

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개()발간등록번호(O)

가축질병대응기술고도화지원사업 2023년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004653-01

국산 구제역 백신접종을 대비한 한우 번식우의 번식성적 향상기법 개발

2024년 6월 18일

주관연구기관 / 서울대학교 산학협력단

공동연구기관 / 농림축산검역본부

공동연구기관 / 전남대학교 산학협력단

공동연구기관 / (주)에프브이씨

공동연구기관 / (주)라트바이오

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “국산 구제역 백신접종을 대비한 한우 번식우의 번식성적 향상기법 개발”(개발기간 : 2022. 04. 01~2023. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

납본일자 2024년 6월 18일

주관연구기관명 : 서울대학교 산학협력단

김재영



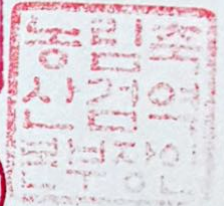
공동연구기관명 : 전남대학교 산학협력단

하준석



공동연구기관명 : 농림축산검역본부

김정희



공동연구기관명 : (주)에프브이씨

김지홍



공동연구기관명 : (주)라트바이오

장구



주관연구책임자 : 김 단 일

공동연구책임자 : 김 재 조

공동연구책임자 : 김 대 현

공동연구책임자 : 이 지 혜

공동연구책임자 : 이 원 유

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

최종보고서										보안등급		
										일반[<input checked="" type="checkbox"/> , 보안[<input type="checkbox"/>]		
중앙행정기관명		농림축산식품부			사업명		사업명		가축질병대응 기술 고도화지원사업			
전문기관명 (해당 시 작성)		농림식품기술기획평가원					내역사업명 (해당 시 작성)		개발성과 현장보급기술			
공고번호		제 농축 2022-17호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			322004-02				
					연구개발과제번호							
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0701	50%	LB0604	30%	LB0710	20%					
	농림식품과학기술분류	RB0201	50%	AB0103	30%	RB0102	20%					
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문										
		영문										
연구개발과제명		국문	국산 구제역 백신접종을 대비한 한우 번식우의 번식성적 향상기법 개발									
		영문	Development of techniques to improve the reproductive performance in Korean Native Cows for the domestic FMD vaccination									
주관연구개발기관		기관명	서울대학교 산학협력단			사업자등록번호		119-82-03684				
		주소	(우)08826 서울 관악구 관악로1			법인등록번호		114371-0009224				
연구책임자		성명		김단일			직위					
		연락처	직장전화					휴대전화				
			전자우편					국가연구자번호				
연구개발기간		전체		2022. 04. 01 - 2023. 12. 31 (1년 9개월)								
		단계 (해당 시 작성)	1단계	2022. 04. 01 - 2022. 12. 31 (0년 9개월)								
			n단계	2023. 01. 01 - 2023. 12. 31 (1년 0개월)								
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금				합계		연구개발비 외 지원금	
		현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	현금	현물	합계	지원금
총계		700,000	5,007	71,810					705,007	71,810	776,817	
1단계		1년차	300,000		26,750				300,000	26,750	326,750	
		2년차	400,000	5,007	45,060				405,007	26,750	450,067	
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자	직위	휴대전화		전자우편		비고			
									역할	기관유형		
		공동연구개발기관	농림축산 검역본부	김재조						공동	국립연	
			전남대학교 산학협력단	김대현						공동	대학	
			(주)에프브이씨	이지혜						수요	중소기업	
(주)라트바이오	이원유							공동	중소기업			
연구개발담당자 실무담당자		성명		김은경			직위		선임연구원			
		연락처	직장전화					휴대전화				
			전자우편					국가연구자번호				

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2024 년 2 월 26 일

연구책임자: 김단일



주관연구개발기관의 장: 서울대학교 산학협력단 김재영



공동연구개발기관의 장: 전남대학교 산학협력단 하준석 (직인)



공동연구개발기관의 장: 농림축산검역본부 김정희



공동연구개발기관의 장: (주)에프브이씨 김지홍



공동연구개발기관의 장: (주)라트바이오 장 구



농림축산식품부장관 · 농림식품기술기획평가원장 귀하

(23쪽 중 2쪽)

< 요약 문 >

사업명	가축질병대응기술고도화지원사업			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)	개발성과 현장 보급 기술			연구개발과제번호		322004-02	
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0701	50%	LB0604	30%	LB0710	20%
	농림식품 과학기술분류	RB0201	50%	AB0103	30%	RB0102	20%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명	국산 구제역 백신접종을 대비한 한우 번식우의 번식성적 향상기법 개발						
전체 연구개발기간	2022년 4월 1일 ~ 2023년 12월 31일(1년 9개월)						
총 연구개발비	총 776,817천원 (정부지원연구개발비: 700,000천원, 기관부담연구개발비 : 76,817천원, 지방자치단체지원연구개발비: 천원, 그 외 지원연구개발비: 천원)						
연구개발단계	기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준() 종료시점 목표()		
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	<p>구제역 백신을 접종한 번식우에서 임신율 저하, 유산, 사산 등 번식 성적 저하에 대한 한우 농가의 불만이 높다. 또한 구제역 백신의 국산화를 위해 2017년 구제역 백신 제조시설 구축 지원사업의 사업자가 선정되었다. 이에 국산 구제역 백신 접종 시대를 대비하기 위해 국산 구제역 백신의 효능에 대한 검증이 필요하다. 또한 국산 구제역 백신의 접종으로 발생할 수 있는 한우 번식우에서의 번식성적 저하 여부에 대한 검증이 필요하고, 이러한 사례에 대한 원인 분석이 필요하다. 이를 위해 이 연구는 백신의 보조제 조절을 통해 국산 구제역 백신의 안전성 및 유효성을 평가하고, 국산 및 외산 백신 접종에 따른 한우 번식우에서의 번식 성적의 비교검증 및 부작용 사례분석을 통해 한우 번식우의 번식성적 향상기법 개발을 목표로 한다. 따라서, 이 연구를 통해 번식성적의 저하를 방지할 수 있는 국산 구제역 백신의 접종 가이드라인을 제시하는 것을 최종 목표로 한다.</p>					
	전체 내용	<p>국산 구제역 백신 보조제 조절을 통한 면역반응 연구: 송아지와 비임신우에서 면역증강제 조절을 통해 국산 구제역 백신의 유효성 및 안정성을 확립한다. 또한 임신우 및 비임신우에서 백신의 용량별 안정성을 평가한다.</p> <p>한우 번식우 구제역 백신 접종에 따른 혈청학적 효능 비교 분석: 한우 임신우 60두 및 비임신우 45두에 국산 및 외산 구제역 백신을 투여한 후 혈청학적 효능을 비교한다. 또한 보조제가 조절된 국산 백신에 대해서도 임신우 60두를 대상으로 혈청학적 효능을 검사한다.</p> <p>한우 번식우에서 국산/외산 구제역 백신 접종에 따른 번식성적 비교 분석: 한우 비임신우 250두(대조군 50두 포함)에 대해</p>					

		<p>국산 백신(100두)과 외산 백신(100두)을 투여한 후 발정동기화를 통해 인공수정을 실시한 후 배란지연, 수태율 비교한다.</p> <p>한우 임신기간 중 구제역 백신 접종에 따른 부작용 사례분석: 한우 임신초기우 20두, 임신중기우 20두, 임신 말기우 20두에 국산 및 외산 구제역 백신을 투여하고 유사산 발생 여부, 급성면역반응, 바이오센서를 활용한 생체정보 등을 투여 후 1주까지 확인한다.</p> <p>구제역 백신 접종에 따른 배란지연을 역이용한 수태율 향상 기법 개발: 미임신 암소 60두를 대상으로 구제역 백신 접종에 따른 번식을 저하를 극복하기 위한 방법으로 배란 지연을 역이용한 발정동기화 방법의 개발한다.</p> <p>이 연구를 수행하기 위해 충분한 자원과 연구 역량을 갖춘 5개의 기관(대학 1, 국공립연구소 2, 중소기업 2)이 서로 협력하고, 각 기관의 연구 결과를 종합하여 국산 구제역 백신 접종의 가이드라인을 제시하고자 한다.</p>
	1단계 (해당 시 작성)	<p>목표</p> <hr/> <p>내용</p>
	n단계 (해당 시 작성)	<p>목표</p> <hr/> <p>내용</p>

연구개발성과	<p>○ 국산 구제역 백신의 보조제 조성 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> - 면역보조제 조절에 의한 백신을 소에서 급성면역반응인자인 SAA와 Heptagloblin 수치를 확인한 결과 ISA206+saponin그룹과 Emersigen D 그룹이 다른그룹에 비해 급성면역반응 수치가 낮고 빨리 떨어짐을 확인함. - 비임신우에서의 구제역 백신 항체 지속성을 평가한 결과 모체이항체가 있는 개체들에서도 높은 항체를 지속적으로 유지하였고, 백신주에 대한 중화항체 역시 2차접종 이후 6개월까지 100배 이상의 높은 수준의 중화항체를 유지하는 것을 확인함. - 국산 구제역 백신을 소에서 Full dose, 1/3dose, 1/9dose로 백신을 접종하여 한 달 뒤 공격접종 후 백신에 대한 방어능을 평가한 결과 보은주는 8.06 PD50/dose, 연천주는 10.05 PD50/dose 로 확인함. - 면역보조제 개선 백신의 중화항체가가 접종 4주이후와 재접종 4주이후에 2.0 VNT(log₁₀) 역가 이상으로 점진적 상승이 관찰되어 개선 백신의 면역유도를 확인함. <p>○ 구제역 백신 접종 시기에 따른 유효성 확인</p> <ul style="list-style-type: none"> - 본 연구에서는 실험 대상우에서의 백신접종군과 대조군간의 중화항체역가의 통계적 유의성은 전체 접종 기간의 일부에서만 확인됨. 그러나 각 실험군의 중앙값과 사분범위에서 접종군과 대조군간의 전반적인 차이가 관찰되었음. - 임신초기와 중기에 백신을 접종한 시험백신 접종군은 상용백신 접종군과 비교시 동등 이상의 유효성이 확인되어 국산 구제역 백신의 야외 한우에서의 활용 가능성을 확인함. - 본 연구에서는 임신우와 비임신우간의 백신접종에 따른 중화항체가 항체역가 변화의 차이는 관찰되지 않음. <p>○ 한우 임신우에 대한 구제역 백신접종 가이드라인 발굴</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국산 구제역 백신 접종에 대한 면역반응 및 염증 지표를 비교한 결과 국산 구제역백신을 접종한 경우 외산 구제역 백신에 비해서 급성면역반응 인자인 haptoglobin, SAA의 함량이 상대적으로 낮고 정상수치로 보다 빠르게 회복하였음 - 백신접종 부작용 사례를 수집하였으나, 국산 구제역 백신에 의한 유산으로 인정받을 만한 부작용 사례는 없었음. 백신 접종 직후 유산태아에 대해 원인분석
--------	---

	<p>결과 Listeirosis에 의한 것으로 판정됨.</p> <p>○ 국산 구제역 백신 접종우 번식 성적 확인</p> <p>- 한우 번식우에서 국산 및 외산 구제역 백신접종에 따른 인공수정 수태율을 비교한 결과 국산 구제역백신을 접종한 경우 42.3%(47/111), 외산 구제역 백신을 접종한 경우 37.6%(44/117)에 비해서 수태율 감소가 완화됨</p> <p>○ 구제역 백신에 따른 수태율 저하 개선을 위한 동기화 프로그램 개발</p> <p>- 백신접종에 따른 배란 지연 효과를 역이용하고 동시에 변형된 OVSync법을 적용한 결과를 대조군과 비교하여 번식효율 저하 극복방안 효과 확인</p> <p>- 실험군 간의 동기화 처치에 따른 제공율은 control 군의 52.9% 대비, Gn(250) 및 Gn(500) 군에서 90.5 및 75.0%로 높아지는 경향을 보였으며, 이식 후 수태율 또한 control 군의 11.1% 대비, Gn(250) 및 Gn(500) 군에서 52.6 및 26.7%를 나타남</p>											
<p>연구개발성과 활용계획 및 기대 효과</p>	<p>이 연구의 결과로 한우 번식우에 대한 세부적인 구제역 백신접종 방법 안내 및 정책 제안으로 활용하고자 한다. 또한 구제역 백신접종에 따른 부작용(유산, 사산, 수태율 저하) 방지 및 예방 효과를 기대할 수 있으며, 부작용 발생 시 농가 보상금 지급에 대한 세부적인 기준설정에 활용이 가능하다. 그리고, 향후 “소 질 내 삽입형 유산방지제 개발”에 대한 기초 연구 자료로 활용 가능하다.</p> <p>이 연구의 결과를 통해 실제 구제역 백신 접종률 증가를 통한 구제역 방지 및 예방대책의 실효성 증가를 기대하고, 한우 농가의 구제역 백신접종에 대한 부정적 인식 개선 효과를 기대할 수 있다. 이는 최적의 구제역 백신접종 시기 결정을 통해 농가손실 감소가 기대되고, 구제역 백신에 따른 부작용 사례 감소를 통해 한우 산업의 생산성 향상 및 농가 실질소득 향상 효과를 기대할 수 있다.</p> <p>마지막으로 이 모든 연구결과는 국산 구제역 백신을 생산하고 사업화하는 데에 기여할 것을 생각한다.</p>											
<p>연구개발성과의 비공개여부 및 사유</p>												
<p>연구개발성과의 등록·기탁 건수</p>	<p>논문</p>	<p>특허</p>	<p>보고서 원문</p>	<p>연구 시설·장비</p>	<p>기술 요약 정보</p>	<p>소프트웨어</p>	<p>표준</p>	<p>생명자원</p>		<p>화합물</p>	<p>신품종</p>	
	3	1	1					<p>생명 정보</p>	<p>생물 자원</p>		<p>정보</p>	<p>실물</p>
<p>연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황</p>	<p>구입 기관</p>	<p>연구시설·장비명</p>	<p>규격 (모델명)</p>	<p>수량</p>	<p>구입 연월일</p>	<p>구입가격 (천원)</p>	<p>구입처 (전화)</p>	<p>비고 (설치장소)</p>	<p>ZEUS 등록번호</p>			
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>구제역 백신</p>		<p>한우</p>		<p>백신 부작용</p>		<p>번식성적</p>		<p>백신접종 가이드라인</p>			
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>FMD vaccine</p>		<p>Hanwoo</p>		<p>Side effect of vaccination</p>		<p>Reproductive performance</p>		<p>Guideline for vaccination</p>			

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

별첨 자료 (참고 문헌 등)

1. 연구개발과제의 개요

1) 연구 배경 및 필요성

(1) 연구 배경

- 구제역 (FMD, foot-and-mouth disease)은 소를 포함한 우제류 동물에서 고열, 수포 형성 및 조직 탈락, 포말성 타액분비 등을 특징으로 하는 바이러스성 전염병으로 발생시 경제적 피해가 심각한 질병임(Jamal and Belsham, 2013)
- 북아메리카, 유럽, 남아메리카, 아시아 등의 정부에서는 구제역을 통제하고 예방하기 위해서 구제역 백신(Foot-and-mouth disease vaccination)을 접종하고 있음(Kahn et al., 2002, Rodriguez and Grubman, 2009)
- 구제역 백신은 adeno & viral vector base, virus like particles, peptide & DNA vaccine, plan based vaccines, inactivated vaccine 등이 사용되고 있음(Zhang et al., 2011, Shahriari and Habibi-Pirkoochi, 2018, Kamel et al., 2019, Singh et al., 2019)
- 가장 흔하게 사용되는 백신은 불활화 백신(0 and A serotype)이며 우리나라도 동일하게 불활화 백신을 사용하고 있음(Ferreira et al., 2016, Singh et al., 2019)
- 구제역 백신 접종에 따라 조기배아사멸, 정자 수정 능력 저하, 급성 면역반응 증가, 유생산량 저하 등의 부작용이 보고됨(Yeruham et al., 2001, Perumal et al., 2013, Ferreira et al., 2016)
- 특히, 인공수정 30일 이후 구제역 백신 접종한 결과 인공수정 이전 30일에 백신 접종한 실험군에 비해서 조기배아사멸이 증가한다는 연구결과가 있음(Hansen et al., 2004, Ferreira et al., 2016)
- 2010년 국내 구제역 폭발적 발생으로 2011년부터 정부에서는 구제역 백신정책을 실행 중에 있으며, 구제역 백신접종 부작용(유산, 산업적 가치 저하 등)을 방지하고 백신기피, 백신접종 후 발열 등 증상 감소를 위한 스트레스 완화제를 지원하고 있음(구제역 백신항체형성을 : 50두이하 98.8%, 51~200 75.3%, 201두 이상 81.3%, 소규모 농가 : 50두 미만 공수의 접종, 51두 이상 농가 자가접종)
- 구제역백신 이후 유산 발생을 저하를 위한 임신주기별 백신 접종요령 연구와 현재 사용되고 있는 부작용 완화물질에 대한 과학적인 근거 마련이 필요하며, 신규물질 개발을 통해 한우농가의 백신접종의 적극적인 참여 유도가 가능하기 때문에, 구제역 청정화를 위한 백신정책 효율성을 극대화하고자 함

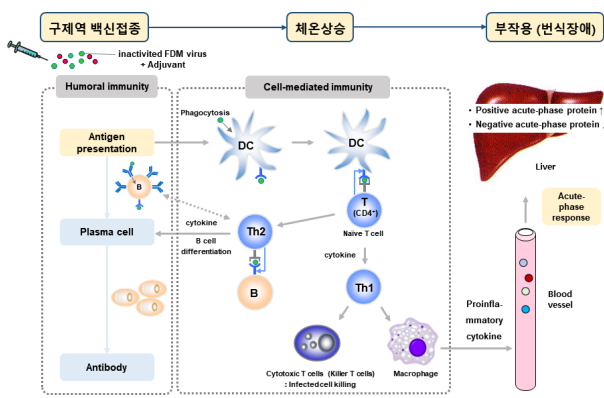


그림 1. 구제역 백신접종에 따른 부작용 사례와 번식형질 장애 관련 메커니즘 (출처: 강원도민일보 (2019. 5. 28.); Rodrigues등 (2015); Marques등 (2019))

(2) 연구 필요성

- 정부에서는 2002년에 구제역이 최초 발병한 이후 2011년까지 수많은 가축들이 살처분되었고 농가는 극심한 경제적 피해를 입었음

- 따라서 현재 구제역을 예방하기 위해 구제역 백신접종 (2회/년)을 전국적으로 실시하고 있음
- 구제역 백신접종은 예방을 위한 강력한 수단이지만 번식우의 경우 부작용이 발생함
 - FMD백신 효능을 높이기 위해 사용한 이중 오일(water-in-oil-in-water. WOW) 부형제(adjuvant)로 인해 백신 스트레스 증가(Aucouturier 등, 2001; Choi와 Park, 2015; Stewart-Tull, 1995; Straw 등)
 - 번식우의 경우 수태율 저하 및 성장발육 저하가 발생하고 특히 유산 및 사산이 발생할 경우 태아(송아지)가 폐사하는 피해가 발생되고 있음
 - 2019년도에 강원도민일보에서 보도한 자료에 의하면, 한시적으로 6개월에 한 차례씩 실시하는 구제역 예방접종을 8개월 동안 세 차례 접종을 하였을 때 일부 한우암소가 많은 스트레스로 인해 조산 혹은 사산, 유량감소 등의 부작용이 발생함을 보도함
 - 만삭의 암소가 송아지를 유산할 경우 임신기간 동안 발생된 약 150만원의 사양 관리비 (15만원/월/두)와 다시 만삭의 암소를 만들기 위해 150만원이 추가로 필요하기 때문에 1두당 총 300만원의 피해가 발생됨
- 최근 개발된 국산 구제역 백신에 대한 효능검증 및 한우 번식성적 비교분석 필요
- 농림축산검역본부의 구제역 예방 접종요령에 의하면, 접종 시기는 최초접종 후 6개월마다 추가접종을 권장하고 있지만, 번식우에 대한 세부적인 접종 시기는 전무함
 - 유/사산 등 피해 감소를 위해 임신기간별 부작용 관련 연구 필요
 - 번식시기에 피해발생 감소를 위한 구제역 백신 최적의 접종시기 가이드 제작 필요
- 구제역 백신 접종에 따른 번식우 수태율 저하 확인
 - 인공수정 시기에 따른 구제역 백신접종의 수태율 저하 및 급성면역반응 증가 확인됨
 - 구제역백신에 의한 배란지연을 역이용한 배란동기화 프로그램 개발 필요
- 최근 국외 연구결과에 의하면 구제역 백신접종에 따른 부작용(유산, 조산) 관한 연구를 진행 중

2) 국내외 연구 현황

(1) 국내 연구 동향

- 최근 국내 연구결과에 의하면, 구제역 백신접종 후 체온이 상승함에 따라 발생하는 부작용을 보고함(표 1)

표 1. 대가축에서 체온상승에 의한 부작용 관련 연구

연구내용	저자명 (연도)
· 한우 비임신우, 임신초기, 임신말기에 구제역 백신 접종 후 반추위내 체온 및 활동성을 비교 분석한 결과 비임신우에 비해서 임신우의 반추위내 체온과 활동성이 유의적으로 높아지는 것을 확인함(유/조산 발생 5두)	김 등. (2021)
· 비육우에서 체온상승에 따른 고온 스트레스를 받게 되면 대사열 발생으로 인해 사료의 섭취량이 줄어 듦 · 온도에 따른 사료 섭취량에 대한 상관관계를 분석한 결과, 1일 섭취량은 온도가 1°C 높아짐에 따라 약 0.08kg씩 감소함. 이는 소가 고온스트레스의 영향을 받는다는 것을 의미함	이 등. (2019)
· 체온상승에 따른 열 스트레스는 체외 및 체내 수정란의 생산 능력을 저하시키고 또한 수정란 발생에 필요한 세포 내 대사 기능에 혼돈을 주어 세포 손상을 일으킴	김 등. (2017)
· 소 호흡기 질병(BRD)은 평상시에는 문제가 되지 않으나 스트레스나 질병으로 면역력이 떨어졌을 때 발생함. 이는 <i>M. haemolytica</i> 는 폐렴을 발생시킴. 특히 폐사한 5두 중 4두가 임신 중이었던 것으로 보아 여름철 고온에 의한 스트레스와 임신 스트레스가 주 원인인 것으로 보임	이 등. (2015)
· 임신우의 경우, 체온이 상승함에 따라 태아의 크기가 억제 혹은 배아의 사망을 유발함을 보고하였고 이는 배아의 발달과정에서 DNA 합성의 이상으로 대사기능 장애가 나타나 착상시기에 사망 하는 것으로 알려짐	권 등.

(2) 국외 연구 동향

○ 최근 국외의 연구들에 의하면, 백신접종 후 체온이 상승하고 이에 관련된 생리학적 지표들을 보고함(표 2)

○ 체온상승으로 인한 대가축의 부작용(유산, 조산, 유량감소 등)을 보고함

표 2. 백신접종에 따른 부작용 관련 연구

연구내용	저자명 (연도)
· 아르헨티나에서 Aberdeen Angus heifer에게 구제역 백신을 접종한 결과 접종 개체의 7% (6/162), 비접종 개체의 1.3% (2/149)가 유산함	Marqués 등. (2019)
· 비활화 구제역 백신의 부작용은 일반적으로 주사 부위의 국소 부종, 발열 및 위 장애등이 포함되며 1~2일 후 사라짐. 알레르기 반응은 근육 떨림, 입에서의 거품 및 코에서 출혈 등이 존재하며, 적시에 치료하지 않을 경우 폐사, 유산 등으로 이어질 수 있음	Zhang 등. (2018)
· 일본에서는 젖소의 질 내 삽입형 센서(질 내 온도, 전도도)를 활용하여 발정 주기에 따른 변화를 관측하고 머신러닝 기법을 통한 새로운 AI system을 개발함	Higaki 등. (2018)
· 소에서 여러 바이러스의(BoHV-1, BVDV, Leptospira hardjo) 백신접종에 따라 배아사멸, 유산이 발생함	Ferreira 등. (2018)
· 구제역에 걸린 소에서 haptoglobin, serum amyloid A, ceruloplasmin의 수치는 증가하였고, 급성기 반응에 반응한 알부민의 수치는 감소함	Merhan 등. (2017)
· Bos indicus종의 암소에서 인공수정 30일 전 구제역 백신을 접종한 결과 3.9%, 인공수정 30일 후 구제역 백신을 접종한 결과 16.5%의 조기유산(early-embryo loss)이 발생함	Ferreira 등. (2016)
· 바이러스 백신접종 후 혈장내 인슐린, 랩틴의 농도는 16일 동안 증가하였으며, 2일 동안 사료 및 총 영양소의 섭취를 감소시킴	Rodrigues 등. (2015)
· Bos indicus에서 구제역 백신을 접종한 집단은 접종하지 않은 집단에 비해 접종 24시간 후 직장온도가 유의적으로 높았으며, 급성면역반응의 주요지표 중 하나인 haptoglobin의 혈장 내 농도가 혈장 내 haptoglobin 농도가 접종 24, 72, 120, 168 시간 후 모두 유의적으로 높은 것을 확인함	Fernandes 등. (2015)
· Angus cattle 미경산우에 BRD백신접종시 acute-phase immune protein인 haptoglobin의 혈장 내 농도는 접종 16시간 후부터 미접종 집단보다 유의적으로 증가하였으며, pro-inflammatory cytokine인 TNF α 의 발현량 또한 접종 12시간 후 유의적으로 증가함	Rodrigues 등. (2015)
· 분만 및 발정 전후 반추위 내 온도를 측정하여 분석한 결과, 발정당시 발정 전후 2~4일보다 온도가 급격하게 상승하였고, 분만의 경우 분만 2일 전부터 온도가 천천히 하락하는 것을 확인함	Cooper-Prado 등. (2014)
· 백신접종 후 비육암소 성장형질을 분석한 결과, 접종 후 2주 이내에서는 acute-phase protein response에 의해 일당증체량과 사료효율이 감소됨을 확인함	Arthington 등. (2013)
· 구제역 백신을 접종한 3000마리 소 중 20마리가 신경계 질환이 유발되었으며, 근육과 피하 조직을 포함하는 허리 부분의 왼쪽에 지름 5cm의 돌기가 보임 · 요추압박증후군과 비슷한 징후가 나타났으며, 근육이 괴사하고 구제역 백신과 유사한 내용물이 경막에서 L1에서 L4까지의 공간 사이에 유착되어 나타남	Ubialil 등. (2011)
· 구제역 백신접종 등 특이적인 상황 이외에서는 임신 초기(1~4개월)에 유산이 임신후기에 비해서 상대적으로 높게 발생됨	Carpenter 등. (2006)
· 소에서 면역반응에 의하여 분비되는 다양한 사이토카인의 증가는 호르몬 변화 및 체온상승, 배란지연, 프로게스테론 감소 등을 통해서 배발달을 억제함	Hansen 등. (2004)
· 구제역 백신접종에 따라 일부 젖소에서 알레르기 반응이 일어났으며, 이들은 접종 후 8일째부터 7일 동안 지속적으로 유생산량이 감소함	Yeruham 등. (2001)
· 백신접종에 의한 열 스트레스가 발생함으로써 코르티솔과 프로스타글라딘 F _{2α} 의 농도가 높아지고 이로 인해 프로게스테론 분비가 줄어들면서 배아의 사망률이 증가함	EL,-BELELY 등. (1994)

연구내용	저자명 (연도)
· 임신 초기의 암소 23두와 임신 마지막개월의 암소 24두에게 구제역 백신을 접종한 결과 각각 7, 9 두가 조산하였으며 이는 구제역 백신이 임신 초기, 후기의 암소에게 치명적임	

- 구제역 백신접종에 대한 긍정적 부분과 부정적 부분에 대한 연구와 관련 위험요인에 대한 연구가 여전히 진행 중이며, 전염성 질병의 하나로 알람 기능을 제공하나 구제역 백신접종에 특화되어 있지 않음
- **국산 구제역 백신에 관한 효능검증 및 한우 번식우의 부작용 최소화를 위한 접종요령은 전무함**

3) 선행연구결과

- 각 연구기관의 선행연구 결과(표3)

표 3. 기관별 선행연구 결과 정리

기관명	선행연구결과
서울대학교 산학협력단	<ul style="list-style-type: none"> · 임신여부에 따른 구제역 백신접종 후 반추위 내 체온 및 활동성 변화 · 3축 가속도 센서를 활용한 젖소의 저칼슘혈증 무선 탐지
경상북도 축산기술연구소	<ul style="list-style-type: none"> · 구제역 백신 접종 후 인공수정 시기에 따른 인공수정 수태율 및 배란지연 분석 · 임신 기간 및 분만 전후 반추위 내 온도 및 활동성의 특이 패턴 분석 · 암소 자궁 내 레스베라트롤 처리에 따른 수태율 효과 연구
농림축산검역본부	<ul style="list-style-type: none"> · 구제역 백신의 국내 발생 구제역 바이러스에 대한 실험실적 공격접종 방어능 평가 및 야외농장 혈청학적 효능평가 · 구제역 백신에 대한 효능평가 기법 및 면역학적 평가방법 연구
(주)에프브이씨	<ul style="list-style-type: none"> · O형 및 A형 구제역 2가 백신의 대량 생산 및 돼지에서의 방어 효능
(주)라트바이오	<ul style="list-style-type: none"> · 수란우 발정동기화 방법에 따른 제공율 및 수태율 비교

(1) 서울대학교 산학협력단

- 임신여부에 따른 구제역 백신접종 후 반추위 내 체온 및 활동성 변화
 - ① 재료 및 방법
 - 공 시 축 : 바이오센서가 삽입된 한우암소 203두

표 4. 임신여부에 따른 FMDV 시험축군

Group	n	Months of Age	Days of Pregnancy	Breeding Space
Control	NP	29	44.3 ± 2.9	0
	<P80	28	42.7 ± 2.0	57.5 ± 3.0
	>P210	34	50.4 ± 2.7	258.6 ± 2.7
FMD Vaccinated	NP	39	34.3 ± 2.4	0
	<P80	44	38.5 ± 1.6	49.9 ± 2.3
	>P210	29	42.5 ± 3.4	256.9 ± 3.2
Total	203	42.1 ± 3.8	-	-

- 구제역 백신접종 이후 생체정보(반추위내 온도 및 활동성) 변화 분석
- 피해사례 (유산, 조산) 집계 및 임신여부에 따른 체온 및 활동성 차이
- ② 연구결과(Vaccines 2021, 9, 1227. <https://doi.org/10.3390/vaccines9111227>)
 - 40℃ 초과 개체비율 임신우 57.5%, 비임신우 35.9% 로 임신우가 체온 상승률이 높음(그림 2)

- 임신 180일 이상인 개체가 임신 180일령 이하보다 체온이 40℃ 초과하는 개체가 24두(82.8%)로 높게 나타남
 - 구제역 백신접종 후 6시간 지난 시점에서 체온이 40℃이상 상승하고 5일 이내에 분만 상태와 같은 온도 패턴을 확인함
 - 피해사례 : 4두 유산(임신 47, 68, 210, 267일), 1두 조산(임신 274일)
- ③ 특허출원(경상북도 축산기술연구소)
- “소 구제역 백신접종 이후 반추위 내 체온 및 활동성 변화에 따른 유산 또는 조산 예측 방법” 특허 등록출원완료(출원 10-2020-0053832호, 2020. 05. 06)

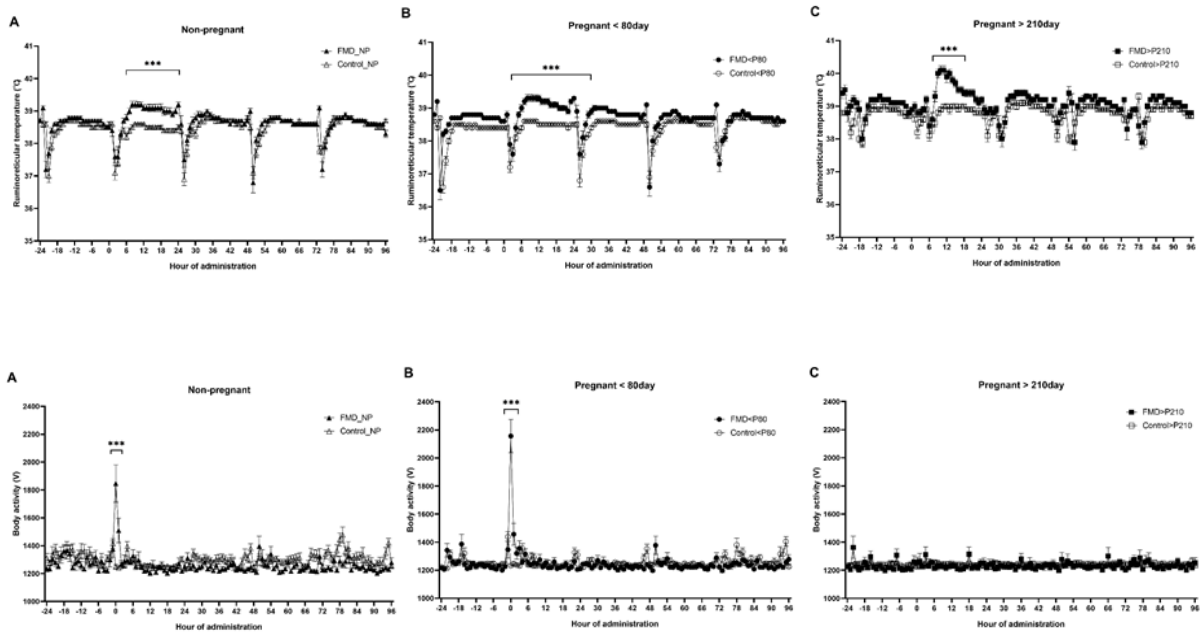


그림 2. 임신여부에 따른 구제역 백신접종 후 반추위내 체온 및 활동성 변화

○ 3축 가속도 센서를 활용한 젓소의 저칼슘혈증의 무선 탐지

① 재료 및 방법

- 반추위 내 센서가 장착된 6두에서 인위적으로 저칼슘혈증을 유도
- 3축 가속도센서로 탐지한 가속도 값을 활용하여 1위 운동성 저하를 무선 탐지

② 연구결과(Animal Production Science, 2022.02.03., <https://doi.org/10.1071/AN21532>)

- 저칼슘혈증 유도군과 대조군에서 3축 가속도 센서에서 얻은 가속도 값을 활용한 지수 도출
- 저칼슘혈증 유도군에서 1위 운동성의 저하를 확인(그림 3)

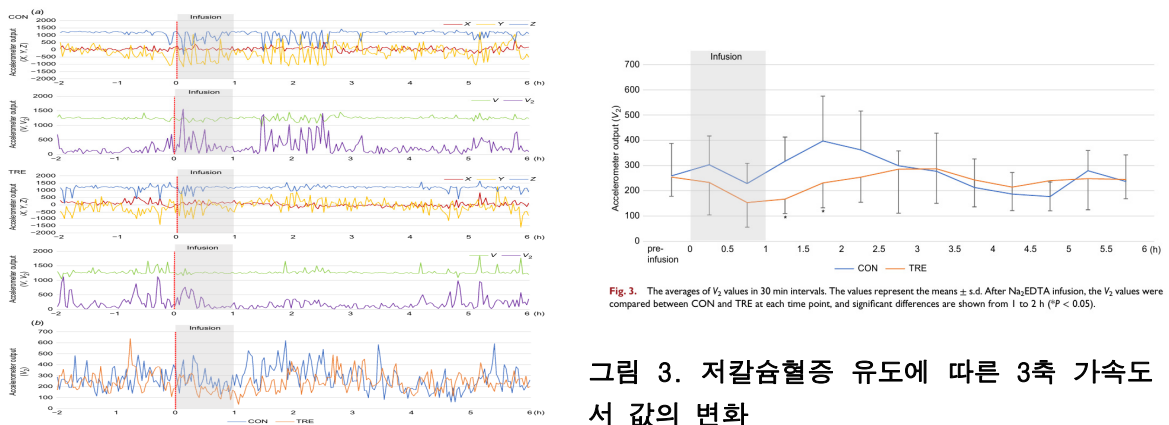


Fig. 3. The averages of V_2 values in 30 min intervals. The values represent the means \pm s.d. After Na_2EDTA infusion, the V_2 values were compared between CON and TRE at each time point, and significant differences are shown from 1 to 2 h ($P < 0.05$).

그림 3. 저칼슘혈증 유도에 따른 3축 가속도 센서 값의 변화

(2) 경상북도 축산기술연구소

○ 구제역 백신 접종 후 인공수정 시기에 따른 인공수정 수태율 및 배란지연 분석

① 재료 및 방법

- 총 114두의 암소를 배란동기화(0v-synch) 처리하고 인공수정
- 인공수정 2, 9, 16일 전에 구제역 백신 각 2ml 근육주사, 인공수정 40일 이후 초음파 임신감정

② 연구결과(Vaccines 2021, 9, 419. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050419>)

- 인공수정 2일전 구제역 백신접종한 경우 수태율이 20%로 확인됨(그림 4~7)
- 인공수정 2일전 구제역 백신접종 -> 다른 그룹에 비해서 배란율이 상대적으로 감소(약 50%)
- CBC 분석결과 NEU 비율 상승, 급성면역반응인자(haproglobin, SAA) 상승확인

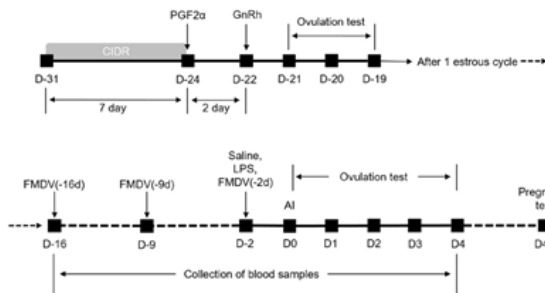


그림 4. FMDV에 의한 배란지연 확인시험 모식도

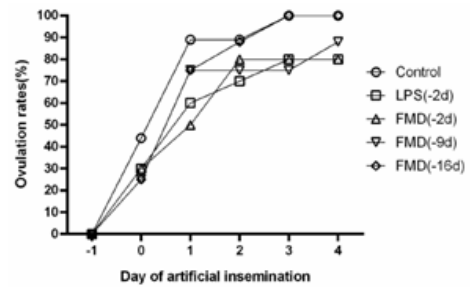


그림 5. FMDV에 의한 배란지연

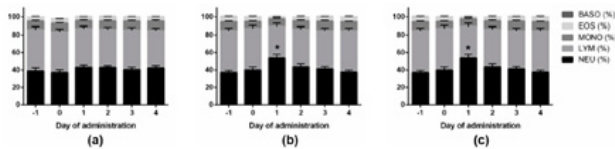


그림 6. FMDV에 의한 CBC 분석결과(NEU증가)

Table 1. Pregnancy rates and timing following different treatments (n = 100).

Group	No. of Pregnant Cows	Total	Pregnancy Rate (%)
Control	11	20	55.0
LPS (-2 d)	10	20	50.0
FMDV vaccine (-2 d)	4	20	20.0
FMDV vaccine (-9 d)	11	20	55.0
FMDV vaccine (-16 d)	12	20	60.0
Total	46	20	46.0

그림 7. FMDV에 따른 수태율 비교

③ 특허출원 : “소 구제역 백신접종에 따른 수태율 저하 개선방법” (출원 10-2021-0052947호, 2021. 04. 23)

○ 반추위내 삽입형 센서를 활용한 한우 임신 전기간의 생체변화 분석

① 재료 및 방법

- 총 112두의 암소(임신우 37두, 비임신우 75두)
- 인공수정 이후 분만시 까지 반추위내 체온변화 분석

② 연구결과(J Anim Reprod Biotechnol 2021;36:45-50)

- 임신우의 경우 비임신우에 비해서 150일령을 기점으로 slightly하게 감소, 분만시점 까지 dramatic 하게 증가하는 것을 확인함(그림 8, 9)

③ 특허출원

- “한우 암소의 반추위 내 체온변화를 이용한 임신 판정방법” (출원 10-2020-0047011호, 2020. 04. 17)

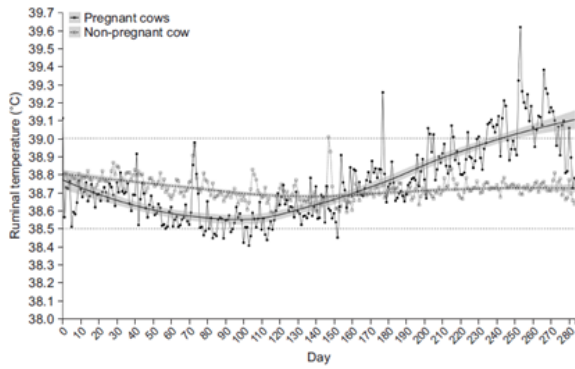


Table 2. The probability value of ruminal temperature in pregnant and non-pregnant cows at four periods after artificial insemination

Day after artificial insemination	Ruminal temperature (Mean ± SD*)	
	Pregnant	Non-pregnant
80-100	38.68 ^a ± 0.01 ^a	38.68 ± 0.04
145-165	38.78 ^b ± 0.02 ^b	38.69 ± 0.04
200-220	38.99 ^c ± 0.45 ^c	38.71 ± 0.05
250-270	39.14 ^d ± 0.38 ^d	38.66 ± 0.03
p-value	0.000	0.151

*Standard deviation.

^{a,b,c,d}Means with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

그림 8. 임신여부에 따른 반추위내 온도 변화

그림 9. 임신일령에 따른 반추위내 체온변화

○ 분만 전후 반추위 내 온도 및 활동성의 특이 패턴 분석

① 재료 및 방법

- 공 시 축 : Bolus system이 삽입된 분만 예정우(24두) 및 임신우(260일령 이상 31두)
- 분만 예정우 평균 생후 월령: 57.7 ± 5.15 , 임신우(260일령 이상) 평균 생후 월령: 52.7 ± 4.6
- 초음파 검진을 통해 생식기에 이상이 없고 직장 초음파 검사를 통해 임신이 확인된 개체선별

② 연구결과(Sensors 2021, 21, 7892. <https://doi.org/10.3390/s21237892>)

- 한우 암소 분만 예정우의 반추위 내 온도 변화를 분석한 결과 분만 시점으로부터 약 30시간 전부터 임신 말기 체온보다 약 0.5°C 낮은 38.5°C 정도를 유지함(그림 10, 11)
- 분만 시점 급격한 온도 상승 이후 다시 비임신 상태의 정상 온도인 약 38.5°C 를 유지함
- 송아지 분만 후 사료 섭취로 인한 일시적인 반추열 상승의 결과로 판단됨
- 분만 전후 반추위 내 활동성 변화를 분석한 결과 분만 12시간 전부터 분만 후 12시간 정도까지 평상시 보다 약 2배 가까이 활동성이 급격하게 상승하는 것을 확인함
- 분만에 따른 산통 및 송아지 돌봄에 따른 활동량 증가로 판단됨

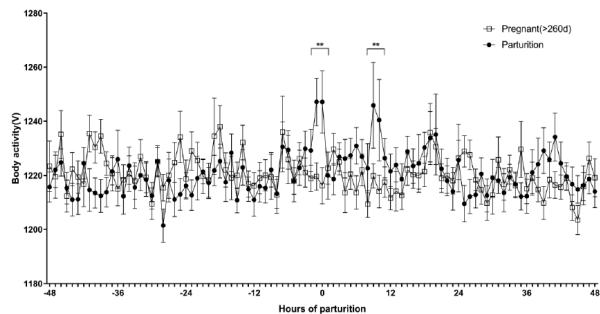
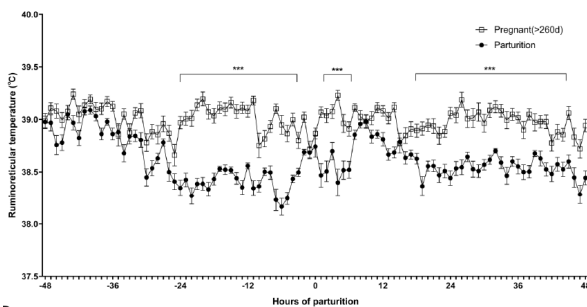


그림 10. 분만 전후 반추위 내 체온 변화 (임신말기 vs 분만우)

그림 11. 분만 전후 반추위 내 활동성 변화 (임신말기 vs 분만우)

○ 암소 자궁 내 레스베라트를 처리에 따른 수태율 효과 연구

① 재료 및 방법

- 한우 암소 59두를 배란동기화(0v-synch) 처리하여 인공수정(그림 12)
- 대조군(C)과 실험군(T) 3개로 구분하여 Resveratrol(RSV)을 C(0uM), T1(0.5uM), T2(1.0uM), T3(2.0uM) 주입
- Mitochondria biogenesis를 활성화 하는 SIRT1의 농도측정, Resveratrol 주입량에 따른 수태율 비교분석(표 5)

②

연구결과(Anim

Reprod.

2020;17(1):e20190090.

<https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0090>)

- 한우 암소 자궁 내에 RSV 주입 후 배발달과 관련된 SIRT1 단백질의 level 증가 및 수태율 향상 확인 (그림 13)

Admin. RES (Control, T1 [0.5 uM], T2 [1.0 uM], T3 [2.0 uM])

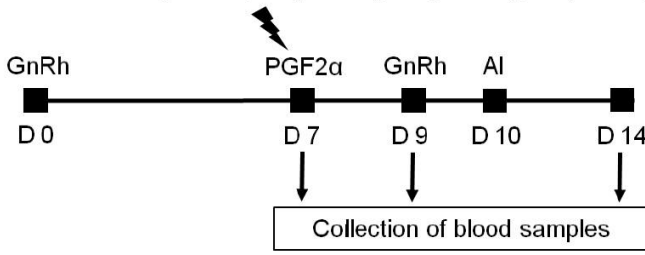


그림 12. RSV처리방법 모식도

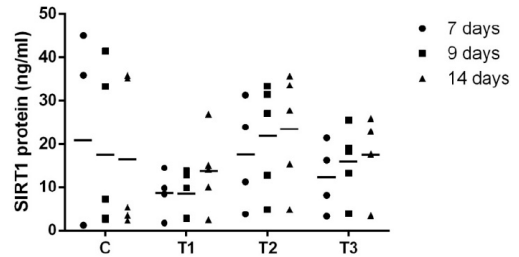


그림 13. RSV주입에 따른 SIRT1 발현량

표 5 RSV 주입에 따른 수태율 비교분석

Group	No. of pregnant cows	Total	Pregnancy rate (%)
C	14	28	50.0 ^a
T2	22	31	71.0 ^b
Total	36	59	61.0

C: control, T2: 1.0 μM resveratrol administration. a-b: Values with different letters, a and b, are significantly different at $P < 0.05$.

③ 특허 및 디자인등록

- “레스베라트롤 주입에 따른 한우 암소 수태율 향상 방법” (등록 제10-2160575호, 2020. 09. 22)
- “암소 자궁내 액체 주입기구” (등록 제30-1036420호, 2019. 12. 05)

(3) 농림축산검역본부

○ 러시아와 아르헨티나 국내 도입 구제역 백신에 대한 효능평가 및 면역 지속성 검사 연구

① 재료 및 방법

- 구제역 음성 SPF 돼지 25두를 구제역 백신 접종후 국내 발생 구제역 바이러스로 공격접종 효능평가를 실시
- 일반 농장 돼지 528두에 구제역 백신 접종후 항체형성 지속성을 평가함

② 연구결과(Vaccine 2021, 39, 1701-1707, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.02.025>)

- 러시아와 아르헨티나 구제역 백신에 대한 공격접종을 통한 효력시험을 진행하여 백신이 진천주 바이러스에 방어됨을 입증(그림 14)

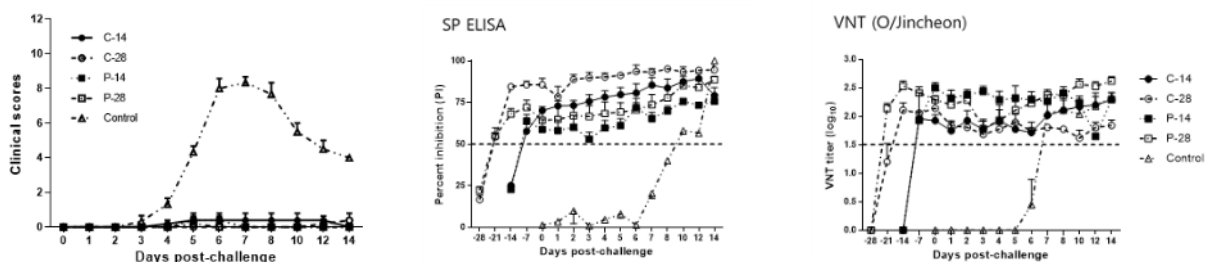


그림 14. 국내 사용 구제역 백신에 대한 실험실적 효능평가

- 러시아와 아르헨티나 구제역 백신의 야외 현장시험을 통한 혈청학적 지속성을 평가하여

비육돈에서의 백신 1회와 2회 접종을 비교하고 유의적 차이가 있음을 확인(그림 15)

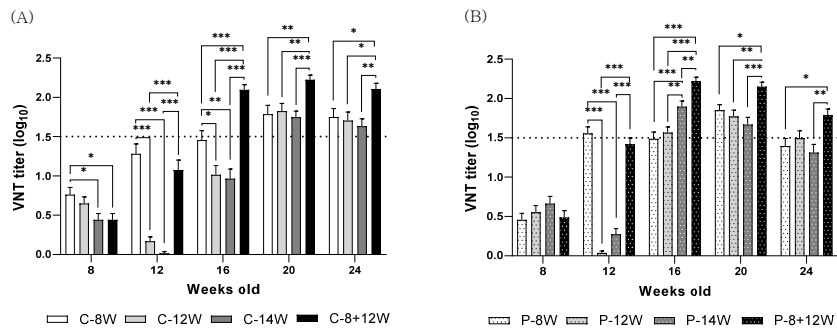


그림 15. 국내 사용 구제역 백신의 야외 현장 효능 평가

○ 구제역 항원 추가 구제역 백신에 대한 효능평가 및 면역 지속성 검사 연구

① 재료 및 방법

- 구제역 음성 SPF 돼지 32두를 구제역 백신 접종후 국내 발생 구제역 바이러스로 공격접종 효능평가를 실시
- 일반 농장 돼지 179두에 구제역 백신 접종후 항체형성 지속성을 평가함

② 연구결과(Vaccine 2019, 37, 1702-1709, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.11.080>)

- 01/Manisa 백신에 0/3039 백신주를 추가한 백신접종군이 더 안정적인 백신 방어효과를 나타냈음(그림 16)

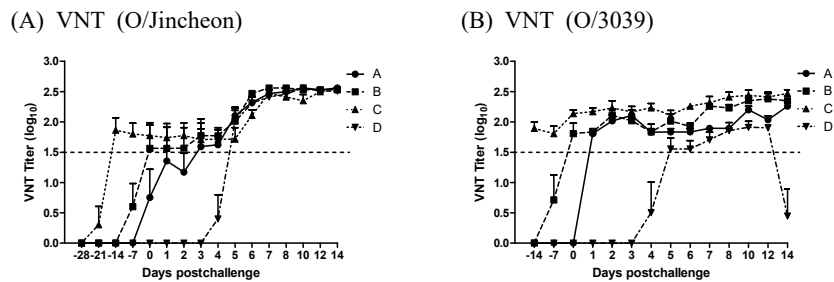


그림 16. 국내 사용 구제역 백신에 대한 실험실적 효능평가

- 야외농장의 비육돈에서 백신 2회 접종할 경우에 더 안정적인 항체형성 지속효과를 보임을 확인(그림 17)

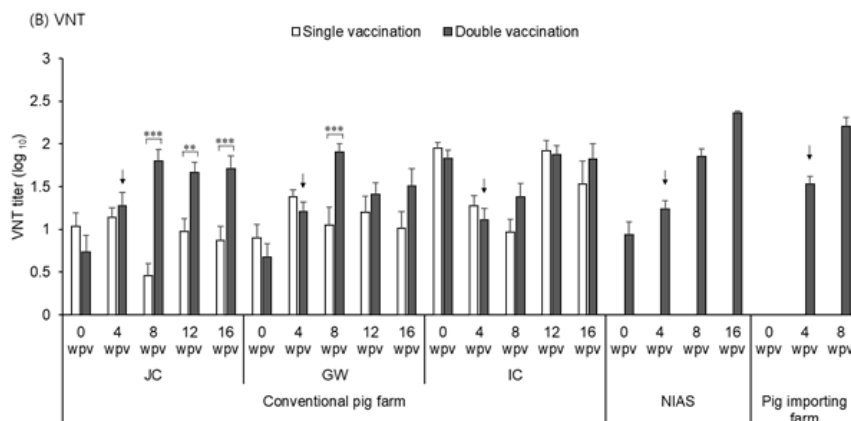


그림 17. 국내 사용 구제역 백신의 야외 현장 효능 평가

(4) 쉼에프브이씨

○ 0형 및 A형 구제역 2가 백신의 대량 생산 및 돼지에서의 방어 효능

① 재료 및 방법

- 100L Bioreactor에서 0형 및 A형 항원 생산
- 생산된 0형 및 A형 항원을 이용하여 2가 구제역 백신 생산
- 8주령 구제역 음성 돼지를 각각 18두씩 이용하여 2가 백신을 용량별 접종 후 0형 및 A형 각각 동형의 바이러스로 공격접종 후 중화항체 형성 및 방어능 평가

② 연구결과(Vaccines 2021, 9, 586. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060586>)

- 2가 구제역백신 Full dose, 1/3 dose, 1/9 dose 접종에 따라 0형 및 A형 중화항체 형성의 차이 확인(그림 18, 19)

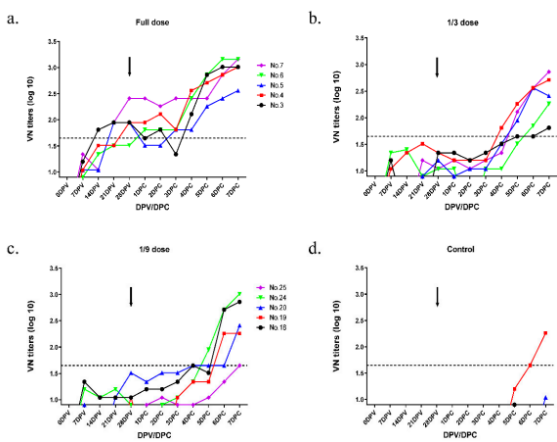


그림 18. 백신 용량별 0형 중화항체 변화

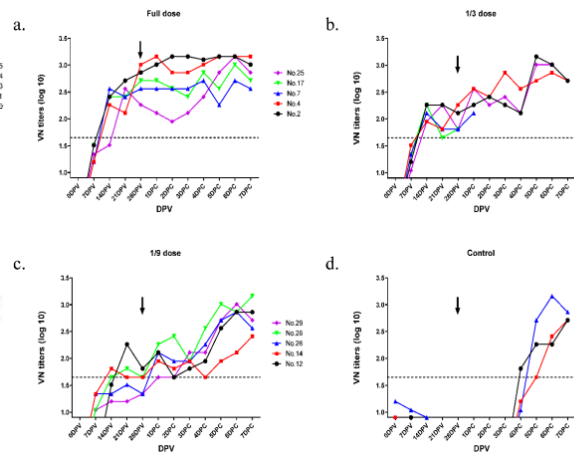


그림 19. 백신 용량별 A형 중화항체 변화

- 2가 구제역백신 Full dose, 1/3 dose, 1/9 dose 접종에 따라 각각 0형 및 A형 방어능 차이 및 바이러스 배출량 확인(그림 20, 21)

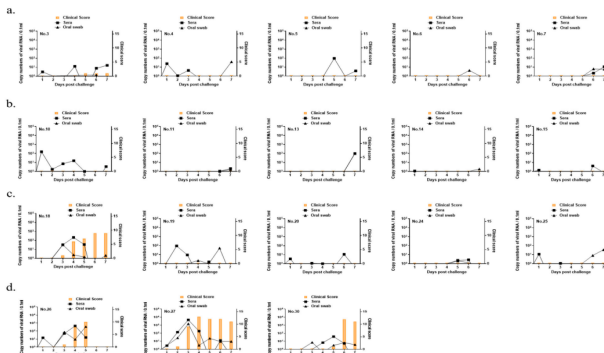


그림 20. 백신 용량별 각 개체의 0형 방어능 및 바이러스 배출량

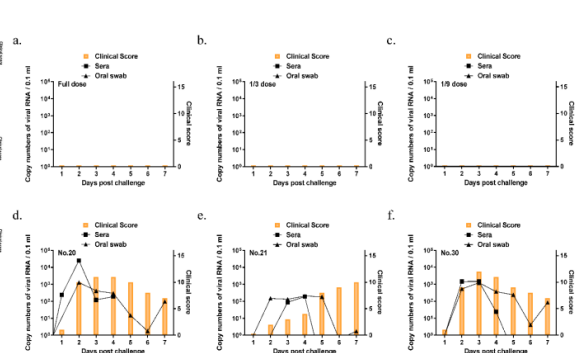


그림 21. 백신 용량별 각 개체의 A형 방어능 및 바이러스 배출량

(5) 쉼라트바이오

○ 수란우 발정동기화 방법에 따른 제공을 및 수태율 비교

① 재료 및 방법

- 총 349두의 한우 번식우 (conventional E2+P4법 217두, J-synch법 132두)

- J-synch 발정동기화 후 제공율 및 수정란이식 수태율 비교

② 연구결과 (*In submission*)

- conventional E2+P4법 (기존 발정동기화법) 이용 시 수란우의 80.2%만 이식에 제공되었던 반면, J-synch법 이용 시 92.4%가 수정란이식에 공여되었음
- conventional E2+P4법 (기존 발정동기화법) 이용 시 이식후 수태율이 35.1%이었고 J-synch법 이용 시 수태율이 36.1%로 균간의 차이는 보이지 않았음
- 수태율에는 차이가 없었지만 J-synch 방법의 제공율이 더 높기 때문에 수란우 활용도 측면에서 더 적합한 동기화법이라고 평가됨

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

○ 서울대학교 산학협력단

○ 한우 임신 기간 중 구제역 백신접종에 따른 부작용 사례분석

① 연구목표

- 임신 기간에 따라 한우에서 구제역 백신 접종에 따른 부작용 사례의 분석
- 국산 및 외산 구제역 백신접종에 따른 부작용의 저감방법의 모색

② 공 시 축 : 한우 임신우 113두(12개월 이상)

- 임신 초기(40~70일령) 44두, 임신 중기(140~170일령) 50두, 임신 말기(210~240일령) 15두

③ 시험 시기 및 장소

- 1) 시기 : 전국 일제 접종 시기에 맞추어 4~5월, 10~11월에 실시
- 2) 장소 : 경상북도 축산기술연구소 및 (주)라트바이오 실험목장
- 3) 임신 개체의 월령을 고려하여 시험 시기 결정

④ 시험방법(그림 22)

- 1) 시험 시작 전 직장초음파검사 및 혈액키트를 통한 임신감정 실시
- 2) 생식기 검사, 생후월령, 산차 등을 고려하여 시험군 간의 편차 최소화(초음파 사진촬영/기록)
- 3) 임신 초/중/말기에 FMD 백신 주사(각 20두)
 - 접종 백신은 3종의 상시백신에서 1종(외산)과 (주)에프브이씨에서 제공하는 백신(국산)으로 함
- 4) FMD 백신 주사 후 0, 1, 3, 6, 10, 15일 채혈 및 분석
 - 채혈 : EDTA tube를 활용하여 경정맥에서 약 10 ml/두를 채혈(20두 x 5회 x 5구간)
 - 분석 내용
 - 총혈구수 검사(Complete blood count) : White blood cell (WBC), Neutrophil (NEU), Eosinophil(EOS), Basophil(BASO), Monocyte(MONO), Lymphocyte(LYM) 비율 분석

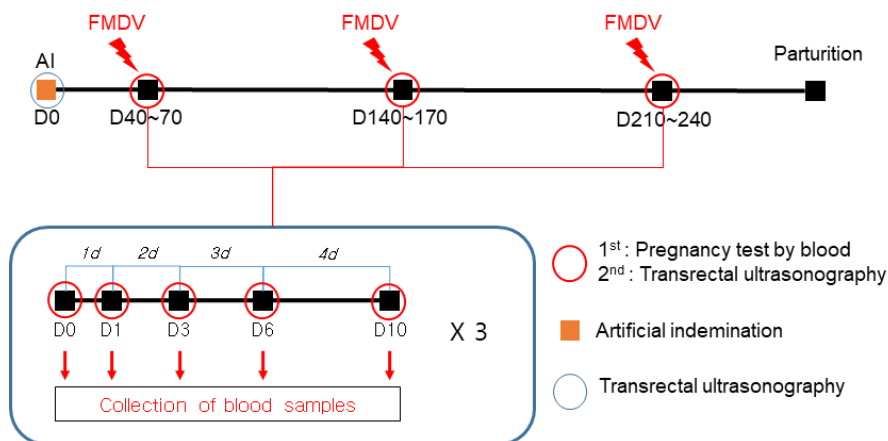


그림 22. 임신 기간 중 FMD백신 접종 시험 모식도

- Acute phase proteins : haptoglobin 및 SAA ELISA 분석
- 반추위내 온도 및 활동성 data 및 실험 결과 통계분석

5) 백신 접종 후 과민반응 분석

- 백신 접종 직후 나타나는 과민반응 검사 및 응급 처치

6) 유/사산 개체 발생 확인

- 육안검사/사진촬영/체측 실시, 혈액 및 조직 sample 보관
- 분석용 sample : 각 단계별 채혈 후 serum/plasma 분리 및 초저온 냉동 보관(-80℃)
- 브루셀라 및 BVD 등 유사산 발생 가능인자 분석 시험 -> 농림축산검역본부에 분석 의뢰
- 유/사산 발생 시 혈액 이용하여 프로게스테론 농도 측정하여 유산 시점 추정

○ 농림축산검역본부

○ 한우 번식우 구제역 백신접종에 따른 혈청학적 효능 비교분석

① 연구목표

- 국산 구제역 백신과 외산 백신을 접종한 한우에서의 혈청학적 성적을 분석하고 구제역 백신의 ELISA 또는 중화항체 시험을 통하여 항체형성의 지속성을 조사
- 구제역 백신을 초기, 중기, 말기 임신기간에 접종하는 백신접종 프로그램 변경에 따른 항체형성의 영향분석 및 분만된 송아지에서의 모체이행항체가 변화 조사

② 공 시 축 : 한우 임신우 60두(12개월 이상, Bio 센서 삽입)

- 임신 초기(40~70일령) 20두, 임신 중기(140~170일령) 20두, 임신 말기(210~240일령) 20두

③ 시험시기 및 장소

- 1) 시기 : 전국 일제 접종 시기에 맞추어 4~5월, 10~11월에 실시
- 2) 장소 : 경상북도 축산기술연구소 및 (주)라트바이오 실험목장

④ 시험방법

- 접종 백신은 3종의 상시백신에서 1종과 (주)FVC에서 제공하는 백신으로 함(표 6)

표 6. 구제역 백신의 종류

구분	외산 백신			국산 백신
	동방	(주)케어사이드	(주)SVC (국내업체 4곳)	(주)FVC
생산국가	러시아 (아리아)	아르헨티나 (케어사이드)	영국 (베링거)	대한민국
백신주	O Primorsky A Zabaikalsky	O1 Campos A24 Cruzeiro A2001 Argentina	O1 Manisa O 3039 A22 Iraq	O Boeun, A Yeoncheon
접종부위	근육	근육	근육	근육

표 7. 임신우 구제역 백신 접종 실험군

구분	접종 백신	추가 접종	추가 접종 (1차 접종 후)	채혈일* (1차 접종 후 주별)	회당 접종량	실험두수
1	국산 백신	초기	12주	0, 4, 8, 12, 16, 27, 31, 37, 41, 45 (총 10회)	1ml	20
2	국산 백신	중기	27주		1ml	20
3	국산 백신	말기	37주		1ml	20
4	외산 백신	초기	12주		2ml	20
5	외산 백신	중기	27주		2ml	20
6	외산 백신	말기	37주		2ml	20

* 추가 백신접종일을 초기 12주(84일), 중기 27주(189일), 말기 37주(259일)로 정한 경우의 계획

** 백신 접종일과 인공수정일간에 대략 30일 정도의 기간 차이를 예상하고 설정

- 국내 구제역 백신 일제접종 정책으로 매년 4월과 10월에 일제 접종을 진행하고 있으며 한우의 계절 번식 프로그램에 대한 영향을 조사 연구할 필요 있음(그림 23)
- 따라서, 임신우에서의 임신기간에 추가 접종되는 구제역 백신의 임신 기간별(초기, 중기, 말기) 영향에 대하여 분석과 더불어서 국산 및 외산 백신간의 혈청학적인 차이점을 분석(그림 23, 표 7)
- 또한, 임신기간에 따른 접종우에서 분만된 송아지에서의 구제역 항체 검사를 진행하여 모체

이행항체가 반감기를 조사하고 국내 구제역 백신접종 임신우에서 분만된 송아지에서의 국산 백신의 최적 구제역 백신접종 기간을 조사(그림 24, 표 8)

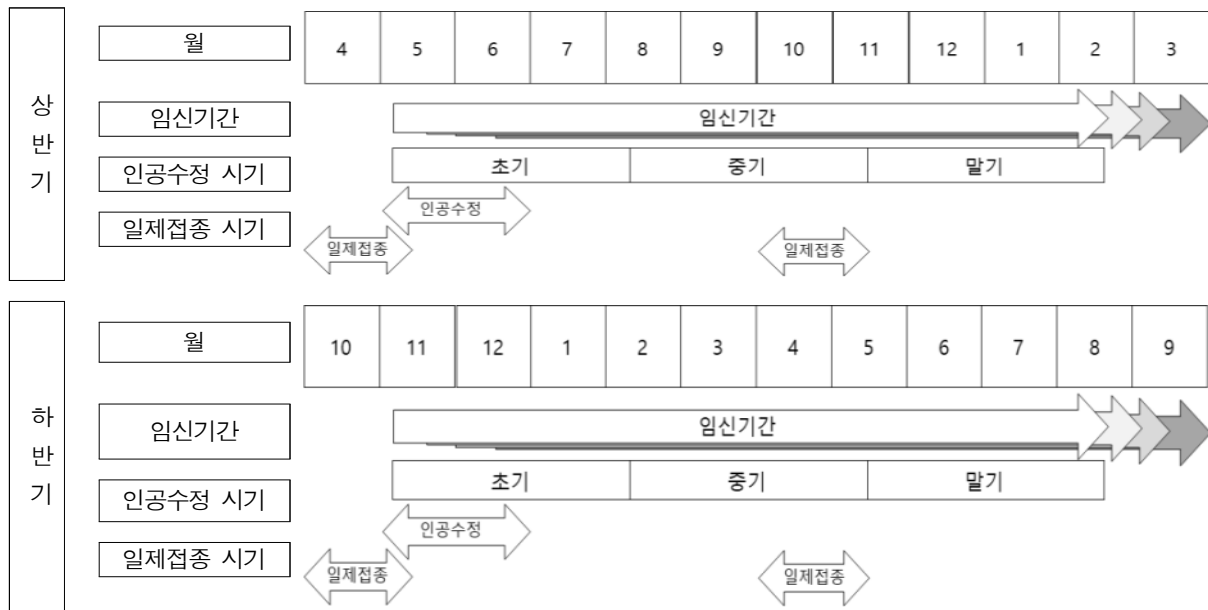


그림 23. 한우 계절 번식 임신기간 및 구제역 백신 일제 접종 정책에 따른 백신접종 기간

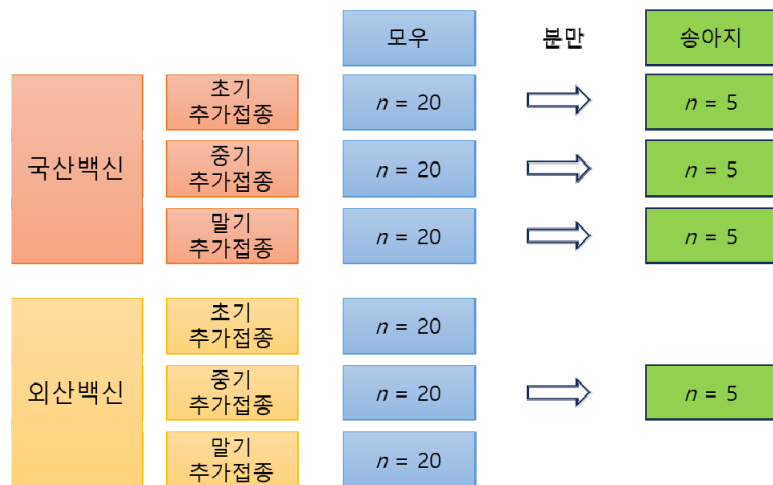


그림 24. 구제역 백신접종 임신우와 분만 송아지의 항체가 조사 실험

표 8. 구제역 백신접종 임신우 분만 송아지 모체이행항체 조사 실험군

구분	실험두수	모우군	채혈 일령*
1	5	국산 초기	4, 14, 30, 60, 90, 120(총 6회)
2	5	국산 중기	
3	5	국산 말기	
4	5	외산 중기	
5	5	보좌제 대조군	
6	5	생리식염수 대조군	

*채혈 일령은 실험 일정에 따라 일부 조정 가능

⑤ 수행과정

- (주)FVC 제공 국산백신과 (주)SVC 생산 백신과 비교
- 표 8과 같이 국산백신과 외산백신의 항체 형성을 비교하기 위하여 임신중기와 임신말기에서의 두 백신접종을 각각 접종한 이 후 분만전까지 28일 간격의 혈청을 채취하여 중화 항체가 조사
- 임신초기에 백신을 접종한 임신우에서도 접종후 5개월째까지 혈청을 채취하여 중화항체가를 조사
- 임신초기, 중기 그리고 말기에 백신을 접종한 임신우에서 태어난 송아지에서도 28일 간격으로 채혈하여 혈청학적 조사
- 또한, 표 9와 같이 비임신우에서의 구제역 백신접종에 따른 혈청학적 조사를 통해 임신 유무에 따른 구제역 백신의 백신 항체가 형성 변화 차이를 조사하고자 혈액을 채혈하여 항체가 조사

표 9. 비임신우 구제역 백신접종 실험군

구분	접종백신	추가 접종	추가 접종 (1차 접종 후)	채혈일 (1차 접종 후 주별)	회당 접종량	실험두수
1	국산 백신	중기	27주	0, 4, 8, 12, 16, 27, 31, 37, 41, 45 (총 10회)	1ml	10
2	외산 백신	중기	27주		2ml	10
3	비접종군	-	-		-	10

○ 경상북도 축산기술연구소

○ 한우 번식우에서 국산/외산 구제역 백신접종에 따른 번식성적 비교분석

① 연구목표

- 국산 및 외산 구제역 백신 접종에 따른 한우 암소의 배란지연 및 수태율 비교분석
- 백신접종 후 인공수정에 따른 일반혈액검사 및 급성면역반응 인자 비교분석

② 공 시 축 : 한우 암소 250두(12개월 이상, 비임신우)

- Control : 25두, Vehicle : 25두, 국산 FMD백신 접종 : 100두, 외산 FMD백신 접종 : 100두

③ 시험시기 및 장소

- 1) 시기 : 전국 일제 접종 시기 및 계절번식 프로그램에 맞추어 4~5월, 10~11월에 실시
- 2) 장소 : 경상북도 축산기술연구소

④ 시험방법 (그림 25)

- 1) 생식기 검사, 생후월령, 산차 등을 확인하여 시험군간의 편차 최소화 (직장검사 및 초음파 검사를 통한 생식기 확인)
- 2) 발정동기화 후 인공수정 실시
 - 배란동기화 방법 : CIDR-combined protocol
- 3) 인공수정 2일 전에 구제역 백신 근육 주사
 - Control(25두) : 인공수정 2일전 0.9% physiological saline 1ml/두 근육주사
 - Vehicle(25두) : 인공수정 2일전 구제역백신 오일성분(구제역 바이러스 포함X) 1ml/두 근육주사
 - 국산 FMD백신 group(100두) : 인공수정 2일전 구제역 백신 1ml/두 근육주사
 - 외산 FMD백신 group(100두) : 인공수정 2일전 구제역 백신 2ml/두 근육주사
- 4) 백신 접종 후 2일 간격으로 직장 초음파 검사(Trans-rectal ultrasonography)를 통한 배란지연 확인
 - 배란지연 확인 : 난소 초음파 검사(DRAMINKI)
- 5) 백신 접종 후 0, 1, 3, 6, 10, 15일 간격으로 채혈(총 6회)
 - 채혈 : EDTA tube를 활용하여 경정맥에서 약 10 ml/두를 채혈
 - 분석용 sample 보관 : 각 단계별 채혈 후 혈장(plasma) 분리 및 초저온 냉동 보관(-80℃)

6) 직장초음파를 활용한 임신감정 실시

- 각 시험군의 인공수정 40일 이후 직장초음파 검사
- 각 시험군 간의 수태율 비교

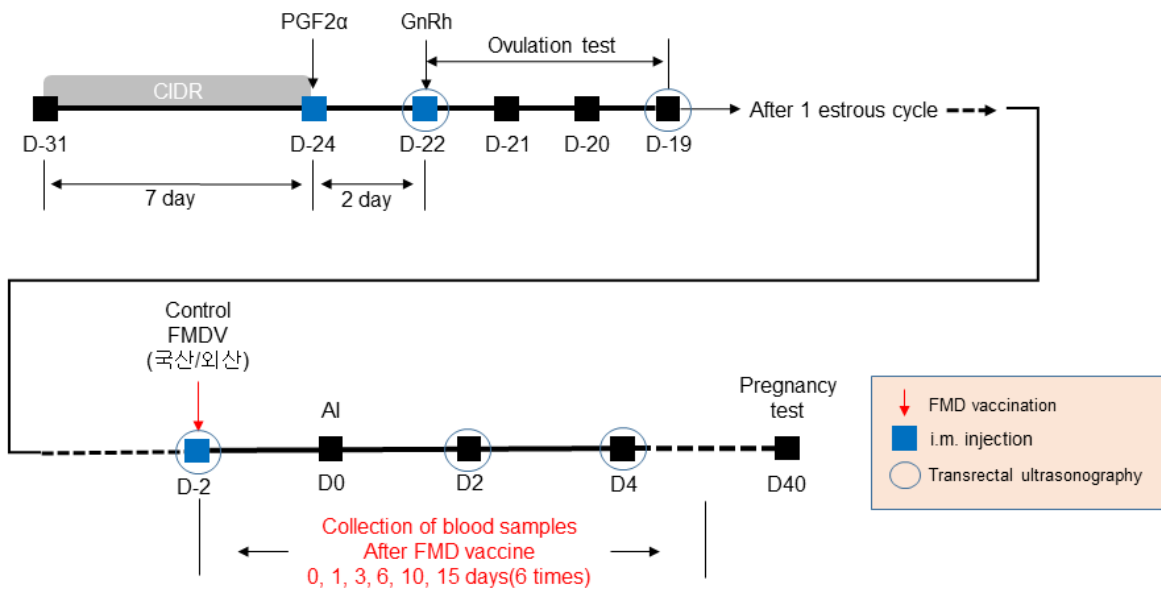


그림 25. 국산/외산 구제역 백신접종에 따른 번식성적 비교시험 모식도

○ 구제역 백신 접종에 대한 면역반응 및 염증 지표분석

① 연구목표

- 구제역 백신 접종이 염증 및 임신 유지와 관련된 혈청학적 면역지표에 미치는 영향 분석

② 공 시 축 : 한우 암소 20두(12개월 이상, 비임신우)

- Control : 5두, Vehicle : 5두, 국산 FMD백신 접종 : 5두, 외산 FMD백신 접종 : 5두
- 임신 초/중/후기 구제역백신 실험 sample : 공동연구기관(서울대, 라트바이오)의 실험완료 후 수령/분석

③ 시험시기 및 장소

- 1) 시기 : 전국 일제 접종 시기 및 계절번식 프로그램에 맞추어 4~5월, 10~11월에 실시
- 2) 장소 : 경상북도 축산기술연구소 및 경북대학교

④ 시험방법

- 1) 임신 유지에 필수적인 혈액 내 항염증성 사이토카인 interleukin(IL)-10 수준 분석
 - 경동맥 채혈로 얻은 혈액의 혈청을 분리한 후 ELISA를 수행하여 혈중 IL-10 정량적 측정
 - 대조군에서 인공 수정 전 및 임신 확인 후 혈중 IL-10 수준을 분석하여 임신 초기에 혈중 IL-10 수준이 증가함과 임신 중/후기 시료 분석을 통해 증가된 혈중 IL-10 수준이 유지됨을 확인
 - 임신 중 백신 접종 전 및 접종 후 2일 간격으로 4회 얻은 시료를 분석하여 백신 접종이 IL-10 수준에 미치는 영향 분석
- 2) 백신 접종이 염증 발생 및 만성화에 미치는 영향에 대해 분석
 - 경동맥 채혈로 얻은 혈액의 혈청을 분리한 후 ELISA를 수행하여 염증 시 증가되는 혈중serum amyloid A3 (SAA3), haptoglobin 을 측정하여 염증의 발생 유무 및 강도를 평가
 - 임신 중 백신 접종 전 및 접종 후 2일 간격으로 4회 얻은 시료를 분석하여 백신 접종 후 급성 염증 반응의 발생 유무를 혈중 염증 인자들 (SAA3, haptoglobin)의 수준으로 평가
 - 백신 접종 후 2주 후 혈중 염증 인자들 분석을 통해 백신에 의한 정상적인 급성 염증이 병적 상태인 만성 염증화 되었는지 확인
- 3) 추적 조사를 통해 백신 종류 및 보조제에 따른 혈중 IL-10 수준 및 염증의 강도와 기간에 대한 영향분석을 통해 한우 암소의 번식향상기법 개발에 활용

○ (주)에프브이씨

○ 국산 구제역 백신 보조제 조절을 통한 면역반응 연구

① 연구목표

- 면역보조제 조절에 의한 백신 유효성 및 염증반응 평가
- 한우 수태율에 영향을 줄이는 최적 백신 조성물 결정

② 공 시 축 : 육우 12두(2개월령, 백신 접종 및 공격접종), 한우 10두(비임신우)

- 구제역 음성 2개월령 송아지 12두
- 구제역 음성 비임신우 10두

③ 시험 시기 및 장소

- 1) 시기 : 공격접종 - 2023년 6월 ~ 8월
면역지속성 - 2022년12월 ~ 2023년 11월
- 2) 장소 : 농림축산검역본부 구제역백신센터 내의 ABL3

④ 시험방법

1) 국산 구제역 백신의 보조제의 변경 및 조절을 통한 백신의 유효성 및 염증반응 평가

- 1년차
 - 실험동물(기니피그)을 통해 ISA 206 아주번트(오일량 50%) 및 emulsigen D 아주번트(오일량 15%)를 비교 평가
 - 실험동물(기니피그)을 통한 면역보조제의 비교 평가
 - 아주번트 및 면역보조제에 따른 백신은 0일, 28일 백신 접종
 - 각 실험동물은 백신 접종 후 0일, 3일, 7일, 14일, 21일, 28일, 42일, 56일 채혈
- 2년차
 - 기존 국산 구제역 백신 및 신규 구제역 백신을 각각 5두씩 접종.
 - 채혈 : 백신 전 및 백신 후 2, 4, 6, 8, 14, 28일
- 분석 내용
 - 유효성 평가 : SP ELISA 및 VNT
 - 염증 반응 평가 : heptagloblin, SAA 의 수준을 ELISA로 평가.
 - 각 혈청은 SP ELISA 및 VNT를 통해 면역능 분석

2) 비임신우에서 구제역 백신의 항체 지속성 평가

- 국산백신을 근육으로 비임신우 10두에 0일, 28일, 6개월 후 접종
- 백신접종 후 0일, 14일 28일 후 2개월 간격으로 채혈하여, SP ELISA 및 VNT를 통해 면역 지속성 분석(그림 26)

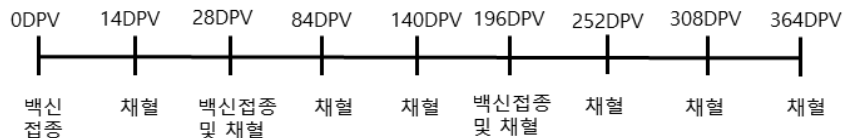


그림 26. 백신 접종 및 면역 지속성 평가를 위한 채혈 계획

3) 국산 구제역 백신의 공격접종을 통한 방어능 평가

- 구제역 음성 8주령 송아지에 8두에 구제역 백신을 접종하고, 4주 후 공격접종하여 방어능 분석
- 구제역 음성 8주령 송아지에 4두는 음성 대조군으로 사용
- 백신 접종 후 14일 28일 채혈 및 ABL3 실험실로 이동하여 0형 6두 (백신군 4두, 대조군 2두), A형 6두(백신군 4두, 대조군 2두) 공격접종 실행(표 10)

표 10. 구제역 백신 접종 및 공격접종 계획

Group	실험 방법
G1_8주령 육우 4마리	시험백신 (1ml)_1차 접종, 백신 접종 4주 후 O형(보은) 공격접종
G2_8주령 육우 4마리	시험백신 (1ml)_1차 접종, 백신 접종 4주 후 A형(연천) 공격접종
G3_8주령 육우 2마리	Control, O형(보은) 공격접종
G3_8주령 육우 2마리	Control, A형(보은) 공격접종

- 공격접종은 각 바이러스를 1×10^5 TCID50/0.1mL로 진행
- 공격접종 후 7일간 매일 임상증상 확인 및 체온 측정, swab 및 2일간 간격으로 채혈
- 각 혈청은 SP ELISA 및 VNT를 통해 면역원성 분석
- 공격접종 후 혈청 및 swab 시료는 Real Time PCR를 통해 바이러스 배출량을 분석

○ 비임신우에서의 구제역백신 안전성 평가

- ① 연구목표
 - 구제역 백신의 용량별 안전성 평가
- ② 공 시 축 : 한우 비임신우 30두(2개월령 또는 4개월령)
- ③ 시험 시기 및 장소
 - 1) 시기 : 2022년 4월 ~ 2023년 10월
 - 2) 장소 : 경상북도 축산기술연구소 및 에프브이씨 기업부설연구소
 - 3) 모체이항항체 상황에 맞추어 시험 시기 결정
- ④ 시험방법
 - 1) 구제역 백신 접종
 - 상용백신 1회 용량을 송아지 10마리의 근육으로 0일차, 28일차, 56일차 접종
 - 국산백신 1회 용량을 송아지 10마리의 근육으로 0일차, 28일차, 56일차 접종
 - 국산백신 2회 용량을 송아지 10마리의 근육으로 0일차, 28일차 접종
 - 2) 백신 접종 후 상태 확인
 - 백신 접종 후 3, 7, 14일 송아지 상태 체크
 - 백신 접종 후 14일간 접종부위 체크
 - 각 송아지의 임상 상태를 확인하여 백신의 안전성을 분석

○ 임신우에서의 구제역백신 안전성 평가

- ① 연구목표
 - 구제역 백신의 용량별 안전성 평가
- ② 공 시 축 : 한우 임신우 34두(임신 중기)
- ③ 시험 시기 및 장소
 - 1) 시기 : 2022년 04월 ~ 2022년 11월
 - 2) 장소 : 경상북도 축산기술연구소 및 에프브이씨 기업부설연구소
- ④ 시험방법
 - 1) 구제역 백신 접종
 - 국산 백신 정량투여군 : 20마리의 임신 중기 한우에 백신 1회 용량을 근육으로 접종
 - 국산 백신 과용량투여군 : 4마리의 임신 중기 한우에 백신 2회 용량을 근육으로 접종
 - 대조군 (Normal saline, Vehicle) : 각 5마리씩 10마리의 임신 중기 한우에 1회용량을 근육으로 접종
 - 2) 백신 접종 후 상태 체크
 - 백신 접종 후 3일 7일 14일 임신우 상태 체크
 - 백신 접종 후 14일간 접종부위 체크

3) 분만 후 송아지 체크

- 출생 후 1일, 1주일, 2주일, 3주일 송아지 상태 체크

○ (주)라트바이오

○ 구제역 백신접종에 따른 배란지연을 역이용한 수태율 향상기법 개발

① 연구목표

- 구제역 백신 접종에 따른 번식을 저하를 극복하기 위한 방법으로 배란 지연을 역이용한 발정 동기화 방법의 개발

② 공시축 : 한우암소 40두(12개월 이상, 비임신우)

- Control : 11두, Gn(250) : 15두, Gn(500) : 14두

③ 시험시기 및 장소

- 1) 시기 : 전국 일제 접종 시기에 맞추어 11월에 실시
- 2) 장소 : (주)라트바이오 실험목장

④ 시험방법(그림 27)

- 1) 생식기 검사, 생후 월령, 산차 등을 확인하여 시험군 간의 편차 최소화 (직장검사 및 초음파 검사를 통한 생식기 확인)

2) 실험군(구제역 백신 접종 vs. 미접종 군)

- Control 11두 : 0.9% normal saline 2ml 근육주사 + 250 μ g GnRH 근육주사
- Gn(250) 15두 : 구제역 백신 2ml 근육주사 + 250 μ g GnRH 근육주사
- Gn(500) 14두 : 구제역 백신 2ml 근육주사 + 500 μ g GnRH 근육주사

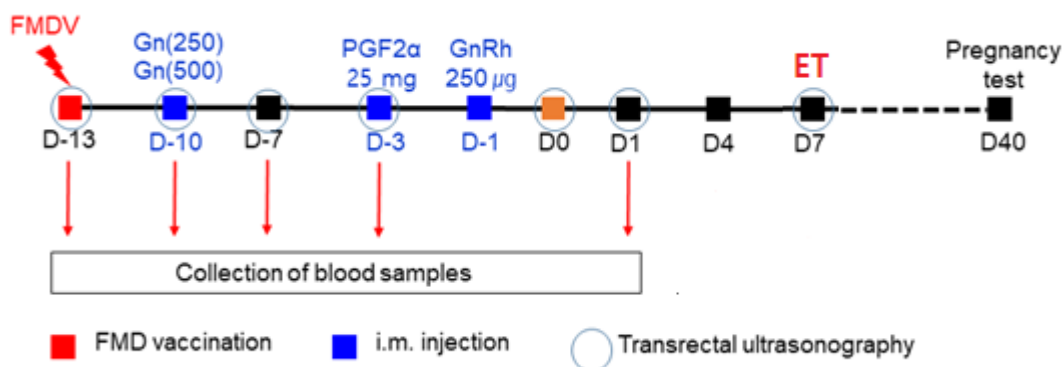


그림 27. 백신접종 및 동기화 일정과 그에 따른 검진 및 샘플링 일정

3) 발정동기화 및 수정란이식

- 배란동기화 방법 : Ovum synchronization(GnRH-PGF2a-GnRH), 17일 째 일괄 수정란이식
- 배란검사(7회) : 직장 초음파 검사(FMD백신 ~ 발정 후 6일 까지)

4) 샘플링 및 분석

- 채혈 : EDTA tube, Heparin, Serum separate tube를 활용하여 경정맥에서 약 30 ml/두를 채혈(40두 x 5일)
- 분석용 sample 보관 : 각 단계별 채혈 후 serum/plasma 분리 및 초저온 냉동 보관(-80 $^{\circ}$ C)
- 분석 내용
 - 총혈구수 검사(Complete blood count) : White blood cell (WBC), Neutrophil (NEU), Monocyte(MONO), Lymphocyte(LYM), Platelet(PLT) 분석
 - Acute phase proteins : haptoglobin 및 SAA ELISA 분석

5) 임신감정

- 각 시험군의 인공수정 40일 이후 직장초음파 검사 및 수태율 비교

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

○ 서울대학교 산학협력단

○ 한우 임신 중기 중 구제역 백신접종에 따른 부작용 사례분석

- ① 시험 개시
 - 2022년 4월 26일 구제역 백신 투여
- ② 실험군(표11)

표 11. 임신 중기 구제역 백신접종 실험군

군	n	Ear tag ID	자체 ID	월령	산 차	백신접종 임신일령	유산 여부	비고
대조군 (생리식염수)	5	002150832094	20-049	25.6	0	166		바이오캡슐
		002157004738	20-105	19.5	0	125		
		002157011954	20-109	19.4	0	124		바이오캡슐
		002157014733	20-123	19.1	0	166		바이오캡슐
		002095541347	C-018	88.8	2	166		
대조군 (Vehicle)	5	002147853663	20-014	26.1	0	166		바이오캡슐
		002149312499	20-044	25.7	0	166		바이오캡슐
		002150838331	20-062	25.4	0	166		바이오캡슐
		002133429103	C18-007	43.5	1	166		
		002150845791	C20-005	24.7	0	124		
국산 FMD 백신	20	002307352053	14-015	98.2	5	159		
		002093743273	14-058	92.4	3	166		
		002092758227	14-069	92.0	6	159		
		002093745708	14-095	91.2	4	159	유산	
		002106138870	16-004	74.1	4	166		
		002115243557	17-012	62.0	2	166		
		002118330315	17-046	60.1	2	166		바이오캡슐
		002121956319	17-061	55.8	2	166		
		002121965811	17-090	54.0	2	166		
		002124265517	17-092	53.4	1	166		바이오캡슐
		002124273154	18-001	51.1	2	126		바이오캡슐
		002126225039	18-010	49.9	2	126		바이오캡슐
		002127931040	18-024	49.5	1	132		바이오캡슐
		002136868867	19-006	38.3	1	145		바이오캡슐
		002136868883	19-009	38.2	1	166		바이오캡슐
		002137589482	19-047	37.1	1	126		바이오캡슐
		002143705219	19-075	31.4	0	166	유산	바이오캡슐
		002143705729	19-083	31.1	0	166		바이오캡슐
002126225102	18-17	49.8	2	159				
002111876184	구-431	65.0	2	166				
외산	20	002093756735	14-113	90.2	3	124		

FMD백신 (고려BNP)	002103853370	15-097	78.7	5	159		
	002106138915	16-011	73.9	4	138		
	002106138966	16-013	73.7	4	159		
	002115243532	17-009	62.1	3	138		
	002115243581	17-015	62.0	3	159		
	002116301084	17-028	61.3	1	124		
	002121956280	17-058	56.0	2	159		
	002124275906	18-004	50.3	2	159		바이오캡슐
	002127937102	18-035	49.0	2	159		바이오캡슐
	002133428447	18-084	43.8	2	159		바이오캡슐
	002143704929	19-066	31.7	1	144		바이오캡슐
	002143704953	19-069	31.7	1	159		바이오캡슐
	002144626860	19-093	30.8	1	153		바이오캡슐
	002144626894	19-096	30.7	1	159		바이오캡슐
	002134904541	C18-010	40.7	1	166		
	002098988970	구-392	84.2	5	126		
	002106134624	구-401	73.5	3	126		
	002106061736	구-423	73.1	3	159		
002121917772	구-436	55.7	1	124			

③ 채혈

1) 시기 : 접종 전, 접종 후 1, 3, 6, 10, 15일

2) 혈액검사 실시

- 총혈구수 검사(Complete blood count) 결과 분석(그림 28)

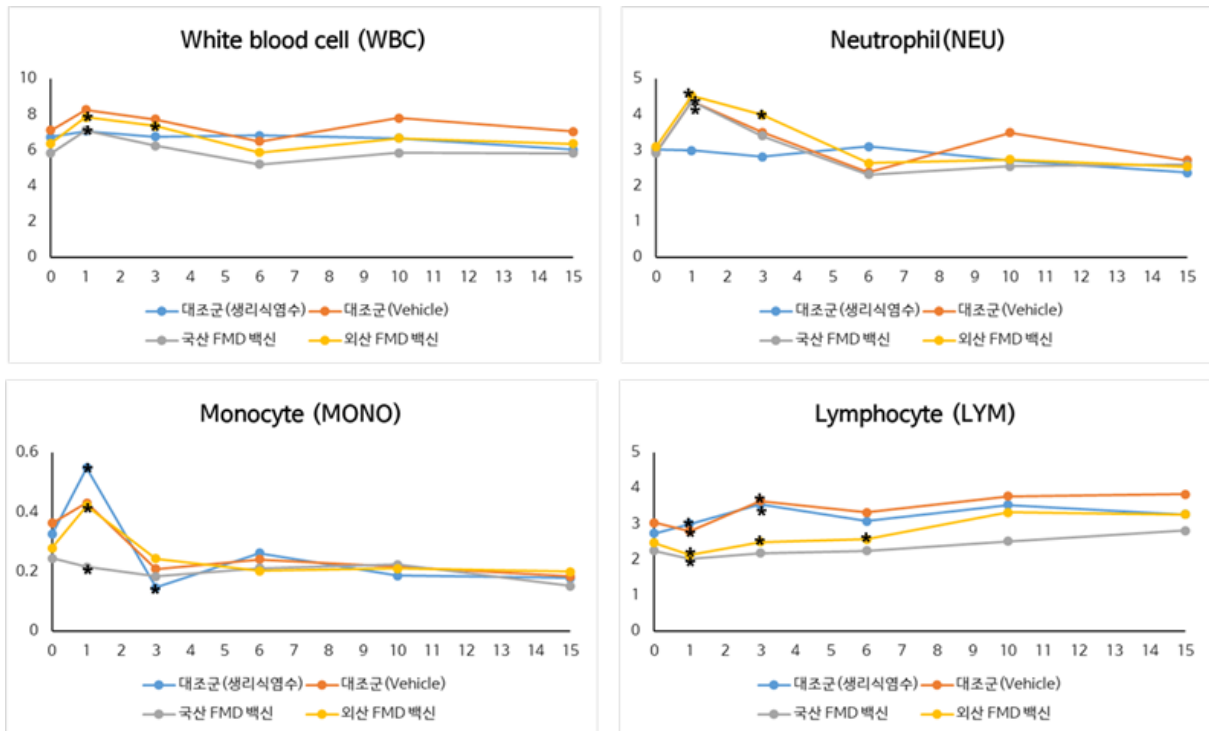


그림 29. 임신 중기 총혈구수 분석 결과 비교 그래프

- 임신 중기에 해당하는 한우 50두에 구제역 백신 접종 후 혈액 내 총 혈구수 분석 결과,

외산 FMD 백신 접종 군에서 White blood cell과 neutrophil이 접종 후 3일까지 유의하게 높은 수치를 보였음.

- 이에 반해 국산 백신 접종 군에서는 접종 후 1일까지는 유의하게 높은 White blood cell과 neutrophil 수치를 보였으나, 3일차에는 감소하여 접종 전과 유의한 차이를 보이지 않음.

• Acute phase proteins : haptoglobin 및 SAA ELISA 분석 (그림 30)

- 급성 염증기 단백질 분석 결과, haptoglobin은 국산 FMD 백신 접종군과 외산 FMD 백신 접종군에서 3일차와 6일차에 유의하게 높은 수치를 보임.

- Serum amyloid A도 동일하게 국산, 외산 FMD 백신 접종군 모두 6일차까지 유의하게 높은 수치를 보였으며, 투여 3일차에는 vehicle만 접종한 군에서도 유의하게 높은 수치를 보임.

- 혈액 분석 결과 외에도 백신 접종 후 과민반응을 관찰한 결과, 외산 FMD 백신 접종군 20두 중 6두에서 투여 2시간 이내에 부종과 이상 호흡 등의 과민반응이 확인됨(그림 31).

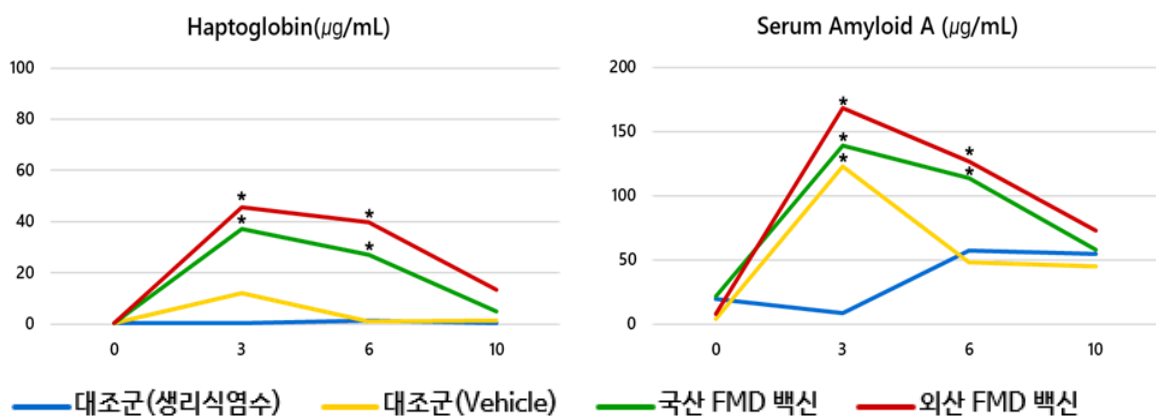


그림 30. 임신 중기 급성 염증기 단백질 분석 결과 비교 그래프



그림 31. 백신 투여 후 관찰된 양측 또는 편측성 안구 부종의 과민 반응

④ 유산 개체 원인 분석

1) 14-095

- 4산차에 임신 159일령에 국산 구제역 백신 접종

- 백신 접종 직후 접종에 따른 과민 반응은 확인되지 않음

- 백신 접종 후 실시한 임신유지 호르몬인 프로게스테론의 농도는 투여 후 15일까지 안정적으로 유지됨 (그림 32)

- 급성기단백질도 다른 개체들과 큰 차이를 보이지 않았음
- 유산의 확인은 22년 6월 24일(백신 투여 후 60일 후) 직장검사를 통해 확인
- 백신접종 직후의 과민반응 여부, 급성기 단백질의 변화 추이, 프로게스테론의 백신 접종 후 변화 추이 등을 볼 때 유산의 직접적인 원인이 구제역 백신 접종은 아닌 것으로 판단됨

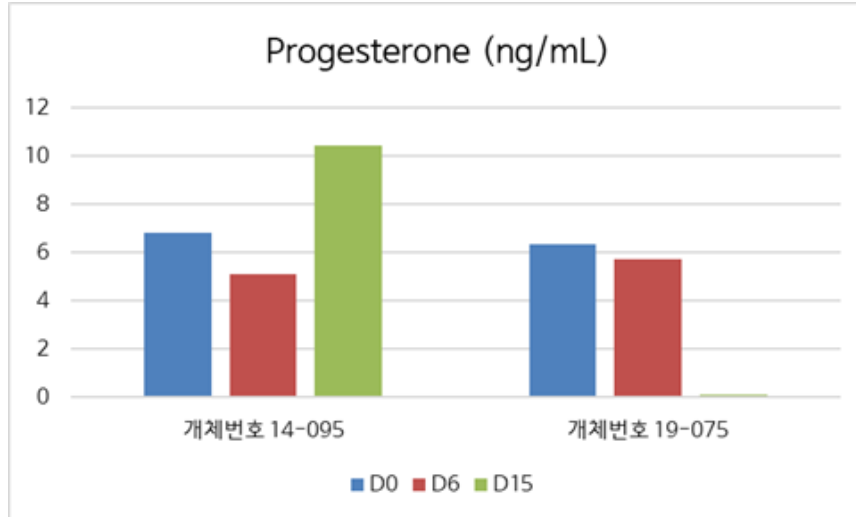


그림 32. 유산한 두 개체의 혈중 프로게스테론 농도(0,6,15일차)

2) 19-075

- 미경산우로 임신 166일령에 백신 접종
- 백신 접종 후 8일차인 22년 5월 4일 16시경 유산 확인
- 임신유지 호르몬인 프로게스테론의 변화 양상으로 확인할 때(백신 투여 후 6일차의 프로게스테론 농도는 저하되지 않음) 유산은 백신투여 직후 발생한 것으로 추정(그림 32)
- 백신 투여 전후 및 유산 확인 시점의 캡슐 모니터링 결과(그림 33)
- 제1위 내 캡슐에서 취득된 데이터에서, 백신 접종 직후 체온이 올랐다가 백신 투여 후 6일차에 회복되는 것을 확인할 수 있음. 그러나 유산 시점으로 추정되는 시기(6~7일차)에 폭이 0.5℃ 이상의 체온변동이 확인됨.
- 제1위 캡슐로 취득된 활동성 데이터 분석 결과, 4일차 전후에서 안정적으로 유지되던 활동성 데이터가 유산이 확인된 시점인 접종 후 8일차에 급격하게 증가하였다가 2일에 걸쳐 감소하는 것을 확인할 수 있음.
- 이를 통해 유산이 발생한 시기에 해당 개체의 신체 상태에 어떠한 변화가 있었음을 추정할 수 있음.

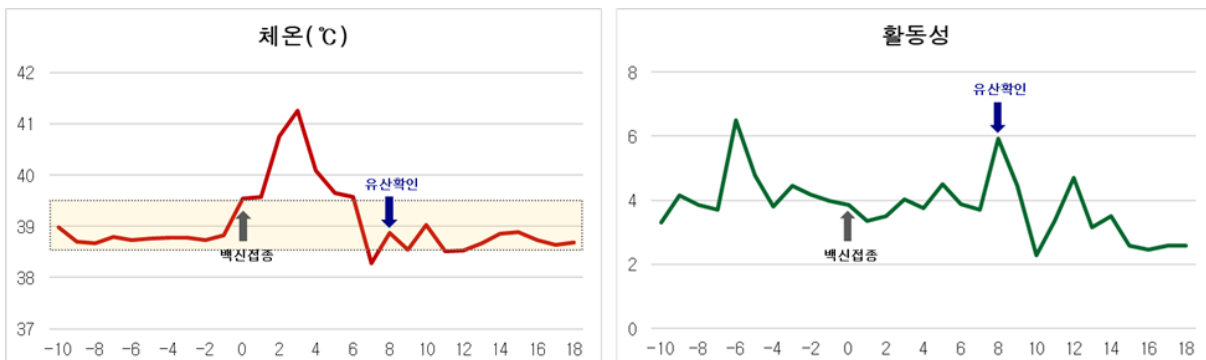


그림 33. 유산한 19-075번의 제1위 내 캡슐 모니터링(체온 및 활동성) 결과

-
- 정확한 유산원인 확인을 위해 유산된 태아를 수거하여 농림축산검역본부 질병진단과에 유산원인 확인을 의뢰하였고, 추가적 검사를 위해 prefemoral lymph node를 채취하여 검사 실시 (그림 34)
 - 병성감정 결과, 태반에서 심한 화농성괴사성 태반염이 확인되었고, 위액, 태반, 폐에서 *Listeria monocytogens*가 분리되었음. 기타 유산을 유발할 수 있는 *Coxiella burnetii*, *Campylobacter fetus*, *Leptospira spp.*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Chlamydophila abortus*, *Neospora caninum*의 유전자는 검출되지 않았고, 항체도 확인되지 않음
 - 바이러스성 유산 원인체인 bovine viral diarrhea virus, bovine herpes virus-1, aino virus, akabane virus, chuzan virus, ibaraki virus의 유전자는 검출되지 않았음
 - 따라서, *Listeria monocytogens*의 감염에 의한 Listeriosis 확진(그림 35)



그림 34. 유산한 19-075번의 prefemoral lymph node 채취

병성감정 결과통지서

접수번호	22AQ0096	접수일자	2022년 05월 06일	접수과	질병진단과
신청인	성명	경상북도축산기술연구소	주소	경상북도 영주시 대룡산로 지상 186	
	업소명		전화번호	054-630-4546	팩스번호 054-638-6013
사육 농장	성명	경북축산기술연구소	농장명	경북축산기술연구소	
	주소	경상북도 영주시 대룡산로 지상 186		전화번호	054-630-4546
의뢰 가검물 내역	축종	소	품종	유산태아	연령
	가검물	수포 0 / 가피 0 / 타액 0 / 상피 0 / 침출수 0 / 환경시료 0 / 생한 0 / 폐사 1 / 혈액 1 / 혈청 1 / 분변 0 / 조직 1 / 기타 0 ()			
검 사 결 과	<p>▶ 부검소견 : CR Length 44cm (166 days), Body Weight 3.2kg</p> <p>▶ 조직병리검사분류 : 일반염색 - 태반: 심한 화농성괴사상태반영, 다수의 세균집락 관찰</p> <p>▶ 세균검사분류 : 균분리및약제검사 1. 시료 : 모축전혈, 모축혈청, 흉수, 위액, 태반, 폐, 신장, 비장, 간, 심장, 근육, 귀, 혀, 뇌 2. 균분리 - 위액, 태반, 폐 : <i>Listeria monocytogenes</i> 분리 3. 유전자검사 - 위액, 태반, 폐, 신장, 비장, 간, 심장, 근육, 귀, 혀, 뇌, 모축전혈 : <i>Coxiella burnetii</i>, <i>Campylobacter fetus</i>, <i>Leptospira</i> spp., <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>, <i>Chlamydophila abortus</i>, <i>Neospora caninum</i> 항원음성 4. 혈청검사 - 모축혈청, 흉수 : <i>Coxiella burnetii</i>, <i>Campylobacter fetus</i>, <i>Leptospira</i> spp., <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>, <i>Chlamydophila abortus</i>, <i>Neospora caninum</i> 항체음성</p> <p>▶ 바이러스검사분류 : PCR 항원검사> 시료번호: 22Q96 (뇌, 폐, 심장, 신장, 간, 비장, 귀, 근육, 혀, 위액, 전혈) 검사질병: <i>Bovine viral diarrhea virus</i>(BVDV), <i>infectious bovine rhinotracheitis</i>(IBR), <i>Aino virus</i>(Aino), <i>Akabane virus</i>(AKAV), <i>Chuzan virus</i>(Chuzan), <i>Ibaraki virus</i>(Ibaraki), 검사방법: PCR 검사결과: BVDV, IBR, Aino, AKAV, Chuzan, Ibaraki 음성 항체검사> 시료번호: 22Q96 (모축혈청, 흉수) 검사질병: BVDV, IBR, AKAV 검사결과: 모축혈청: BVDV 양성, AKAV 양성, IBR 음성 흉수: BVDV, IBR, AKAV 음성</p> <p>*종합소견: 리스테리아증으로 진단합니다.</p>				
	진단	리스트테리아증 (listeriosis)			

* 이 성적은 검사의뢰한 시료에 한한 것임

2022년 05월 30일

농 립 축 산 검 역 본 부 장



그림 35. 유산한 19-075번의 유산 원인에 대한 병성감정 결과통지서

○ 한우 임신 초기 중 구제역 백신접종에 따른 부작용 사례분석

① 시험 개시

- 2022년 7월 19일 구제역 백신 투여

② 실험군(표 12)

- 최초 배정된 50두에서 투여 전 임신 감정에서 6두가 미임신으로 판정되어 외산백신 군에서 제외

표 12. 임신 초기 구제역 백신접종 실험군

군	n	Ear tag ID	자체 ID	월령	산차	백신접종 임신일령	유산 여부	비고
대조군 (생리식염수)	5	002103845860	15-076	83.0	3	68		
		002144626827	19-089	33.7	0	46		
		002156766252	21-021	16.8	0	74		바이오캡슐
		002156689146	21-013	17.0	0	74		바이오캡슐
		002156689187	21-016	16.9	0	74		바이오캡슐
대조군 (Vehicle)	5	002127939892	18-037	51.6	2	68		바이오캡슐
		002103923979	C-020	79.3	3	68		
		002156689195	21-017	16.8	0	74		바이오캡슐
		002162854836	21-075	15.3	0	74		바이오캡슐
		002156766308	21-026	16.6	0	74		바이오캡슐
국산 FMD 백신	20	002161096578	21-002	17.2	0	74		바이오캡슐
		002161096633	21-007	17.1	0	74		바이오캡슐
		002156770691	21-040	16.4	0	74		바이오캡슐
		002161096594	21-004	17.2	0	74		
		002156766293	21-025	16.6	0	74		
		002156770714	21-042	16.3	0	74		
		002156766357	21-031	16.5	0	74		
		002156770722	21-043	16.3	0	74		
		002162315011	21-053	16.1	0	74		
		002162315095	21-061	15.8	0	74		
		002090176905	14-051	98.7	6	54		
		002121956271	17-059	58.8	3	54		
		002147851740	20-003	29.1	1	54		
		002136868842	19-004	41.1	1	68		바이오캡슐
		002144632882	19-106	33.2	1	68		바이오캡슐
		002092758202	14-067	94.8	5	54		
		002137365854	19-018	40.8	2	54		바이오캡슐
002137366017	19-033	40.5	2	54				
002147853165	20-008	29.2	1	54				
002150839392	20-067	27.8	1	54				
외산 FMD백신 (고려BNP)	14	002113640956	구-434	66.9	3	46		바이오캡슐
		002157002339	20-084	22.8	0	68		바이오캡슐
		002157004658	20-097	22.5	0	68		바이오캡슐
		002157011227	20-116	22.0	0	68		바이오캡슐
		002157014864	20-132	21.5	0	68		바이오캡슐
		002157014952	20-139	21.3	0	68		바이오캡슐
		002147853204	20-011	28.9	0	68		바이오캡슐
		002157014901	20-136	21.3	0	68		바이오캡슐
		002147853157	20-007	29.0	0	54		바이오캡슐
		002149312520	20-047	28.4	0	54		바이오캡슐
		002093603890	구-411	95.0	5	54		
		002133423016	18-070	46.9	2	54		
		002144632962	19-114	32.9	1	54		
		002137365991	C19-001	40.6	1	54		유산

③ 채혈

1) 시기 : 접종 전, 접종 후 1, 3, 6, 10, 15일

2) 혈액 검사 실시

- 총혈구수 검사(Complete blood count) 결과 분석(그림 36)

- 임신 초기에 해당하는 한우 44두에 구제역 백신 접종 후 혈액 내 총 혈구수 분석 결과, 외산 FMD 백신 접종 군과 국산 FMD 백신 접종 군에서 접종 후 3일차까지 유의하게 높은 White blood cell과 neutrophil 수치를 확인함.

- Neutrophil의 경우 백신접종군 뿐 아니라, vehicle만 접종한 군에서도 투여 후 1일차에서 0일차에 비해 유의하게 높은 수치를 보임.

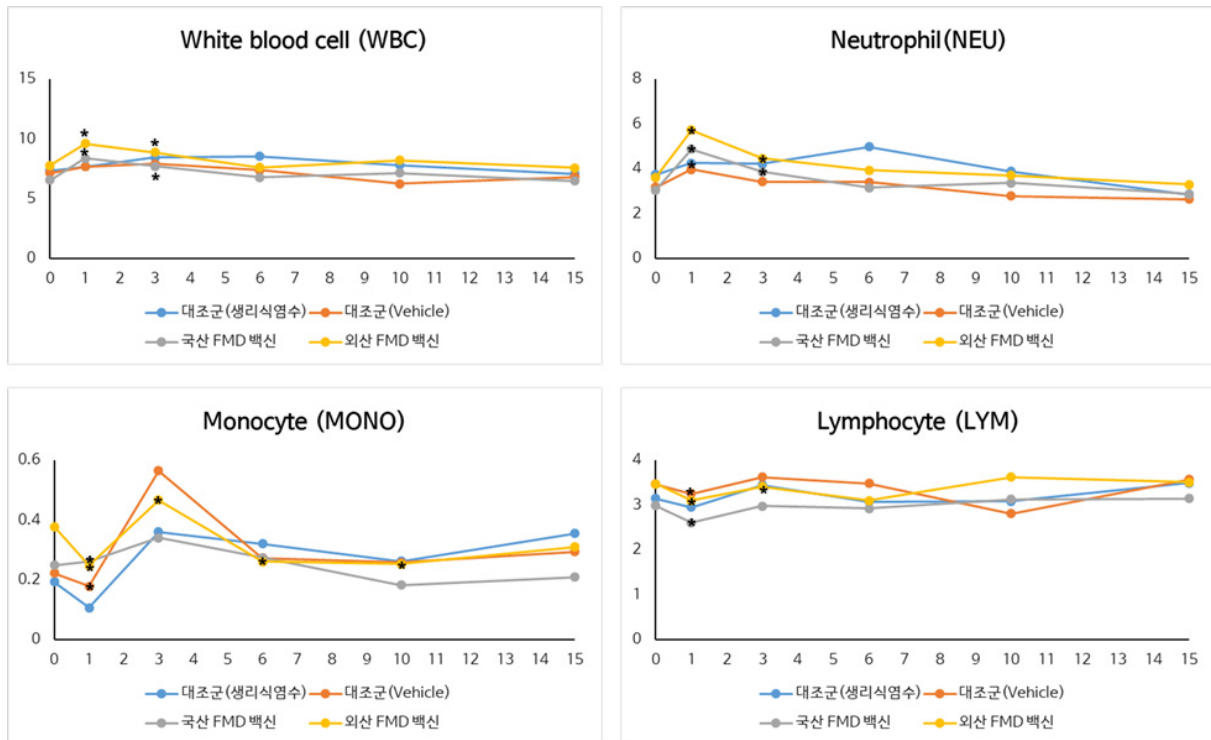


그림 36. 임신 초기 총혈구수 분석 결과 비교 그래프

- Acute phase proteins : haptoglobin 및 SAA ELISA 분석 (그림 37)

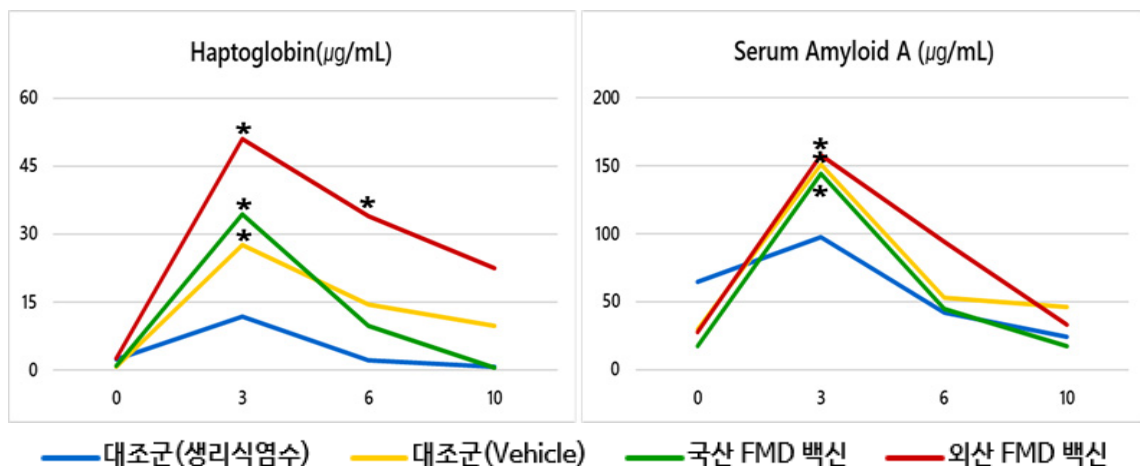


그림 37. 임신 초기 급성 염증기 단백질 분석 결과 비교 그래프

- 백신 투여 후 3일차에 vehicle 투여군과 국산 FMD 백신 접종군, 외산 FMD 백신 접종군 모두 투여 전에 비해 유의하게 높은 haptoglobin과 serum amyloid A 수치를 확인함.
- 외산 FMD 백신 접종군은 투여 후 6일차까지 유의하게 높은 haptoglobin 수치를 보였으며, 다른 실험군에 비해 현저하게 높은 수치까지 haptoglobin이 증가함.


병성감정 결과통지서						
접수번호	22AQ0207	접수일자	2022년 09월 30일	접수과	질병진단과	
신청인	성명	경상북도축산기술연구소	주소	경상북도 영주시 대룡산로 지상 186		
	업소명		전화번호	054-630-4546	팩스번호	
사육농장	성명	경북축산기술연구소	농장명	경북축산기술연구소		
	주소	경상북도 영주시 대룡산로 186		전화번호	054-638-6012	
의뢰가검물내역	축종	소	품종	한우		일령
	가검물	수포 0 / 가피 0 / 타액 0 / 상피 0 / 침출수 0 / 환경시료 0 / 생환 0 / 폐사 1 / 혈액 1 / 월침 1 / 분변 0 / 조직 0 / 기타 0 ()				
검사결과	<p>▶ 부검소견 : CR Length 30 cm (128 days), Body Weight 1.04 kg 특이병변 없음</p> <p>▶ 조직병리검사분류 : 일반염색 - 특이소견없음</p> <p>▶ 바이러스검사분류 : PCR 항원검사> 시료번호: 22Q207 (뇌, 태반, 폐, 심장, 신장, 간, 비장, 귀, 근육, 혀, 위액, 모축전혈) 검사질병: Bovine viral diarrhea virus(BVDV), Infectious Bovine Rhinotracheitis(IBR), Aino virus(Aino), Akabane virus(AKAV), Chuzan virus(Chuzan), Ibaraki virus(Ibaraki) 검사방법: PCR 검사결과: BVDV, IBR, Aino, AKAV, Chuzan, Ibaraki 음성 항체검사> 시료번호: 22Q207 (모축혈청, 흉수) 검사질병: BVDV, BHV-1, AKAV 검사결과: 모축혈청: BVDV 양성, BHV-1 음성, AKAV 양성 흉수: BVDV 음성, BHV-1 음성, AKAV 음성</p> <p>▶ 세균검사분류 : 균분리및약제검사 1. 시료 : 흉수, 위내용물, 폐, 신장, 비장, 간, 심장, 근육, 귀, 혀, 뇌 2. 균분리 : <i>Listeria monocytogenes</i> 및 병원성 세균 미분리 3. 유전자검사 - 위내용물, 폐, 신장, 비장, 간, 심장, 근육, 귀, 혀, 뇌 : <i>Coxiella burnetii</i>, <i>Campylobacter fetus</i>, <i>Leptospira</i> spp., <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>, <i>Chlamydophila abortus</i>, <i>Neospora caninum</i> 항원 불검출 4. 혈청검사 - 흉수 : <i>Leptospira</i> spp., <i>Brucella abortus</i>, <i>Coxiella burnetii</i>, <i>Chlamydophila abortus</i>, <i>Neospora caninum</i> 항체 음성</p> <p>*종합소견: 원인미상유산으로 진단합니다.</p>					
진단	원인미상유산(unknown abortion)					
* 이 성적은 검사의뢰한 시료에 한한 것임						
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>2022년 10월 24일</p> <p>농 립 축 산 검 역 본 부 장</p> </div> <div style="text-align: right;">  </div> </div>						

그림 38. 유산한 19-075번의 유산 원인에 대한 병성감정 결과통지서

- ④ 유산 개체 원인 분석
 - 1) C19-001

- 1산차의 임신 54일령에 외산구제역 백신을 접종한 개체에서 22년 9월 29일 유산확인(백신 접종 후 72일차)
- 백신 접종 직후 과민반응이 확인되지 않았던 개체였고, 유산이 확인되기까지 특이한 임상증상 확인되지 않았음
- 백신 투여 후 70일 이상 지난 후 유산이므로 백신투여와는 관련이 없을 것으로 판단하였으나, 농림축산검역본부에 부검 의뢰
- 병성감정 결과, 조직검사상 특이 소견 없었음. 바이러스성 유산 원인체인 bovine viral diarrhea virus, bovine herpes virus-1, aino virus, akabane virus, chuzan virus, ibaraki virus의 유전자는 검출되지 않았음
- 항체검사서 모축 혈청에서 BVDV 항체가 확인되었으나, 태아에서는 확인되지 않음
- 기타 유산을 유발할 수 있는 세균성 원인체인 *Listeria monocytogens*, *Coxiella burnetii*, *Campylobacter fetus*, *Leptospira spp.*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Chlamydia abortus*, *Neospora caninum*의 유전자는 검출되지 않았고, 항체도 확인되지 않음
- 따라서, 원인 불명에 의한 유산으로 진단(그림 38의 병성감정결과서통지서 참조)

○ 한우 임신 말기 중 구제역 백신접종에 따른 부작용 사례분석

① 시험 개시

- 임신말기의 시험개체를 한꺼번에 모집하여 실험하기에는 무리가 있어 나눠서 실험을 실시할 것으로 계획함
- 따라서 2022년 8월 2일 일부 개체에 대해 1차로 구제역 백신 투여 실시. 2차는 2023년 봄의 구제역 백신 일제접종시기에 실시하기로 함
- 하지만, 2023년 5월 충북지방을 중심으로 구제역이 발생하여 실험이 중단되어, 하반기로 연기됨. 하지만, 하반기 일제 접종 시기에 전국적인 Lumpy skin disease의 발생으로 실험이 중단됨.
- 결국, 계획(50두) 대비 20두에 대해서만 실험 실시하였음. 외산구제역 백신을 접종한 군은 lumpy skin disease백신 접종으로 인해 데이터의 교란으로 결과 작성에서 제외함.

② 실험군(표 13)

표 13. 임신 말기 구제역 백신접종 실험군

군	n	Ear tag ID	자체 ID	월령	산차	백신접종 임신일령	유산 여부	비고
대조군 (생리식염수)	5	002140739700	3970	39.2		193		
		002129350439	5043	51.2		207		
대조군 (Vehicle)	5	002157524081	2408	20.5		228		
		002129356958	5695	51.6		207		
		002107673011	7301	76.8		228		
국산 FMD 백신	10	002126911543	1154	52.6		242		
		002126920697	2069	53.2		242		
		002149624237	2423	29.1		222		
		002141731542	3154	36.9		228		
		002137240864	4086	41.0		228		
		002312244352	4435	41.0		228		
		002147347490	4749	30.4		222		
002152260205	6020	27.2		222				

	002152260859	6085	27.1		222		
	002121191758	9175	58.4		228		

③ 채혈

1) 시기 : 접종 전, 접종 후 1, 3, 6, 10, 15일

2) 혈액 검사 실시

- 총혈구수 검사(Complete blood count) 결과 분석(그림 39-1, 39-2)

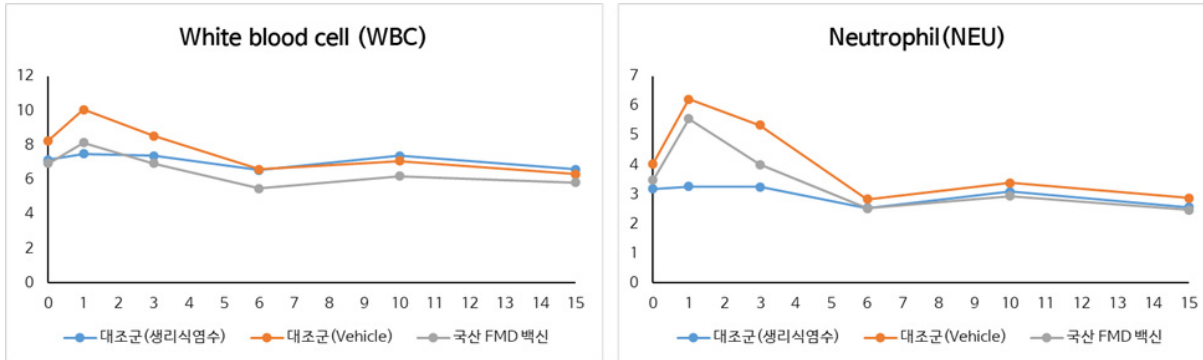


그림 39-1. 임신 말기 총혈구수 분석 결과 비교 그래프

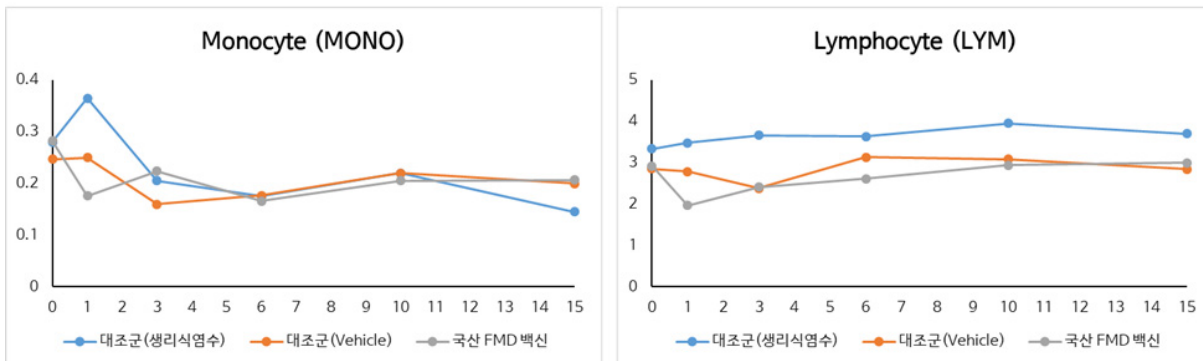


그림 39-2. 임신 말기 총혈구수 분석 결과 비교 그래프

- 임신 말기 구제역 백신접종에 따른 부작용 사례 분석을 위한 실험 결과, 실험 대상 우군의 규모가 작아 통계적인 결과를 얻기는 어려움이 있음.

- 그러나 vehicle 투여군과 국산 FMD 백신 접종군 모두 0일차에 비해 1일차에 neutrophil이 급격히 증가했다가 감소하는 것을 그래프상으로 확인할 수 있음.

- Acute phase proteins : haptoglobin 및 SAA ELISA 분석 (그림 40)

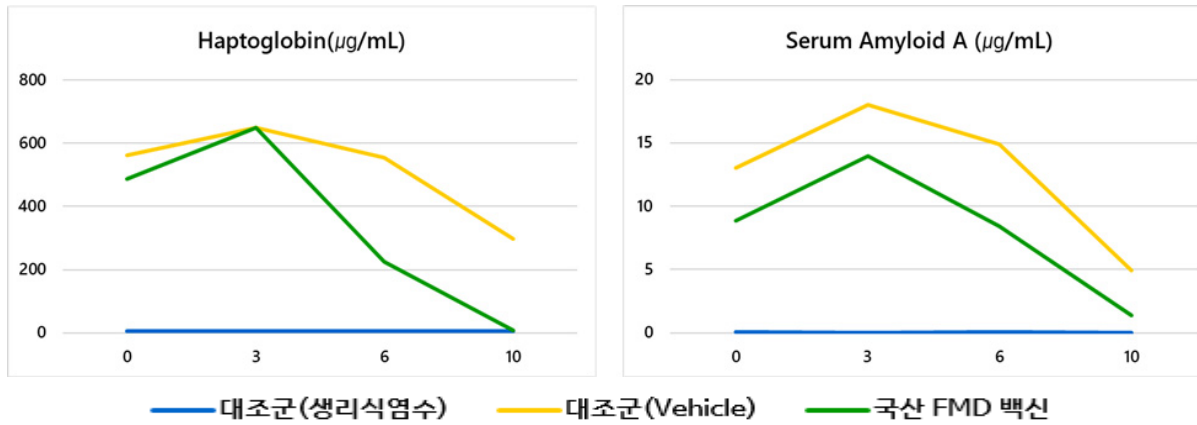


그림 40. 임신 말기 급성 염증기 단백질 분석 결과 비교 그래프

- 급성 염증기 단백질의 경우도 마찬가지로 3일차에 vehicle을 투여한 대조군과 국산 FMD 백신 투여군에서 증가하는 것을 확인할 수 있음.

④ 유산 개체 원인 분석

1) 임신말기 한우에 구제역 백신을 접종한 결과, 유산은 확인되지 않았음

○ 백신 종류에 따른 급성 면역반응의 차이

① 시험 이유

- 백신 종류에 따라 급성면역반응의 정도의 차이가 있는가를 확인하기 위해 실시
- 임신 말기 실험 중단의 이유인 lumpy skin disease 백신 접종에 따른 채혈 샘플을 이용

② 실험계획

- 실험군: 총 17두(외산 구제역 백신 5두, LSD 백신 6두, 구제역 및 LSD 동시 백신 접종 6두)
- 채혈: 채혈 전, 채혈 후 3, 6, 10일에 실시
- 실험 항목: Acute phase proteins (Haptoglobin, serum amyloid A)
- 통계분석: two-way repeated measure ANOVA, Bonferroni *t*-test

③ 실험결과: (Vaccines 2024, 12, 556.에 24년 5월 19일에 출간)

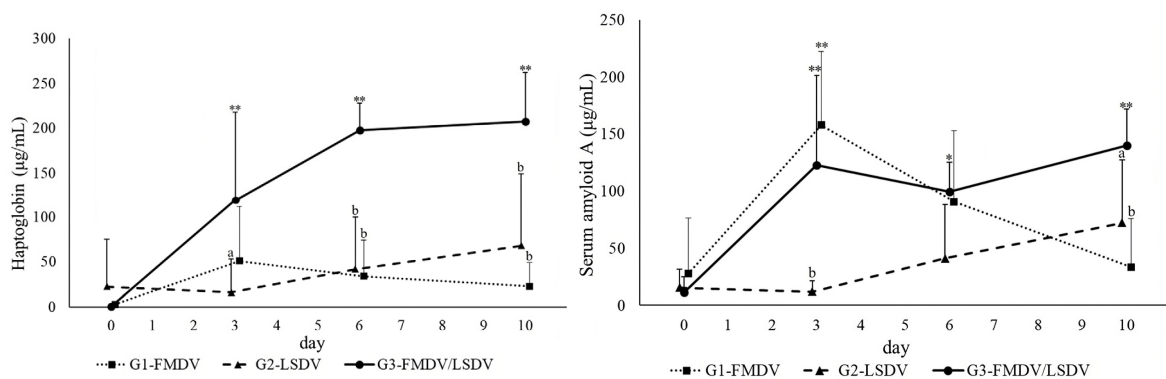


그림 40-1. 구제역 백신접종, LSD 백신접종 및 동시 접종에 따른 급성 염증기 단백질 변화

Data are expressed as means \pm standard deviation. A significant difference at each time point is noted for day 0 (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.001$), and a significant difference in G1-FMDV and G2-LSDV is observed in comparison with G3-FMDV/LSDV (control) (a, $p < 0.05$; b, $p < 0.001$). G1-FMDV, the group with FMD vaccine administration; G2-LSDV, the group with LSD vaccine administration; G3-FMDV/LSDV, simultaneous vaccination with FMD and LSD.

Serum Amyloid A					
Source	DF	SS	MS	F-Ratio	p-Value
GROUP	2	43,101.063	21,550.531	6.576	0.010
TIME	3	61,193.208	20,397.736	12.107	<0.001
GROUP × TIME	6	67,421.821	11,236.970	6.670	<0.001
Haptoglobin					
Source	DF ¹	SS ²	MS ³	F-ratio	p-value
GROUP	2	151,889.219	75,944.610	19.184	<0.001
TIME	3	85,499.298	28,499.766	13.034	<0.001
GROUP × TIME	6	86,930.508	1448.842	6.626	<0.001

¹ DF, degree of freedoms; ² SS, sum of squares; ³ MS, mean squares.

그림 40-2. 급성 염증기 단백질 변화의 통계분석

- 구제역 백신을 접종군은 접종 후 3일에 피크, 이후 감소하여 투여 후 10일에는 0일 수준으로 회복함(그림 40-1). LSD 백신 접종군은 투여 후 6일부터 유의하게 증가하고 접종 후 10일에 피크. 동시접종군은 투여 후 3일에 유의하게 증가, 투여 후 10일에도 증가된 상태를 유지함. 이는 초기의 증가는 구제역 백신의, 이후 증가는 LSD 백신에 의한 것으로 추정됨
- 백신 종류에 따른 급성면역반응의 정도는 차이는 확인되지 않았음.

○ 서울대학교 산학협력단 연구 결과 요약

1) 유산원인

- 총 84두에 대해 국산(50두) 및 외산(34두) 구제역 백신접종이 이루어졌고 유산이 3건 발생하였으나(유산율 3.49%), 이 중 백신접종에 의한 것으로 추정되는 경우는 없었음(Listeriosis에 의한 유산 1건, 원인불명 유산 2건)(표 13-1)
- 구제역 백신 접종에 따른 유산의 발생은 백신 자체의 문제 및 접종과정 중 발생하는 스트레스의 상승에 따른 것으로 추정됨. 하지만, 이번 실험에서 백신 자체의 문제로 발생한 건은 없었음
- 백신 접종 과정에서의 스트레스를 저감하는 접종방법, 즉, 농림축산식품부에서 고지한 구제역백신 접종 요령에 따라 1두 1침 접종, 개체의 성질에 따라 스탠치온에 보정 후 근육주사를 실시, 접종부위의 소독, 접종과정에서 무리한 자극 방지 등을 적용하면 백신 접종에 따른 부작용 낮출 수 있을 것으로 판단됨

표 13-1. 총 유산 발생 원인 분석 결과

시기	국산 백신	외산 백신	대조군 (Vehicle)	대조군 (NS)	유산원인
임신초기	20	14(1)	5	5	투여 후 72일 원인불명
임신중기	20(2)	20	5	5	투여 후 8일 리스테리아증, 투여 후 60일 원인불명
임신말기	10	-	5	5	
총	50(2)	34(1)	15	15	3

2) 혈액검사 결과

- 백신접종에 따라 면역계 반응으로 백혈구의 증가가 보이고, 급성기면역 단백질의 증가가 확인됨
- 모든 구제역 백신이 항체 생성을 위한 면역반응을 유발하는 것으로 확인됨
- 급성면역반응의 정도는 외산백신에 비해 국산 백신이 낮은 경향이 있으나, 이는 adjuvant의 차이에 의한 것으로 판단됨

○ 농림축산검역본부

○ 백신접종 시기에 따른 면역반응 유도 효과 비교

① 연구목표

- 국내 제작 백신과 외산백신의 효능평가를 비교하고 임신시기별 접종에 따른 항체가 조사하기 위함.

② 실험군

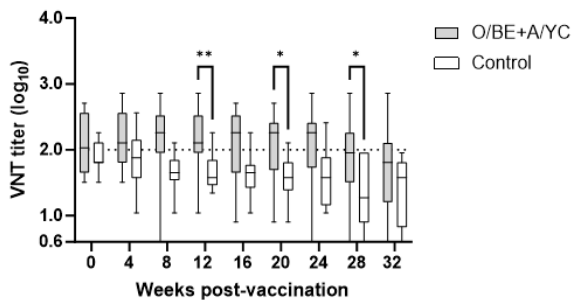
- 임신우의 임신초기(임신 54-74일)에 구제역백신을 접종(국산백신: O/BE+A/YC 20두, 외산백신: O/M3+A/IQ 20두, `22.7월)하고 4주 간격으로 32주까지 채혈이 완료됨.
- 임신우의 임신중기(임신 124-166일)에 구제역백신을 접종(`22.4월)하고 실험군 전부(국산백신 20두, 외산백신 20두)를 4주간격으로 20주까지(분만전) 채혈이 완료됨.
- 임신말기 백신접종군 일부(국산백신 10두)에 대해서 4주간격으로 8주까지(분만전) 채혈이 완료됨.
- 비임신우에 대해서도 백신접종후 임신중기 백신접종군과 같은 날짜에 채혈하였음.
- 대조군으로 백신보좌제와 식염수를 접종한 대조군에 대해서도 채혈함.

③ 중화항체가 조사 결과

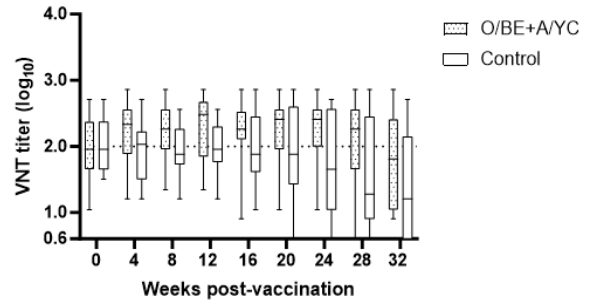
1) 임신초기 백신접종(그림 41)

- 전체적으로 초기의 높은 중화항체가로 인하여 백신접종군과 대조군간의 통계적 유의적 차이는 O/BE에 대한 중화항체가 관찰이외에는 확인이 되지 않음.
- 하지만, 백신접종군의 중앙값(median)과 사분범위(Interquartile range, IQR)은 대조군에 비해 높게 형성되고 오랫동안 2.0 VNT(log₁₀)이상 유지됨이 확인됨.

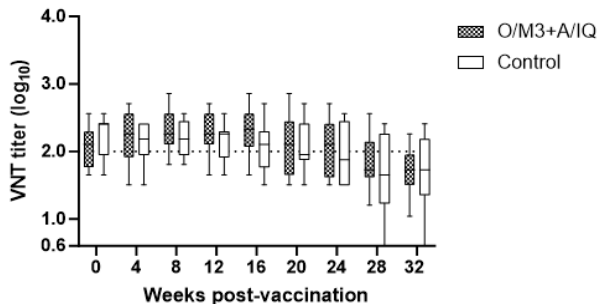
(A) 국산백신 O항원



(B) 국산백신 A항원



(C) 외산백신 O항원



(D) 외산백신 A항원

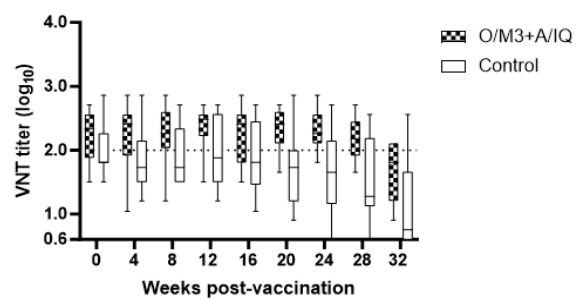


그림 41. 임신초기 백신접종에 따른 분만전까지 4주 간격 항체가 변화. (A) 국산백신 O항원, (B) 국산백신 A항원, (C) 외산백신 O항원, 그리고 (D) 외산백신 A항원에 대한 중화항체역가

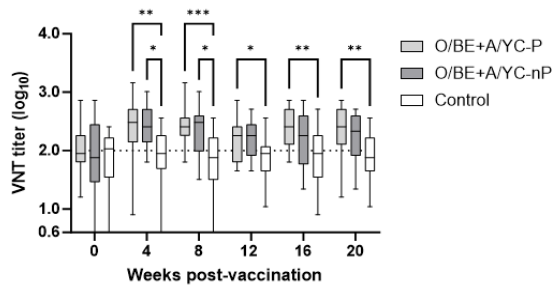
2) 임신중기 백신접종(그림 42)

- 국산백신 접종군은 전체적으로 높은 초기항체에도 불구하고 접종후 대조군과의 통계적 유의하게

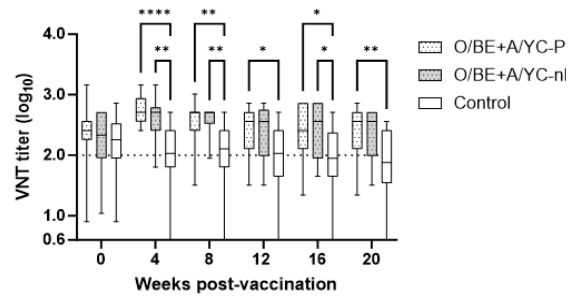
차이가 나는 항체가 형성을 보였음.

- 임신여부에 따른 항체가의 차이는 관찰되지 않음.

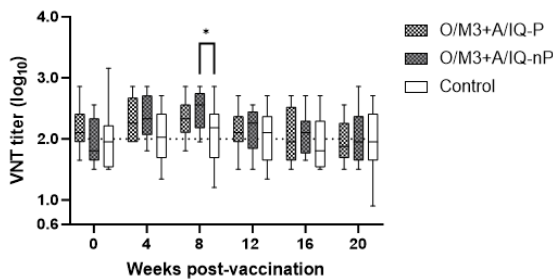
(A) 국산백신 O항원



(B) 국산백신 A항원



(C) 외산백신 O항원



(D) 외산백신 A항원

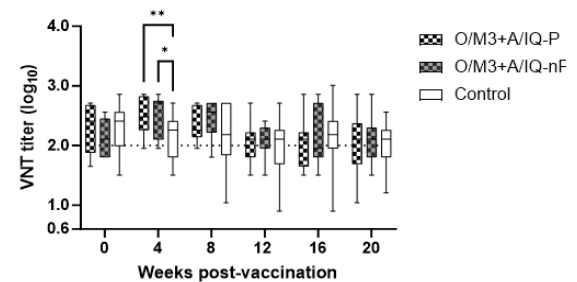
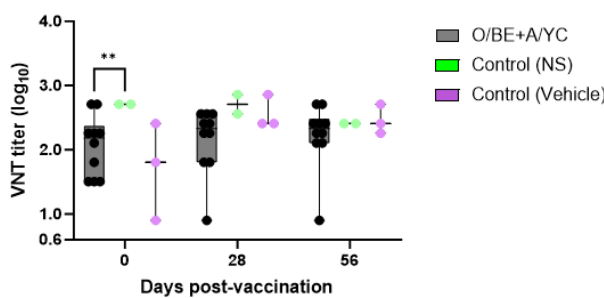


그림 42. 임신중기 백신접종에 따른 분만전까지 4주 간격 항체가 변화. (A) 국산백신 O항원, (B) 국산백신 A항원, (C) 외산백신 O항원, 그리고 (D) 외산백신 A항원에 대한 중화항체역가

3) 임신말기 백신접종(그림 43)

- 임신말기 실험의 경우, 임신우에서의 부작용 발생 소지로 인하여 적은 개체로 실험하였고, 임신초기와 중기의 실험 기간과 비교하면 조사 기간이 짧고, 군내 초기항체가 다양한 수준으로 분포되어 백신 접종 여부에 따른 차이가 확인하기 힘들.

(A) 국산백신 O항원



(B) 국산백신 A항원

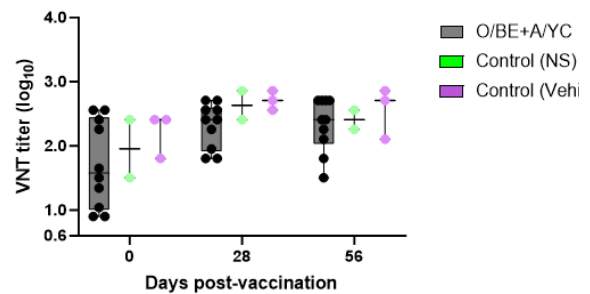


그림 43. 임신말기 백신접종에 따른 분만전까지 4주 간격 항체가 변화. (A) 국산백신 O항원과 (B) 국산백신 A항원에 대한 중화항체역가

○ 구제역 백신 접종시기에 따른 임신우의 송아지에서의 중화항체가 감소 확인

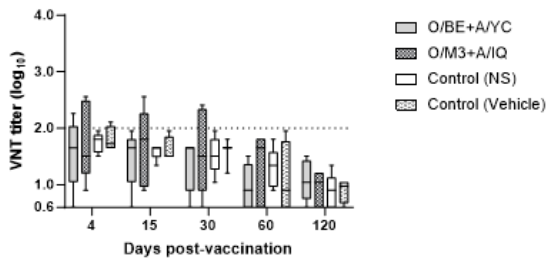
① 연구목표

- 국산과 외산 구제역백신 접종 임신우의 송아지에서의 중화항체가의 변화확인

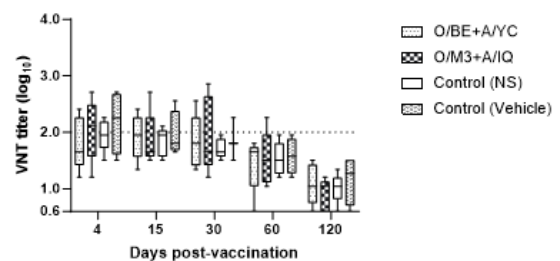
② 실험군

- 각 임신 중기와 말기 백신접종군에서 태어난 송아지 5두씩에 대해서도 모체이행항체의 변화를 조사하기 위하여 초기 생후 4일 14일 이후 30일 간격으로 120일째까지 채혈이 완료됨.
 - 임신말기 구제역백신 접종 임신우의 송아지는 조사 기간중에 구제역백신을 추가 접종하여 검사 결과에서 제외함.
- ③ 중화항체가 조사 결과(그림 44)
- 국산 백신 0항원에 대한 중화항체는 초기부터 중앙값이 2.0 VNT(\log_{10})에 이르지 못하였으나, 외산 백신 0항원의 항체는 백신접종개체에 대하여 60일경 이후에 2.0 VNT(\log_{10}) 미만으로 감소함.
 - 이는 모우에서의 외산백신에 대한 초기항체의 중앙값이 2.0 VNT(\log_{10}) 이상임을 볼 때, 계속된 외산백신의 반복접종에 따른 것으로 판단됨.

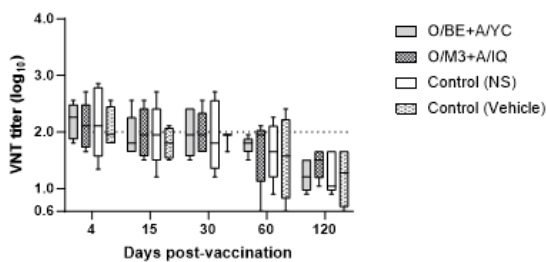
(A) 국산백신 0항원



(B) 국산백신 A항원



(C) 외산백신 0항원



(D) 외산백신 A항원

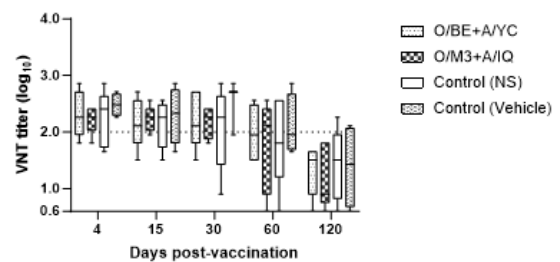


그림 44. 임신중기 백신접종 임신우의 자우에서 백신접종 120일까지 항체가 조사. (A) 국산백신 0항원, (B) 국산백신 A항원, (C) 외산백신 0항원, 그리고 (D) 외산백신 A항원에 대한 중화항체역가

○ 면역보좌제 개선 백신(Emulsigen D 함유)의 면역반응 조사

① 연구목표

- 개선된 면역보좌제에 대한 소에서의 면역반응을 확인하기 위함.

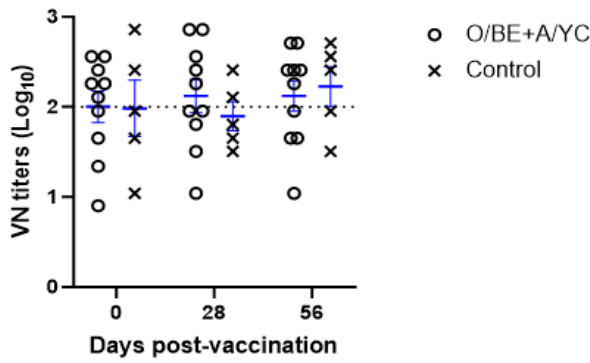
② 실험군

- 백신을 맞지 않은 송아지 25두에 대해 국산백신 10두, 외산백신 10두, 콘트롤 5두

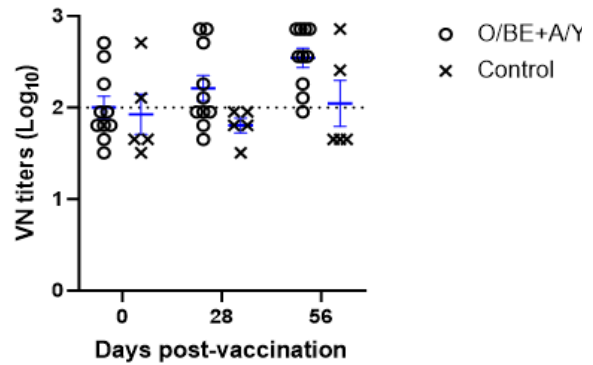
③ 중화항체가 조사 결과(그림 45)

- 모든 군에서 백신접종 초기 중화항체가 높아 백신접종에 따른 중화항체의 통계학적 유의한 수준의 차이가 관찰되지 않음.
- 다만, 백신접종 개체의 개별 중화항체가 접종 4주이후와 재접종 4주 이후에 2.0 VNT(\log_{10}) 이상으로 점진적 상승이 관찰되어 면역보좌제 개선 백신의 면역유도를 확인할 수 있음.

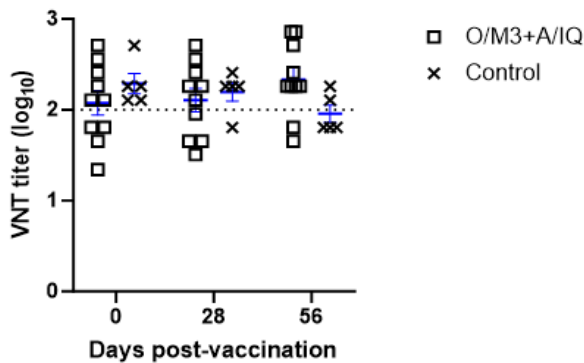
(A) 국산백신 O항원



(B) 국산백신 A항원



(C) 외산백신 O항원



(D) 외산백신 A항원

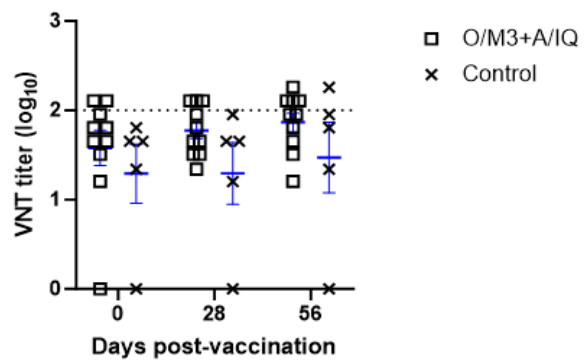


그림 45. 면역보좌제 개선백신의 4주간격 백신접종 56일까지 항체가 조사. (A) 국산백신 O항원 (B) 국산백신 A항원, (C) 외산백신 O항원, 그리고 (D) 외산백신 A항원에 대한 중화항체역가

○ 농림축산검역본부 연구 결과 요약

1) 백신접종 시기에 따른 면역반응 유도 효과 비교

- 본 연구에서는 실험 대상우에서의 백신접종군과 대조군간의 중화항체역가의 통계적 유의성은 전체 접종 기간의 일부에서만 확인됨. 그러나 각 실험군의 중앙값과 사분범위에서 접종군과 대조군간의 전반적인 차이가 관찰되었음.
- 임신초기와 중기에 백신을 접종한 시험백신 접종군은 상용백신 접종군과 비교시 동등 이상의 유효성이 확인되어 국산 구제역 백신의 야외 한우에서의 활용 가능성을 확인함.
- 본 연구에서는 임신우와 비임신우간의 백신접종에 따른 중화항체가 항체역가 변화의 차이는 관찰되지 않음.

2) 구제역 백신 접종 시기에 따른 임신우의 송아지에서의 중화항체가 감소 확인

- 본 연구에서는 송아지에서 초기 모체이행항체는 모우의 접종한 백신종류 및 백신접종 여부와 관계없이 외산 백신 O항원에 대해서는 중앙값이 2.0 VNT(log₁₀)에 이르렀으나 국산 백신 O항원에 대해서는 2.0 VNT(log₁₀)에 이르지 못함.
- 이러한 초기 모체이행항체의 차이는 모우에 대한 외산 백신의 지속적인 반복 접종에 의하여 외산 백신 항원에 대한 항체역가가 높게 형성된 결과로 판단되며, 이러한 이유로 접종군과 대조군의 모체이행항체의 변화에 대한 유의적 차이가 관찰되지 않는 것으로 판단됨.

3) 면역보조제 개선 백신(Emulsigen D 함유)의 면역반응 조사

- 본 연구에서 면역보조제 개선 백신의 중화항체가 접종 4주이후와 재접종 4주이후에 2.0 VNT(log₁₀) 역가 이상으로 점진적 상승이 관찰되어 개선 백신의 면역유도를 확인함.

○ 전남대학교 산학협력단(전 경상북도 축산기술연구소)

○ 한우 번식우에서 국산/외산 구제역 백신접종에 따른 번식성적 비교분석

① 연구목표

- 국산 및 외산 구제역 백신 접종에 따른 한우 암소의 배란지연 및 수태율 비교분석
- 백신접종 후 인공수정에 따른 일반혈액검사 및 급성면역반응 인자 비교분석

② 공 시 측 : 한우 암소 306두(12개월 이상, 비임신우)

- Control : 38두, Vehicle : 40두, 국산 FMD백신 접종 : 111두, 외산 FMD백신 접종 : 117두

③ 연구결과

- 국산 및 외산 구제역 백신 접종에 따른 한우 암소의 배란을 비교 분석(그림 46, 표 14-1) 결과, 인공수정 후 1일차의 배란율은 대조군에 비해 국산 및 외산 백신 접종군에서 유의하게 감소하였고, 4일차에는 그룹간의 차이는 확인되지 않음. 국산 구제역백신군과 외산 구제역 백신군 간의 차이는 chi-square test 결과 P=0.106으로 유의한 차이는 없었음
- 국산 및 외산 구제역 백신 접종에 따른 한우 암소의 수태율 비교분석(표 14) 결과, 그룹간의 유의한 차이는 확인되지 않았으나, 외산 백신 접종군의 경우 대조군에 비해 수태율이 저하되는 경향을 보임(P=0.084)
- 즉, 국산 구제역 백신의 경우 외산 구제역 백신에 비해서 배란지연 효과가 낮은 경향을 보였으나, 수태율은 상대적으로 높았음

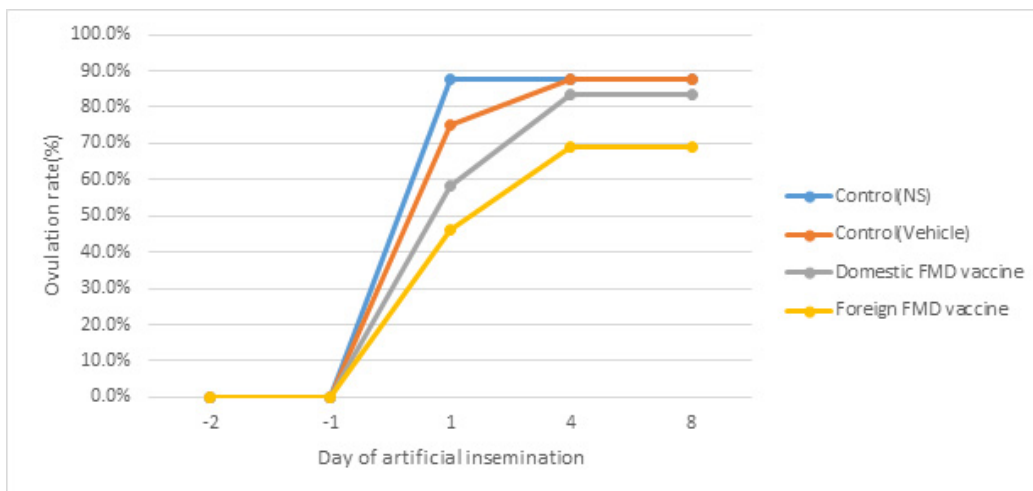


그림 46. 구제역 백신접종에 따른 배란율 비교

표 14. 구제역 백신접종에 따른 한우 암소의 수태율 비교

Group	No. of pregnant cows	Total	Pregnancy rate(%)	chi-square analysis* (P)
Control (NS)	21	38	55%	-
Control (Vehicle)	20	40	50%	0.812
Domestic FMD vaccine	47	111	42%	0.233
Foreign FMD vaccine	44	117	38%	0.084
Total	135	306	44%	-

표 14-1. 구제역 백신접종에 따른 한우 암소의 배란을 비교

Group	ovulation rate at +1d (%)	chi-square analysis* (P)	ovulation rate at +4d (%)	chi-square analysis (P)
Control (NS)	85.7 (18/21)	-	85.7 (18/21)	-
Control (Vehicle)	75.0 (15/20)	0.638	85 (17/20)	1.000
Domestic FMD vaccine**	57.4 (27/47)	0.046	83 (39/47)	0.942
Foreign FMD vaccine	45.5 (20/44)	0.005	68.2 (30/44)	0.229
Total	60.6 (80/132)	0.008	78.8 (104/132)	0.211

* chi-square analysis는 각 군을 Control (NS) 그룹과 비교한 결과임

** Domestic vs. Foreign FMD Vaccine 그룹간의 결과는 P = 0.106

○ 구제역 백신 접종에 대한 면역반응 및 염증 지표분석

① 연구목표

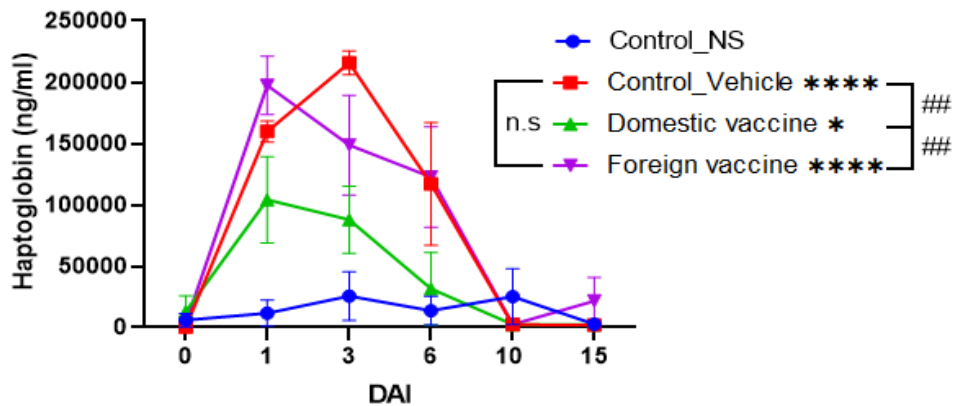
- 구제역 백신 접종이 염증반응 및 급성면역반응에 관련된 혈청학적 면역지표에 미치는 영향 분석

② 공 시 측 : 한우 암소 20두(12개월 이상, 비임신우)

- Control : 5두, Vehicle : 5두, 국산 FMD백신 접종 : 5두, 외산 FMD백신 접종 : 5두

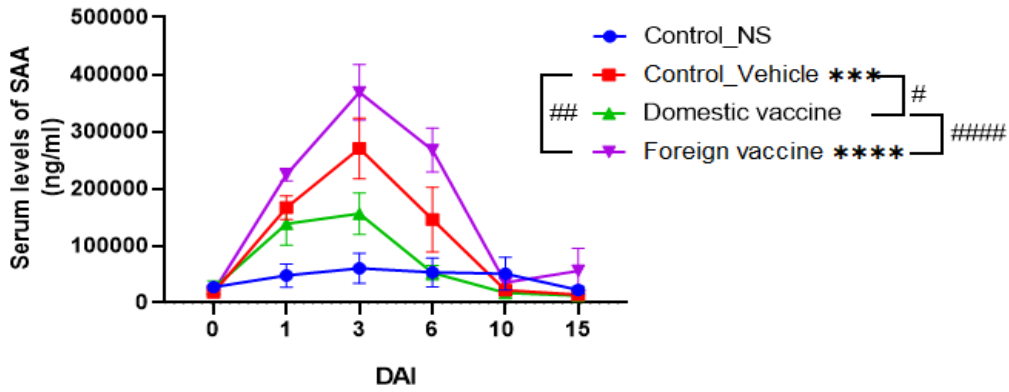
- 구제역 백신 접종 0, 1, 3, 6, 9, 15일간 급성면역반응인자 분석(haptoglobin, SAA)

③ 연구결과(그림 47, 48)



Data are presented as mean values ± SEM. Statistical differences was evaluated by two-way ANOVA with Sidak's post hoc test performed using GraphPad Prism 9.0. *p < 0.05, ****p < 0.0001 when compared with negative control and ##p < 0.01 (n=5).

그림 47. 구제역 백신접종에 따른 혈장 내 haptoglobin 함량 비교



Data are presented as mean values \pm SEM. Statistical differences was evulated by two-way ANOVA with Sidak's *post hoc* test performed using GraphPad Prism 9.0. *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$ when compared with negative control and # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ##### $p < 0.0001$ (n=5).

그림 48. 구제역 백신접종에 따른 혈장 내 SAA(serum amyloid A) 함량 비교

- 구제역 백신접종을 접종한 모든 실험군에서 접종 후 3일 면역반응이 가장 높게 나타났고, 접종 10일 후에는 basal level(정상상태)로 회복 되는 것을 확인함.
- 구제역 백신접종에 따른 급성면역반응 인자(haptoglobin, SAA)의 함량을 비교한 결과 국산 구제역 백신접종군의 면역반응이 외국산 구제역 백신접종군에 비해서 낮음.

○ 구제역 백신 접종에 대한 임신유지 관련 지표분석

① 연구목표

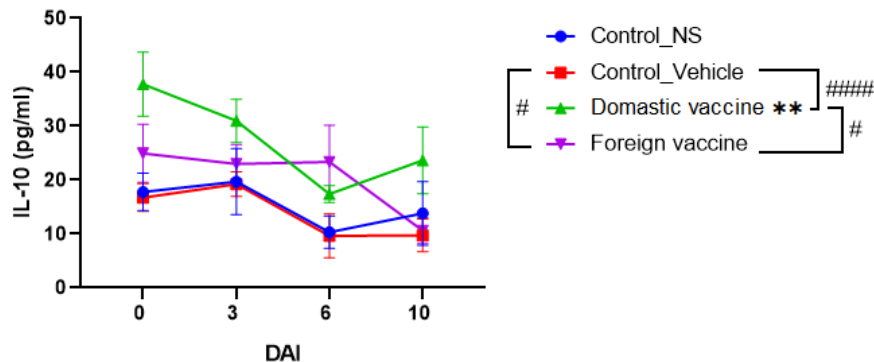
- 구제역 백신 접종이 임신 유지와 관련된 혈청학적 면역지표에 미치는 영향 분석

② 공 시 축 : 한우 암소 20두(12개월 이상, 임신 중기)

- Control : 5두, Vehicle : 5두, 국산 FMD백신 접종 : 5두, 외산 FMD백신 접종 : 5두
- 구제역 백신 접종 0, 3, 6, 10일간 항염증성 사이토카인 interleukin(IL)-10

③ 연구결과

- 임신 중기 백신 접종 후 0, 3, 6, 10일의 시료를 바탕으로 백신접종에 따른 임신 유지에 필수적인 혈액 내 항염증성 사이토카인 interleukin(IL)-10 수준 분석(그림 49)
- Control에 비해서 백신 접종군들의 혈청 IL-10 수준이 더 낮아질 것으로 예상 하였으나 0 일 부터 백신 접종군들에서 혈청 IL-10 수준이 증가해 있었고 실험 기간동안 대조군들에 비해 높게 유지됨.



Data are presented as mean values \pm SEM. Statistical differences was evulated by two-way ANOVA with Sidak's *post hoc* test performed using GraphPad Prism 9.0. ** $p < 0.01$ when compared with negative control and # $p < 0.05$, ##### $p < 0.0001$ (n=5).

그림 49. 구제역 백신접종에 따른 혈장 내 IL-10 함량 비교

- 백신 접종군 내에서 변화는 예상한 대로 백신 접종 후 IL-10 수준이 감소되는 경향이 나타남
- 백신 접종 후 10일째에 국산 백신의 경우 외산과 달리 다시 혈청 IL-10 수준이 증가하는 (또는 회복되는) 양상을 보였음.
- 연구기간 중 청주에서 발생한 구제역으로 인해 추가적인 연구를 진행할 수 없었음.

○ 프로그스테론 질내삽입을 통한 임신우의 유산을 예방하는 방법 실험

① 연구목표

- 백신 접종 등 유산을 유발할 정도의 스트레스 상황에서 유산을 방지하고 임신유지 호르몬인 프로그스테론의 혈중 농도를 높이는 실험을 계획

② 공 시 축 : 한우 임신 암소 15두(2개월 이상)

- 프로그스테론 용량 결정 시험(Control : 5두, 프로그스테론 200mg : 5두, 프로그스테론 400mg : 5두)
- 근육주사제와 효능 비교 실험 (Control : 5두, 근육주사제 400mg : 5두, 프로그스테론 400mg : 5두)
- 투약 후 0, 1, 2, 4일에 프로그스테론, APP 등 측정

③ 연구결과

- 프로그스테론 용량결정 실험: 200mg 투여 군은 대조군과 차이가 없고, 400mg에서 프로그스테론 농도의 증가가 나타남

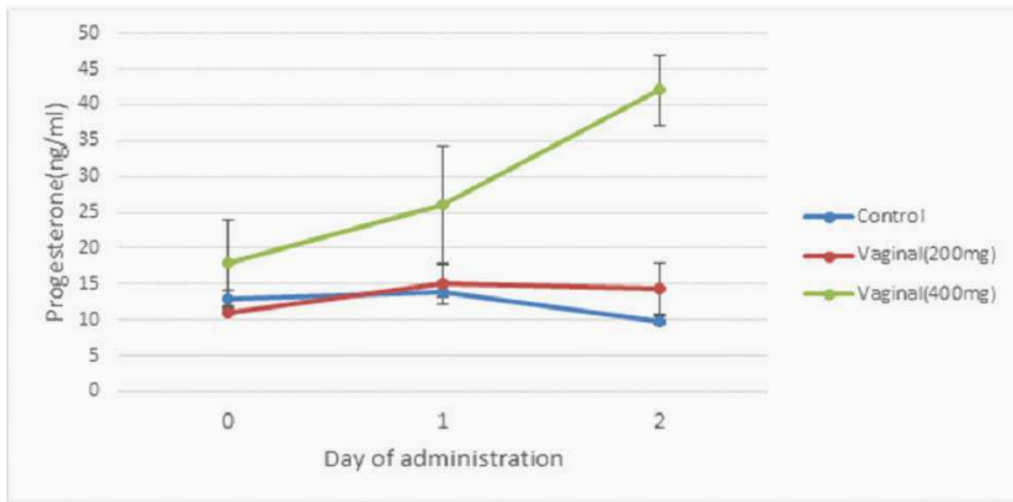


그림 49-1. 프로그스테론 용량 결정 실험 결과

- 프로그스테론 주사제와 효능 비교 실험: 프로그스테론의 질내삽입의 경우 프로그스테론 농도 상승의 효과가 근육주사에 비해 지속적이고 급성면역반응의 유도도 없음

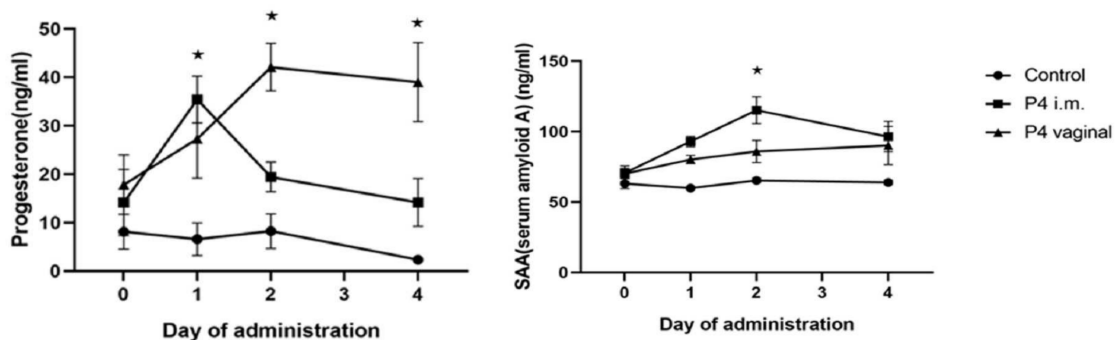


그림 49-2. 프로그스테론 근육주사제와 비교 실험 결과

- 위 실험의 결과는 특허 등록 출원함(2021.01.26, 특허출원번호 제10-2023-0010262호)

○ 전남대학교 산학협력단(결과요약)

1) 인공수정 수태율 비교

- 한우 번식우에서 국산 및 외산 구제역 백신접종에 따른 인공수정 수태율을 비교한 결과 국산 구제역백신을 접종한 경우 42.3%(47/111), 외산 구제역 백신을 접종한 경우 37.6%(44/117)에 비해서 수태율 감소가 완화됨

2) 국산 구제역 백신 접종에 대한 면역반응 및 염증 지표를 비교

- 국산 구제역 백신 접종에 대한 면역반응 및 염증 지표를 비교한 결과 국산 구제역백신을 접종한 경우 외산 구제역 백신에 비해서 급성면역반응 인자인 haptoglobin, SAA의 함량이 상대적으로 낮고 정상수치로 보다 빠르게 회복하였음

3) 구제역 백신 접종에 대한 임신유지 관련 지표 비교

- 구제역 백신 접종에 대한 임신유지 관련 지표를 비교분석하기 위해 항염증성 사이토카인 interleukin(IL)-10을 분석한 결과 국산 및 외산 백신 접종 3일 이후부터 점진적으로 감소하는 경향을 보였음

○ (주)에프브이씨

○ 국산 구제역 백신 보조제 조절을 통한 면역반응 연구

① 연구목표

- 면역보조제 조절에 의한 백신 유효성 및 염증반응 평가
- 한우 수태율에 영향을 줄이는 최적 백신 조성물 결정

② 실험결과

1) 국산 구제역 백신의 보조제 변경 및 조절을 통한 백신의 유효성 및 염증반응 평가(그림 50, 51)

- 아주번트 및 면역보조제의 농도 조절한 백신 : 0일, 28일 백신 접종
- 각 실험동물은 백신 접종 후 0일, 7일, 14일, 21일, 28일, 42일, 56일 채혈
- Group1: ISA206 + Alum10%, Group2 :ISA206 + Alum1%,
Group3 : Emulsigen D + Alum10%
Group4 : Emulsigen D + Alum1%,
Group5 : 상용백신.

- 기니피그에서 보조제 변경 및 조절을 통한 백신의 유효성 평가

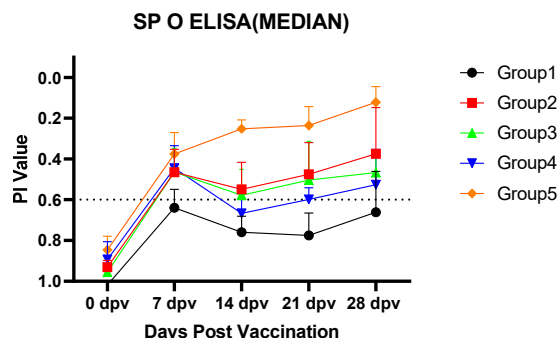


그림 50. 기니피그에 백신접종 후 28dpv 까지 채혈한 혈청에 대한 SP O ELISA 결과

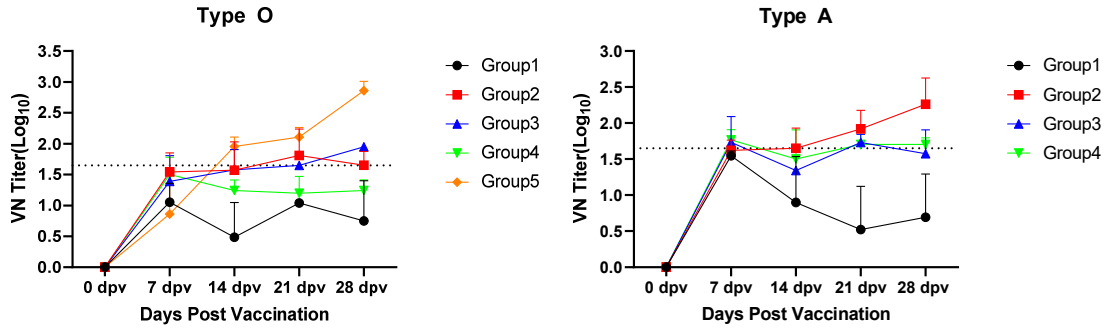


그림 51. 기니피그에서 백신접종 후 28 dpv 까지 채혈한 혈청에 대한 동형바이러스의 중화항체 실험 결과

- 보조제 변경에 따른 백신을 접종하여 28dpv까지 ELISA와 VNT를 이용하여 항체를 확인해 본 결과 Group1 의 항체가 제대로 형성되지 않는 것으로 보이며, Group5 이외의 그룹들 역시 항체가 다소 낮게 형성됨.

○ 국산 구제역 백신의 보조제의 변경 및 조절을 통한 백신의 유효성 및 염증반응 평가 (재실험)

(1) 실험방법

- 아주버트 및 면역보조제 조합 다양화 백신 : 0일, 28일 백신 접종
- 각 실험동물은 백신 접종 후 0일, 1일, 3일, 6일, 8일, 14일, 21일, 28일, 42일, 56일 채혈
- Group1 : ISA206
- Group2 : ISA206 + Alum1% + Saponin 1%,
- Group3 : ISA206 + Alum1% + Quil-A,
- Group4 : Emulsigen D
- Group5 : Emulsigen D + Alum1% + Saponin 1%
- Group6 : Emulsigen D + Alum1% + Quil-A
- Group7 : PBS (대조군)

(2) 기니피그에서 보조제 변경 및 조절을 통한 백신의 유효성 평가(그림 52, 53)

- 보조제 변경 및 조절에 따른 백신을 기니피그에 접종 하고 56dpv까지 채혈 후, 항체가 및 중화항체를 확인함.

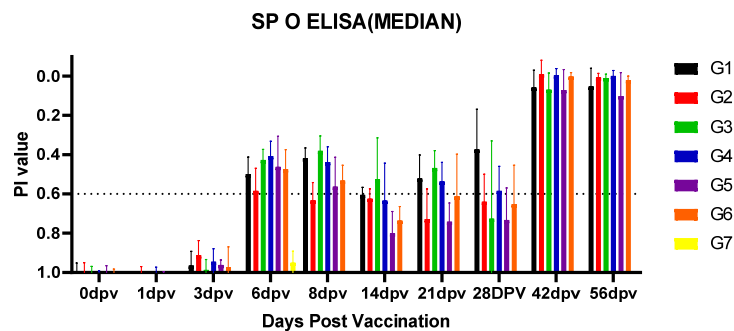


그림 52. 기니피그에 백신접종 후 56dpv 까지 채혈한 혈청에 대한 SP O ELISA 결과

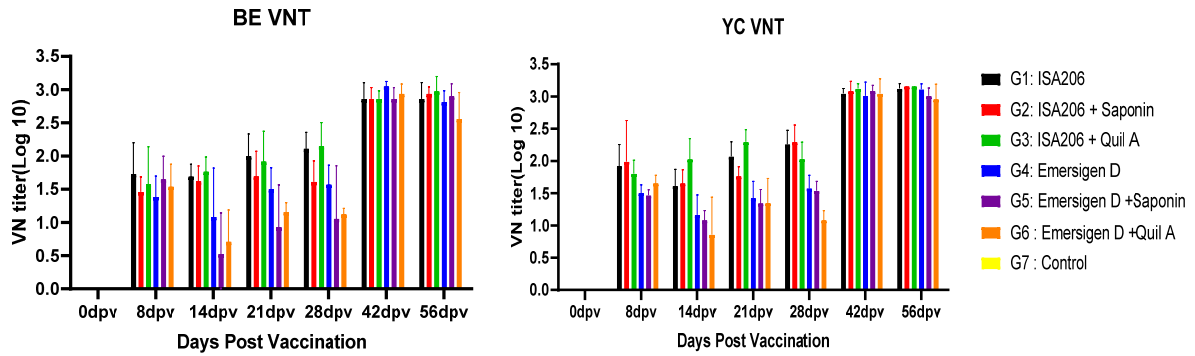


그림 53. 기니피그에 백신접종 후 56dpv 까지 채혈한 혈청에 대한 동형바이러스의 중화항체 실험 결과

- 분석 결과 아쥬반트 종류에 따라 항체 및 중화항체 형성에 차이를 보였으며, ISA206이 초기 항체가가 유지되면서 2차 접종 후 항체가 및 중화항체가가 100배 이상의 높은 수준으로 유지되는 양상을 보임.
- Emersigen-D 아쥬반트는 초기 1주일만에 높은 항체가를 보였다가 감소하는 패턴을 보이며, 2차 백신 접종 이후 ISA205 아쥬반트와 동일 수준의 항체 및 중화항체를 보임을 확인함.

(3) 기니피그에서 보조제 변경 및 조절을 통한 염증지표 분석

- 보조제 변경 및 조절에 따른 구제역 백신을 접종하여 염증 및 임신유지와 관련된 혈청학적 면역 지표인 급성면역반응인자(haptoglobin, SAA)를 분석함(그림 54, 55).

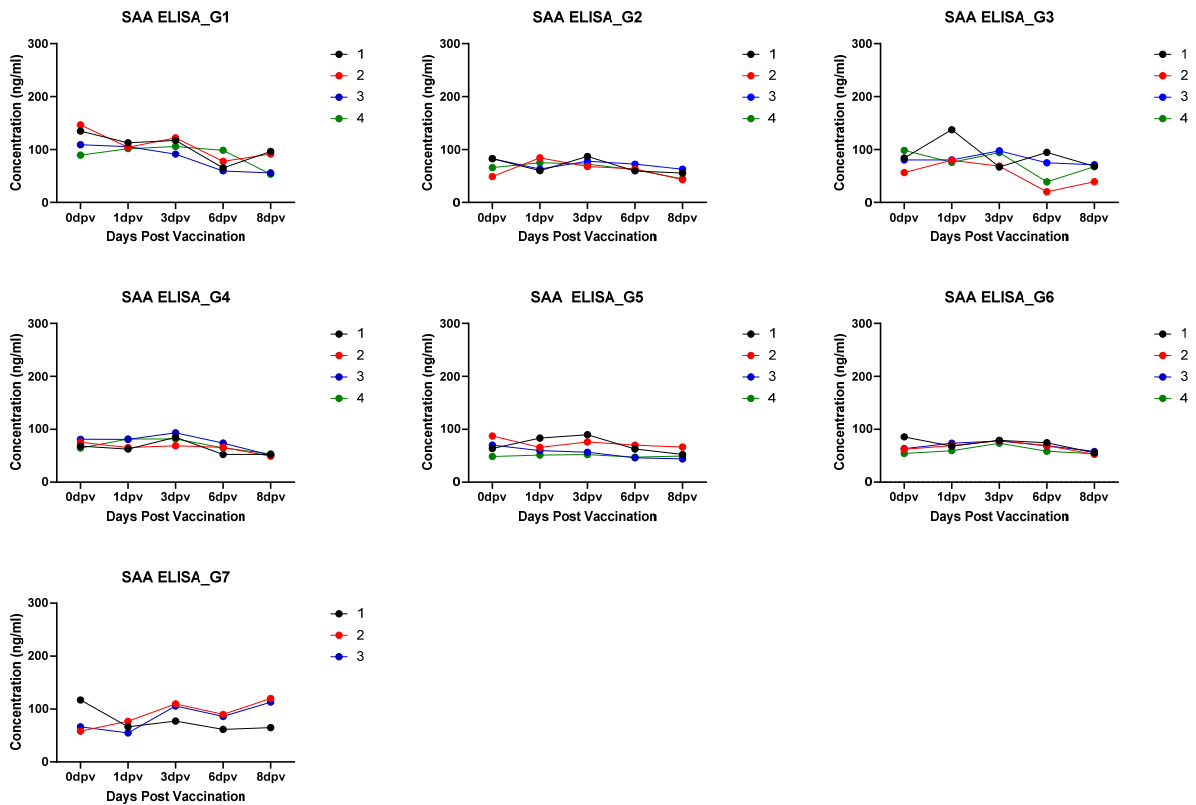


그림 54. 기니피그에 백신을 접종하고 0, 1, 3, 6, 8dpv 채혈 후 SAA ELISA를 통한 급성 면역반응 분석

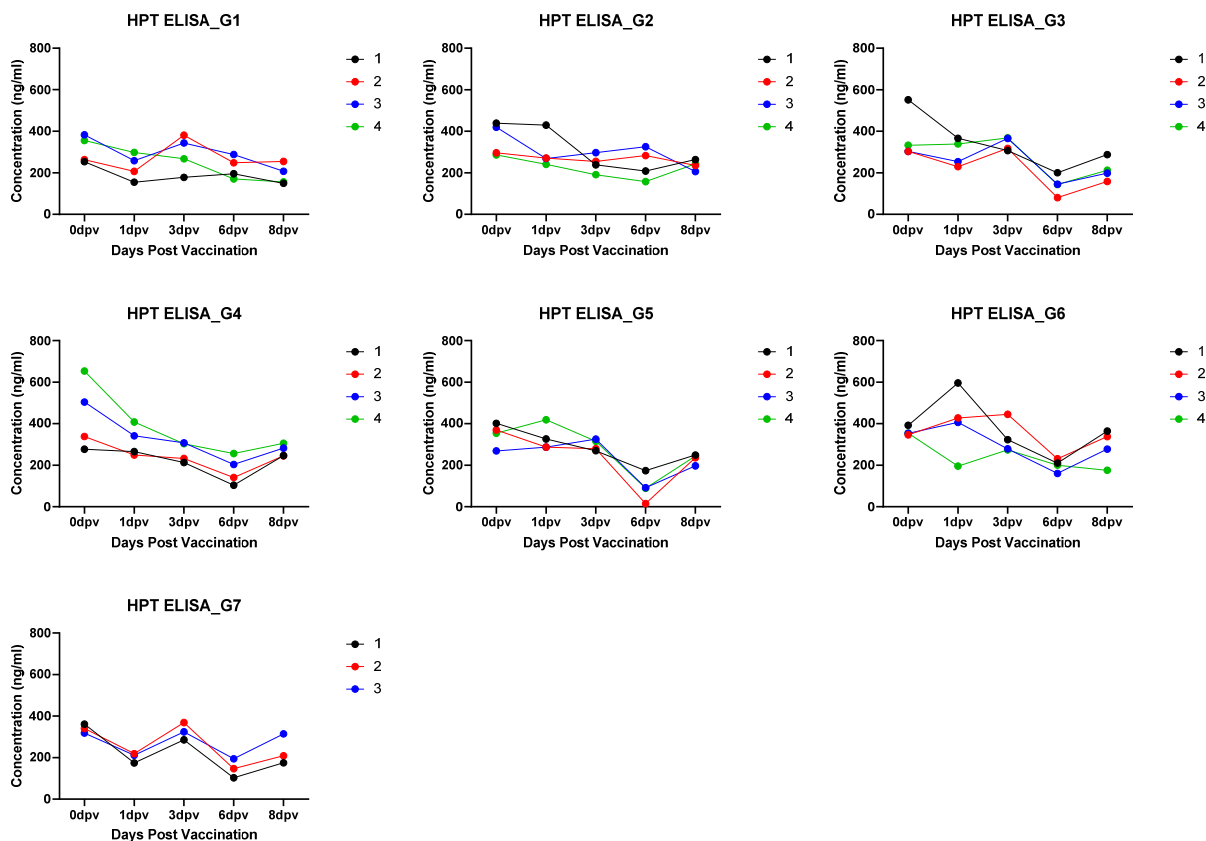


그림 55. 기니피그에 백신을 접종하고 0, 1, 3, 6, 8dpv 채혈 후 haptoglobin ELISA를 통한 급성 면역반응 분석

- 분석 결과 기니피그에서 아주번트 종류에 따라 유의성이 있는 결과가 확인되지 않아, 목적동물인 소를 대상으로 염증지표 분석 실시.

○ 국산 구제역 백신의 보조제의 변경 및 조절을 통한 백신의 유효성 및 염증반응 평가 - 소

(1) 실험방법

- 아주번트 및 면역보조제의 농도 조절한 백신 : 0일, 28일 백신 접종
- 각 실험동물은 백신 접종 후 0일, 1일, 3일, 6일, 10일 채혈
- Group1 : ISA206
- Group2 : ISA206 + Alum1% + Saponin 1% (기존에 면역보조제로 사용하던 조합)
- Group3 : ISA206 + Alum1% + Quil-A,
- Group4 : Emulsigen D
- Group5 : 상용백신 (외산 백신)

(2) 소에서 보조제 변경 및 조절을 통한 염증지표 분석

:보조제 변경 및 조절에 따른 구제역 백신을 접종하여 염증 및 임신유지와 관련된 혈청학적 면역 지표인 급성면역반응인자(haptoglobin, SAA)를 분석함(그림 56).

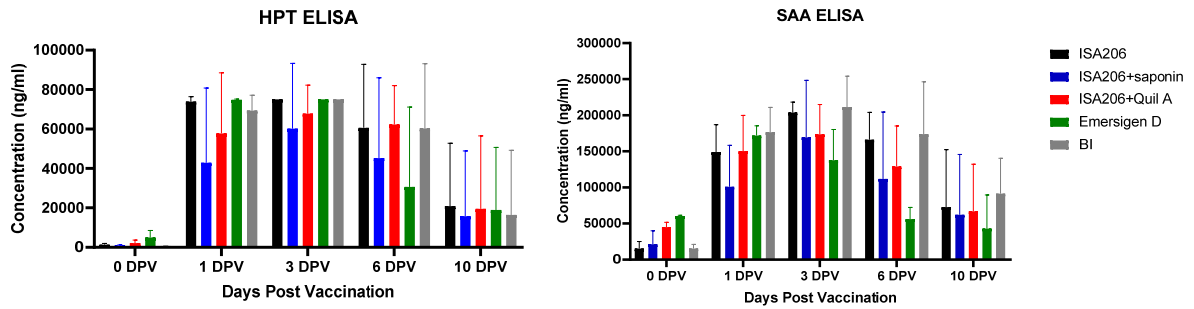


그림 56. 소에 백신 접종 후 0, 1, 3, 6, 10dpv 채취한 혈액을 이용한 haptoglobin과 SAA ELISA 분석

- 백신을 접종하면 일시적으로 급성면역반응이 일어남을 확인하였으며, Adjuvant의 구성에 따라 급성면역반응의 시기와 정도의 차이를 확인.
- ISA206 adjuvant에 saponin과 Quil A 를 넣은 그룹에서는 3일차에 가장 높은 급성면역반응을 보이며 saponin 그룹이 Quil A 그룹보다 좀 더 빨리 떨어지는 경향을 보였고, Emergigen D 그룹은 ISA206그룹에 비해 백신 접종 후 1일부터 가장 높은 급성 면역반응을 보이다가 3일차부터 급격하게 떨어지는 것을 확인
- 대조군으로 넣은 기존 상용백신은 1일차에 급성면역반응이 일어나 6일차까지 서서히 떨어지는 것을 확인. 따라서 ISA206+saponin그룹과 Emergigen D 그룹이 다른 그룹에 비해 급성면역반응 수치가 낮고, 빨리 떨어짐을 확인함.

○ 비임신우에서 구제역 백신의 항체 지속성 평가

(1) 실험방법

- 구제역 백신을 접종하고 한달 뒤 2차 백신접종, 그 다음 접종인 6개월 후 시점까지 백신의 항체 지속성을 평가하기 위하여, 15마리 소에 백신을 접종하여 2차 접종 전까지 매주 채혈, 2차 접종 후 한달에 한번씩 채혈
- SP 0 ELISA로 항체가 확인 및 동형바이러스에 대한 중화항체를 확인함
- 면역지속성 평가를 위해 혈액 내 중화항체를 확인함.

(2) 실험결과(그림 57).

- 모체에항체가 있는 개체들에서도 높은 항체를 지속적으로 유지하였고, 보은과 연천에 대한 중화항체가 역시 2차 접종 이후 6개월까지 100배 이상의 높은 수준의 중화항체를 유지하는 것을 확인함.

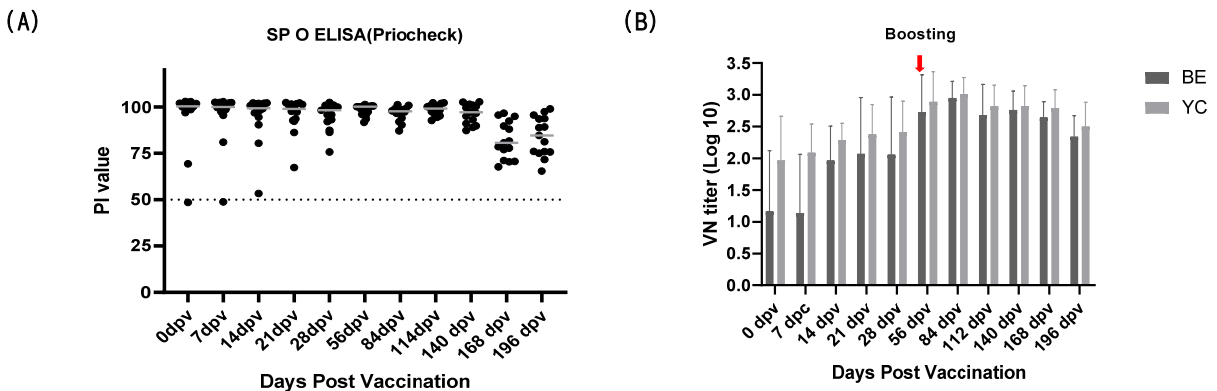


그림 57. 구제역 백신을 접종하고 채혈한 혈청에 대해 (A)SP 0 ELISA를 통해 항체가 확인 및 (B)보은, 연천에 대한 중화항체가 확인

○ 국산 구제역 백신의 공격접종을 통한 방어능 평가

1) 보은 PD50 (50% Protective doses) 실험

- 구제역 항체 음성 송아지 17두에 대해 그룹당 5마리씩 Full dose, 1/3dose, 1/9dose 로 백신을 접종하고, 대조군(백신 미접종) 2마리를 포함하여, 백신을 접종하고 한달 뒤에 보은 바이러스로 공격접종. 1주일간 임상증상 및 비즙채취, 채혈을 진행하여 분석함
- 중화항체가는 백신 접종용량에 의존적으로 중화항체가가 형성됨을 확인하였으며, 공격접종 후 임상증상을 확인한 결과, 1/3dose 그룹에서 1마리 증상이 나타났고, 1/9dose 그룹에서 2마리 증상, 대조군 2마리에서 모두 증상이 나타남으로써 PD50을 산출해보면 8.06 PD50/dose으로 확인함(그림 58).

2) 연천 PD50 (50% Protective doses) 실험

- 구제역 항체 음성 송아지 17두에 대해 그룹당 5마리씩 Full dose, 1/3dose, 1/9dose 로 백신을 접종하고, 대조군(백신 미접종) 2마리를 포함하여, 백신을 접종하고 한달 뒤에 연천 바이러스로 공격접종. 1주일간 임상증상 및 비즙채취, 채혈을 진행하여 분석함
- 중화항체가는 백신 접종용량에 의존적으로 중화항체가가 형성됨을 확인하였으며, 공격접종 후 임상증상을 확인한 결과, Full dose, 1/3dose 그룹에서 모두 방어가 되었고, 1/9dose 그룹에서 2마리 증상이 나타났으며 대조군 2마리에서 모두 증상이 나타남으로써 PD50을 산출해보면 10.05 PD50/dose으로 확인(그림 59).

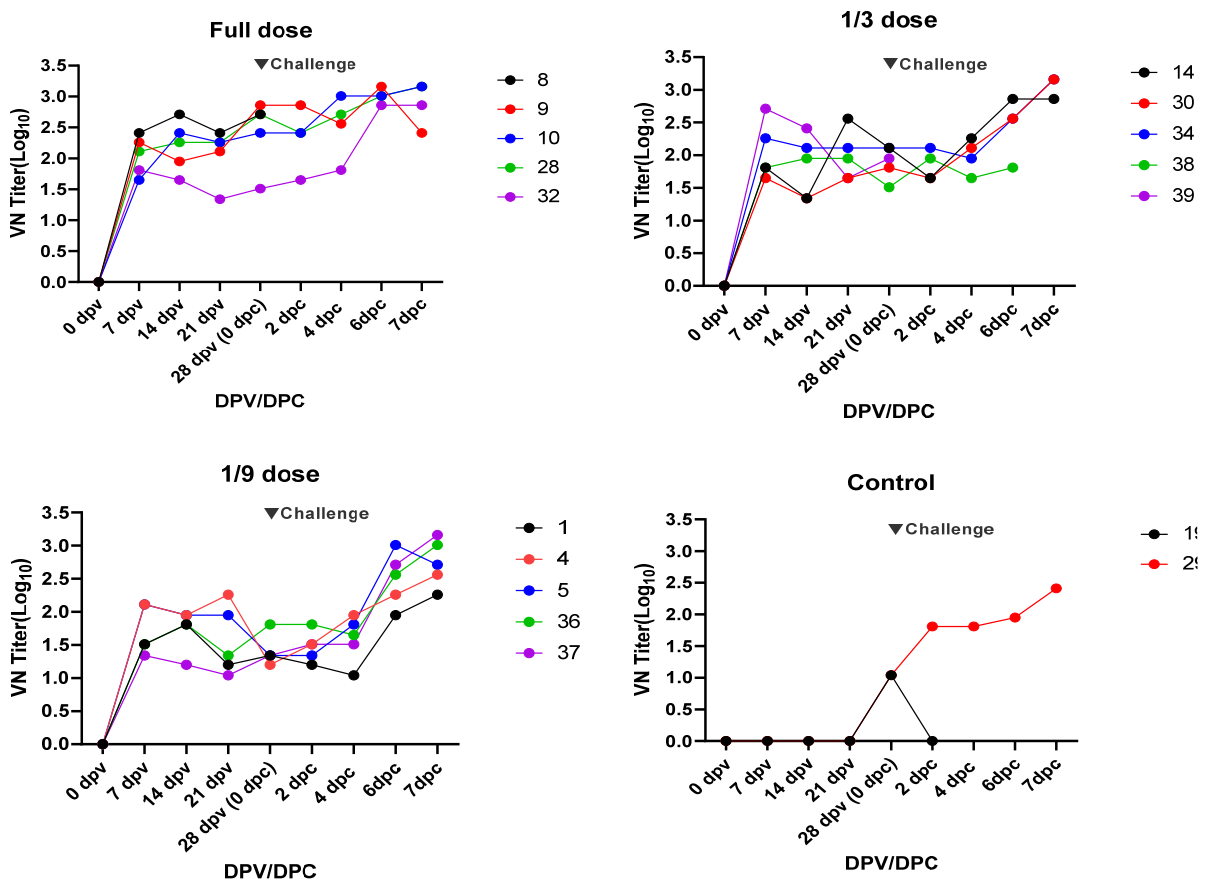


그림 58. 동형바이러스인 보은주에 대한 중화항체가 확인

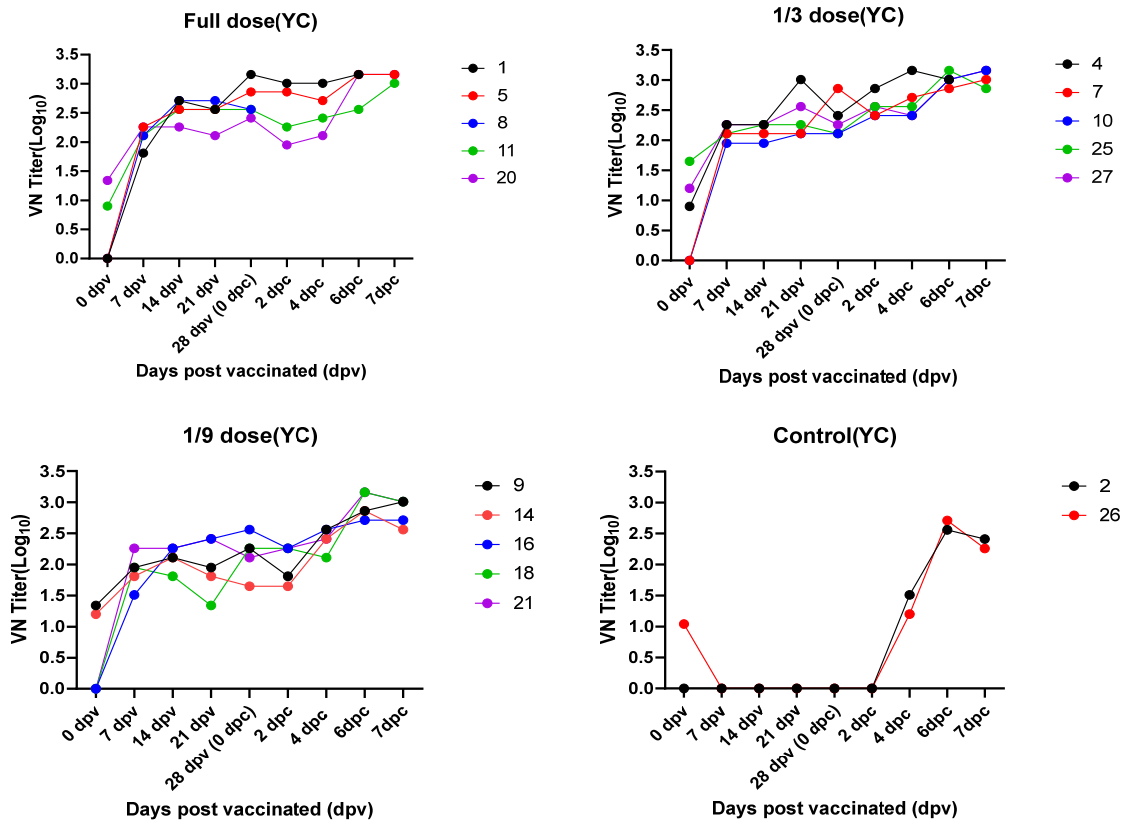


그림 59. 동형바이러스인 연천주에 대한 중화항체가 확인

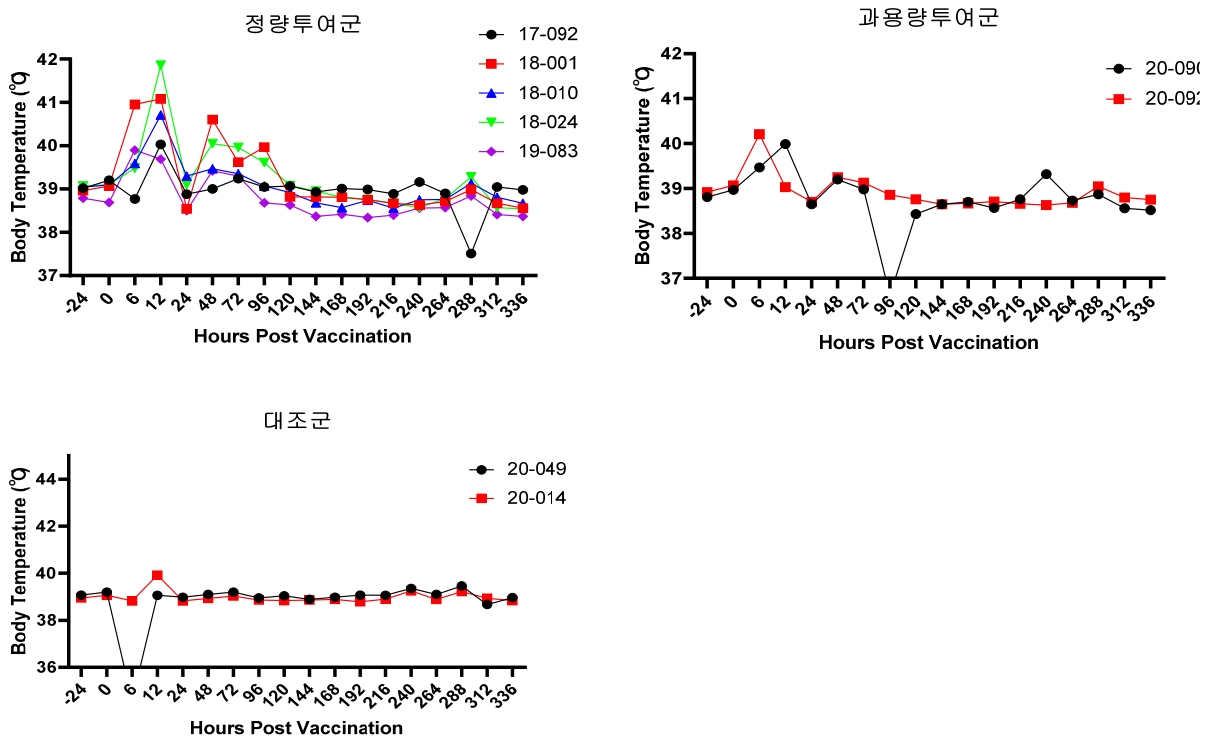


그림 60. 백신 접종 후 체온변화

○ 임신우에서의 구제역백신 안전성 평가

① 연구목표

- 구제역 백신의 용량별 안전성 평가

② 공 시 축 : 한우 임신우 34두(임신 중기)

③ 실험결과(그림 60)

- 스텍텍 센서삽입을 한 일부 개체에서 체온을 측정 한 결과, 백신 접종 후 일시적인 열이 나타났으나, 접종 1~2일 후에는 정상체온으로 돌아옴.

- 구제역 백신 접종 후 과민반응 및 상태 체크 결과, 대조군(Normal Saline, Vehicle 투여) 10두, 국산 구제역 백신 정량 투여군 20두, 과용량 투여군 4두 모두 과민반응 미확인. 다만 과용량 투여군에서 일부 미약하게 우둔한 증상은 보였으나, 부종이나 이상호흡 등의 특이 증상은 보이지 않음.

- 분만 된 송아지의 발육 및 건강상태는 모두 양호한 것으로 확인

○ 에프브이씨 연구 결과 요약

1) 국산 구제역 백신 보조제 조절을 통한 면역반응 연구

- 면역보조제 조절에 의한 백신을 소에서 급성면역반응인자인 SAA와 Heptogloblin 수치를 확인한 결과 ISA206+saponin그룹과 Emersigen D 그룹이 다른그룹에 비해 급성면역반응 수치가 낮고 빨리 떨어짐을 확인함.

- 비임신우에서의 구제역 백신 항체 지속성을 평가한 결과 모체이항체가 있는 개체들에서도 높은 항체를 지속적으로 유지하였고, 백신주에 대한 중화항체 역시 2차접종 이후 6개월까지 100배 이상의 높은 수준의 중화항체를 유지하는 것을 확인함.

- 국산 구제역 백신을 소에서 Full dose, 1/3dose, 1/9dose로 백신을 접종하여 한달 뒤 공격접종 후 백신에 대한 방어능을 평가한 결과 보은주는 8.06 PD50/dose, 연천주는 10.05 PD50/dose 로 확인함.

2) 임신우에서의 구제역백신 안전성 평가

- 임신 중기우에서 국산 구제역 백신을 정량 투여와 과용량 투여하여 안정성을 확인한 결과 백신에 의한 과민반응은 확인되지 않음.

○ (주)라트바이오

○ 구제역 백신접종에 따른 배란지연을 역이용한 수태율 향상기법 개발

① 연구목표

- 구제역 백신 접종에 따른 번식률 저하를 극복하기 위한 방법으로 배란 지연을 역이용한 발정동기화 방법의 개발

② 연구 1차년도 실험결과

1) 공시축 : 한우 암소 40두 (12개월 이상, 비임신우)

2) 실험군 : Control 군 _ 11두, Gn (250) 군 _ 15두, Gn (500) 군 _ 14두

표 15. 동기화 및 백신 접종 일정

일정	구분	처치	초음파	채혈
D-13	백신접종	Control _구제역백신 X / Gn (250) & Gn (500) _구제역백신 O	O	O
D-10	동기화 1차 투여	Control & Gn (250) _ gonadorelin 250 µg / Gn (500)_ gonadorelin 500 µg	O	O
D-7			O	O

D-3	동기화 2차 투여	PGF2a (cloprostenol 25 mg)	O	O
D-1	동기화 3차 투여	GnRH (gonadorelin 250 μ g)		
D0	배란		O	
D1	배란 확인		O	O
D6	황체 확인		O	
D7	이식	Non surgical embryo transfer		

3) 실험 진행일정(표 15)

- 구제역백신 접종 + 동기화 처치 + 초음파 검사 + 채혈 + 수정란 이식

4) 각 실험군에 따른 동기화처치 후 Day 0 및 Day 1의 초음파 검사를 통한 배란을 검사(표 16)

표16. 각 실험군의 난포 크기 및 배란 여부 확인

													(단위 : mm)	
Group	개체식별번호	Left ovary						Right ovary						배란여부
		Day 0			Day 1			Day 0			Day 1			
		Follicle1	Follicle2	CL(cavity)	Follicle1	Follicle2	CL(cavity)	Follicle1	Follicle2	CL(cavity)	Follicle1	Follicle2	CL(cavity)	
Control	0442 6	8	6	12	9	7	10	9	6		9	5		-
	0594 5	8	8		8	8		5			7	5		-
	0600 0	5			6			5			6	5		-
	0661 2	5			6	5		12	8		12	8		delayed
	0671 0	5	5		7	6		10	5	13, 11		null		-
	0710 1	5	5		6	6		5	5	10	6	6	9	-
	1054 2	5	5	11	7	6	10		null		6	5		-
	2343 7	11	7		11	8		10	5		10	5		delayed
	4063 5	6	5	10	7	6	10	6	5		8	7		-
	4738 9	5	5	9	6	5	9	6	5	11	7	6	9	-
	4740 8	7	6		8	7		6	5	15	8	7	11	-
Gn(250)	0444 2	15	14		15	ov		13	6	12	ov	12		ovulated
	0599 6	5		12(4)	6			9	7		7	5		-
	0662 9	5	5			null		13			ov	6		ovulated
	0669 7	5		12	5	5	12	6			5	5		-
	1055 9	11	5		ov	6		5	5		5	5		ovulated
	1940 5	5		12	6		13	13			ov	5		ovulated
	2335 7	12			ov			5		8, 9	5		8, 8	ovulated
	4188 2	5			5	5		12		11	ov	5	10	ovulated
	5126 4	5	5		6	5		5	5	8	6	5	8	-
	5140 8	5	5	10	6	6	9	11			ov	8, 7		ovulated
	6461 0	12	5		ov	7		7	5		5	5		ovulated
	6787 4	10			ov			5	5		5	5		ovulated
	7306 2	5	5		10	5		5	5		5	5		-
9375 0	12			ov					9, 8	5		8	ovulated	
9993 2	6	5	9	5	5	8	5	5		6	5		-	
Gn(500)	0596 1				5			8			9			-
	0611 9	9	7	12	8	6	12				5			-
	0663 7	5		13	6		12	5			4			-
	0976 3				5	5		12			ov	5		ovulated
	1057 5	15	10		18	9				17(9)	7		15(8)	delayed
	1230 2	11	7		ov	6		5	5		5	5		ovulated
	2313 0	5	5		6	6		5	5	9	5	5	9	-
	2389 8	5			5			11			ov			ovulated
	4432 8	10			10			10	5	11	9	5	10	delayed
	4739 7							12	11	11	ov	ov	11	ovulated
	5202 4	5	5	8	6	6	8	8	5	14	6	5	14	-
	6418 3	16		11	ov		10	7		11	6	6	10	ovulated
	6557 3				5			11			ov			ovulated
8983 4	5	5		6	5		11	5		ov	5, 5		ovulated	

- 상기 표에 따른 각 군 간의 배란율은 control 군에서 0% (0/11두), Gn(250) 군에서 67% (10/15두) 및 Gn (500) 군에서 50% (7/14두)를 나타내었음
 - 이는 control 군 대비, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서, 구제역 접종으로 인해 배란 지연된 난포가 동기화처치 첫 개시 주사 (Day -10)인 gonadorelin의 반응성을 증가시킨 결과로 사료됨
 - Gonadorelin의 양에 따른 유의적인 배란율을 차이는 보이지 않았음
- 5) Day 0 및 Day 1일의 배란 확인을 위한 초음파 사진 예 (그림 61)



그림 61. Day 0과 Day 1의 초음파 검사를 통한 배란 확인

- 약 15 mm 이상의 난포가 배란된 후, 난소 기질만 남아있는 초음파 영상을 관찰할 수 있음
- 6) 구제역백신 접종 후 각 실험군에 따른 CBC (complete blood count) 결과 확인(그림 62)

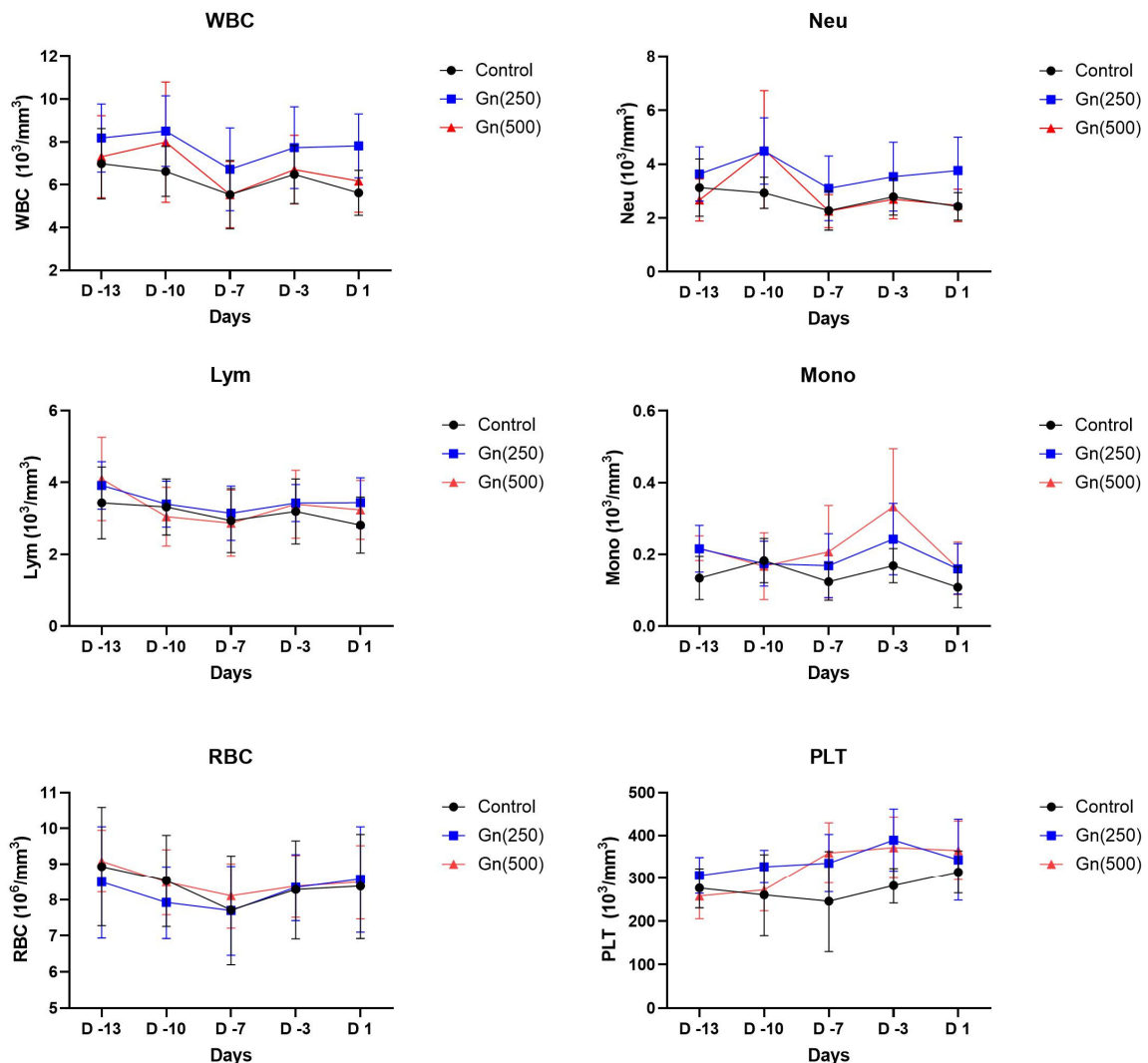


그림 62. 각 군의 구제역 백신 접종 후의 CBC 변화 그래프

- Control 군과 비교하였을 때, 구제역백신 접종군인 Gn (250) 및 Gn (500) 군에서 Day -13 일에 비하여 Day -10일에서 WBC와 neutrophil의 증가를 확인 할 수 있었으며, 이는 접종 직후 급격한 면역반응성 증가를 의미함.
- 구제역백신 접종 후 5일 이내에, 모든 실험군에서 WBC와 neutrophil이 구제역 백신 접종 전보다 낮아진 것을 확인할 수 있으며, 이는 접종 후 3일차에 최고치를 보인 면역반응성 증가가 수복되었다고 판단할 수 있음.
- 이외의 lymphocyte, monocyte, RBC 및 PLT의 혈액 분석 결과값에서는 유의미한 변화를 확인할 수 없었음.

7) 급성기 염증기 단백질 (SAA & haptoglobin) ELISA 분석 결과(그림 63)

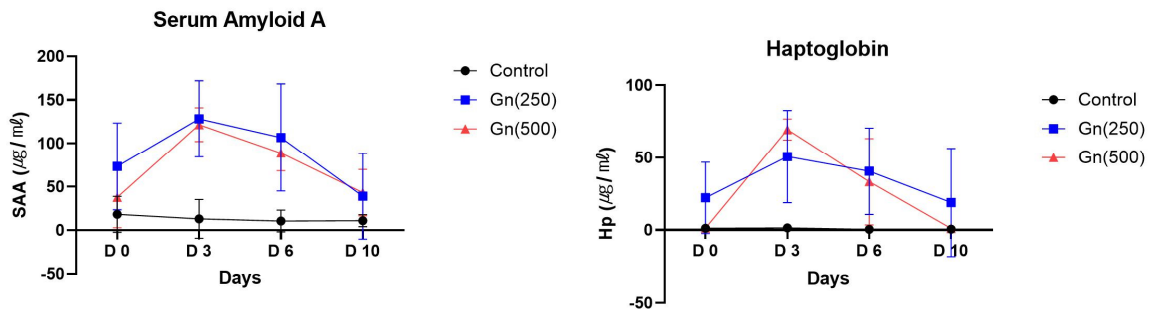


그림 63. 각 군의 구제역 백신 접종 후 급성 염증기 단백질의 변화 양상

- Control 군에서는 실험이 진행되는 동안 serum amyloid a 및 haptoglobin의 농도가 증가하지 않았지만, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서는 구제역백신 접종 후 D3에 면역반응이 가장 높게 나타났음.
- 구제역 백신 접종 후 D3 및 D6에서 증가되었던 SAA 및 Hp는 D10 이전에 접종 전 수준 또는 그 이하로 떨어지는 것을 확인하였음.

8) 배란지연을 역이용한 동기화 처치 후의 수정란이식 제공율 및 이식 후 수태율(표 17)

표 17. 각 실험군에 따른 수정란이식 제공율 및 수태율

Group	No. of synchronised cows	No. of transferred cows (%)	No. of conceived cows (%)
Control	11	7 (63.6)	1 (14.3)
Gn (250)	15	14 (93.3)	7 (50.0)
Gn (500)	14	11 (78.6)	4 (36.4)
total	40	32 (80)	12 (37.5)

- 각 실험군 간의 동기화 처치에 따른 ET 제공율은 control 군의 63.6% 대비, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서 93.3 및 78.6%로 높아지는 경향을 보였음.
- 이에 따른 수정란이식 후 수태율 또한 control 군의 14.3% 대비, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서 50.0 및 36.4%로 높아졌음을 볼 수 있으며, 이는 배란지연의 역이용 효과가 긍정적이었음을 의미함.
- 다만, 구제역백신을 접종하지 않고서, 발정주기 중 random stage 상의, 0v synch 동기화처치에 따른 평균 이식 후 수태율이 20~30% 내외를 보이는 것을 고려할 때, control 군에서의 낮은 수태율은 정상 수태범위를 벗어난 환경에 노출된 것으로 의심됨(추가 n 수의 공여

가 필요한 것으로 판단됨).

- 그에 반해, 구제역백신 접종 군에서는 평균 수태율과 비슷하거나 상회하는 수태결과를 보인 것으로 보아, 배연지란을 역이용한 본 동기화 처치방법은, 구제역백신 접종 후 번식을 저하를 극복할 수 있는 유용한 방법이라 생각됨.

③ 연구 2차년도 실험결과

- 1) 공시축 : 한우암소 18두 (12개월 이상, 비임신우)
- 2) 실험군 : Control _ 6두, Gn (250) _ 6두 및 Gn (500) _ 6두
- 3) 실험 진행일정 : 구제역 백신 접종 + 동기화 처치 + 초음파 검사 + 채혈 + 수정란 이식
연구 1차년도와 동일하게 진행함(표 15 참조).
- 4) 각 실험군에 따른 동기화처치 후 Day -1, 0, 1의 초음파 검사를 통한 배란을 검사(표 18)

표18. 각 실험군의 난포 크기 및 배란 여부 확인

Group	개체 식별 번호	Day -1				Day 0				Day 1				배란 여부	황체검사 (mm)	이식 방향	
		Left		Right		Left		Right		Left		Right					
		Fol.	CL	Fol.	CL	Fol.	CL	Fol.	CL	Fol.	CL	Fol.	CL				
Control	4432							9					배란		Ovulated	1	R
	6020						10	5				9	5		-		-
	0669					14								배란	Ovulated	1	L
	0599					12,	10					12			-		-
	0661							12						배란	Ovulated	L luteal cyst	-
	2570					10					11				-		-
Gn (250)	2423			10		5		5	배란		6		5		Ovulated	1	R
	9992							12					배란	Ovulated	1	R	
	0611							13					배란	Ovulated	RCL18, LF15	-	
	5126	13				배란	10				10			Ovulated	1	L	
	0600							12					배란	Ovulated	RCL18, LF12	-	
	2571	13				배란					7,8			Ovulated	1	L15	
Gn (500)	2442	15				배란					6			Ovulated	1	L	
	9993						11	15			8	배란		Ovulated	1	R	
	0594					12					배란			Ovulated	L cysticCL, RF12	-	
	0662							12					배란	Ovulated	1	R	
	4739						9				10			Delayed	1	L18	
	2572					8					9			Delayed	1	L15	

- 조기 배란여부를 확인하기 위해, 연구 1차년도 대비 D -1일 차에 초음파 검사를 추가 수행함
- 상기 표에 따른 각 군 간의 배란율은 control 군에서 50% (3/6두), Gn(250) 군에서 100%

(6/6두) 및 Gn (500) 군에서 66.7% (4/6두)를 나타내었음.

- 연구 1 차년도 배란율 결과 대비 전체적으로 높은 경향을 나타내었으며, 특히 Control 군에 비해, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서 배란율이 높게 나타남.
- 이는 구제역백신 접종으로 인한 배란 지연된 난포가 동기화처치 첫 개시 주사인 gonadorelin의 반응성을 증가시킨 결과로 사료됨.
- Gn (500) 군에서 배란이 확인되지 않은 2두는, 6일차 황체검사를 통한 이식에 공여된 것으로 볼 때, 정상에 비해 지연 배란된 것으로 판단할 수 있음.

5) 구제역 백신 접종 후 각 실험군에 따른 CBC (complete blood count) 결과 확인 (그림 64)

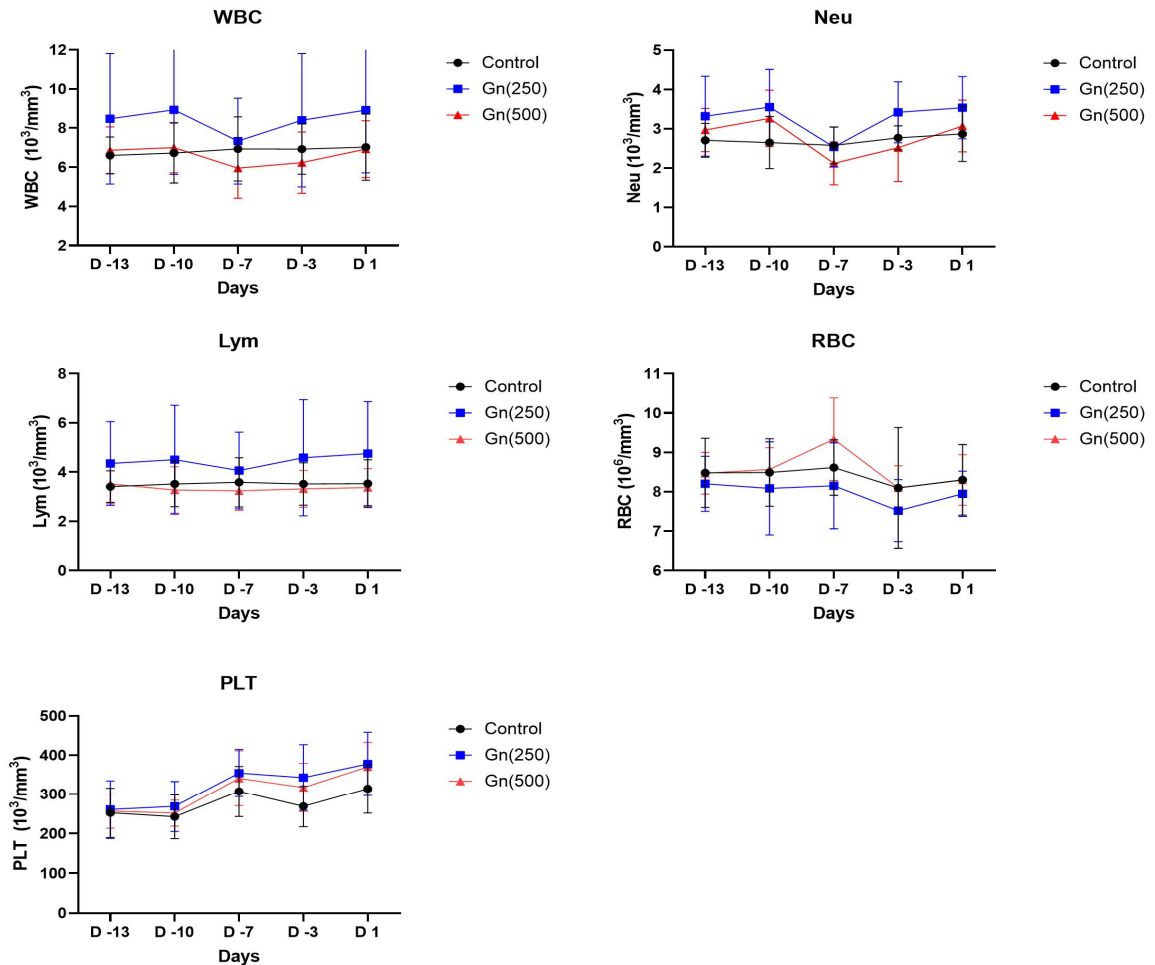


그림 64. 각 군의 구제역 백신 접종 후의 CBC 변화 그래프

- Control 군과 비교하였을 때, 구제역백신 접종군인 Gn (250) 및 Gn (500) 군에서 Day -13 일에 비하여 Day -10일에서 WBC와 neutrophil의 미약한 증가를 확인할 수 있었으며, 이는 접종 직후 면역반응성 증가를 의미함.
- 구제역백신 접종 후 5일 이내에, 모든 실험군에서 WBC와 neutrophil이 구제역 백신 접종 전보다 낮아진 것을 확인할 수 있으며, 이는 접종 후 3일차에 최고치를 보인 면역반응성 증가가 수복되었다고 판단할 수 있음.
- 이외 lymphocyte, RBC 및 PLT의 혈액 분석 결과값에서는 유의미한 변화를 확인할 수 없었음.

6) 급성기 염증기 단백질(SAA & haptoglobin) ELISA 분석 결과(그림 65)

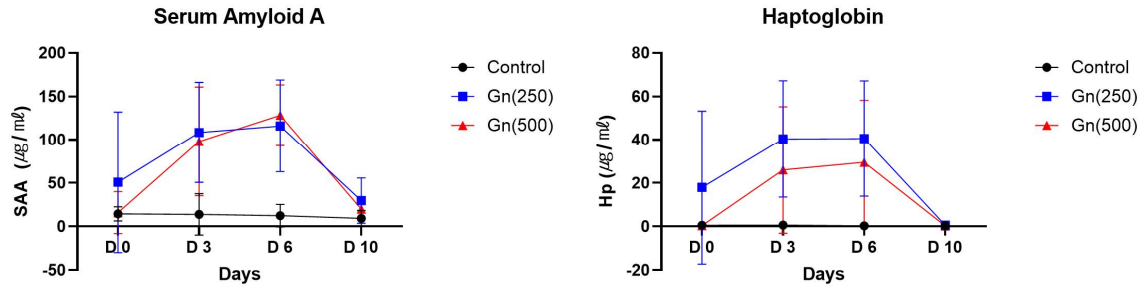


그림 65. 각 군의 구제역 백신 접종 후 급성 염증기 단백질의 변화 양상

- Control 군에서는 실험이 진행되는 동안 serum amyloid a 및 haptoglobin의 농도가 증가하지 않았지만, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서는 구제역백신 접종 후 D6에 면역반응이 가장 높게 나타났음.
- 구제역 백신 접종 후 D3 및 D6에서 증가되었던 SAA 및 Hp는 D10 이전에 접종 전 수준 또는 그 이하로 떨어지는 것을 확인하였음.

7) 배란지연을 역이용한 동기화 처치 후의 수정란이식 제공율 및 이식 후 수태율(표 19)

표 19. 각 실험군에 따른 수정란이식 제공율 및 수태율

Group	No. of synchronised cows	No. of transferred cows (%)	No. of conceived cows (%)
Control	6	2 (33.3)	0 (0.0)
Gn (250)	6	4 (66.7)	1 (25.0)
Gn (500)	6	5 (83.3)	3 (60.0)
total	18	11 (61.1)	4 (36.4)
J-synch*	15	13 (86.7)	8 (61.5)

- 각 실험군 간의 동기화 처치에 따른 ET 제공율은 control 군의 33.3% 대비, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서 66.7 및 83.3%로 높아지는 경향을 보였음.
- 이에 따른 수정란이식 후 수태율 또한 control 군의 0% 대비, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서 25.0 및 60.0%로 높아졌음을 볼 수 있으며, 이는 배란지연의 역이용 효과가 긍정적이었음을 의미함.
- 다만, 연구 1차년도 대비, 연구 2차년도에는 각 실험군에 공여된 두수가 각 6두씩으로 적었기에 수정란이식 후 제공율 및 수태율을 논하기에는 부족한 것으로 생각됨.
- 한편, 구제역백신 접종과는 상관없이, 동 시기에 최근 동기화적용법 중, 본 실험 농장에서 가장 많이 이용하고 있는 J synch 법 (Theriogenology 2016, Gabriel Bo et al.)을 이용하여 15두를 공여한 결과, 제공율 및 수태율은 각각 86.7 및 61.5%를 보였으며, 본 실험의 연구결과를 해석하는데 있어 비교기준점을 제공할 수 있었음.

④ ㈜라트바이오 연구 결과 요약

- 1) 공시축 : 한우암소 총 58두 (1차 40두 + 2차 18두)
- 2) 실험군 : control 군 _ 17두, Gn (250) 군 _ 21두 및 Gn (500) 군 _ 20두
- 3) 구제역 백신 접종 후 각 실험군에 따른 CBC (complete blood count) 결과 확인(그림 66)

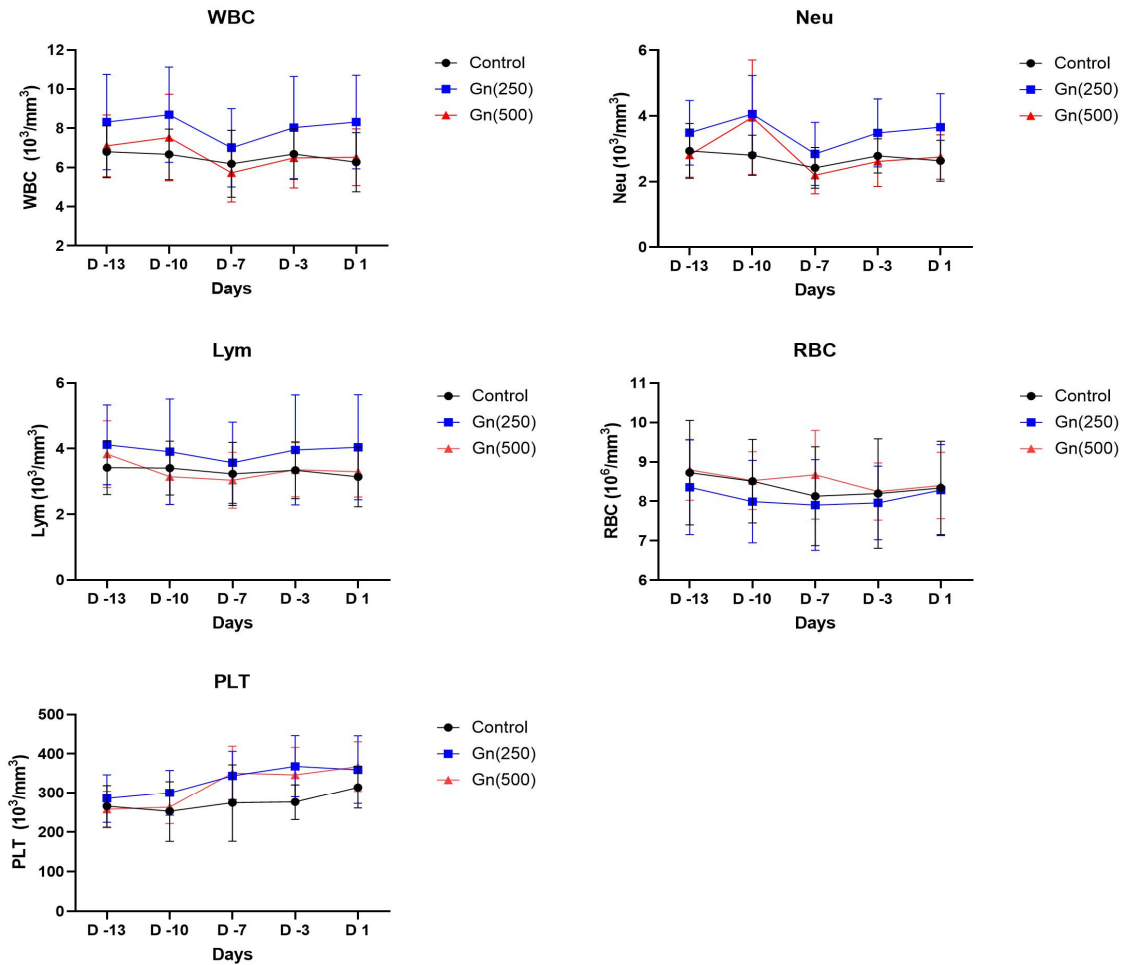


그림 66. 각 군의 구제역 백신 접종 후의 CBC 변화 그래프

- CBC 분석은 control 군, Gn (250) 군 및 Gn (500) 군 모두 13두씩 공여하였음.
 - Control 군과 비교하였을 때, 구제역백신 접종군인 Gn (250) 및 Gn (500) 군에서 Day -13 일에 비하여 Day -10일에서 WBC와 neutrophil의 증가를 확인할 수 있었으며, 이는 접종 직후 급격한 면역반응성 증가를 의미함.
 - 구제역백신 접종 후 5일 이내에, 모든 실험군에서 WBC와 neutrophil이 구제역 백신 접종 전보다 낮아진 것을 확인할 수 있으며, 이는 접종 후 3일차에 최고치를 보인 면역반응성 증가가 수복되었다고 판단할 수 있음.
 - 이외 lymphocyte, RBC 및 PLT의 혈액 분석 결과값에서는 유의미한 변화를 확인할 수 없었음
- 4) 급성 염증기 단백질(SAA & haptoglobin) ELISA 분석 결과(그림 67)
- 급성기 면역단백질 분석은 control 군, Gn (250) 군 및 Gn (500) 군 모두 8두씩 공여하였음.
 - Control 군에서는 실험이 진행되는 동안 serum amyloid a 및 haptoglobin의 농도가 증가하지 않았지만, Gn (250) 및 Gn (500) 군에서는 구제역백신 접종 후 D3에 면역반응이 가장 높게 나타났음.
 - 구제역 백신 접종 후 D3 및 D6에서 증가되었던 SAA 및 Hp는 D10 이전에 접종 전 수준 또는 그 이하로 떨어지는 것을 확인하였음.

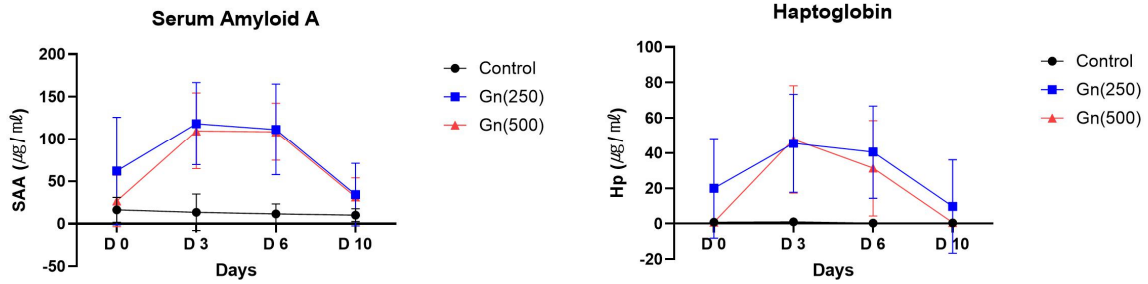


그림 67. 각 군의 구제역 백신 접종 후 급성 염증기 단백질의 변화 양상

5) 배란지연을 역이용한 동기화 처치 후의 수정란이식 제공율 및 이식 후 수태율(표 20)

표 20. 각 실험군에 따른 수정란이식 제공율 및 수태율

Group	No. of synchronised cows	No. of transferred cows (%)	chi-square analysis* (P)	No. of conceived cows (%)	chi-square analysis* (P)
Control	17	9 (52.9)	0.060	1 (11.1)	0.031
Gn (250)	21	19 (90.5)	1.000	10 (52.6)	0.892
Gn (500)	20	15 (75.0)	0.672	4 (26.7)	0.140
total	58	43 (74.1)	-	15 (34.9)	-
J-synch*	15	13 (86.7)	-	8 (61.5)	-

- 일반적으로 수정란이식 수태율은 농가, 동기화프로그램 및 이식공여시기 등에 따라 다양한 결과를 나타내며, 국내 한우에서의 이식 후 수태율은 약 20~50% 내외를 보이고 있음.
- 또한 알려진 바와 같이, 구제역백신 접종은 농장 현장에서, 사양환경 수준에 따라 서로 다른 결과를 나타내기는 하지만, 전체적인 번식률의 저하(AI & ET 수태율 저하 및 유사산율 증가)를 일으키는 것으로 생각되어져, 접종 후 일정기간 동안 번식과 관련된 행위를 최소로 수행하고 있는 실정임.
- 본 연구과제의 실험은 다양한 동기화처치법 중, 0vsynch 법을 선택하여, 구제역백신 접종 후 발생하는 배란지연을 역이용하여 번식률 저하를 극복하고자 시도하였음.
- 본 실험이 수행되었던 농장의 연간 수정란이식 후 평균 수태율은 40% 내외를 보이는 안정적 우군(연구 2차년도 J synch 적용 후 ET 수태율 근거)에 속하기는 하였으나, 예상과는 달리, 실험군 설정 시 기준으로 적용하고자 한 control 군(구제역백신 미접종 후 0vsynch 동기화법 적용)의 이식 수태율이 정상 범위(20~30% 내외)를 벗어나 11.1%를 보였음 (이는 서로 다른 시기에 1차 및 2차로 나누어 제공한 수란우의 정량적인 숫자가 적었던 것에서 기인한 variation이라 판단됨).
- 반면 실험군 간의 동기화 처치에 따른 제공율은 control 군의 52.9% 대비, Gn(250) 및 Gn(500) 군에서 90.5 및 75.0%로 높아지는 경향을 보였으며, 이식 후 수태율 또한 control 군의 11.1% 대비, Gn(250) 및 Gn(500) 군에서 52.6 및 26.7%를 나타낸 것으로 볼 때, 결론적으로 본 연구과제에서 의도했던 실험방법은 구제역백신 접종 후 배란지연을 역이용한 번식효율 저하 극복방안으로 평가하기에 긍정적인 효과를 얻은 것으로 사료됨. chi-square method로 비교해도 J-synch법과 제공율, 수태율에서 동등한 결과를 보임

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2022-2023)	2단계 (종료 후)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	논문(SCI)	목표(단계별)	3	-	3	
		실적(누적)	3		3	
	특허출원	목표(단계별)	1	-	1	15
		실적(누적)	1		1	
	특허등록	목표(단계별)	1	-	1	15
		실적(누적)	1	-	1	
	학술발표	목표(단계별)	3	-	3	10
		실적(누적)	5	-	5	
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	제품화	목표(단계별)	-	1	1	
		실적(누적)	-	예정		
	매출액	목표(단계별)	-	21,000,000	21,000,000	
		실적(누적)	-	예정		
	고용창출	목표(단계별)	2	-	2	40
		실적(누적)	1	-	1	
	인력양성	목표(단계별)	-	-	-	
		실적(누적)	-	-	-	
	정책활용	목표(단계별)	1	-	1	20
		실적(누적)	2	-	2	
	계	목표(단계별)	12	2	12	
		실적(누적)	13	1	14	

- * 1) 전담기관 등록·기탁 지표: 논문[SCI Expanded(SCIE), 비SCIE, 평균Impact Factor(IF)], 특허, 보고서원문, 연구시설·장비, 기술요약정보, 저작권(소프트웨어, 서적 등), 생명자원(생명정보, 생물자원), 표준화(국내, 국제), 화합물, 신물질 등을 말하며, 논문, 학술발표, 특허의 경우 목표 대비 실적은 기재하지 않아도 됩니다.
- * 2) 연구개발과제 특성 반영 지표: 기술실시(이전), 기술료, 사업화(투자실적, 제품화, 매출액, 수출액, 고용창출, 고용효과, 투자유치), 비용 절감, 기술(제품)인증, 시제품 제작 및 인증, 신기술지정, 무역수지개선, 경제적 파급효과, 산업지원(기술지도), 교육지도, 인력양성(전문 연구인력, 산업연구인력, 졸업자수, 취업, 연수프로그램 등), 법령 반영, 정책활용, 설계 기준 반영, 타 연구개발사업에의 활용, 기술무역, 홍보(전시), 국제화 협력, 포상 및 수상, 기타 연구개발 활용 중 선택하여 기재합니다
(연구개발과제 특성별로 고유한 성과지표를 추가할 수 있습니다).

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Effect of oestrus synchronisation through ovulation delay by vaccination against foot-and-mouth disease in Hanwoo (Bostaurus coreanae) cows	Veterinary Medicine and Science	Daehyun Kim	Vet Med Sci. 2023 Mar;9(2):974-981.		John Wiley & Sons Ltd.	SCIE	2023.03.12	2053-1095	100
2	Increased accuracy of estrus prediction using ruminoreticular biocapsule sensors in Hanwoo (Bostaurus coreanae) cows	Journal of Animal Science and Technology	Daehyun Kim	J Anim Sci Technol. 2023 Jul;65(4):759-766	Korea	Journal of Animal Science and Technology	SCIE	2023.07.09	2672-0191	100
3	Improving Cryopreservation Efficiency and Pregnancy Rate through Superovulation with Follicle-Stimulating Hormone in Korean Hanwoo Cows via Ovum Pick Up	Veterinary Sciences	Junkoo Yi	Vet Sci. 2023 Sep 18;10(9):578.	Switzerland	MDPI	SCIE	2023.09.18	2306-7381	100

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2022년 한국동물생명공학회	김대현 (한우 암소에서 국산 및 외산 구제역 백신 접종에 따른 배란지연 비교분석)	2022.06.24	연세대학교 미래캠퍼스 미래관 437호	대한민국
2	2022년 한국축산학회 국제학술대회	김대현 (Method of improving the conception rate by using ovulation delay due to vaccination against foot-and-mouth disease in Korean cattle)	2022.08.23	제주국제컨벤션센터	대한민국
3	2023년 한국축산학회	김대현 (국산 구제역 백신 접종에 따른 한우 암소 인공수정 수태율 및 급성면역반응 비교분석)	2023. 07. 05	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
4	2023년 한국예방수의학회	김선우 (The serological evaluation of commercial and experimental foot-and-mouth disease vaccines in Hanwoo (Bos taurus coreanae) cows)	2023.07.06	충남대학교 대덕캠퍼스 정심화국제문화회관	대한민국
5	(사)대한수의학회 2023년 추계국제학술대회	노영혜 (Alteration of acute phase protein following domestic foot and mouth disease vaccination during early and mid-stage pregnancy in cows)	2023.11.30	제주국제컨벤션센터	대한민국

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신품종, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	소 구제역 백신접종 이후 반추위 내 체온 및 활동성 변화에 따른 유산 또는 조산 예측 방법	대한민국	경상북도 축산기술 연구소장	2020.05 .06	제10-20 20-0053 832호		김대현 하재정 이준구 예봉해 김성학 박진연	2022.04 .20	제10-23 90411호	100%	
2	프로게스테론 질내삽입을 통한 임신우의 유산을 예방하는 방법	대한민국	경상북도 축산기술 연구소장	2023.01 .26	제10-20 23-0010 282호					100%	
3	소 구제역 백신접종에 따른 수태율 저하 개선방법	대한민국	경상북도 축산기술 연구소장	2021.04 .23	제10-20 21-0052 947호		김대현 이준구 하재정 정대진 김도윤 박진연	2024.02 .02	제10-26 34658호	100%	

지식재산권 활용 유형

* 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
1					√					√
2										√

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

표준화

국내 표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증여부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

* 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.

* 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.

* 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

국제 표준

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자

[경제적 성과]

시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1	Virovac K	2023.02.10	에프브이씨			3년		

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내(천원)	국외(달러)		

* 1) 기술이전 또는 자기실시

* 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

* 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
합계					

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과				
사업화 계획	사업화 소요기간(년)			
	소요예산(천원)			
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후
		단위(%)	현재까지	3년 후
	시장 점유율	국내		
국외				
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획				
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후
	수출			

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2022년	2023년	
1		(주)에프브이씨	1		1
2		서울대학교		1	1
합계			1	1	2

□ 고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	
		생산인력	
	개발 후	연구인력	
		생산인력	

비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/ 수입

[사회적 성과]

법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용
1	제안	정책제안(수의사에 의한 국가재난형 동물지령에 대한 백신 접종)	농림축산식품부	2024	국가 방역정책 연구회의에 안건으로 제안

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타

산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	수상	우수발표상	포스터우수발표	노영혜(김단일)	2023.11.30	대한수의학회

[인프라 성과]

연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기초법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 국산구제역 백신 효능검증 및 보조제 개발	○ 국산 구제역 백신의 보조제 조성 확립	○ 100
○ 구제역 백신접종에 따른 부작용 의심사례분석 및 개선방법 개발	○ 구제역 백신 접종 시기에 따른 유효성 확인	○ 100
	○ 한우 임신우에 대한 구제역 백신접종 가이드라인 발굴	○ 100
	○ 국산 구제역 백신 접종우 번식 성적 확인	○ 100
	○ 구제역 백신에 따른 수태율 저하 개선을 위한 동기화 프로그램 개발	○ 100

4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성합니다)

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

2) 자체 보완활동

3) 연구개발 과정의 성실성

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

구제역 백신접종에 따른 한우 번식우의 번식 효율 저하 및 유산발생은 막대한 경제적 손실을 유발하여 농가로 하여금 백신 접종을 꺼리게 하는 문제가 있었음. 이번 연구를 통해 한우 임신우에 대한 구제역 백신 접종 가이드라인 발굴 및 번식 효율 개선을 위한 수태율 개선 프로토콜 확립한 것은 현장에 적용될 경우 목장의 경제적 손실을 직접적으로 방지할 수 있는 내용임. 따라서, 충분한 홍보 및 농가 교육이 진행된다면 한우 산업의 큰 경제적 기여를 할 수 있을 것으로 판단됨. 또한, 국산 구제역 백신 후보 물질의 유효성 및 안정성을 확인하였고, 부작용 억제를 위한 보조제 조성의 확립을 통해 구제역 백신의 국산화에 기여함으로써 외산 백신의 직접 구매비 뿐만 아니라 부작용에 따른 사회적 비용도 절감할 수 있기에 그 기여하는 바가 크다고 할 수 있음

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

○ 본 연구의 성과는 사업화로 이어질 계획에 있음. 공동연구기관으로 참여한 (주)FVC는 현재 국산 구제역 백신 생산을 위한 공장을 구축 중(2023년 8월 사용승인을 완료)이고, 지금은 대량 생산을 위한 설비를 설치 중에 있음.

○ 2025년 생산시설에 대한 KVGMP 승인 취득 예정

○ 2025년 대량생산 시설에서 생산된 제품에 대한 안전성, 유효성 평가 실시

○ 2025년 하반기에는 품목허가 취득 및 상시백신주 선정 작업 실시 예정

○ 2026년부터 사업화 예정

○ 상용화 제품은 국내 분리주 기반 구제역 O형 및 A형에 대한 예방이 가능한 성분이고, 투여량은 1mL로 하여 기존 투여량 대비 50% 절감할 계획임. 근육투여를 목적으로 한 제품을 우선 출시하고, 추후 다른 투여경로의 제품 개발을 실시할 예정

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내
국외논문	SCIE	매년 목표치
	비SCIE	
	계	
국내논문	SCIE	
	비SCIE	
	계	
특허출원	국내	
	국외	
	계	
특허등록	국내	
	국외	
	계	
인력양성	학사	
	석사	
	박사	
	계	
사업화	상품출시	1
	기술이전	
	공정개발	
제품개발	시제품개발	
비임상시험 실시		
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상
		2상
		3상
	의료기기	
진료지침개발		
신의료기술개발		
성과홍보		
포상 및 수상실적		
정성적 성과 주요 내용		

[참고문헌]

- Arthington et al. 2013. Effects of vaccination on the acute-phase protein response and measures of performance in growing beef calves. *Journal of Animal Science*. 91(4):1831-1837.
- Aucouturier et al. 2001. Adjuvants designed for veterinary and human vaccines. *Vaccine* 19: 2666-2672.
- Carpenter et al. 2006. An epidemiologic study of late-term abortions in dairy cattle in Denmark, July 2000-August 2003. *Preventive Veterinary Medicine*. 77:215-229.
- Choi SH, Pak SI. 2015. Economic burden of foot-and-mouth disease vaccination-induced injection site lesions in slaughtered pigs and its causal relationship. *J Prev Vet Med* 39: 153-156.
- Cooper-Prado et al. 2011. Relationship of ruminal temperature with parturition and estrus of beef cows. *Journal of Animal Science*. 89(4):1020-1027.
- EL,-BELELY et al. 1994. Peripheral blood concentrations of plasma steroids and a metabolite of prostaglandin F_{2α} in pregnant cows vaccinated against foot and mouth disease. *British Veterinary Journal*. 150(6):595-602.
- Ferreira LC, Cooke RF, Marques RS, Fernandes HJ, Fernandes CE, Stelato R, Franco GL and Lemos RA 2016. Effects of vaccination against foot-and-mouth disease virus on reproductive performance of beef cows. *J Anim Sci* 94, 401-405.
- Ferreira et al. 2018. Impact of vaccination on the reproductive performance of multiparous Nelore cows. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 38(3):456-461.
- Hansen et al. 2004. Mastitis and Fertility in Cattle - Possible Involvement of Inflammation or Immune Activation in Embryonic Mortality. *American journal of reproduction immunology*. 51:294-301.
- Higaki et al. 2019. Estrous detection by continuous measurements of vaginal temperature and conductivity with supervised machine learning in cattle. *Theriogenology*. 123:90-99
- Jamel SM and Belsham GJ. 2013. Food-and-mouth disease: past, present and future. *Vet Res* 44: 116.
- Kahn et al. 2002. Vaccination against foot-and-mouth disease: the implications for Canada. *Can Vet J* 43, 349-354.
- Kamel et al. 2019. Foot-and-mouth disease vaccines: recent updates and future perspectives. *Arch Virol* 164, 1501-1513.
- Marqués et al. 2019. The effect of foot-and-mouth disease vaccination on early pregnancy loss in beef heifers in Argentina. *Preventive Veterinary Medicine*. 170:104716
- Merhan et al. 2017. Investigation of Levels of Haptoglobin, Serum Amyloid A, Ceruloplasmin and Albumin in Cattle with Foot-and-Mouth Disease. *Israel Journal of Veterinary Medicine*. 72(4):14-17.
- Perumal et al. 2013. Effect of foot and mouth disease vaccination on seminal and biochemical profiles of mithun (*Bos frontalis*) semen. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 2, 178-184.
- Rodriguez LL and Grubman MJ 2009. Foot and mouth disease virus vaccines. *Vaccine* 27 Suppl 4, D90-94
- Rodrigues et al. 2015. Effects of vaccination against respiratory pathogens on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. *Journal of Animal science*. 93(9):4443-4452.

Shahriari A and Habibi-Pirkoohi M 2018. Developing Vaccines Against Foot-and-Mouth Disease: a Biotechnological Approach. Arch Razi Inst 73, 1-10.

Singh et al. 2019. Foot-and-Mouth Disease Virus: Immunobiology, Advances in Vaccines and Vaccination Strategies Addressing Vaccine Failures-An Indian Perspective. Vaccines (Basel) 7.

Stewart-Tull, D.E.S. (Ed.). 1995. The Theory and Practical Application of Adjuvants. Wiley, Chichester, England.

Ubiali et al. 2011. Spinal cord compression in cattle after the use of an oily vaccine. Pesquisa Veterinária Brasileira. 31(11):997-999.

Yeruham et al. 2001. Adverse reactions to FMD vaccine. Veterinary Dermatology. 12(4):197-201.

Zhang et al. 2011. Research in advance for FMD novel vaccines. Virol J 8, 268.3

Zhang et al. 2018. Adverse Effects of Inactivated Foot-and-Mouth Disease Vaccine-Possible Causes Analysis and Countermeasures. World Journal of Vaccines. 8:81-88

권두중. 한우 사육 시설 및 환경관리. 축산과학원. 축산연구소.

김 등. 2017. Heat Stress가 소 난자의 체외성숙과 배반포 발달에 미치는 영향. 한국동물생명공학학회지. 32(3):65-71.

이 등. 2015. 한우에서 고온스트레스에 의한 Mannheimiosis 발생 증례. 한국가축위생학회지. 38(3):195-198.

이 등. 2019. Effect of supplementation of acetaminophen on the intake and growth of Hanwoo steers in summer. Journal of Agriculture Science. 46(3):451-460.

Kim et. al. 2020. Change in plasma sirtuin 1 level by injection into uterus of resveratrol in Korean cattle. Anim Reprod. 2020;17(1):e20190090.

Kim et. al. 2021. Differences in ruminal temperature between pregnant and non-pregnant Korean cattle. J Anim Reprod Biotechnol 2021;36:45-50.

Kim et. al. 2021. Effect of Foot-and-Mouth Disease Vaccination on Acute Phase Immune Response and Anovulation in Hanwoo (Bos taurus coreanae). Vaccines 2021, 9, 419.

Kim et. al. 2021. Increased Ruminoreticular Temperature and Body Activity after Foot-and-Mouth Vaccination in Pregnant Hanwoo (Bos taurus coreanae) Cows. Vaccines 2021, 9, 1227.

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1. 공통 요구자료	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
	3) 연구부정행위 예방 확인서

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술고도화지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술고도화지원사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.