 프렌치 압축된 것, 이의 조합으로 포함하거나 조성물이 사멸된 세균 배양물로부터 유래될 수 있는 한 또 다른 형태의 사멸된 세균을 포함하는 조성물)을 포함한다. 일부 예는 레스피슈어(RespiSure)® (조에티스), 인겔박(Ingelvac)® M. hyo, 및 미코플렉스(MycoFLEX)® (베링거 인겔하임), 하이오레스프(Hyoresp)® (메리알), 스텔라문(Stellamune)® 미코플라스마 (Mycoplasma) (엘란코 애니멀 헬스(Elanco Animal Health)), 포스테라(Fostera)® PCV MH (조에티스) 및 M+Pac® 및 포르실리스® Mhyo (둘 다 MSD 애니멀 헬스로부터 구입 가능)이다.

[0008] PRRS 바이러스와 관련하여, 비록 불활성화된 바이러스 백신이 기재되었고, 상업적으로 구입 가능하지만, 살아있는 약독화된 형태의 유럽 타입 (타입 I) 또는 북미 타입 (타입 II)을 포함하는 변형된 살아있는 백신 (MLV 백신)이 이의 통제를 위한 주요 면역학적 도구이다. 수개의 백신이 관련 기술분야에서 상업적으로 구입 가능하다. 포르실리스® PRRS (MSD 애니멀 헬스로부터 구입 가능, 네델란드 북스미어)는 살아있는 약독화된 PRRS 바이러스 타입 I을 포함하는 백신이며, PRRS 바이러스로의 감염에 의해 유발되는 감염 (바이러스혈증)을 감소시키는 것으로 등록되어 있다. 인겔박 PRRS® MLV (베링거 인겔하임으로부터 구입 가능, 인겔하임)는 PRRS 바이러스에 의해 유발되는 질환의 감소를 돕고 상이한 타입의 스트레인에 대해 교차 보호를 제공하는 백신이다. 포스테라® PRRS (조에티스(Zoetis))로부터 구입 가능, 미국 뉴저지 플로르함 파크)도 MLV 백신이며, PRRS 바이러스에 의해 유발되는 호흡기 및 생식기 형태의 질환 둘 다에 대한 보호에 대해 등록되어 있다. 또 다른 PRRS MLV 백신은 머크 애니멀 헬스 (Merck Animal Health, 미국 뉴저지 매디슨)로부터 구입 가능한 프리메팍 (PrimePac) PRRS (타입 II)이다. 다른 PRRS 백신은, 예컨대 WO2006/074986, US 8728487 및 WO2014/048955에 기재되어 있다.

[0009] 능동적 보호를 유발함으로써 로소니아 인트라셀룰라리스를 퇴치하기 위한 백신은 상업적으로 구입 가능하며, 당해 기술분야에 기재되어 있다. 이들 백신은, 살아있는 약독화된 백신인, 엔테리솔(Enterisol)® 일레이티스 (Ileitis) (베링거 인겔하임 베크메디카(Boehringer Ingelheim Vetmedica), 미국) 및 박테린 형태의 로소니아 인트라셀룰라리스의 비-복제 면역원을 포함하는 백신인, 포르실리스® 일레이티스 (머크 애니멀 헬스, 미국)의 상표명으로 구입 가능하다.

[0010] 본 발명의 목적

[0011] 돼지 건강의 관리를 위한 편리하고 안전하며 효과적인 수단에 대한 지속적인 요구가 있다. 특히, 돼지 서코 바이러스 타입 2로의 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니애로의 감염 및 PRRS 바이러스로의 감염에 대해 돼지를 예방적 치료하기 위해 사용될 수 있는 편리하고 안전하며 효과적인 백신에 대한 요구가 있다.

발명의 내용

[0012] 본 발명의 요약

[0013] 본 발명의 목적을 충족시키기 위해, 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니애의 비-복제 면역원을 포함하는 제1 백신과 살아있는 약독화된 돼지 생식기 호흡기 증후군 (PRRS) 바이러스를 포함하는 제2 백신의 배합물이 고안되었으며, 여기서 배합물은 동물에게의 제1 백신 및 제2 백신의 연합된 비-혼합 투여에 의해 돼지 서코 바이러스 타입 2로의 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니애로의 감염 및 PRRS 바이러스로의 감염에 대해 동물을 예방적으로 치료하는데 사용하기 위한 것이다.

[0014] 비록 본원에서 상기 언급된 각각의 병원체에 대해 백신이 공지되어 있고 상업적으로 구입 가능하지만, 백신의 배합물이 요구되는 효능을 제공하고 동시에 동물, 특히 어린 동물에서 사용하기에 안전한, 연합된 비-혼합 투여에 이용 가능한 백신의 배합물은 없다. 일반적으로 공지된 바와 같이, 고려되거나 제안된 모든 항원 배합물이 안전하고 효과적인 배합 백신을 초래할 수 있는 것은 아니다. 상응하게, 공동 투여로도 지칭되는 백신의 연합된 비-혼합 사용은 백신에 존재하는 개별 면역원에 대한 안전성 문제 또는 감소된 반응을 초래하는 상호작용을 유발할 수 있다. 살아있는 백신의 경우, 백신 스트레인의 감소된 복제가 나타날 수 있다. 상이한 면역원들 사이의 간섭이 다양한 면역학적 사건, 예컨대 항원 경쟁으로부터 발생할 수 있다. 항원 경쟁은 특정 면역원 (항원으로도 지칭됨)에 대한 면역 반응이 동일한 면역원이 단독으로 투여되는 경우와 비교하여 다른 면역원의 존재 하에 감소될 수 있는 현상을 기재한다.

[0015] 혼합 없이 투여되는 경우라도 백신 간섭의 일반적으로 공지된 문제에 대한 증거로서, 유럽 의약품국 (EMA)의 수의과 사용을 위한 의약 제품 위원회 (CVMP)에 의해 2013년 7월 18일에 발표된 "면역학적 수의과 의약 제품 (IVMP)의 배합 백신 및 연합을 위한 요건에 대한 지침"이란 표제의 지침이 있다 (EMA/CVMP/IWP/594618/2010). 5.1 절에 "IVMP의 연합을 위한 기초는 허용가능한 안전성 및 수반되는 IVMP 사이의 심각한 간섭의 부재가 입증

되어야 한다. 연합에 대한 안전성 프로필이 분리된 생성물에 대해 확립된 것보다 덜 유리한 경우, 연합은 연합의 이익이 감소된 안전성의 위험을 분명히 능가하는 적절한 이익-위험 분석에 의해 정당화되어야 한다. 이러한 상황에서, 분리된 제품의 SPC는 IVMP의 연합된 사용에 기인한 안전성 프로필을 반영하도록 보장되어야 한다. 연합에서 생성물들 사이의 일부 간섭 수준이 효능을 감소시키는 경우, IVMP의 연합은 개개의 사례에 따라 추가의 정당화가 필요하다. 또한, 임의의 관련된 IVMP의 생성 또는 조성에 영향을 끼치는 변화도 연합의 적합성의 재평가를 필요로 할 것이라는 점에 주목해야 한다."고 명시되어 있다.

- [0016] 더욱이, 특히 살아있는 PRRS 바이러스와의 임의의 배합된 투여의 경우: 오히려, PRRS 바이러스는 일반적으로 면역 억제적인 것으로 공지되어 있으므로, 다른 면역원에 대한 효능에 부정적 영향이 있을 것으로 예상된다. 예컨대, 문헌 (Can J Vet Res. 2012 Oct;76(4):255-60: "Suppression of immune responses in pigs by nonstructural protein 1 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus." by Zhou Y1, Bai J, Li Y, Wang X, Wang X, Jiang P)을 참조한다.
- [0017] 대체로, 다수의 병원체에 대한 배합된 백신접종은 간단하지 않고, 특히 배합된 백신접종이 살아있는 PRRS 바이러스를 수반하는 경우, 안전성 및 효능을 결정하기 위한 실험을 필요로 한다는 것이 일반적으로 공지되어 있다.
- [0018] 본 발명은 또한 동물에게의 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니아의 비-복제 면역원을 포함하는 제1 백신 및 살아있는 약독화된 PRRS 바이러스를 포함하는 제2 백신의 연합된 비-혼합 투여에 의해, 돼지 서코 바이러스 타입 2로의 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니아로의 감염 및 PRRS 바이러스로의 감염에 대해 동물을 예방적으로 치료하는데 사용하기 위한, 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니아의 비-복제 면역원을 포함하는 제1 백신 및 별도로 살아있는 약독화된 PRRS 바이러스를 포함하는 제2 백신을 포함하는 부분들의 키트에 관한 것이라는 점이 주목된다.
- [0019] 본 발명은 또한 돼지 서코 바이러스 타입 2의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니아의 비-복제 면역원을 포함하는 제1 백신 및 살아있는 약독화된 PRRS 바이러스를 포함하는 제2 백신의 연합된 비-혼합 투여에 의해, 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)로의 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니아로의 감염 및 PRRS 바이러스로의 감염에 대해 동물을 예방적으로 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0020] 본 발명은 또한 동물에게의 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니아의 비-복제 면역원을 포함하는 백신 및 살아있는 약독화된 돼지 생식기 호흡기 증후군 (PRRS) 바이러스를 포함하는 또 다른 백신의 연합된 비-혼합 투여에 의해, 돼지 서코 바이러스 타입 2로의 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니아로의 감염 및 PRRS 바이러스로의 감염에 대해 동물을 예방적으로 치료하는데 사용하기 위한, 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니아의 비-복제 면역원을 포함하는 백신에 관한 것이다. 상응하게, 본 발명은 또한 동물에게의 살아있는 약독화된 돼지 생식기 호흡기 증후군 (PRRS) 바이러스를 포함하는 백신 및 돼지 서코 바이러스 타입 2 (PCV2)의 비-복제 면역원 및 마이코플라스마 하이오뉴모니아의 비-복제 면역원을 포함하는 또 다른 백신의 연합된 비-혼합 투여에 의해, 돼지 서코 바이러스 타입 2로의 감염, 마이코플라스마 하이오뉴모니아로의 감염 및 PRRS 바이러스로의 감염에 대해 동물을 예방적으로 치료하는데 사용하기 위한, 살아있는 약독화된 돼지 생식기 호흡기 증후군 (PRRS) 바이러스를 포함하는 백신에 관한 것이다. 본원에서 하기 "본 발명의 실시양태"의 절에서 기재되는 바와 같은 각각의 특정 실시양태는 본 발명에 따라 사용하기 위해 이들 2개의 백신과 배합될 수 있다.
- [0021] 백신에서 면역원 (항원으로도 불림)은 전형적으로 제약상 허용되는 담체, 즉 생체적합성 매질, 즉 투여 후 대상체 동물에서 유의한 부작용을 유발하지 않고, 백신 투여 후 숙주 동물의 면역계에 면역원을 제시할 수 있는 매질, 예컨대 물 및/또는 임의의 다른 생체적합성 용매를 함유하는 액체 또는 예컨대 동결건조된 백신을 수득하는데 일반적으로 사용되는 고체 담체 (수가 및/또는 단백질에 기반)와 배합되며, 임의적으로 동물에게 투여 시 야생형 미생물로의 감염에 대해 동물을 치료하기 위한, 즉 이러한 감염 또는 이로부터 발생하는 장애를 예방, 개선 또는 치유하는 것을 돕기 위한 면역 반응을 유도하는 면역자극제 (애주번트)를 포함한다. 임의적으로, 의도된 사용 또는 백신의 요구되는 특성에 따라 다른 물질, 예컨대 안정화제, 점도 변형제 또는 다른 성분이 첨가된다.
- [0022] 정의
- [0023] 백신은 대상체 동물에게 투여하기에 안전하고 병원성 미생물에 대해 그 동물에서 보호 면역을 유도할 수 있는, 즉 본원에서 하기에 정의되는 바와 같이 성공적인 예방적 치료를 유도할 수 있는 제약학적 조성물이다.

- [0024] 병원체의 비-복제 면역원은, 전체로서의 (또는 약독화된 형태의 야생형으로의) 살아있는 복제하는 병원체 (이 병원체에 대해 면역학적 반응이 유도될 수 있음)를 제외한, 병원체에 대응하는 임의의 물질 또는 화합물로서, 대응하는 병독성 병원체 또는 이의 발병 인자 중 하나 이상은 숙주 면역계에 의해 이 면역 반응의 결과로서 인식될 것이며 궁극적으로 적어도 부분적으로 중화된다. 비-복제 면역원의 전형적 예는 사멸된 전체 병원체 (이 용어는 용해된 형태의 이들 병원체를 포함함) 및 이들 병원체의 서브유닛, 예컨대 캡시드 단백질, 표면 발현 분자 (예컨대, 재조합적으로 발현된 단백질 또는 지질다당류) 및 분비 분자, 예컨대 독소이다.
- [0025] 살아있는 약독화된 병원체는, 감소된 발병력을 갖는 병원체의 생존가능한 복제 적격 형태이다. 약독화 과정은 감염성 병원체를 취하고, 이를 전형적으로 세포 시스템을 통한 병원체의 다수 계대에 의해 또는 병원체를 유전자 변형에 의해 무해하거나 덜 병독성이 되도록 변경한다.
- [0026] 병원체로의 감염에 대한 예방적 치료는, 특히 이러한 켈린지 후 숙주에서 이의 부하를 감소시키고 임의적으로 병원체로의 처리 후 감염 (post treatment infection)으로부터 발생하는 하나 이상의 임상 증상을 예방하거나 개선하기 위해, 병원성 병원체로의 처리 후 켈린지 (post treatment challenge)로부터 발생하는, 그 병원체로의 감염 또는 그 감염으로부터 발생하는 장애를 예방, 개선 또는 치유하는 것을 돕는 것이다.
- [0027] 공동 투여로도 지칭되는 백신의 연합된 비-혼합 투여는 표적 동물에게 이들 백신을 개별적으로, 따라서 투여 전에는 혼합되지 않게, 그러나 면역학적 간섭이 일어날 수 있는 시간 프레임 내, 전형적으로 24시간 내에 투여하는 것이다. 연합된 비-혼합 사용의 예는 표적 동물의 분리된 적용 부위에서의 동시 투여 및 전형적으로 1 내지 6시간 분리되는 상이한 시간에 동일 또는 분리된 적용 부위에서의 투여이다.
- [0028] 백신의 동시 투여는 정확히 동시에 또는 적어도 1시간의 시간 프레임 내, 바람직하게는 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2분 또는 심지어 1분의 시간 프레임 내의 투여를 의미한다.
- [0029] 예방적 치료에 사용하기 위한 백신의 단일 용량 투여는 보호 면역에 도달하기 위해 백신접종이 제2 백신 투여로 부스팅될 필요가 없음을 의미한다. 2회 접종 요법에서, 제1 (프라이밍) 백신접종은 전형적으로 제1 투여로부터 6주 내, 일반적으로 제1 투여 후 3주 또는 심지어 2주 내에 부스팅되며, 제2 (부스팅) 투여 후에만 보호 면역, 즉 본원에서 상기 정의된 바와 같은 성공적인 예방적 치료가 수득될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0030] 본 발명에 따른 사용을 위한 제1 및 제2 백신의 배합물의 실시양태에서, 연합된 비-혼합 투여는 동시에 일어난다. 이 실시양태는 두 백신 모두를 적용하는 데 동물이 한번만 처리될 필요가 있다는 이점을 갖는다.
- [0031] 본 백신 배합물의 또 다른 실시양태에서, 제2 백신은 동물의 진피로 투여된다. 적어도 PRRS 백신의 이러한 투여는 안전하고 효율적인 것으로 나타났으며, 동시에 근육내 투여와 비교하여 동물에게 스트레스가 덜하다. 진피로의 투여 (피내 투여로도 지칭됨)와 관련하여, 비록 이러한 투여가 종종 바늘이 없는 백신접종 디바이스, 예컨대 IDAL® 백신접종기 (MSD 애니멀 헬쓰로부터 구입 가능, 네덜란드 북스미어)를 사용하여 수행되나, "피내" 투여 자체는 "바늘이 없는" 투여와 동일하지 않아야 한다. "백신의 피내 전달: 저- 및 중간-소득 국가에서 사용하기 위한 문헌 및 개발 가능성에 대한 검토"란 표제의 2009년 8월 27일자 문서에서 세계보건기구는 실제로 "바늘이 없는" 백신접종은 반드시 "피내" 백신접종을 의미하는 것이 아님을 명시한다 (검토를 위해 표 1 및 제 3면 참조). 바늘이 없는 디바이스가 "피내 백신접종을 위해 구성"되는 경우에만 백신은 실제로 진피로 (적어도 부분적으로) 전달될 수 있다. 달리, 백신은 그 자체가 피하 또는 근육내로 전달될 수 있다.
- [0032] 제1 및 제2 백신의 배합물의 또 다른 실시양태에서, 제1 백신은 로소니아 인트라셀룰라리스의 비-복제 면역원을 포함한다. 이 실시양태에서, 백신의 새로운 배합물은 단지 한번의 백신접종 프로토콜을 이용함으로써 4개의 주요 돼지 병원체에 대한 보호를 제공할 수 있다. 한 실시양태에서 로소니아 인트라셀룰라리스의 면역원은 투여 전 24시간 내, 바람직하게는 투여 전 6시간 내에 PCV2 및 마이코플라스마 하이오뉴모니애의 면역원과 배합된다. 장기간 안정성은, 비록 많은 제약학적 조성물에 대해, 심지어 PCV2 ORF2 항원을 포함하는 배합 백신 (예컨대, 포르실리스® PCV M Hyo, MSD 애니멀 헬쓰로부터 구입 가능)에 대해서도 공지되어 있지만, 공지된 바와 같이, 여전히 적어도 임의의 및 모든 제약상 허용되는 담체 조성물에 대해 달성하기가 간단하지 않기 때문에, 투여 직전 항원의 배합은 부형제 선택에 더 많은 자유도를 제공한다. 추가의 실시양태에서, 로소니아 인트라셀룰라리스의 면역원은 로소니아 인트라셀룰라리스의 동결건조된 사멸된 전체 세포를 포함하는 조성물의 형태로 백신에 첨가된다.

- [0033] 제1 및 제2 백신의 새로운 배합물의 또 다른 실시양태에서, 제1 및 제2 백신은 단일 용량으로 투여된다. 단일 용량 투여가 모든 병원체에 대해 효과적인 백신접종을 이끄는 것으로 밝혀졌다. 이는 이들 병원체에 대해 동물을 보호하는 매우 편리하고 경제적인 방법을 제공한다.
- [0034] 또 다른 실시양태에서, 비-복제 면역원은, 예컨대 관련 기술분야에 공지된 바와 같이 배큘로바이러스에 의해 발현되는 PCV2의 ORF2 유전자에 의해 코딩되는 재조합적으로 발현된 단백질이다. 이 재조합 단백질이 본 발명에서의 적용에 적합한 것으로 입증되었다. 특히, ORF2 단백질은 W02007/028823, W0 2007/094893 또는 W02008/076915에 기재되어 있는 바와 같은 배큘로바이러스 발현 시스템에서 발현될 수 있다.
- [0035] 다시 또 다른 실시양태에서, 마이코플라스마 하이오뉴모니애의 비-복제 면역원은 사멸된 전체 마이코플라스마 하이오뉴모니애를 포함한다. 이러한 Mhyo 항원은 생성하기가 비교적 쉽고, 일상적인 돼지 산업 실시에서 우수한 효능 실적을 갖는다.
- [0036] 본 발명은 이제 하기 실시예를 사용하여 더욱 상세히 설명될 것이다.
- [0037] **실시예**
- [0038] **연구 1: 포르실리스® PCV MHyO에 재구성된 로소니아 면역원을 갖는 포르실리스® PCV MHyO 및 포르실리스® PRRS의 연합된 비-혼합 사용에 의한 PRRSv 챌린지에 대한 안전성 및 보호**
- [0039] 이 연구는 포르실리스® PCV M HyO에 재구성된 로소니아 인트라셀룰라리스의 동결건조된 사멸된 전체 세포 ("로소니아 동결건조물"로도 지칭됨)와의 연합된 비-혼합 사용에서 포르실리스® PRRS의 안전성 및 효능을 평가하기 위해 수행하였다. 연구는 60마리의 PRRSV 항체 음성 새끼돼지로 수행되었으며, 각각 12마리 새끼돼지의 5개 그룹으로 고르게 분포되었다. 4개의 그룹은 근육내로 2 mL의 포르실리스® PRRS (IM; 그룹 1 및 3) 또는 피내로 0.2 mL의 포르실리스® PRRS (ID; 그룹 2 및 4)로 3주령에 백신접종되었다. 그룹 1 및 2의 새끼돼지는 PRRS 백신을 받은 후 2분 내에 포르실리스® PCV M HyO (2 mL; IM)에 재구성된 로소니아 동결건조물로 백신접종되었다. 그룹 5의 새끼돼지 (또한 12마리 새끼돼지)는 백신접종되지 않았으며 비-백신접종된 챌린지 대조군으로 사용되었다. 백신접종 4주 후, 모든 새끼돼지가 이중의 병독성 PRRSV 타입 1 스트레인 (분리주 2)을 사용하여 비강 (IN) 경로에 의해 챌린지되었다.
- [0040] 챌린지 감염 후, 하기 파라미터가 측정되었다: 임상 징후, 직장 온도, 및 PRRSV 바이러스혈증 및 혈청학. PRRSV 챌린지와 관련된 임상 징후는 어떠한 그룹에서도 관찰되지 않았다. 직장 온도는 챌린지 1일 전에 출발하여 챌린지 10일 후까지 12일 동안 측정되었다. 어떠한 백신접종된 그룹 사이에서도 유의한 차이가 관찰되지 않았다. 모든 PRRS 백신접종된 그룹의 직장 온도는 챌린지 후 수개의 시점에서 대조군 그룹과 비교하여 더 낮았다. IM 또는 ID 백신접종된 그룹 사이 또는 포르실리스® PRRS 단독으로 또는 포르실리스® PCV M HyO에 재구성된 로소니아 동결건조물과 배합된 포르실리스® PRRS로 처리된 그룹 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.
- [0041] 새끼돼지가 포르실리스® PRRS로 백신접종된 경우 및 새끼돼지가 포르실리스® PCV M HyO에 재구성된 로소니아 동결건조물의 백신접종물과 배합된 포르실리스® PRRS로 백신접종된 경우, 비-백신접종된 대조군과 비교하여, PRRSV 바이러스혈증의 상당한 감소가 나타났다 (도 1). IM 또는 ID 경로를 통해 투여된 포르실리스® PRRS의 단독 사용과 비-혼합 연합 사용 사이에 어떠한 유의한 차이도 검출되지 않았다.
- [0042] 모든 백신접종된 그룹은 챌린지 당일에 백신접종 4주 후 항-PRRSV 항체 역가를 나타내었으나, 대조군 그룹은 그러하지 않았다. 챌린지 4주 후, 모든 그룹은 항-PRRSV 항체 역가를 나타내며, 백신접종된 그룹의 역가는 챌린지 당일보다 더 높다. IM 또는 ID 경로를 통해 투여된 포르실리스® PRRS의 단독 사용과 비-혼합 연합 사용 사이에 어떠한 통계학적으로 유의한 차이도 검출되지 않았다.
- [0043] 결론적으로, 포르실리스® PCV M HyO에 재구성된 로소니아 동결건조물의 공동 투여는 IM 또는 ID 경로를 통한 포르실리스® PRRS 백신접종에 부정적인 영향을 끼치지 않았다. 삼중 로소니아-PCV-Mhyo 백신의 연합 사용이 PRRS 백신의 효능에 전혀 부정적인 영향을 끼치지 않았다는 것은 예상되지 못한 것이었다 (연구 5 참조).
- [0044] **연구 2: 포르실리스® PCV MHyO에 재구성된 로소니아 면역원을 갖는 포르실리스® PCV MHyO 및 포르실리스® PRRS의 연합된 비-혼합 사용의 PCV2 효능 연구**
- [0045] 낮은 또는 중간-의 모계 유래된 PCV2 항체 역가 ($< 5.5 \log_2$)를 갖고 PCV2 바이러스 부하가 없고 PRRSV 항체 역가가 없는 총 45마리의 새끼돼지를 3개의 처리 그룹으로 할당하였다: 각각 15마리 새끼돼지의 3개 그룹. 새끼

돼지는 3주령에 1회 백신접종되었다. 그룹 1 및 2의 새끼돼지는 포르실리스 PCV M Hyo 중에 용해된 로소니아 FD로 둘 다 단일 용량으로 백신접종되고 (근육내 경로; IM), 그룹 1로부터의 새끼돼지는 또한 거의 동시에 포르실리스 PRRS로 (근육내 및 피내 경로 (IM 및 ID) 둘 다를 통해) 백신접종되었다. 그룹 3으로부터의 동물은 백신접종되지 않았다 (대조군).

[0046] 5주령 (백신접종 후 2주)에, 각각의 동물은 비강으로 적용되는 야생형 PCV2 챌린지 바이러스를 사용하여 챌린지 감염되었다. 챌린지 후 21일에, 모든 동물을 부검하고, PCV2의 검출을 위해 서혜 림프절, 편도 및 폐를 샘플링 하였다.

[0047] 혈청 샘플을 백신접종 시, 챌린지 전 1일, 챌린지 후 2주 및 3주에 채취하였다. 샘플을 PCV2 항체 및 바이러스 핵산에 대해 조사하였다. 챌린지 전 1일, 챌린지 후 2주 및 3주에 채취된 대변 및 코 면봉채취물을 바이러스 핵산에 대해 조사하였다.

[0048] 혈청학은 백신접종된 그룹 둘 다는 챌린지 시 비슷한 수준 ($6 \log_2$)의 항-PCV2 항체를 발생시킨 반면, 대조군 그룹의 항체는 상당히 감소하였음을 나타내었다. 챌린지 후, 백신접종된 그룹의 항체는 챌린지 3주 후에 측정된 약 $13 \log_2$ 로 상승하였다. 대조군 그룹에서, 수준은 그 당시 $5 \log_2$ 였다. 챌린지 후, 바이러스 핵산은 대조군 동물에서 혈청, 코 및 대변 면봉채취물에서 검출될 수 있었다. 수준은 백신접종된 동물에서 실질적으로 더 낮았다. 대변 샘플에서, 두 백신 모두로 동시에 백신접종된 동물은 검출가능한 바이러스 핵산 수준을 갖지 않았으며, 이는 이 그룹이 PCV2 챌린지에 대해 가장 잘 보호되었음을 제시한다. 가능한 개선된 보호의 이러한 놀라운 발견은, 도 2 (왼쪽에서 오른쪽으로 각각 편도, 폐 및 서혜 림프절에서 발견되는 PCV2 카피를 나타냄)에서 볼 수 있는 바와 같이, 조직에서 qPCR 측정에 의해 확인되었다. 바이러스 부하에 대한 가장 낮은 값은 일관되게 두 백신 모두를 받은 동물에서 발견되었으며 (왼쪽 컬럼), 심지어 상업용 PCV 백신 포르실리스® PCV M Hyo를 받은 동물보다 낮았으며 (중간 컬럼), 이는 여전히 대조군보다 상당히 낮았다 (오른쪽 컬럼).

[0049] **연구 3:** 돼지에서 포르실리스® PRRS와 공동으로 사용되는, 포르실리스® PCV M Hyo에 재구성된 동결건조된 로소니아의 로소니아 챌린지에 대한 효능

[0050] 이 연구를 위해 3개의 그룹으로 나뉜 75마리의 3주령 새끼돼지를 사용하였다. 그룹 1은 포르실리스® PRRS (2ml IM + 0.2ml ID)와 동일한 시간에 (1시간 내에) 투여되는 포르실리스® PCV M Hyo (2ml IM)에 재구성된 동결건조된 로소니아 항원으로 백신접종되고, 그룹 2는 포르실리스 PCV M Hyo (2ml IM)에 재구성된 동결건조된 로소니아 항원으로 백신접종되고, 그룹 3은 비백신접종된 대조군으로 남았다. 7주령 (백신접종 후 4주)에, 모든 돼지는 균질화된 로소니아 감염된 장 점막으로 경구로 챌린지되었다. 챌린지 후, 돼지는 임상 징후에 대해 매일 관찰되었다. 챌린지 전 및 후 정기적으로, 혈액 (혈청학을 위한 것) 및 대변 (qPCR을 위한 것) 샘플을 수집하였다. 챌린지 3주 후, 돼지를 안락사시키고, 사후 조사를 하였다. 장을 육안적으로 로소니아 인트라셀룰라리스 감염에 대해 점검하고, 회장 샘플을 qPCR 및 (면역-)조직학적 스코어링을 위해 수집하였다.

[0051] 백신접종 일에, 대부분의 돼지는 로소니아에 대해 혈청음성인 반면 다른 돼지는 낮거나 중간의 항체 역가를 가졌다. 백신접종 후, 그룹 1 및 2의 역가는 항체 역가에 있어 유사한 증가를 나타낸 반면, 대조군은 약간의 감소를 나타내고 낮은 수준을 유지하였다. 백신접종 당일에, 돼지는 낮거나 중간의 모계 유래 PCV 항체 역가를 가졌다. 백신접종 후, 그룹 1 및 2의 PCV 항체 역가는 유사한 증가를 나타낸 반면, 대조군은 모계 항체의 감소를 나타내었다. 백신접종 당일에, 돼지는 Mhyo 및 PRRSv에 대해 혈청음성이었다. 백신접종 후, 그룹 1 및 2는 Mhyo에 대해 유사한 항체 반응을 나타낸 반면, 대조군 그룹 3은 시험 말기까지 혈청음성을 유지하였다. 그룹 1은 PRRS 백신접종에 반응한 반면, 그룹 2 및 3은 챌린지까지 혈청음성을 유지하였다.

[0052] 로소니아 챌린지 후 상이한 파라미터에 대한 결과가 하기 표 1에 요약되어 있다 (챌린지 후 21일에서의 PCR 데이터, \log_{10} pg DNA/ μ l).

[0053] <표 1>

그룹	대변에 대한 PCR	점막에 대한 PCR	육안 회장 점수	면역조직학적 회장 점수
1	0.00	0.22	40	0.6
2	0.60	0.41	84	0.8
3	1.72	1.15	161	5.0

[0054]

[0055] 결과로부터, 포르실리스® PRRS와 공동으로 투여되는 포르실리스® PCV M Hyo에 용해된 로소니아 동결건조된 항원 (그룹 1)은 백신접종 4주 후 로소니아 감염에 대해 상당한 보호를 유발하였다. 이는 셰딩 (shedding), 감염 (qPCR 회장 점막), 육안적 회장 병변 스코어 뿐만 아니라 현미경적 회장 병변 스코어에서 상당한 감소에 의해 입증되었다. 포르실리스® PRRS가 로소니아 효능에 대해 부정적인 영향이 없음이 관찰되었다. 대조적으로, 연관된 혼합 사용 그룹은 상기 언급된 파라미터에 대해 더 우수한 경향이 있었다.

[0056] **연구 4: 3주령의 SPF 새끼돼지에서 포르실리스® PCV M Hyo에 재구성된 로소니아 동결건조물을 갖는 포르실리스® PCV M Hyo와 포르실리스® PRRS의 연합된 비-혼합 사용의, 백신접종 4주 후 엠. 하이오뉴모니에 챌린지에 대한 효과**

[0057] 3주령의 엠. 하이오뉴모니에 및 PRRS 바이러스가 없는 무리로부터의 100마리의 돼지를 각각 25마리의 동물 그룹으로 이 연구에 사용하였다. 한 그룹은 포르실리스® PCV M Hyo + 로소니아 동결건조물로 IM 및 공동으로 포르실리스® PRRS (IM + ID; 본원의 상기 참조)로 백신접종되고; 한 그룹은 포르실리스® PCV M Hyo로 및 거의 동시에 (1시간 내에) 포르실리스® PRRS (IM + ID)로 백신접종되고; 한 그룹은 포르실리스® PCV M Hyo로 백신접종되고; 4번째 그룹은 백신접종되지 않고 챌린지 대조군으로 사용되었다. 백신접종 4주 후, 모든 동물은 병독성 엠. 하이오뉴모니에 균주로 감염되고, 3주 후, 모든 동물은 폐 병변에 대해 사후 조사되었다.

[0058] 모든 동물은 백신접종 시 엠. 하이오뉴모니에에 대해 혈청학적으로 음성이었으며, 비-백신접종된 동물은 챌린지 감염까지 혈청학적으로 음성을 유지하였다. 백신접종 후 4주 및 챌린지 감염 후 3주에 엠. 하이오뉴모니에에 대해 백신접종된 그룹은 유사한 혈청학적으로 반응을 나타내었다.

[0059] 비-백신접종된 동물과 비교하여 모든 백신접종된 그룹에 대해 병변 스코어의 상당한 감소가 관찰되었다. 포르실리스® PRRS와 공동으로 백신접종된 포르실리스® PCV M Hyo + 로소니아 동결건조물은 90% 감소를 가졌고, 포르실리스® PRRS와 공동으로 백신접종된 포르실리스® PCV M Hyo는 95%의 감소를 가졌다. 포르실리스® PCV M Hyo는 중간 엠. 하이오뉴모니에 병변에서 100% 감소를 유도하였다. 백신접종된 그룹 사이의 차이는 유의하지 않았다.

[0060] 단독 또는 동결건조된 로소니아 항원과 배합된 포르실리스® PCV M Hyo 및 포르실리스® PRRS의 연합된 비-혼합 사용은 엠. 하이오뉴모니에-유도된 폐 병변을 감소시키는데 효과적이라고 결론지을 수 있다.

[0061] **연구 5: 불활성화된 PCV 백신 사용의 살아있는 PRRS 백신의 효능에 대한 효과**

[0062] 이 실험에서, 돼지 서코 바이러스 타입 2의 비-복제 면역원 (서코플렉스, 베링거 인겔하임)을 함유하는 제1 백신을 살아있는 약독화된 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스 (인겔박 PRRS, 베링거 인겔하임)를 포함하는 제2 백신과 혼합하는 효과를 조사하였다. 살아있는 PRRS 바이러스의 생존이 이들 2개의 백신을 혼합할 때 주요한 결정 파라미터이므로, 1, 2 및 4시간 인큐베이션 후 PRRS 바이러스의 생존을 조사하였다.

[0063] -1일에, MA104 세포를 10^5 개 세포/ml로 시딩하고, 웰당 225 μ l로 웰에 넣었다. 이들 세포를 5% 이산화탄소 함량을 갖는 공기 중에서 37°C로 유지하였다. 0일에, 인겔박 PRRS를 PBS 중에 5.3 log₁₀ TCID₅₀/ml의 역가로 희석하였다. 이 혼합물을 PBS (대조군)로 희석하거나 서코플렉스 (2개의 상이한 배치)로 5.0 log₁₀ TCID₅₀/ml의 최종 역가로 희석하였다. 최종 혼합물을 실온에서 1, 2 및 4시간 동안 인큐베이션하여 새로이 혼합된 배합 백신으로 백신접종 시 측사에서의 실제 환경을 모방하였다. 이 후, 각각의 인큐베이션된 혼합물 25 μ l를 MA 104 세포에서 7일 동안 37°C 및 5% 이산화탄소에서 인큐베이션하여 PRRS 바이러스를 성장시켰다. 7일에, PRRS 바이러스를 판독하였다. 데이터가 하기 표 2에 나타나 있다.

[0064] <표 2>

PCV와의 인큐베이션 후 PRRS 역가, $10 \log \text{TCID}_{50}/\text{ml}$

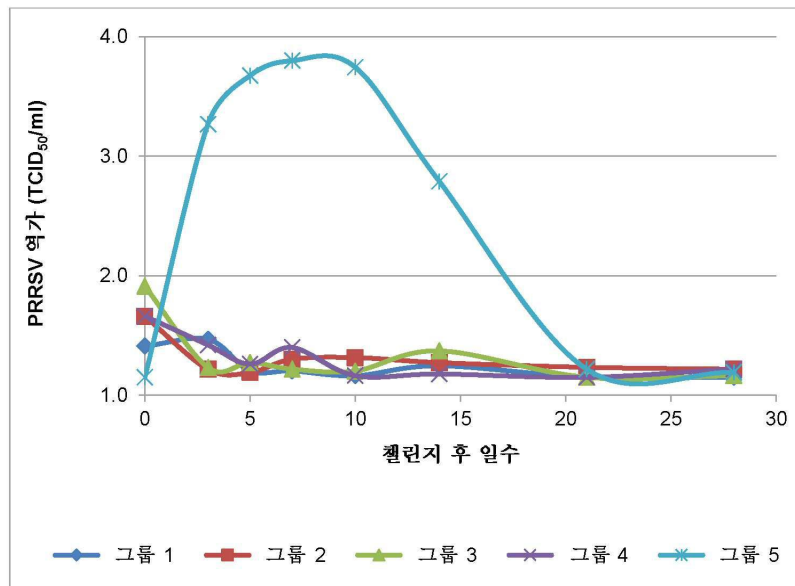
샘플	출발	1h 인큐베이션	2h 인큐베이션	4h 인큐베이션
PRRS 대조군	5.0	4.90	4.80	4.64
PRRS + PCV 배치 1	5.0	3.90	3.90	3.15
PRRS + PCV 배치 2	5.0	3.85	3.55	3.55

[0065]

[0066] 표로부터 알 수 있는 바와 같이, PRRS 바이러스는 실온에서 PCV 백신과의 짧은 인큐베이션에 의해 생존력을 상실한다. 백신 효능은 백신 역가의 상실에 의해 부정적으로 영향을 받을 것이다.

도면

도면1



도면2

