

발간등록번호

11-1543000-001869-01

돼지 질병 저항성 향상을 위한 장내 세균총 조절 관리 프로그램 개발 최종보고서

2017.10.30

주관연구기관 / 전북대학교 산학협력단
협동연구기관 / 강원대학교 산학협력단

농림축산식품부

돼지 질병 저항성 향상을 위한 장내세균총 조절 관리 프로그램 개발

최종보고서

2017

농림축산식품부

돼지 질병 저항성 향상을 위한 장내 세균총 조절 관리 프로그램 개발 R&D Report

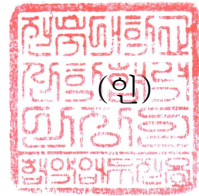
제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

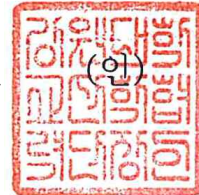
본 보고서를 “돼지 질병 저항성 향상을 위한 장내 세균총 조절 관리 프로그램 개발”
(개발기간 : 2016.07.28 ~ 2017.07.27)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 10. 30.

주관연구기관명 : 전북대학교 산학협력단장 이철로



협동연구기관명 : 강원대학교 산학협력단장 정재연



주관연구책임자 : 조호성

협동연구책임자 : 오연수

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

보고서 요약서

과제고유번호	116043-1	해당 단계 연구 기간	2016.07.28 ~2017.07.27	단 계 구 분	1/1
연구 사업 명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품 R&D 바우처 시범 사업			
연구 과제 명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세 부 과 제 명	돼지 질병 저항성 향상을 위한 장내 세균총 조절 관리 프로그램 개발			
연구 책임자	조호성	해당단계 참 여 연구원 수	총: 10 명 내부: 10명 외부: 0명	해당단계 연구 개발비	정부:200,000천원 민간: 50,000천원 계:250,000천원
		총 연구기간 참 여 연구원 수	총: 10 명 내부: 3명 외부: 7명	총 연구개발비	정부:200,000천원 민간: 50,000천원 계:250,000천원
연구기관명 및 소속부서명	전북대학교 산학협력단			자조금단체명 한돈자조금	
위탁 연구	연구기관명:			연구책임자: 조호성	
요약) 국내 건강한 돼지의 표준 장내미생물총 군집의 패턴 조사를 통한 돼지의 건강 상태 평가 지표로 활용. 돼지 구제역 항체 형성 저조 요인 분석을 통한 개선방안 모색.				보고서 면수 51	

4. 국문 요약문

		코드번호	D-01			
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 생산성 우수 양돈장의 돼지를 대상으로 표준 장내미생물총 군집 분포를 분석하고 이를 돼지의 면역 상태를 포함한 건강 상태를 평가하는 기준으로 활용하고자 함. ○ 양돈농가 구제역 항체 형성을 우수·저조 농가 현장 사례조사를 통한 위험요인 분석 및 효율적인 예방접종 매뉴얼 개발 ○ 장내미생물총 조절 사양관리 프로그램 개발 및 이의 적용을 통한 질병 저항성 및 생산성 향상 도모 ○ 생산성 저하 양돈장의 장내세균총 개선 시스템 개발 및 적용 ○ 구제역 항체가 형성에 영향을 미치는 위험 요인 분석 ○ 효율적인 구제역 백신 프로그램 실시 매뉴얼 개발 					
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 생산성 우수 양돈장 돼지의 장내 미생물총 분석(MSY 25두 이상의 양돈장 돼지를 대상으로 장내 미생물총을 분석하여 표준 미생물 군집 분포도를 작성) ○ 질병 상태의 양돈장 돼지 장내 미생물총 분석(세균, 바이러스 감염 및 곰팡이 독소 노출 상태에서의 장내 미생물총 군집 분석 결과 분석). ○ 생산성 우수 양돈장 돼지들의 구제역 항체 생성률 분석 및 사이토카인과의 연관성(구제역 항체가 생성군과 미생군에 대한 IL-1beta, IL-6, IL-12, TNF-alpha를 검사한 결과 모두 항체 형성률이 낮은 개체에서 활성이 높은 것으로 확인) ○ 구제역 항체가에 따른 돼지 장내 미생물총 군집의 비교(항체 형성률이 낮은 돼지의 경우 항체 형성률이 높은 돼지에 비해 phylum 수준에서는 Firmicutes 가 증가하는 경향을 보였고 family 수준에서 평가하면 firmicutes 중 clostridia가 증가한 결과임을 고려할 때 항체 형성률이 낮은 돼지에서는 장내에 미생물총이 대사 이상의 패턴으로 변해가는 것임을 확인).. ○ 돼지 고농도 프리바이오틱스 급여로 장내 미생물총 개선에 효과적임을 확인 ○ 구제역 항체가 형성에 영향을 미치는 다양한 요인 분석하며 양돈 농가에서 활용할 수 있게 함 					
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 생산성이 높은 양돈장의 돼지를 대상으로 표준 장내미생물총 군집 분포도를 작성하였으며 이를 활용하여 돼지의 건강 상태를 분석하는 자료로 활용할 수 있음 ○ 돼지에서 장 건강을 평가하기 위한 건강한 표준 미생물총 분포도가 없어 생산성 향상을 위해 투여하는 다수의 미생물 제제의 효능을 정확하게 평가할 수 없는 문제가 있음. 따라서 본 연구에서 제시된 우리나라 돼지의 표준 장내미생물총 분포 지도를 바탕으로 다양한 효능 평가의 표준으로 활용될 수 있음. ○ 도출한 건강한 돼지와 비교되는 세균, 바이러스, 곰팡이 독소 노출 돼지에서의 장내 미생물총 군집 결과를 통해 질병상태를 파악할 수 있는 진단기법으로 활용될 수 있음. ○ 저농도 프리바이오틱스의 개선방향으로 고농도 급여를 통해 장내미생물총을 개선하는 방안을 제시함으로써 사양관리 프로그램에 적용될 수 있음. ○ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> 의 분리 배양을 통해 차세대 probiotics로 활용될 수 있음. ○ 국내 양돈장에서 구제역 백신 후 항체 형성률이 다양한 것에 대한 논란과 함께 영향을 주는 요인들에 대한 궁금증이 높은 상황에서 본 연구에서 밝혀낸 구제역 백신 항체가 형성에 영향을 주는 요인들에 대한 분석 결과는 앞으로 많은 양돈장에서 지침으로 활용하여 구제역 방역에 활용될 것임. 					
중심어 (5개 이내)	돼지	장내세균총	면역증강	질병저항성	구제역항체형성	

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02			
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> ○ To improve the performance and disease protection via porcine gut microbiome. ○ To develop the effective vaccination protocol through case analyses of good and bad pig farms ○ To develop the control program of porcine gut microbiome for improving the performance as well as the immunogenicity toward FMD vaccination. ○ To achieve the porcine gut microbiome map depending on the growth stage of pigs in high performance. ○ To develop and employ the enhancing program of gut microbiome of pigs in low health status: to enhance the performance parameters and immunogenicity toward FMD vaccination. ○ To analyze the risk factors affecting the immunogenicity toward FMD vaccination. ○ To develop the effective FMD vaccination manual. 					
Results	<ul style="list-style-type: none"> ○ The research is aimed to improve the disease prevention of pigs by controlling the gut microbiome, which results in developing the effective management program and it is performed to clarify the low status of antibody formation against FMD vaccination. ○ The research is aimed to produce a manual which can be used in field, rather than research papers. ○ Based on pig farms in high performance, the good gut microbiome map is used as a model for a pig farm in low performance to improve the management system. ○ The research project is expected for graduate students or the research team to achieve academical advance. 					
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> ○ To develop a pig farm health promotion program using the porcine gut microbiome analysis and to apply it on the management system. ○ To promote low cost-high efficiency pig industry using the customized gut microbiome control technique. ○ To develop circumstantial measures and eco-friendly and animal well-being meat production system using the gut microbiome control technique. ○ To achieve a substantial FMD free status for the country, analyzing why the immunogenicity after FMD vaccination is low. 					
Keywords	Pig	Microbiota	Immunogenecity	Disease prevention	FMD	

6. 영문목차

<Index>

1. Project overview	10
2. Current technology level	15
3. Research contents and results	18
4. Achievement of goal and contribution to related field	38
5. Research result utilization	39
6. Technology information collected during the research process ·	39
7. Security rating of R&D achievement	40
8. Research facilities registered in NTIS	40
9. Implementation of safety measures	41
10. Representative research achievements	41
11. Additional issues	41
12. References	42

<Enclosure> Self-assessment opinion

7. 본문목차

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	10
2. 국내외 기술개발 현황	15
3. 연구수행 내용 및 결과	18
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	38
5. 연구결과의 활용계획 등	39
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	39
7. 연구개발성과의 보안등급	40
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	40
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	41
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적	41
11. 기타사항	41
12. 참고문헌	42

<별첨> 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

코드번호	D-03
------	------

1-1. 연구개발 목적

- 국내 돼지의 장내 세균총 분석을 통한 표준 균집 분포도 작성
- 질병 상태/건강한 돼지의 장내 미생물총 균집 비교 분석
- 건강한 장내 미생물 균집 관리를 위한 프로그램 작성
- 구체역 백신 항체 생성률과 면역 및 장내미생물과의 상관 관계 분석
- 구체역 항체 생성률 분석을 위한 위험 요인 분석



그림 1. 장내 미생물과 가축질병 대응기술의 연관성

1-2. 연구개발의 필요성

1. 가축의 장내 미생물총 연구의 중요성

- 최근 국내의 악성질병 유입 및 소모성 질병 발생은 축산업 자체의 경쟁력 약화뿐만 아니라 사회경제적으로 큰 영향을 미치고 있으며 이에 따라, 바이오인포메틱스, 메타지노믹스 등 영양생리와 유전체공학의 융복합 기술을 이용, 항균활성 안전성 우수 사료개발 및 생산·이용 최적화 연구의 필요성이 대두됨.
- 최근 항생제 사용제한 정책이 강화됨에 따라 “질병의 치료”보다 “질병예방”이 강조되고 있으며 이에 따른 안전한 축산물 생산에 대한 중요성 부각되어 면역증강제, 항생제 대체제, 프로바이오틱스 등 가축 질병예방을 위한 고효율 물질 개발이 활발하게 진행되고 있으나 돼지에서의 효능 평가는 특정 병원체에 대한 효과만을 평가하는 방식이어서 양돈장의 생산성 향상에 직접 연관됨을 설명하기 어려웠음.
- 현재까지 돼지의 장내 미생물들 간의 생태학적 공존관계를 최대한 활용하여 제작된 사양시기별 맞춤형 발효사료 제작 기술이 전무한 상태임.
- 장내 미생물총은 사람에서 먼저 건강과 웰빙에 있어서 매우 중요하고 이를 증진시키기 위한 노력을 해왔음. 사람이 갖고 있는 전체 진핵세포수는 10⁹ 개에 달하는데 그보다 많게는 1000배 많은 미생물 세포를 보유하고 이러한 미생물과의 조화로운 관계를 통해 원활한 대사활동을 영위하고 있음.
- 건강하고 질병에 잘 견디며 비육성적이 좋은 돼지를 생산하고자 하는 것은 모든 연구자, 생산자, 임상가들의 목표이고 개선시키기 위한 노력은 끊임없이 있었음. 유전자개량을 통한 육종, 사료개선, 성장촉진용 사료첨가제, 사육환경 개선 등을 노력해왔으나 여전히 농가단위 성적에 현격한 차이가 있음.
- 건강하고 질병에 잘 견디며 비육성적이 좋은 돼지를 생산하고자 하는 것은 모든 연구자, 생산자, 임상가들의 목표이고 개선시키기 위한 노력은 끊임없이 있었음. 유전자개량을 통한 육종, 사료개선, 성장촉진용 사료첨가제, 사육환경 개선 등을 노력해왔으나 여전히 농가단위 성적에 현격한 차이가 있음.
- 국내 양돈산업에서 생산성 지표인 MSY(모돈 1두당 연간 생산돼지의 수)의 농림축산부 목표는 2012년 16두에서 2017년 22두를 달성하는 것으로 제시하고 있으나 최근 국내외에서 다발하는 돼지생식기호흡기증후군(PRRS) 및 돼지췌코바이러스 감염증 등의 질병 등의 면역력 저하 질병의 이유로 생산성이 늘어나지 않고 있는 실정임
- 지금까지 가축에서 장내 세균총을 포함하여 세균을 분자수준에서 동정하는 방법으로 16S rRNA 유전자를 PCR한 후 Sanger 방식의 염기서열 분석을 수행해야만 했으며 이 방법은 일단 일반적인 배양을 시도한 후 증식된 세균만을 대상으로 하는 제한적인 단점을 갖고 있었음.

- 이러한 면역력 저하의 문제를 장내 미생물총의 구성과 분포로 분석하는 연구가 다수 진행되고 있으나 돼지에서 이러한 차이를 비육과 연관시킨 국내 연구는 없고 해외에서 수행된 연구가 전부이나 그것도 장관의 부위별, 연령별, 돼지의 상태별 연구는 없음; 비만돼지에서 Bacteroidetes 감소 및 Firmicutes 증가 (Petersen 등, 2013), ERS 먹인 돼지에서 Firmicutes 증가 및 beta-Proteobacteria 감소 (Haenen 등, 2013), 단백질, 탄수화물, 지질 대사경로가 장내 미생물 분포도에 영향을 받음(Mulder 등, 2009).
- 최근 이런 문제를 해결할 수 있게 된 것이 대량인 병렬 데이터생산이 가능한 차세대시퀀서(Next Generation Sequencer)의 활용이며 원리는 Ion PGM의 경우 그림 2와 같이 well 안의 비즈(beads)에 고정된 DNA 서열에 네 종류의 염기를 순서대로 흘려 보내면서 만일 상보적인 DNA 합성이 일어나면 반도체에서 직접 그것을 신호로 잡아내는 과정으로 염기서열을 분석하게 되므로 단 시간에 대량의 염기서열을 서로 분리하여 분석이 가능하게 됨.
- NGS의 분석은 시료에 포함된 세균의 DNA를 추출하고 작은 단위로 잘라 random primer를 이용하여 증폭 산물을 만드는 단계, 증폭 산물에 특정 어댑터(adapter)를 붙이는 library제작 단계, 제작된 라이브러리의 클론증폭을 위해 에멀전(emulsion) PCR을 수행하는 단계, NGS 장비에서 대량의 염기서열을 생성하는 단계 및 이를 분석하는 단계로 구분될 수 있음.
- 이 NGS를 활용한 세균 군집 분석법을 이용하면 돼지에서의 배양이 되지 않는 장내 세균을 포함한 다양한 세균 군집의 특성을 분석할 수 있음.
- 따라서 국내 생산성이 높은 양돈장의 돼지 장내 미생물총 분석을 통해 국내 돼지의 표준 미생물총 지도를 제작하고 생산성이 낮은 양돈장을 대상으로 분포를 비교 분석함으로써 원인과 대책을 수립하고자 하며 이를 개선하는 합리적인 사양 매뉴얼을 제작하고자 함.

나. 돼지의 구제역 항체가 생성률 저하의 문제점

- 최근 국내 구제역 발생 상황은 표 1과 같이 2010년 1월 이후 다발하고 있는 추세임.
- 국가차원의 구제역 방역을 위해 양돈장에서는 사독백신 형태의 구제역 백신을 접종하고 있으나 특히 돼지에서 구제역 백신에 대한 항체 생성률이 소에 비해 낮은 특징을 보이고 있음: 돼지 1회 접종시 25% 항체양성, 2회 접종시 65% 항체양성률(반면 소는 95% 이상의 항체양성률)을 나타냄.
- 양돈장에서의 구제역에 대한 낮은 항체가 형성은 농장 단위로는 구제역 감염에 대해 위험성이 높아질 뿐 아니라 기준 항체가 30%를 기준으로 미달일 경우 과태료 처분 등 불이익을 받고 있음(1차 200만원, 2차 400만원, 3차 1,000만원).
- 구제역 백신 낮은 항체형성 문제는 백신 자체의 문제일수 있다는 판단으로 이를 개선하기 위해 현재 농림축산식품부 차원에서 현재 연구를 수행하고 있으며 구제역 백신에 대한 항체 형성률이 저조함.
- 한 원인으로 현재까지 연구조사된 바에 의하면 주사방법, 주사시 백신의 온도, 돈군의 면역능력 등 여러 가지 요인이 추정되고 있음.
- 그러나 시각을 달리하여 동일 양돈장에서 같은 사양관리 시스템에서 사육중이면서 구제역 백신을 접종한 돼지에서 제각각 다양한 항체 형성 양상을 보이는 것은 돼지 개체의 면역력의 차이에 의한 것이라 추정됨 (그림 2).

- 또한 항체가 양성을 판정방법이 PI값 50을 기준으로 양성, 음성을 판정하고 있는데 농장에 따라 음성인 경우 PI값이 40 ~ 45에 몰려 있는 경우가 많고 양성인 경우도 PI값이 50 ~ 60 사이에 분포되는 경향이 많아 근소한 차이로 음성과 양성이 갈리게 되는 판정을 받게된 경우가 많음.
- 양돈장마다 구제역 항체 양성률에 상당한 차이가 있으며 특히 1회 접종 후 검사했을 때 편차가 매우 심함 (예, A농장: 67%, B 농장: 25%, C 농장: 17%).
- 따라서 이러한 구제역 항체가 형성에 있어 국내 양돈장에서 구제역 백신 접종 실태를 면밀히 분석하고 백신 항체 생성률에 영향을 미치는 다양한 요소에 대한 위험도 평가를 실시하여 효율적인 구제역 백신 접종 방법을 확립하는 것이 급선무임.
- 이러한 구제역 항체형성에 대한 위험요인 분석을 통해 접종방법의 구체적 매뉴얼을 제작한 후 농가에 배포 및 교육하여 구체적인 구제역 백신접종 전략을 제공하는 것이 필요함.
- 사람에서는 이미 비만인 사람과 그렇지 않은 사람 사이에 장내 미생물총의 분포에 변화가 있다는 것을 마우스 실험을 통해 연구하였고 장내 미생물총이 숙주의 대사활동과 호르몬 분비에 영향을 주어 에너지 재분배와 지방산화를 감소시키는 작용을 한다고 밝혀짐 (그림 4). 이러한 개념을 고기를 생산하는 비육가축이며 단위동물인 돼지에 적용하여 빠르게 잘 성장하는 돼지와 성장률이 떨어지는 돼지에서 미생물총의 분포에 차이가 있는지, 또 돼지의 사료효율과 도축 후 육질의 등급에도 이러한 장내 미생물총의 분포와 변화에 따른 영향이 어떻게 작용하는지 연구할 필요가 있음.

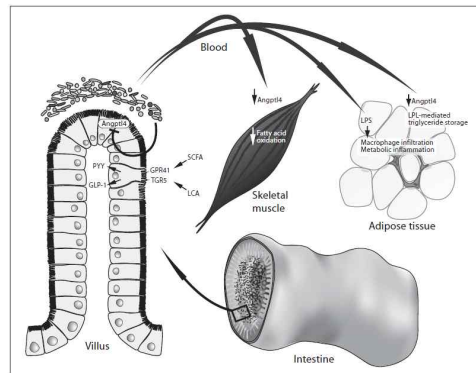


그림 4. 장관 미생물총과 숙주동물의 대사 및 호르몬의 분비 [Backhed (2011), Ann Nutr Metab 58(suppl 2):44].

- 최근 연구에서 장내 미생물의 면역 및 질병 저항성에 대한 역할이 밝혀짐에 따라 국내 고생산성 양돈장의 이유를 건강한 장내 세균총의 유지와 연관시켜서 분석하는 연구가 필요하며 이를 활용한 특정 질병 치료 중심이 아닌 예방 중심의 돼지 건강 관리 프로그램의 도입이 절실히 요구됨.
- 이 개선 프로그램을 구제역 항체가 생성률이 낮은 양돈장에 적용하여 항체가 생성률을 높이게 되면 구제역 방역에 기여할 뿐 아니라 농가의 과태료 부담을 줄이는데 기여할 것으로 기대함.

다. 양돈 현장의 생균제 급여의 문제점

- 현재 양돈장에서 급여되고 있는 생균제의 문제점은 효능 평가가 정확하게 이루어지지 않았고 그 농도도 부족한 상황임.
- 또한 양돈장 생산성 향상과 직접적 연관성을 제시하지 못하는 한계가 있음.
- 최근 사람에서의 프로바이오틱스는 식약처 기준 최대 보증 균수가 1×10^{10} (100억) 마리임[45×10^{10} (4500억) 제품도 있음].
- 그러나 양돈용 프로바이오틱스 제품은 주로 1×10^8 /Kg 제품이 많고 최근에는 1×10^9 /Kg 제품이 시판되고 있는 실정이며 실제 사료 1톤에 넣고 급여함.
- 이는 1×10^8 /Kg 제품인 경우 사료 1Kg당 1×10^5 균수를 포함하는 것으로 돼지 한 마리당 최대 3 Kg(일일 사료 섭취량)이라고 하면 돼지 1마리 당 최대 3×10^5 개의 균 실제 급여됨.
- 따라서 돼지에서의 고농도의 프로바이오틱스 적용 및 양돈농가 생산성 지표와 연계한 새로운 효능 평가 필요함

라. 가축에서의 차세대 프로바이오틱스

- 유산균 특히 Lactobacillus나 Bifidobacterium으로 대표 되는 젖산균은 지난 100년간 수많은 기능성 연구와 사람을 대상으로 한 독성검증이 수행되어 널리 사용되어 왔음
- 유산균은 1세대, 2세대, 3세대(LGG, BB-12, LA-5)로 분류되며 최근에는 3세대 유산균이 활발하게 사람에서 이용되고 있음
- 그러나 최근 난치성 질환과 관련 있는 대사, 면역, 염증조절 등에 젖산균에 버금가거나 혹은 더 중요한 분변미생물들이 밝혀짐
- 기존의 호기적 배양방법으로는 배양이 되지 않았던 절대혐기성 난 배양 균주들이 대부분임.
- 따라서 치료 목적으로 활용될수 있는 가축용의 미생물 발굴이 필요함

1-3. 연구개발 범위

1. 생산성 우수한 양돈장 돼지에서의 표준 장내 세균총 지도 작성
 - 가. MSY 25두 이상의 양돈장 돼지를 대상으로 한 장내 세균총 분포 지도 작성
 - 나. 세균총 군집내 특성 분석
2. 질병 상태/건강한 돼지의 장내 미생물총 군집 비교 분석
 - 가. 질병상태(세균감염, 바이러스 감염 및 곰팡이 독소 노출 등)의 돼지 장내 미생물총 분석을 통한 패턴 정의
 - 나. 장내 미생물총 군집의 특성 분석
3. 건강한 장내 미생물 군집 관리를 위한 프로그램 및 평가 프로그램 작성
 - 가. 비정상 장내 미생물총의 개선 효과를 평가하기 위한 목표로서의 장내 미생물총 지도 활용
 - 나. 지표 미생물 선정을 통한 건강 미생물총 상태 평가 시스템 구축
4. 구제역 백신 항체 생성률과 면역 및 장내미생물과의 상관 관계 분석
 - 가. 구제역 항체 생성 부진 또는 미약 돼지의 장내 미생물총 특성 분석
 - 나. 구제역 백신 항체가와 면역학적 지표와의 상관 관계 분석
5. 구제역 항체 생성률 분석을 위한 통한 위험 요인 분석
 - 가. 구제역 항체 생성률에 영향을 미치는 요인들의 상관 관계 분석

2. 국내외 기술개발 현황

코드번호

D-04

○ 가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

- 최근 국내연구진에 의해 이유자돈에서 돼지 장내 미생물의 수를 측정하고 섬유소와 무기산제의 투여로 장내균총을 변화시키는 연구를 수행(김 등, 2007)한 바 있으나 배양되지 않는 장내 세균총에 대한 고려가 없으며 건강한 돼지의 선발 같은 대조군의 설정이 없을 뿐 아니라 질병과 연관된 어떠한 자료도 제시되지 않은 문제가 있었음.
- 국내에선 단일 미생물 생균제 사용 및 미생물에서 유용 물질 분비를 증진시키기 위한 분야에 치중되어 있으며 다양한 축종에 대한 발효사료 개발 및 효율 검증 연구는 미비함. 특히 사료 원료별, 축종별, 사양시험별 적합 발효 균주 데이터베이스에 대한 연구가 전무함.
- 효능 평가의 경우 특정 물질에 대한 타겟 병원체의 검출 여부 및 단편적인 면역 지표의 증감을 통해 평가하는 수준에 머물러 있으며 실제 현장에서 그 효과가 생산성과 함께 종합적으로 평가된 사례는 미비함(그림 5).

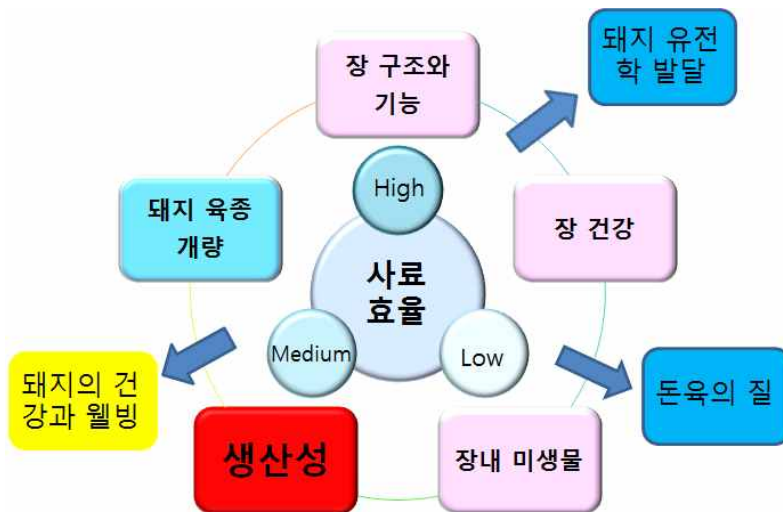
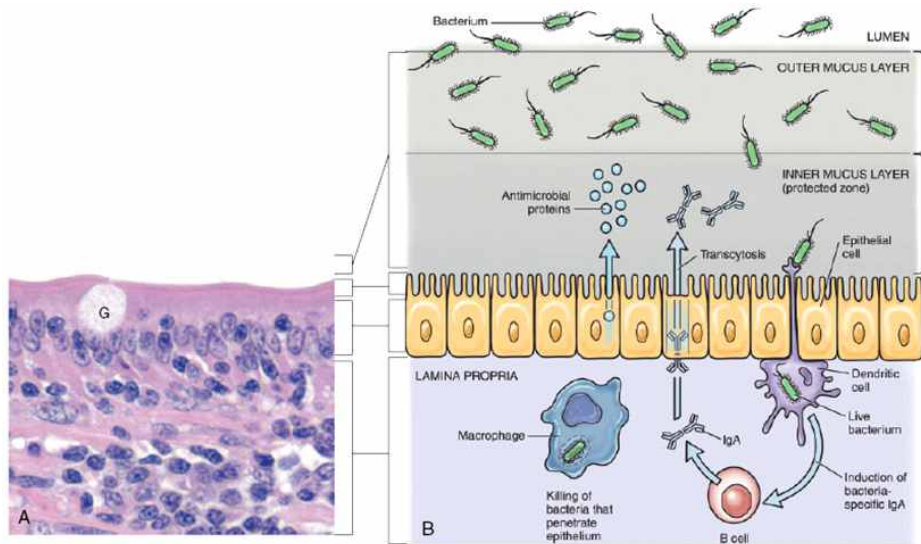


그림 5. 양돈 생산성에 관여하는 인자들에 대한 모식도.

- 또한 돼지에서 프로바이오틱스의 사용에 있어 가장 큰 문제는 제품내 포함되어있는 유효균의 수가 매우 적으며 이 또한 잘 보존되지 못하는 문제점을 안고 있음. 따라서 이의 개선만으로도 장내미생물총의 좋은 방향의 전환을 도와줄 사양 프로그램을 개발할 수 있을 것으로 판단됨.
- 한편 돼지 구제역 백신 후 항체 생성물에 대한 연구는 주로 백신 보조제를 개발하고 새로운 항원을 대체하는 방향의 백신 개발에 치중하고 있으며 소수의 연구자들이 항체 생성물 저조의 원인을 분석하는 단편적인 연구를 수행하여 결과를 제시하고 있으나 명확한 원인을 밝히지 못하는 실정임.

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

- 인간 마이크로비오타는 장염, 아토피 등과 같은 면역관련 질병 이외에도 비만, 고혈압, 당뇨, 고지혈증 등과 같은 대사성 질환의 병인기전과정에 매우 중요한 역할을 한다는 사실이 규명됨. 하지만 가축을 대상으로 장내세균총 연구는 기초연구 도입단계에 머무르고 있음.
- 최근 연구결과 인간과 동물간의 장내미생 분포에서 차이를 관찰하였으며 또한, 축종별로 장내미생물 분포는 확연하게 차이를 나타냄(Furet 등, 2009). 따라서 가축질병 대응과 관련하여 돼지에서 농장 맞춤형 장내미생물 분포지도 작성은 매우 시급한 시점임.
- 국외에서 돼지의 병원체 감염이나 독성 물질 및 약물투여 등 다양한 환경에서 장내 미생물총을 분석하여 그 차이를 비교한 연구는 많으나 이를 면역학적 측면에 접근하여 생산성 향상과 연관 시킨 연구는 없으며 이를 개선하는 사양관리 시스템의 개발은 시도되지 않고 있음.
- 돼지의 구제역 백신 항체가에 대한 연구의 경우 구제역의 방역 정책 방향이 백신을 하면서 청정국 지위를 획득하고자 하는 나라가 많지 않으며 국내의 상황처럼 백신을 통해 항체를 유지하려는 노력을 하는 상황은 특별한 상황이어서 외국의 사례를 직접 활용하기에는 무리가 있음.
- 따라서 국내실정에 맞는 항체가 생성률 증가를 위한 구제역 백신 접종 방법에 대한 매뉴얼의 제작은 매우 중요한 일임.
- 최근 사람의 장내 미생물의 하나로 주목을 받는 균이 *Faecalibacterium prausnitzii*임.
- 이는 사람 전체 분뇨 마이크로바이오타의 5-15%를 차지하고 위장관 내에서 가장 많이 분포하는 낙산염(butyrate) 생산 박테리아인데 낙산염은 장 표피세포의 주요 에너지 원으로서 숙주가 표피세포를 유지하는데 필수적임(그림 6).
- 낙산염 생산이 풍부하여 표피 세포가 건강하게 유지되면 암 발병과 진행을 막고, 병원성 균의 감염으로부터 숙주를 보호하며, 면역계를 자극하는 등의 긍정적이 효과가 있기 때문에 장내 *F. prausnitzii*의 수를 일정 수준 이상으로 유지하는 것은 매우 중요함.
- 실제로 크론병과 궤양성 대장염 환자에서 *F. prausnitzii*의 수가 급격히 감소되는 것이 관찰되었으며, 이를 통해 *F. prausnitzii*가 점액층 내 O-glycan 형성에도 관여하여 장의 생리 기능에 중요한 영향을 끼치는 것이 보고 되었음(그림 7).



Zachary and McGavin: Pathologic Basis of Veterinary Disease, 5th edition.
Copyright © 2012 by Mosby, Inc., an affiliate of Elsevier Inc.

4-4

그림 6. 면역학적 방어 기능을 수행하는 장내 미생물의 증식에 있어서의 점액층의 관계.

Your Microbes at Work: Fiber Fermenters Keep Us Healthy

The gut houses trillions of microbes. They eat what you eat. Many specialize in fermenting the soluble fiber in legumes, grains, fruits and vegetables. Certain microbial species are adept at colonizing the mucous layer of the gut. Mucus contains antimicrobial substances that keep the microbes at a slight distance. But it also contains sugars such as those found in breast milk. Some microbes, often the same ones that specialize in fermenting fiber, can use these sugars as sustenance when other food is not available. The by-products of fiber fermentation nourish cells lining the colon. Some by-products pass into the circulation and may calibrate our immune system in a way that prevents inflammatory disorders such as asthma and Crohn's disease.

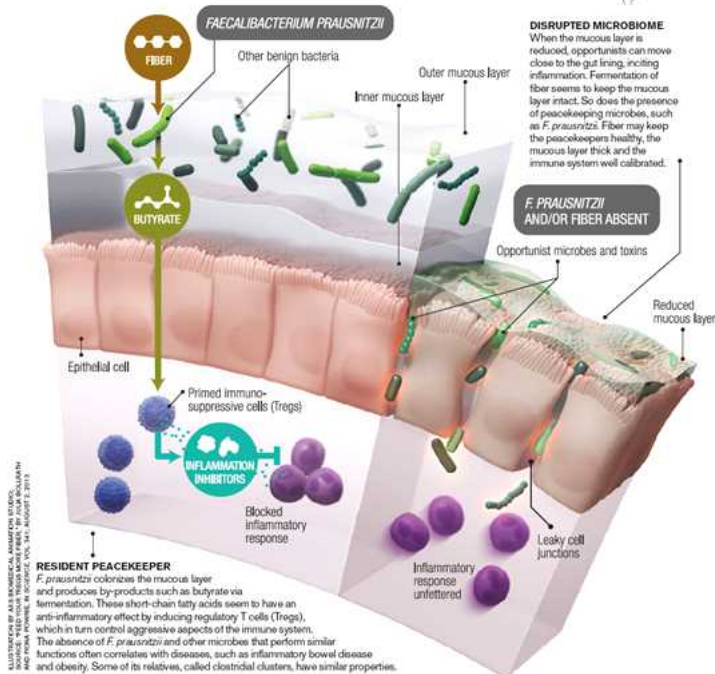


ILLUSTRATION BY ASH BONDAGE, ANATOMY BY MICHAEL AND PHOENIX, COURTESY OF SCIENCE, VOL. 343, AUGUST 2, 2010

RESIDENT PEACEKEEPER
F. prausnitzii colonizes the mucous layer and produces by-products such as butyrate via fermentation. These short-chain fatty acids seem to have an anti-inflammatory effect by inducing regulatory T cells (Tregs), which in turn control aggressive aspects of the immune system. The absence of *F. prausnitzii* and other microbes that perform similar functions often correlates with diseases, such as inflammatory bowel disease and obesity. Some of its relatives, called clostridial clusters, have similar properties.

24 FEBRUARY 2015 | VOL 518 | NATURE | 59

© 2015 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved

그림 7. 장내 건강을 유지하는데 있어 *F. prausnitzii*의 역할

3. 연구수행 내용 및 결과

코드번호	D-05
------	------

■ 제1세부 : 전북대학교

1. 생산성 높은 양돈장 돼지의 장내 미생물총 분석

가. 선정 대상 양돈장

- MSY 25두 이상 양돈장
- HACCP 기준 적용
- 특정 질병 음성 농장(PRRS, PED, coronavirus 감염증 등)

나. 양돈장의 30kg 및 90kg 구간의 돼지를 대상으로 장내 미생물총 분석함

① 돼지 장 부위별 내용물 및 분변에서의 장내 세균총 분석

- 돼지 장내 미생물총 분석은 Ion 16S™ Metagenomics Kit(Thermo Fisher Scientific, CA, USA) 와 Ion PGM™ Sequencing 400 Kit(Thermo Fisher Scientific, CA, USA) 및 Ion PGM™ platform(Thermo Fisher Scientific, CA, USA)을 이용하며 원리는 그림 6, 7 및 8과 같음)

② 분변 및 장 내용물 시료에서의 DNA 추출 및 정량

- DNA추출은 분변 및 장내용물 시료를 PowerFecal® DNA isolation Kit(MO BIO Laboratories Inc., CA, USA)을 이용하여 DNA를 추출함(그림 9).

- 시료의 DNA정량을 위해 DNA와 standard는 Qubit® dsDNA HS Assay kit (Molecular Probes, Life technologies™, CA, USA)를 사용하여 제조사의 제품 설명서에 따라 준비하였고, Qubit® 2.0 Fluorometer(Invitrogen, Life technologies™, USA)를 이용하여 측정함. 간단히 설명하면, DNA sample 1ul에 Quanti-iT reagent와 Quanti-iT buffer의 1:200 혼합액 199 ul를 첨가하여 준비하였고, standard는 standard low buffer와 standard high buffer 각 10ul에 위와 동일 혼합액 190ul을 첨가하여 준비함.

③ 시료의 Library 준비

- DNA libray는 Ion 16S™ Metagenomics Kit(Life Technologies, CA, USA)를 사용하여 제품의 사용 설명서에 따라 준비함.

- DNA fragment sample에 Platinum® PCR SuperMix High Fidelity와 Library Amplification Primer Mix를 혼합한 후 95℃에서 5분 initial denaturation을 수행한 뒤, 95℃에서 15초, 58℃에서 15초, 70℃에서 1분 간 총 18 사이클로 증폭을 반복 수행함.

- 증폭된 DNA fragment sample은 AMPure bead(Beckman Coulter, CA, USA)를 사용하여 정제한 후 Ion Library Quantitation Kit(Life technologies™, CA, USA)를 이용하여 serially dilution으로 준비함. 이때 control로 *E. coli* DH10B Control 400 Library (Ion Torrent, Life technologies™, CA, USA)을 이용하였음.

- 준비된 sample은 7500 Fast System Real-time PCR machine(ABI, USA)을 이용하여 quantitative real-time PCR로 정량함.

④ Emulsion PCR과 sequencing

- Emulsion PCR sample은 100 pmole의 DNA에 Ion PGM™ Template OT2 400 Reagent Mix를 혼합한 뒤 Ion Sphere Particles(ISPs)를 첨가하여 준비한 후 OneTouch™2(Life Technologies, USA)를 이용하여 PCR을 수행함.

- 회수된 ISPs Pellet은 Dynabeads MyOne Streptavidin C1 beads(Life technologies™, CA, USA)를 사용하여 정제하고 Qubit® 2.0 Fluorometer를 사용하여 ISP 농도를 확인 함.

- Sequencing sample은 Ion PGM™ Sequencing Reagent 400 kit(Life Technologies, CA, USA)를 이용해 준비하고 ISP sample에 control ISP를 혼합하여 15,500 xg에서 4분간 원심분리 한 다음 수거된 ISP pellet은 sequencing primer와 혼합하여 95℃에서 2분, 37℃에서 2분간 incubation 함. Sequencing sample은 Ion 316™ Chip Kit V2 (Life technologies™, CA, USA)에 loading 하고 sequencing은 Ion PGM™(Life Technologies, USA) 장비를 사용하여 수행함(그림 10).

⑤ Data 분석

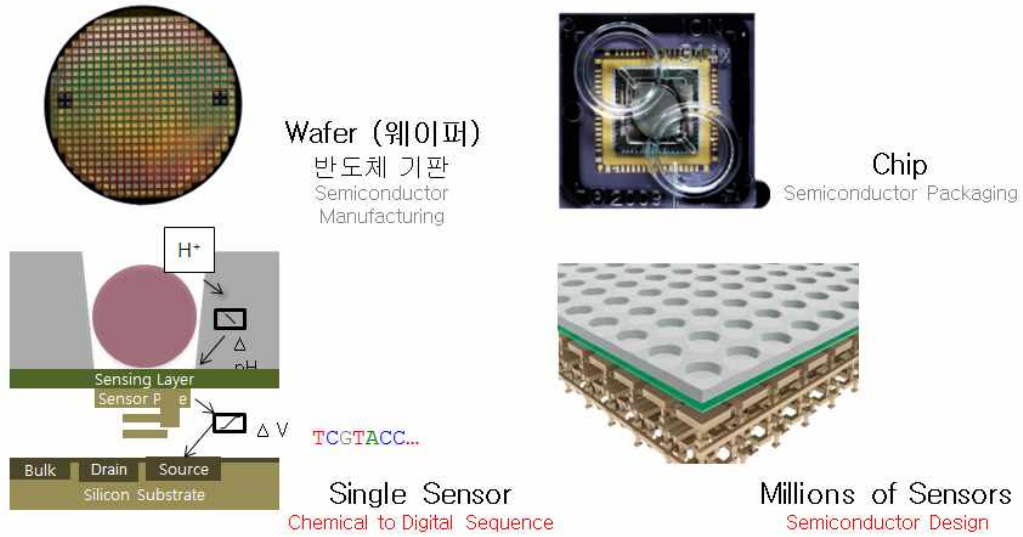
- Sequencing 반응의 raw data는 Ion PGM™을 통하여 Torrent Suite Server(ver. 4.0)에 저장 되고, 1차적인 sequencing 분석이 진행됨. Torrent Suite Server에서 raw data를 export하여 Ion Reporter™(Life Technologies, CA, USA), CLC Genomics Workbench 7 (ver. 7.0) program을 사용하여 군집의 차이를 분석함.

다. 혈청내 면역과 관련된 사이토카인 분석

라. 구제역 항체 형성률과 장내 미생물총 분포 양상과의 비교 분석

마. 건강하지 못한 돼지의 기준 선정 : MSY 낮은 양돈장 돼지(17두 이하)로 바이러스 감염(코로나 바이러스) 세균성 감염(증식성 장병증) 및 곰팡이 독소 노출 등의 돼지를 선발하여 비교함.

미생물 균집 분석



○ 그림 8. 장내미생물총 균집 분석을 위한 NGS 분석 원리.

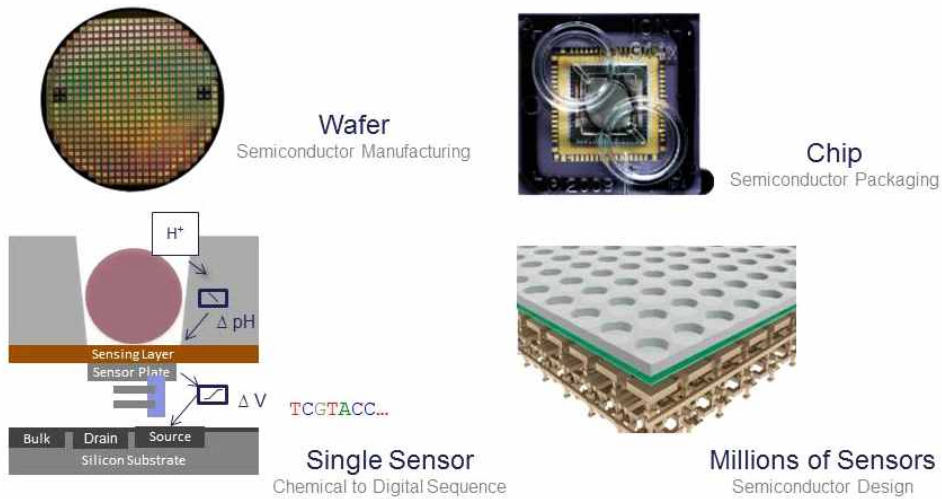


그림 9. NGS 분석에 사용되는 칩과 원리 모식도.

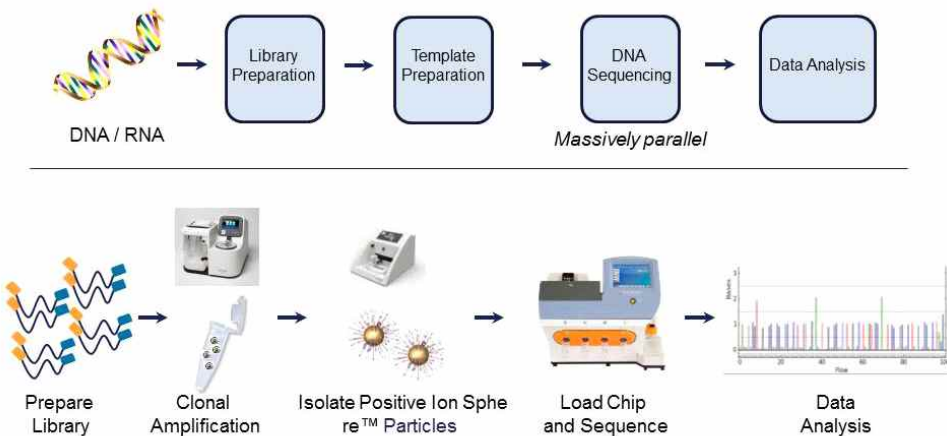


그림 10. NGS 분석 과정의 개략도.

2. 생산성 높은 양돈장 돼지의 장내 미생물총 분석 결과

가. 체중 30kg 및 90kg 돼지들의 장내 미생물총의 phylum 수준의 분석 결과 체중그룹별로 일정한 패턴의 군집을 이루고 있음을 확인함(그림 11).

나. 체중별 장내 미생물총 군집 결과는 일정한 분포를 하고 있었으며 일부 개체(pig 3)에서 Firmicutes가 높은 수준으로 분포하고 있으나 이들 균은 lactobacillus가 과증식하여 나타난 결과로 분석되었으며 정확한 이유는 알수 없음(그림 12).

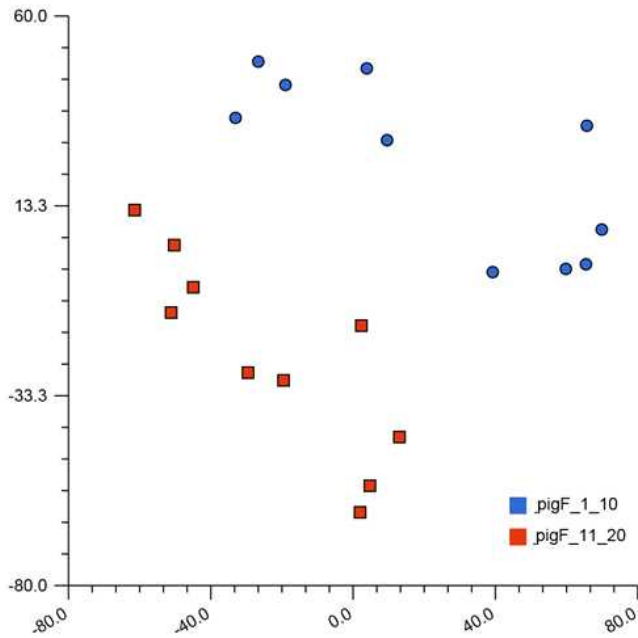


그림 11. 체중 30kg 및 90kg 돼지들의 장내 미생물총 패턴 분석결과.

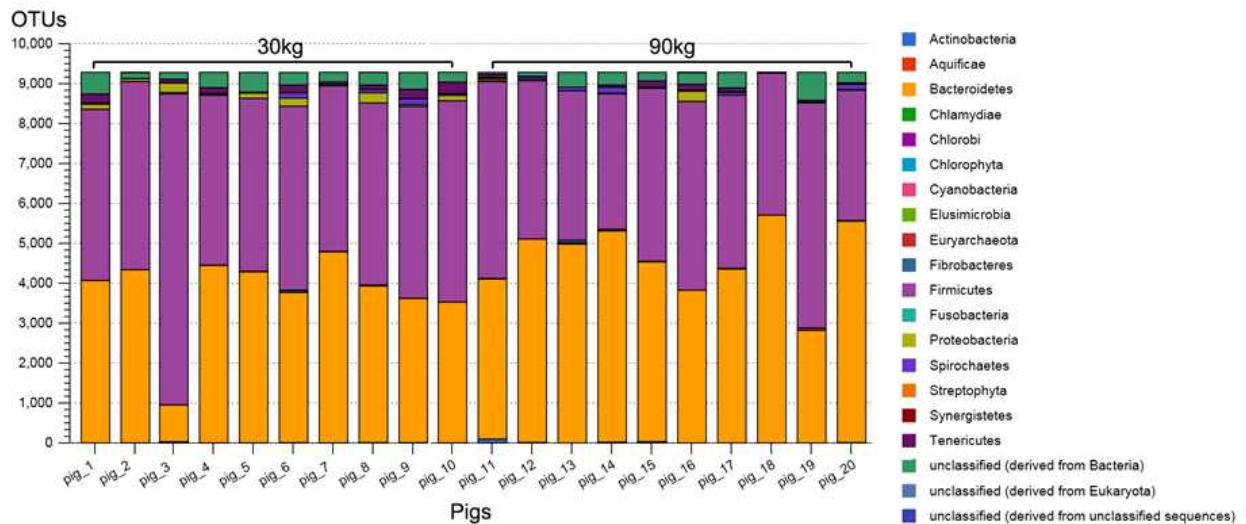


그림 12. 체중 30kg 및 90kg 구간의 Phylum 수준에서의 장내 미생물총 분석 결과.

다. 따라서 생산성 높은 양돈장의 돼지들에 대한 평균적인 군집 분포를 반영한 대표 미생물총 지도를 그림 13에서 제시함.

3. 질병 상태의 양돈장 돼지 장내 미생물총 분석 결과

- 세균감염, 바이러스 감염 및 곰팡이 독소 노출 양돈장 돼지를 대상으로 한 장내 미생물 분석 결과는 그림 14와 같으며 정상 미생물총 군집 결과와 비교할 때 모두 다양성이 낮아지는 전형적인 비정상적인 세균총 분포를 나타냈음.

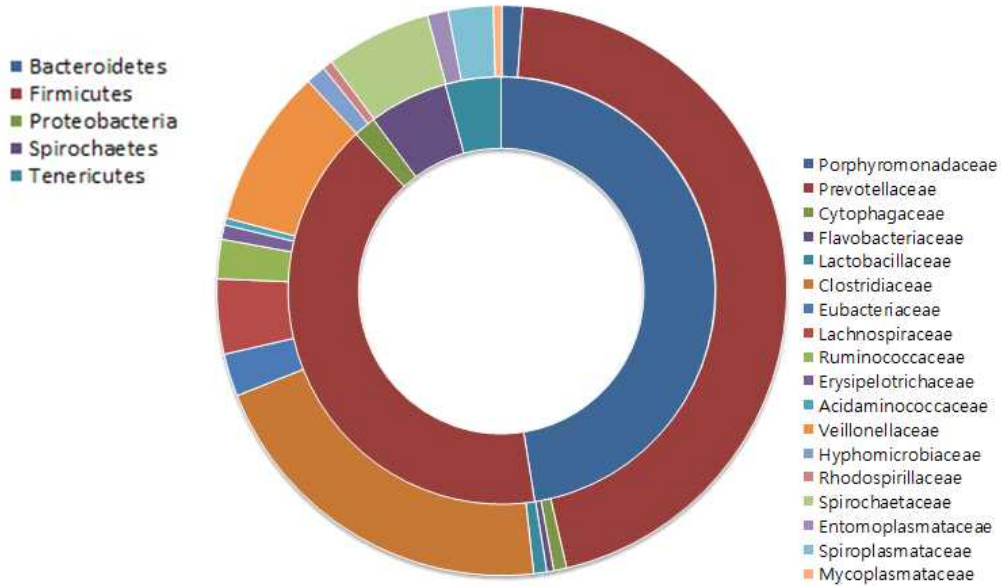


그림 13. 생산성 우수 양돈장 돼지의 정상 미생물총 군집의 대표도.

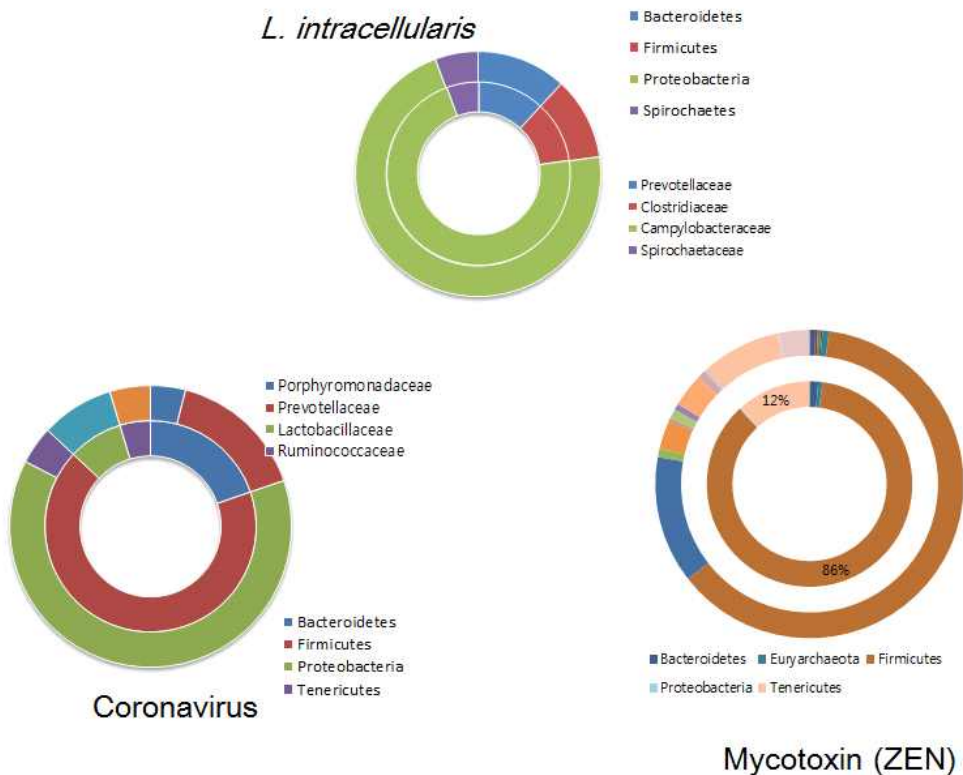


그림 14. 세균, 바이러스 및 곰팡이 독소 노출시의 돼지 장내미생물총의 변화 패턴.

4. 건강한 돼지의 장내 방어 환경 평가를 위한 *Faecalibacterium prausnitzii* 정량 분석

가. 장내 환경 방어 환경을 평가를 위해 *Faecalibacterium prausnitzii* 의 정량 PCR 분석을 수행함

나. 시료 : 4 pig farms (healthy, Bacterial, Viral and Mycotic Dz)

다. Real-time qPCR

- RIDAGENE *F. prausnitzii* real-time PCR kit(R-Biopharm AG, Germany) 이용
- DNA isolation of pig feces (Maxwell 16, Promega, USA).
- Target genes for *F. prausnitzii* (16S-rRNA).
- Taqman Probe / ABI 7500
- PCR cycle

Initial Denaturation : 1 min, 95 °C

Cycles 45 cycles

PCR Denaturation 15 sec, 95 °C

Annealing/Extension 30 sec, 60 °C

Negative : Ct > 20.

○ 결과

가. *Faecalibacterium prausnitzii* 균의 10^6 - 10^2 에 대한 PCR Ct 값은 그림 15와 같이 분석 되었음.

나. 질병 상태별 및 체중별 돼지들의 분변내 *Faecalibacterium prausnitzii* 를 정량한 결과 정상 돼지의 경우 10^8 - 10^9 정도의 높은 수준을 유지하는데 반해 질병상태의 돼지들은 낮은 상태의 균수를 유지하고 있어서 질병상태의 돼지들에서는 정상적인 점액층의 방어막이 구축되어 있지 않음을 파악할 수 있었음(그림 16).

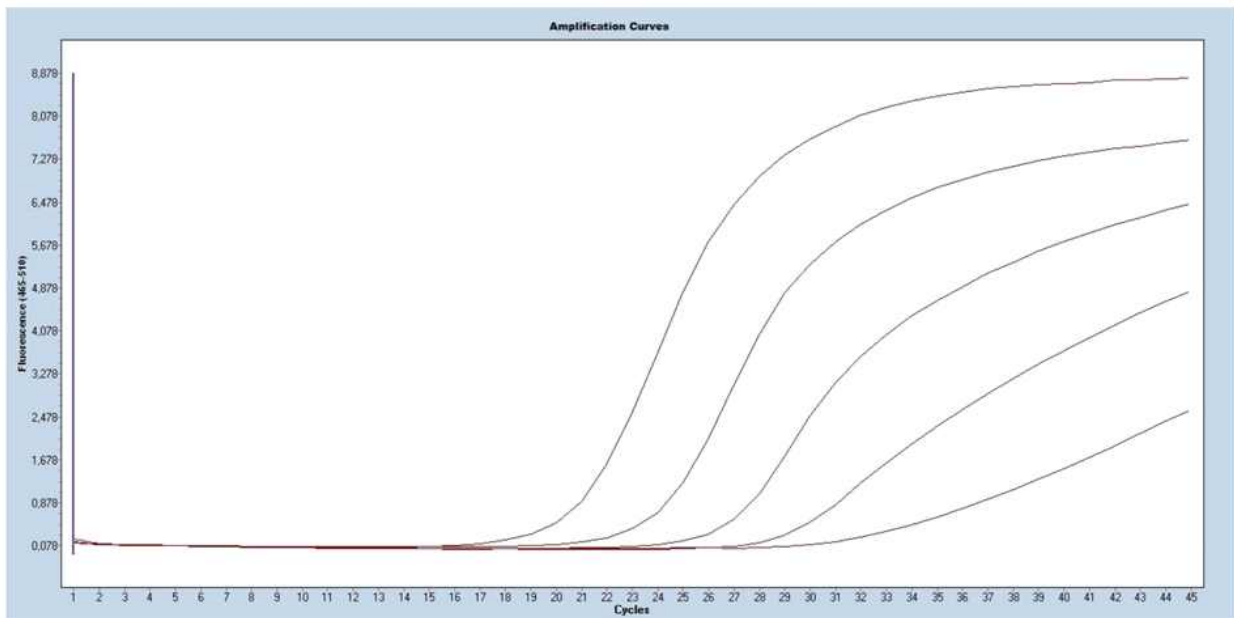


그림 15. Results of Ct value of the *Faecalibacterium prausnitzii* (10^6 - 10^2 DNA /ul).

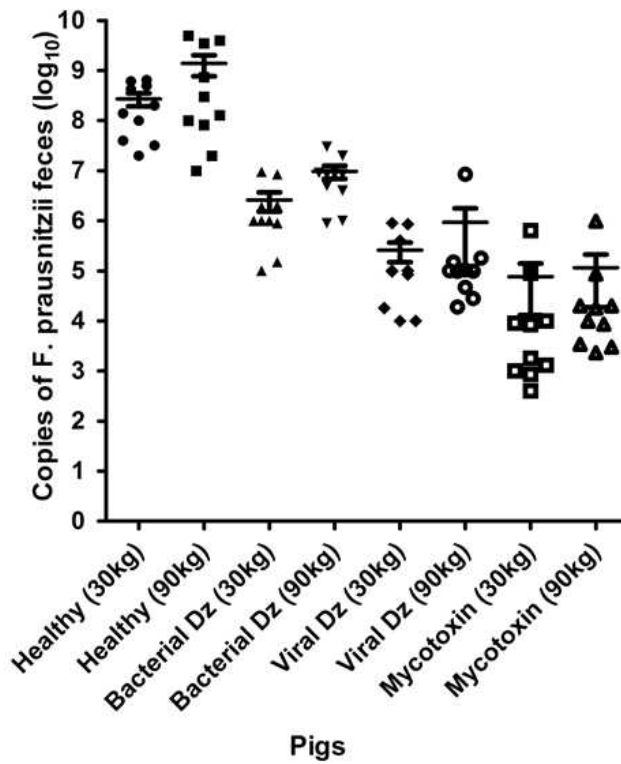


그림 16. 정상 및 질병 상태별 돼지 분변에서의 *Faecalibacterium prausnitzii*의 정량 분석 결과.

5. 생산성 우수 양돈장 돼지들의 구제역 항체 생성률 분석

가. 실험 과정

- 3곳의 양돈장(MSY 27두 이상, 30kg, 90kg 각각 10마리)
- 채혈 및 혈청 분리
- ELISA : PrioCHECK FMDV type O kit (Pronics AG, Switzerland)
- 결과판정 : 항체생성여부(PI \geq 50 (양성), PI <50 (음성) 으로 구분)

나. 결과

- 3곳 양돈장 모두 항체 형성률은 평균 40%를 넘는 수준이었음(그림 17).
- 이를 통해 생산성이 높은 잘 관리되고 있는 양돈장도 항체 형성이 잘 되지 않는 개체들이 다수 존재한다는 것을 확인함

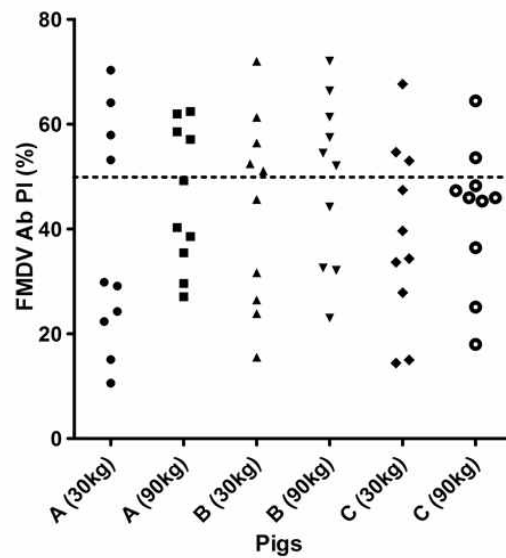


그림 17. 생산성 우수 양돈장 돼지의 구제역 항체 생성률(PI값) 분석 결과

6. 구제역 항체 생성률에 따른 cytokines 분석

가. 시료

- 3 pig farms (MSY 27두 이상)
- 항체생성여부(PI \geq 50, PI $<$ 50 으로 구분)
- 사이토카인 분석 : ELISA

TNF-alpha Pig ELISA Kit (abcam, USA)

IL-1beta Pig ELISA Kit (abcam, USA)

IL-6 Pig ELISA Kit (abcam, USA)

IL-12 Pig ELISA Kit (abcam, USA)

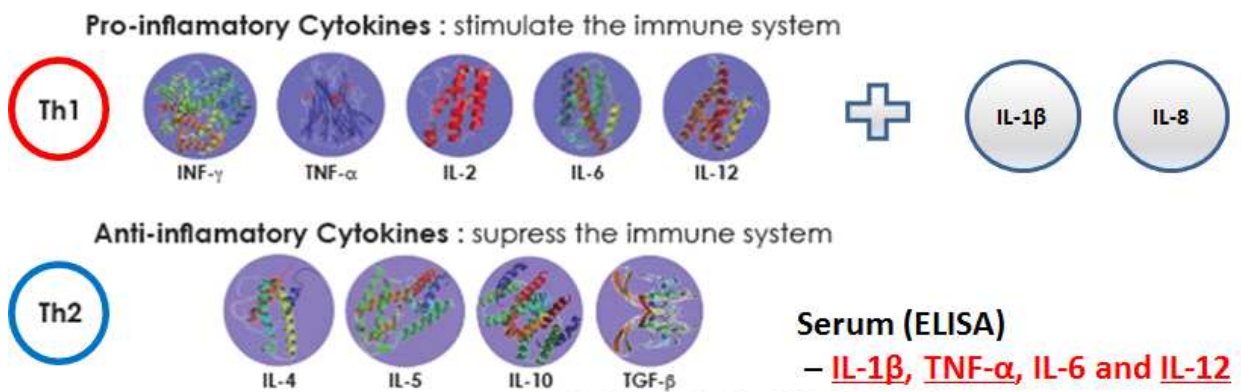


그림 18. 실험에 사용된 pro-inflammatory cytokine들의 종류

나. 구제역 항체 생성률에 따른 cytokines 분석 결과

- 실험에 사용된 4종의 싸이토카인 모두 항체 형성률이 낮은 개체에서 활성이 높은 것으로 확인 되었으며 이 결과를 통해 이들 개체들이 다른 염증 반응을 유발하는 상태였음을 확인하였고 이 결과 구제역 백신에 대한 적절한 면역학적 반응을 하지 못하였음을 평가할 수 있었음(그림 19).

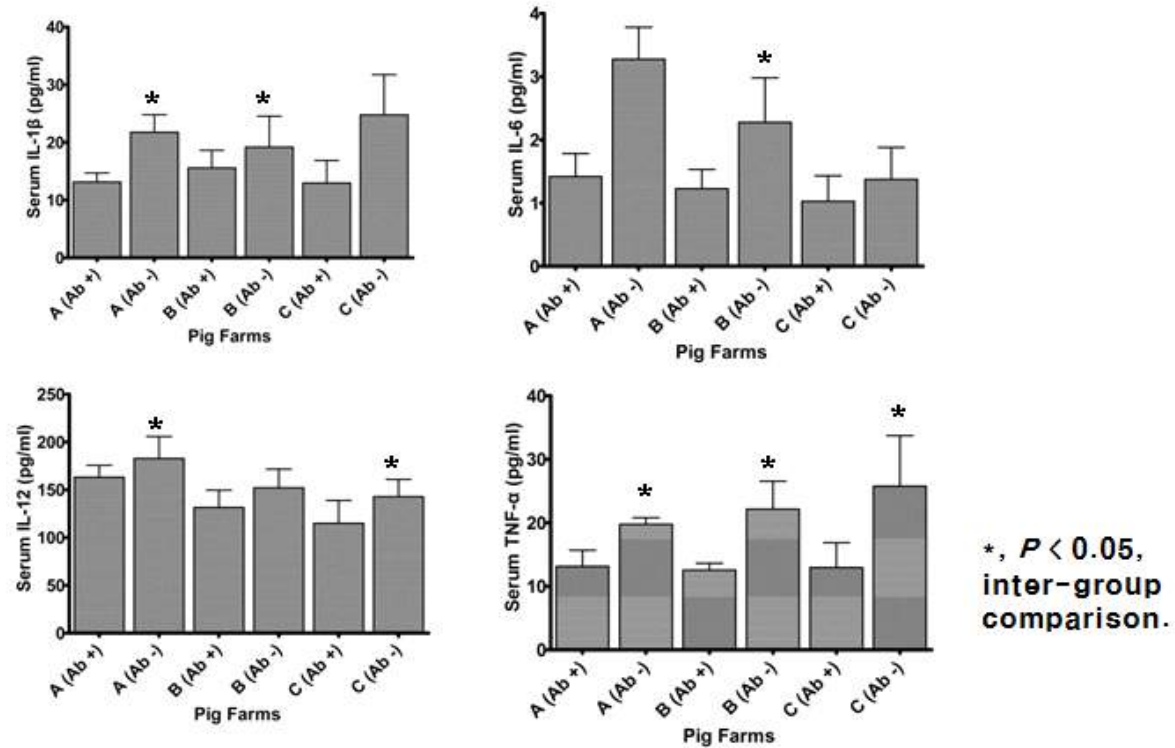


그림 19. Analysis of pro-inflammatory cytokines in pig serum.

7. 생산성 우수 양돈장 돼지에서의 장내 유용 미생물 분리

가. 대상 : MSY 27두 이상 양돈장 돼지

나. 분리 미생물 : *Faecalibacterium prausnitzii*

- 배지 : Modified Reinforced Clostridial Agar/Broth
- 배양조건 : Anaerobic gas mixture, 80% N₂-10% CO₂-10% H₂



그림 20. 배양중인 생산성 우수 양돈장 돼지 유래 *Faecalibacterium prausnitzii* 균주 분리.

* *Faecalibacterium prausnitzii* 분리를 위한 배지 조성

– ATCC Medium: 2107 Modified Reinforced Clostridial Agar/Broth (pre-reduced)

Agar Medium

Reinforced Clostridial Medium (BD 218081).....38 g
Agar.....14.5 g
DI Water.....1000 ml

Combine ingredients and boil to dissolve agar. Dispense and autoclave at 121°C. If making plates, autoclave at 121°C, let cool to 55°C and dispense.

Broth Medium

Peptone.....10.0 g
Beef Extract.....10.0 g
Yeast Extract.....3.0 g
Dextrose.....5.0 g
NaCl.....5.0 g
Soluble Starch.....1.0 g
L-Cysteine HCl.....0.5 g
Sodium Acetate.....3.0 g
Resazurin (0.025%)......4 ml
DI Water.....1000 ml

Combine ingredients and dissolve. Adjust pH to 6.8. Dispense and autoclave at 121°C.

8. 구제역 항체가 PI에 따른 돼지 장내 미생물총 군집의 비교

가. 구제역 SP항체가인 PI값이 기준인 50을 초과하는 그룹, 50주변 그룹 및 50이하 그룹으로 분류하고 장내 미생물총의 패턴을 비교함

나. 결과

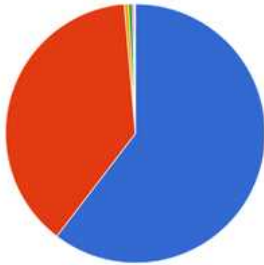
- PI값이 높은 돼지들의 장내 미생물총은 그림 21과 같음.
- 항체 형성률이 낮은 돼지의 경우 항체 형성률이 높은 돼지에 비해 **phylum** 수준에서는 **Firmicutes** 가 증가하는 경향을 보였고 **family** 수준에서 평가하면 **firmicutes** 중 **clostridia**가 증가한 결과임을 고려할 때 항체 형성률이 낮은 돼지에서는 장내에 미생물총이 대사 이상의 패턴으로 변해가는 것임을 확인함.
- 주목할 만한 결과로는 항체가 생성되지 않는 돼지에서는 항체가 형성된 건강한 그룹에 비해 **prevotellaceae**가 상대적으로 감소하는 경향을 나타나고 있음을 확인하였음.

○ PI 높은 경우

구제역 백신 항체가에 따른 장내미생물총 패턴

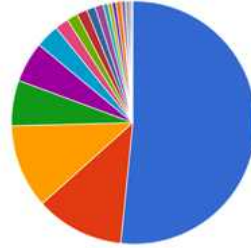
PI=65.55±7.32

Phylum



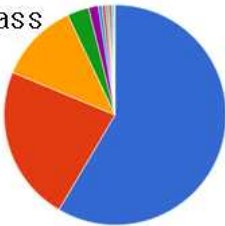
- Bacteroidetes - 648 (60.34%)
- Firmicutes - 412 (38.36%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 6 (0.56%)
- Streptophyta - 4 (0.37%)
- unclassified (derived from unclassified sequences) - 2 (0.19%)
- Arthropoda - 2 (0.19%)

Family



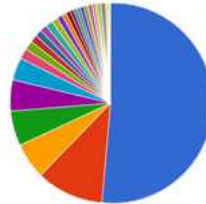
- Prevotellaceae - 554 (51.58%)
- Ruminococcaceae - 126 (11.73%)
- Veillonellaceae - 120 (11.17%)
- Porphyromonadaceae - 66 (6.15%)
- Clostridiaceae - 58 (5.40%)
- Lachnospiraceae - 34 (3.17%)
- Lactobacillaceae - 19 (1.77%)
- unclassified (derived from Clostridiales) - 16 (1.49%)
- Cytophagaceae - 15 (1.40%)
- Eubacteriaceae - 12 (1.12%)
- Bacillaceae - 12 (1.12%)
- Bacteroidaceae - 7 (0.65%)
- Erysipelotrichaceae - 6 (0.56%)
- Acidaminococcaceae - 6 (0.56%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 6 (0.56%)

Class



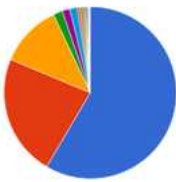
- Bacteroidia - 627 (58.38%)
- Clostridia - 246 (22.91%)
- Negativicutes - 126 (11.73%)
- Bacilli - 34 (3.17%)
- Cytophagia - 15 (1.40%)
- Erysipelotrichi - 6 (0.56%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 6 (0.56%)
- Flavobacteria - 3 (0.28%)
- unclassified (derived from Bacteroidetes) - 3 (0.28%)
- unclassified (derived from Streptophyta) - 3 (0.28%)
- unclassified (derived from unclassified sequences) - 2 (0.19%)
- Insecta - 2 (0.19%)
- Liliopsida - 1 (0.09%)

Genus



- Prevotella - 551 (51.30%)
- Selenomonas - 117 (10.89%)
- Acetivibrio - 63 (5.87%)
- Porphyromonas - 60 (5.59%)
- Clostridium - 54 (5.03%)
- Faecalibacterium - 39 (3.63%)
- Lactobacillus - 19 (1.77%)
- Butyrivibrio - 15 (1.40%)
- unclassified (derived from Ruminococcaceae) - 13 (1.21)
- Eubacterium - 12 (1.12%)
- Flexibacter - 12 (1.12%)
- Bacillus - 12 (1.12%)
- Ruminococcus - 11 (1.02%)
- unclassified (derived from Clostridiales) - 10 (0.93%)
- Roseburia - 8 (0.74%)

Order

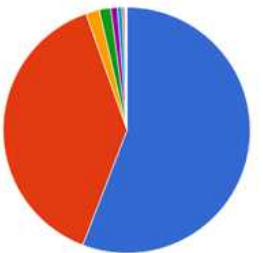


- Bacteroidales - 627 (58.38%)
- Clostridiales - 246 (22.91%)
- Selenomonadales - 120 (11.73%)
- Lactobacillales - 19 (1.77%)
- Cytophagales - 15 (1.40%)
- Bacillales - 15 (1.40%)
- Erysipelotrichales - 6 (0.56%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 6 (0.56%)
- Flavobacteriales - 3 (0.28%)
- unclassified (derived from Bacteroidetes) - 3 (0.28%)
- Brassicales - 3 (0.28%)
- unclassified (derived from unclassified sequences) - 2 (0.19%)
- Isopira - 2 (0.19%)
- Poales - 1 (0.09%)

구제역 백신 항체가에 따른 장내미생물총 패턴

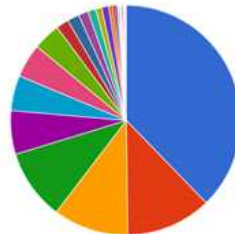
PI=49.98±5.17

Phylum



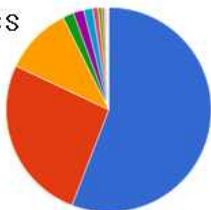
- Bacteroidetes - 1,233 (55.82%)
- Firmicutes - 858 (38.84%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 39 (1.77%)
- Streptophyta - 32 (1.45%)
- Arthropoda - 20 (0.91%)
- Spirochaetes - 14 (0.63%)
- Proteobacteria - 7 (0.32%)
- Actinobacteria - 3 (0.14%)
- Tenericutes - 3 (0.14%)

Family



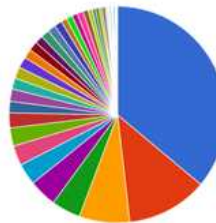
- Prevotellaceae - 833 (37.71%)
- Bacteroidaceae - 266 (12.04%)
- Veillonellaceae - 234 (10.59%)
- Ruminococcaceae - 218 (9.87%)
- Porphyromonadaceae - 134 (6.07%)
- Clostridiaceae - 110 (4.98%)
- unclassified (derived from Clostridiales) - 104 (4.71%)
- Lachnospiraceae - 85 (3.85%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 39 (1.77%)
- Eubacteriaceae - 37 (1.67%)
- Brassicaceae - 30 (1.36%)
- Lactobacillaceae - 25 (1.13%)
- Rhinotermitidae - 20 (0.91%)
- Peptococcaceae - 20 (0.91%)
- Soirochaetaceae - 14 (0.63%)

Class



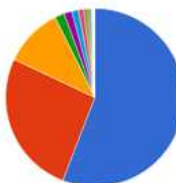
- Bacteroidia - 1,233 (55.82%)
- Clostridia - 577 (26.12%)
- Negativicutes - 238 (10.77%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 39 (1.77%)
- Bacilli - 36 (1.63%)
- unclassified (derived from Streptophyta) - 30 (1.36%)
- Insecta - 20 (0.91%)
- Spirochaetes (class) - 14 (0.63%)
- Erysipelotrichi - 7 (0.32%)
- Epsilonproteobacteria - 3 (0.14%)
- Actinobacteria (class) - 3 (0.14%)
- Mollicutes - 3 (0.14%)
- Deltaproteobacteria - 3 (0.14%)
- Liliopsida - 2 (0.09%)
- Betaproteobacteria - 1 (0.05%)

Genus



- Prevotella - 797 (36.08%)
- Bacteroides - 266 (12.04%)
- Selenomonas - 168 (7.61%)
- Clostridium - 94 (4.26%)
- Acetivibrio - 91 (4.12%)
- Barnesiella - 72 (3.26%)
- unclassified (derived from Clostridiales) - 66 (2.99%)
- Faecalibacterium - 60 (2.72%)
- Megasphaera - 48 (2.17%)
- Ruminococcus - 39 (1.77%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 39 (1.77%)
- Blautia - 38 (1.72%)
- Eubacterium - 37 (1.67%)
- Paraprevotella - 36 (1.63%)
- Parabacteroides - 30 (1.36%)

Order

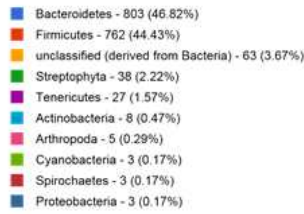
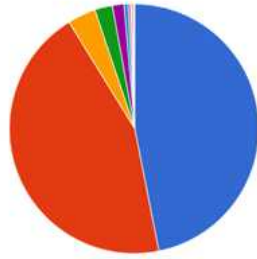


- Bacteroidales - 1,233 (55.82%)
- Clostridiales - 577 (26.12%)
- Selenomonadales - 238 (10.77%)
- unclassified (derived from Bacteria) - 39 (1.77%)
- Brassicales - 30 (1.36%)
- Lactobacillales - 25 (1.12%)
- Isopira - 20 (0.91%)
- Spirochaetales - 14 (0.63%)
- Bacillales - 8 (0.36%)
- Erysipelotrichales - 7 (0.32%)
- unclassified (derived from Deltaproteobacteria) - 3 (0.14)
- Campylobacteriales - 3 (0.14%)
- Coriobacteriales - 3 (0.14%)
- Mycoplasmatales - 3 (0.14%)
- Poales - 2 (0.09%)

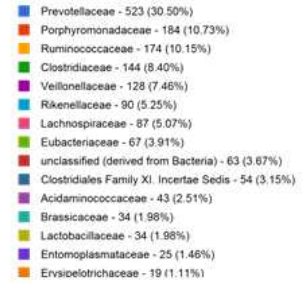
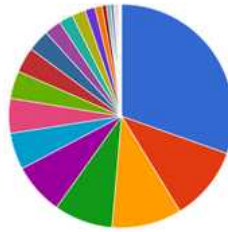
구제역 백신 항체가에 따른 장내미생물총 패턴

Phylum

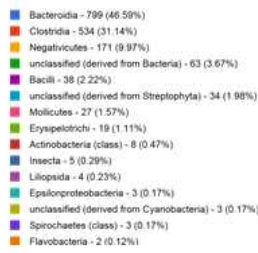
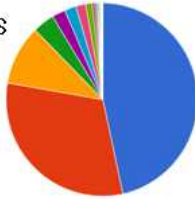
PI=13.82±6.52



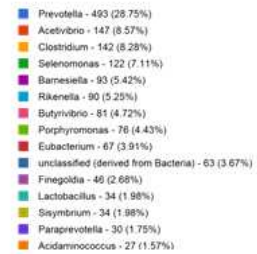
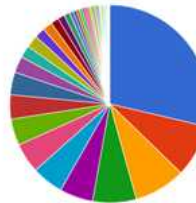
Family



Class



Genus



Order

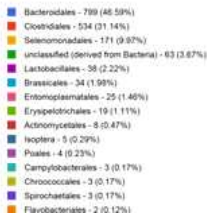
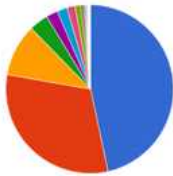


그림 21. 구제역 항체가 PI값에 따른 돼지 장내 미생물총의 분포 결과 비교.

9. 돼지 고농도 프로바이오틱스 급여에 따른 장내미생물총의 변화

가. 목적 : 일선 양돈장에서 사용되고 있는 돼지 한 마리당 일일 급여량인 저농도급여(10^5)의 문제점을 보완하여 고농도 급여(10^8 및 10^{10})에 따른 장내 미생물총 개선 효과를 검증 하고자 함

나. 재료 및 방법

1. 돼지 : 이유돼지 12마리
2. 프로바이오틱스 : 시판중인 제품의 원료 균주(Bacillus sp.)
3. 분변 시료 채취
4. 장내미생물총 균집 분석

다. 실험군 설정(실험 기간 4주)

1. NC : 프로바이오틱스 급여 없음 - 3마리
2. 저농도 10^6 급여 - 3마리
3. 중농도 10^8 급여 - 3마리
4. 고농도 10^{10} 급여 - 3마리
 - 사육 기간 동안 매일 프로바이오틱스 급여 및 분변 시료 채취

결과

1. 그림 22에서와 같이 저농도 급여균(A)은 실험 종료시에 표준 미생물총 분석 패턴과 다른 모양을 갖고 있는데 반해 고농도급여균(B)은 정상적인 장내 미생물총을 유지하는 것으로 분석됨.
2. 10^{10} 투여군도 이와 유사한 결과를 나타내 돼지에서 10^8 의 프리바이오틱스가 지속적으로 급여되는 경우 건강한 장내 미생물총을 유지할 수 있음을 확인함.

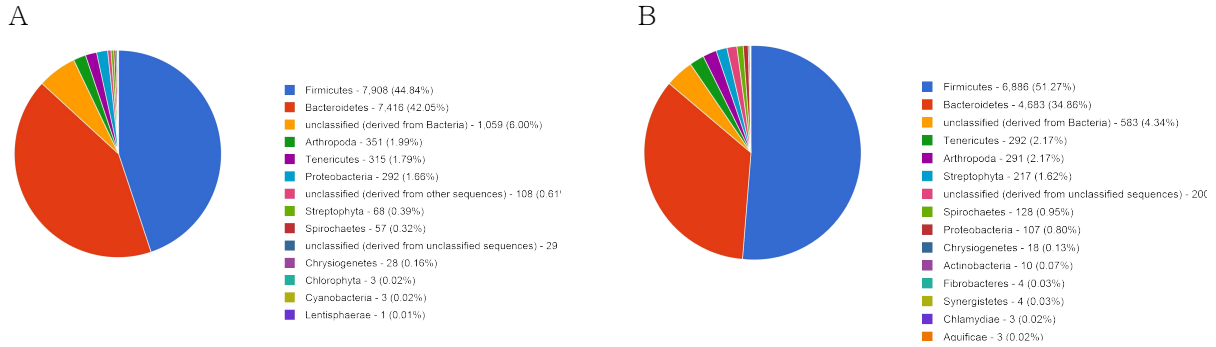


그림 22. 저농도 급여균(10^5)과 고농도급여균(10^8)의 장내 미생물총 분석 결과 비교.

■ 제1협동 연구기관 : 강원대학교

▶ 돼지의 구제역 항체가 생성될 저하의 현 국내 상황 및 문제점 현황 파악

- 최근 국내 구제역 발생 상황은 표 1과 같이 2010년 1월 이후 다발하고 있는 추세임.
- 국가차원의 구제역 방역을 위해 양돈장에서는 사독백신 형태의 구제역 백신을 접종하고 있으나 특히 돼지에서 구제역 백신에 대한 항체 생성률이 소에 비해 낮은 특징을 보이고 있음: 돼지 1회 접종시 25% 항체양성, 2회 접종시 65% 항체양성률(반면 소는 95% 이상의 항체양성률)을 나타냄.
- 양돈장에서의 구제역에 대한 낮은 항체가 형성은 농장 단위로는 구제역 감염에 대해 위험성이 높아질 뿐 아니라 기준 항체가 30%를 기준으로 미달일 경우 과태료 처분 등 불이익을 받고 있음(1차 200만원, 2차 400만원, 3차 1,000만원).
- 구제역 백신 낮은 항체형성 문제는 백신 자체의 문제일수 있다는 판단으로 이를 개선하기 위해 현재 농림축산식품부 차원에서 현재 연구를 수행하고 있으며 구제역 백신에 대한 항체 형성률이 저조한 원인으로 현재까지 연구조사된 바에 의하면 주사방법, 주사시 백신의 온도, 돈군의 면역능력 등 여러 가지 요인이 추정되고 있음.
- 그러나 시각을 달리하여 동일 양돈장에서 같은 사양관리 시스템에서 사육중이면서 구제역 백신을 접종한 돼지에서 제각각 다양한 항체 형성 양상을 보이는 것은 돼지 개체의 면역력의 차이에 의한 것이라 추정됨 (그림 2).

표 1. 최근 국내 구제역 발생 상황

구 분	2010년			'14년	' 14~' 15년	'16년
	'10.1월(포천)	'10.4월(강화)	'10/'11년(안동)			
	1.2~1.29 (28일간) 6건 (소6)	4.8~5.6 (29일간) 11건 (소7, 돼지4)	'10. 11. 28 ~ '11. 4. 21 (145일간) 153건 (소97, 돼지55, 염소1)	7.23~8.6 (15일간) 3건 (돼지3)	' 14. 12. 3 ~ ' 15. 04. 28 (147일간) 185건 (돼지180, 소5)	'16. 1. 11-13 02.17-03.29 (45일간)21건 (돼지21)
발 생	※1개도 2개 시·군	※4개 시·도 4개 시·군	※11개 시도 75개시·군	※2개도 3개 시·군	※7개 시·도, 33개 시·군	※3개 시·도, 6개 시·군
	경기 포천·연천	인천 강화, 경기김포, 충북 충주, 충남 청양	부산1, 대구1, 인천3, 울산1, 대전1, 경기19, 강원13, 충북8, 충남10, 경북16, 경남2	경북 의성, 고령, 경남 합천	인천2, 세종2,경기56, 강원11,충북36, 충남70,경북8	김제1, 고창1, 공주2, 천안1, 논산14, 홍성2
혈청형	A형	O형	O형	O형	O형	O형

- 또한 항체가 양성률 판정방법이 PI값 50을 기준으로 양성, 음성을 판정하고 있는데 농장에 따라 음성인 경우 PI값이 40 ~ 45에 몰려 있는 경우가 많고 양성인 경우도 PI값이 50 ~ 60 사이에 분포되는 경향이 많아 근소한 차이로 음성과 양성이 갈리게 되는 판정을 받게된 경우가 많음 (이로 인해 많은 농가에서 억울함 호소).
- 양돈장마다 구제역 항체 양성률에 상당한 차이가 있으며 특히 1회 접종 후 검사했을 때 편차가 매우 심함 (예, A농장: 67%, B 농장: 25%, C 농장: 17%).
- 따라서 이러한 구제역 항체가 형성에 있어 국내 양돈장에서 구제역 백신 접종 실태를 면밀히 분석하고 백신 항체 생성률에 영향을 미치는 다양한 요소에 대한 위험도 평가를 실시하여 효율적인 구제역 백신 접종 방법을 확립하는 것이 급선무라 판단됨.
- 이러한 구제역 항체형성에 대한 위험요인 분석을 통해 접종방법의 구체적 매뉴얼을 제작한 후 농가에 배포 및 교육하여 구체적인 구제역 백신접종 전략을 제공한다면 농가의 백신접종에 대한 두려움을 줄이고 스스로 필요함에 대한 인식의 전환이 될 것으로 사료됨.



그림 2. 돼지 구제역 백신 항체 생성에 영향을 줄 것으로 추정되는 다양한 요인들

▶ 돼지의 구제역 백신 접종 및 항체가 생성과 관련된 문헌조사결과

- 돼지의 구제역 항체가 생성될 저하의 문제점 분석을 위해 최신 발표된 문헌을 분석함.
- 돼지에서 구제역 백신을 접종한 후 1주일이 경과하게 되면 구제역 바이러스의 전파를 줄일 수 있음 (Eble, 2004).
- 소, 양, 돼지에서 구제역 백신을 접종하고 4 ~ 5일이 경과하게 되면 구제역 예방에 효과적임 (Barnett and Carabin, 2002).
- 구제역 백신접종이 잘 수행된 모돈으로부터 태어난 새끼 돼지에게 구제역 백신을 접종할 경우 그 접종 시기는 생후 8주 정도가 적절함 (Liao, 2003).
- 구제역 백신을 접종하고 부작용으로는, 26.8%의 소에서 체온이 상승하고, 임신 말기의 소에서 10.9%의 조산이 발생하는 것으로 보고됨 (el-Belely, 1994).

○ 참고문헌

1. el-Belely MS, Eissa HM, Ghoneim IM. Peripheral blood concentrations of plasma steroids and a metabolite of prostaglandin F2 alpha in pregnant cows vaccinated against foot and mouth disease. Br Vet J 1994; 150(6):595-602.
2. Liao PC, Lin YL, Jong MH, Chung WB. Efficacy of foot-and-mouth disease vaccine in pigs with single dose immunization. Vaccine. 2003; 21(17-18):1807-10.
3. Barnett PV, Carabin H. A review of emergency foot-and-mouth disease (FMD) vaccines. Vaccine. 2002; 20(11-12):1505-14.
4. Eblé P, de Koeijer A, Bouma A, Stegeman A, Dekker A. Quantification of within- and between-pen transmission of Foot-and-Mouth disease virus in pigs. Vet Res. 2006; 37(5):647-54.

▶ 구제역 백신의 방어효과

- 문헌조사 및 현장의 에로사항을 분석한 결과, 구제역 백신의 효능을 결정하는 데는 백신의 품질, 접종방법, 접종률, 백신 내 포함된 백신주의 개수 등 다양한 요소가 방어효과에 영향을 미친다는 결론.
- 면역원성이 좋은 항원이란 지역적으로 유행하는 여러 구제역 바이러스에 전반적으로 매칭되는 (immunodominant) 백신주를 선정하는 것이 중요함. 즉, 동아시아 지역에서 분리된 바이러스 모두를 커버할 수 있는 항원.
- 숙주로부터 발생하는 항체란 최적화된 백신 프로그램을 적용한다 할지라도 모체로부터 이행된 항체의 간섭현상, 숙주 개체의 차이 등 여러 이유로 면역공백이 야기될 수 있음. 즉, 백신 하나만으로 구제역을 방어하기에 충분치 않다는 결론이 여러 케이스에서 증명되고 있음.
- 구제역 예방과 방어에는 백신에만 의지하기보다는 농장의 차단방역 수준을 높여야 한다는 원칙이 지켜져야함.
- 또한 백신정책 하에서 구제역이 발생할 경우 백신이나 숙주 자체의 문제인지, 아니면 백신 프로그램의 실행 단계에서의 오류인지도 면밀히 분석해야함.

▶ 구제역 백신과 관련된 현장의 상황을 조사 분석해본 결과, 다음과 같은 연구 수행 목표를 설정하여 수행함.

- 최종목표: 양돈농가 구제역 항체 형성률 우수·저조 농가 현장 사례조사를 통한 위험요인 분석 및 효율적인 예방접종 매뉴얼 개발
- 세부목표: 구제역 항체가 형성률에 영향을 미치는 위험 요인 분석
- 효율적인 구제역 백신 프로그램 실시 매뉴얼 개발

▶ 연구대상인 농가의 선정

- 구제역 항체 형성률 정도에 따라 우수한 농가와 다소 저조한 농가를 선정하였음.
- 연구대상인 농가의 숫자를 결정하는 방법은 정확한 평가 분석에 매우 중요한 자료임. 너무 적은 농가수는 정확하지 않은 위험요인 분석결과를 도출하게 될 것이고, 거꾸로 요인 분석에 정확도를 높인다는 목적으로 농가수를 증가하게 되면 불필요한 비용을 들이는 결과를 가져옴.
- 참고로 통계학적인 분석을 위해 최소 농가수를 산출하는 방법은 분석에 필요한 최소 숫자를 고려하여 선정하게 되는데 어떠한 형태의 통계처리든 평균을 구하려면 $n=2$ 이상이고, 표준편차를 구하려면 $n=3$ 이상이어야 함. 평균만으로 통계처리를 할 경우에는 자유도가 $n-1$, 표준편차 개념을 포함하는 통계 분석방법을 사용하여야 할 필요가 있을 때는 자유도는 $n-2$ 인 개념을 사용함. 이때 자유도가 1보다 커야 하므로 통계 분석을 위해서는 샘플수가 4 이상이 되어야 한다는 결론을 얻을 수 있음.
- 실험 연구를 수행할 경우에는 최소 샘플수를 맞추어 실시할 수 있으나 본 연구와 같은 조사 분석을 실시할 경우에는 최소 샘플수보다는 좀 더 많은 숫자를 조사하여야 할 필요가 있음. 따라서 한돈협회의 협조로 구제역 항체가 형성률에 따라 우수 및 저조 농가를 선정하고 각 숫자는 최소 샘플수보다는 많은 농가를 방문 및 백신접종 실태를 조사하여 분석함 (통계에 근거한 농가수 산정 (우수 17호, 저조 13호 선정; 한돈 협회 협조).
 - 한돈협회의 분석 자료를 기반으로 생산성 우수 양돈장과 저조 양돈장을 선발함.
 - 선정된 양돈장 중 우수 농가에서 혈액 샘플 및 장내용물과 장시료를 획득하여 실험실 내에서 직접 항체를 검사하고 우수 농가라 하더라도 항체가 다르게 나타날 수 있다는 결과를 얻음.
 - 그 항체가 결과를 토대로 각 돼지의 장 내용물 및 장 시료를 분석함.
 - 분석내용은 장관내 염증성 싸이토카인의 분석과 장내 미생물 패턴 분석을 포함함.
- 우수 농가 17호, 저조 농가 13호에 대해 방문 조사를 실시함.
- 우수 농가는 평균 구제역 항체 형성률 85% 이상 농가에 해당됨.
 - 이 중 4호 우수 농가에 대해 농장성적 및 구간별 혈청가 분석을 통해 구체적인 항체가 형성 방안을 고려함.
- 저조 농가는 평균 구제역 항체 형성률 50% 이하 농가에 해당됨.
- 평균 항체 형성률: 우수농가, 89%; 저조농가, 47.5%.

▶ 양돈 분야 전문가 자문위원단을 선정

- 구제역 항체가 형성률 관련 분석에 활용된 연구자문단의 구성은 표 2와 같음.

표 2. 연구자문단 구성 명단

소 속	성 명	비 고
한돈협회	최00	실험 자료 보유
한별팜텍	이00	실험 자료 보유
선진	권00	실험 자료 보유
팜스코	강00	실험 자료 보유
발라드 동물병원	고00	실험 자료 보유
전북대 인수공통전염병 연구소	탁00	실험 자료 보유
경기도 북부축산위생연구소	송00	- 실험 자료 보유
강원도 동물위생시험소	홍00	- 실험 결과물

▶ 항체 형성률 저조사례 및 개선 방향 분석방법

- 구제역 항체 형성과 관련된 양돈장들의 다양한 원인 분석
- 농장의 물리적 조건 및 사양관리 방법 등을 구체적으로 조사하여 구제역 항체가 형성에 영향을 미치는 위험요인 분석을 실시함
- 각각의 인자들을 위험요인 분석하여 상관관계 분포도를 작성함.
- 구제역 백신 항체가 형성과 장내미생물총 분석결과와의 연관성 분석
 - 구제역 백신 접종 3 ~ 4주 후 항체가 형성 유무를 검사하고 이에 따라 그룹을 나누는 후 장내 미생물총 패턴을 분석하여 항체가 형성과의 상관관계를 분석함.
- 구제역 항체가 형성과 관련한 요인 분석을 위해 선정된 농장의 물리적 및 인프라적 요인, 농장 지표, 관리 방법 등을 다각도로 수집하여 분석 변수로 데이터화 함.
- 분석 변수 데이터를 계열화 하여 분석용 통계프로그램에 입력함.
- 다각도로 위험요인 분석을 실시하고 이를 통해 결과를 도출한 후 효과적인 구제역 예방접종 매뉴얼을 제작하고 이를 농가별로 배포한 후 실질적인 구제역 백신접종 지침으로 활용.

▶ 항체 형성률 저조사례 및 개선 방향 분석결과

1. 항체형성률 향상을 위해 2차 접종.
 - 총 30호 중, 2차 접종 20호 (67%), 1차만 접종 10호 (33%)
 - 평균 항체형성률: 2차 접종시 77%, 1차 접종시 61% 형성.
 - 1차 접종으로 평균 항체형성률 90% 농가 존재
 - 모든 분만전 2회 접종 및 후보돈 추가접종 실시.
 - 2차 접종에도 항체형성률 47% 농가 존재
 - 백신프로그램, 백신관리 및 접종방법 등을 면밀히 재검토할 필요가 있음.
 - 기타: 2차 접종 일령을 농가 자율적으로 조정. 이상육 발생을 줄이기 위한 목적으로 백신접종 일정을 앞당기거나 출하 시 항체가 유지를 위해 접종을 늦춤.
2. 후보돈 입식 후 추가 백신접종시 항체형성 양호.
 - 후보돈 입식후 추가접종 16호 (64%) > 미접종 9호 (36%)
 - 평균 항체형성률: 후보돈 추가접종 시, 78%, 후보돈 미접종시 65% 형성.
 - 현재 백신 프로그램에서 일관사육 농장의 후보돈 접종 기준은 없으나 적극적으로 후보돈 추가접종을 실시함.
 - 종돈장 후보돈 백신 접종프로그램은 있으나 일관사육 농장의 자체선발 후보돈에 대한 백신 접종프로그램은 없음.
 - 후보돈 추가접종시 비육돈 항체형성 향상에 상관성이 있고 우수농가는 상대적으로 후보돈 관리가 양호함.
3. 저조농가의 모든 분만전 백신접종을 저조.
 - 분만전 접종 23호(70.4%) > 분만 후 9호(33.3%), 일괄 2호(7.3%)
 - 평균 항체형성률: 분만전(78%), 일괄(57.5%), 분만 후(47.5%).
 - 우수농가는 100% 분만 전 접종 실시.
 - 저조농가는 64% 분만 전 접종 실시
 - 일부 분만 후, 혹은 주기 일제접종 실시 중.
 - 분만 전 접종으로 유사산 경험했다고 함.
 - 분만 전 접종실시한 우수농가에서 분만 전 3~4주 접종이 분만 전 5~7주 접종보다 평균 항체형성률 유의미하게 높게 나타남.
4. 이근부 대신 둔부 백신 접종 증가; 접종 경로별 항체 형성률 상관성 없음.
 - 접종경로와 상관없이 정확한 접종이 항체양성률 향상에 관건.
 - 이근부 접종 (63%) > 둔부 (38%)
 - 둔부접종 선호: 목심 이상육 방지 및 근육내 접종 편리성.
 - 평균 항체형성률: 둔부(71%), 이근부(67%).
 - 접종 부위에 따라 항체형성률의 유의미한 상관성은 없음.
 - 문제점: 경제적 이유로 둔부 접종이 증가하나 접종요령이 없음.
5. 주사침 교체: 자주 할수록 항체 형성률 높고 이상육 발생은 낮음.
 - 1침당 1~5두 (43.5%); 6~10두 (39.1%); 11두 이상 (17.4%)
 - 평균 항체형성률: 1침당 6~10두 (77.2%); 1~5두 (74.7%); 11두 이상 (51.8%)
 - 이상육 10% 이하: 1침당 1~5두 (62%)
 - 이상육 10% 초과: 1침당 6두 이상 (72%)
 - 일부 농가에서 이상육 발생원인 (침교체, 지방내 접종, 백신온도, 주사기 오염 등)에 대한 인식 부족.

6. 스트레스 완화제 사용: 항체 형성률 차이 없음.

- 스트레스 완화제 미사용 (65%) > 사용 (35%)
- 평균 항체형성률: 스트레스 완화제 미사용 (71.5%) > 사용(60.4%).
- 스트레스 완화제는 백신접종 주사제 혹은 파우더 제형으로 사용.
- 우수농가: 스트레스 완화제 사용비율 낮음 (13.4%).
- 저조농가: 사용비율이 상대적으로 높음 (50%).
- 접종만 바르게 수행한다면 따로 추가비용을 들여 스트레스 완화제 사용할 필요가 없어 보임.

7. 백신보관 및 사용 전 가온.

- 조사대상 농가 모두 적정 보관온도 준수 (냉장 2 ~ 8℃)
- 접종전 가온은 이루어지나 방법이 매우 다양.
 - 이불속 5시간, 햇볕 1시간, 보온등, 전기매트 5시간, 이불속 -> 온수, 손에 쥐고 있기, 커피포트 이용하여 체온수준의 따뜻한 물 즉석제조.
- 대부분 농가는 실온에서 1시간 보관 및 35 ~ 40℃ 온수에 서서히 가온하여 사용.
- 저조농가 일부에서 냉장고에서 꺼내 10분내 접종. 그 외 백신 온도 관리와 항체형성률의 상관성은 있다고 보기 어려움.

8. 주사기 유형 (연속, 일회용)에 따른 항체형성률 상관성 없음.

- 연속주사기 사용 64%; 일회용 36%
- 항체형성률: 일회용주사기 사용 71.1%, 연속주사기 68.2%.
- 우수농가 62%가 연속주사기 사용.
- 저조농가 67%가 연속주사기 사용.
- 주사기 유형에 의한 항체형성률 상관성은 있다고 보기 어려움.

9. 모체이행항체 간섭에 따른 항체형성률 저조

- 모돈에 백신을 과다 접종함에 따라 자돈구간에 백신 접종시 모체이행항체 간섭현상 → 항체양성률 저조
- 백신접종시기 변경 → 항체양성률 변화에 대한 모니터링 필요.
 - 7주, 10주 → 10주, 14주 접종 혹은 8주, 12주 접종

10. 백신 항원량에 따른 항체형성률 차이 발생

- 관행 접종하지 않고 정량 (2ml) 접종을 2회 실시했을 때 항체가 양성률이 높아지는 경향을 보임.
- 자동주사기 사용시 비육돈 접종량 증액 (2.3 ~ 2.4ml)

11. 보정 유무에 따른 항체형성률 차이 있음.

- 보정시 항체양성률이 높게 나타남 → 항원량 정량 투입.
- 관행접종시 0.5ml 추가 투여로 보정접종과 유사한 효과.

12. 항체형성률과 돈군의 면역상태 비교

- 불필요한 무작위적 면역활성 (염증) 상태일 때 체내 정교한 작업인 항체형성률은 떨어지는 것으로 나타남. 항체 형성률 저조사례 및 개선 방향 분석결과

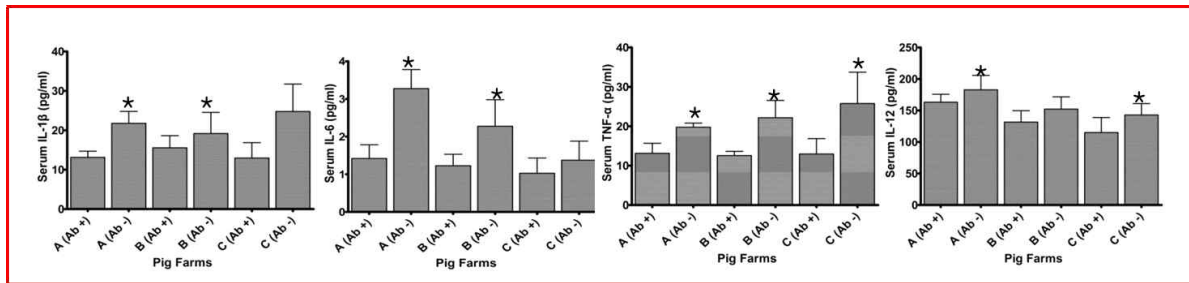


Figure. Analysis of pro-inflammatory cytokines in pig serum.

■ 결론

1. 항체형성률 향상을 위해 2차 접종.
2. 후보돈 입식 후 추가 백신접종시 항체형성 양호.
3. 저조농가의 모든 분만전 백신접종률 저조.
4. 이근부 대신 둔부 백신 접종 증가; 접종 경로별 항체 형성률 차이 없음.
5. 주사침 교체: 자주 할수록 항체 형성률 높고 이상육 발생은 낮음.
6. 스트레스 완화제 사용: 항체 형성률 차이 없음.
7. 백신보관 및 사용 전 가온.
8. 주사기 유형 (연속, 일회용)에 따른 항체형성률 상관성 없음.
9. 모체이행항체 간섭에 따른 항체형성률 저조
10. 백신 항원량에 따른 항체형성률 차이 발생
11. 보정 유무에 따른 항체형성률 차이 있음.
12. 항체형성률과 돈군의 면역활성(염증) 상관성 있음.

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

		코드번호	D-06	
4-1. 목표달성도				
○ 연구목표				
구분	연도	연구개발의 목표	연구개발의 내용	달성도
1차년도	2016년	○ 국내 돼지의 장내 세균총 분석을 통한 표준 군집 분포도 작성	- 생산성 우수 양돈장 돼지의 표준 장내미생물총 군집 표준 제시	달성도 100% - 생산성 우수 양돈장을 대상으로한 표준 장내미생물총 군집 분석 달성
		○ 질병 상태/건강한 돼지의 장내 미생물총 군집 비교 분석	- 건강한 돼지와 비교되는 세균, 바이러스, 곰팡이 독소 노출 돼지에서의 장내 미생물총 비교 분석	달성도 100% - 정상과 비교되는 다양한 질병상태의 장내미생물총 패턴을 제시함
		○ 건강한 장내 미생물 군집 관리를 위한 프로그램 작성	- 기존의 저농도 프리바이오틱스의 개선방향으로 고농도 급여를 통해 장내미생물총 개선 프로그램 개발	달성도 100% - 기존의 10 ⁵ 농도에 비해 10 ⁸ 농도의 급여가 장내미생물총을 개선하는데 효과가 있음을 확인함
		○ 구제역 백신 항체 생성률과 면역 및 장내미생물과의 상관 관계 분석	- 구제역 백신 항체 형성 저하의 요인으로서 장내 미생물총 군집 및 사이토카인과의 상관성을 규명	달성도 100% - 구제역 백신 항체가 생성물에 장내미생물총과 사이토카인의 변화가 영향을 주고 있음을 확인함
		○ 구제역 항체 생성률 분석을 위한 위험 요인 분석	- 농장내 구제역 백신 항체가 형성 저하에 영향을 주는 다양한 위험 요인 분석	달성도 100% - 농장내 구제역 항체가 형성에 영향을 주는 요인을 분석함
4-2. 관련분야 기여도				
○ 현재 돼지에서 장 건강을 평가하기 위한 건강한 표준 미생물총 분포도가 없어 생산성 향상을 위해 투여하는 다수의 미생물 제제의 효능을 정확하게 평가할 수 없는 문제가 있음. 따라서 본 연구에서 제시된 우리나라 돼지의 표준 장내미생물총 분포 지도를 바탕으로 다양한 효능 평가의 표준으로 활용될 수 있음.				
○ 본 연구에서 도출한 건강한 돼지와 비교되는 세균, 바이러스, 곰팡이 독소 노출 돼지에서의 장내 미생물총 군집 결과를 통해 질병상태를 파악할 수 있는 진단기법으로 활용될 수 있음.				
○ 기존의 저농도 프리바이오틱스의 개선방향으로 고농도 급여를 통해 장내미생물총을 개선하는 방안을 제시함으로써 사양관리 프로그램에 적용될 수 있음				
○ 구제역 백신 항체 형성 저하의 요인으로서 장내 미생물총 군집 및 사이토카인과의 상관성을 규명함으로써 이를 개선하는 다양한 방법의 개발이 필요함				
○ 국내 양돈장에서 구제역 백신 후 항체 형성률이 다양한 것에 대한 논란과 함께 영향을 주는 요인들에 대한 궁금증이 높은 상황에서 본 연구에서 밝혀낸 구제역 백신 항체가 형성에 영향을 주는 요인들에 대한 분석 결과는 앞으로 많은 양돈장에서 지침으로 활용하여 구제역 방역에 활용될 것임.				

5. 연구결과의 활용계획

	코드번호	D-07
<ul style="list-style-type: none"> ○ 국내 생산성이 높은 양돈장의 돼지를 대상으로 표준 장내미생물총 군집 분포도를 작성하였으며 이를 활용하여 돼지의 건강 상태를 분석하는 자료로 활용할 수 있음 ○ 돼지에서 장 건강을 평가하기 위한 건강한 표준 미생물총 분포도가 없어 생산성 향상을 위해 투여하는 다수의 미생물 제제의 효능을 정확하게 평가할 수 없는 문제가 있음. 따라서 본 연구에서 제시된 우리나라 돼지의 표준 장내미생물총 분포 지도를 바탕으로 다양한 효능 평가의 표준으로 활용될 수 있음. ○ 본 연구에서 도출한 건강한 돼지와 비교되는 세균, 바이러스, 곰팡이 독소 노출 돼지에서의 장내 미생물총 군집 결과를 통해 질병상태를 파악할 수 있는 진단기법으로 활용될 수 있음. ○ 기존의 저농도 프리바이오틱스의 개선방향으로 고농도 급여를 통해 장내미생물총을 개선하는 방안을 제시함으로써 사양관리 프로그램에 적용될 수 있음 ○ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> 의 분리 배양을 통해 차세대 probiotics로 활용될 수 있음 ○ 국내 양돈장에서 구제역 백신 후 항체 형성률이 다양한 것에 대한 논란과 함께 영향을 주는 요인들에 대한 궁금증이 높은 상황에서 본 연구에서 밝혀낸 구제역 백신 항체가 형성에 영향을 주는 요인들에 대한 분석 결과는 앞으로 많은 양돈장에서 지침으로 활용하여 구제역 방역에 활용될 것임. 		

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

	코드번호	D-08
<ul style="list-style-type: none"> ○ Foditsch C, Santos TM, Teixeira AG, Pereira RV, Dias JM, Gaeta N, Bicalho RC. Isolation and characterization of <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> from calves and piglets. PLoS One. 2014 Dec 31;9(12):e116465. doi: 10.1371/journal.pone.0116465. eCollection 2014. 		
<p>그림. Correlations between the average difference of short chain fatty acids (acetate, butyrate, propionate and isobutyrate) concentrations and the growth performance of the <i>F. prausnitzii</i> isolates, represented by the increment of optical density.</p>		

○ Foditsch C1, Pereira RV1, Ganda EK1, Gomez MS1, Marques EC2, Santin T2, Bicalho RC1. Oral Administration of *Faecalibacterium prausnitzii* Decreased the Incidence of Severe Diarrhea and Related Mortality Rate and Increased Weight Gain in Preweaned Dairy Heifers. PLoS One. 2015 Dec 28;10(12):e0145485. doi: 10.1371/journal.pone.0145485. eCollection 2015.

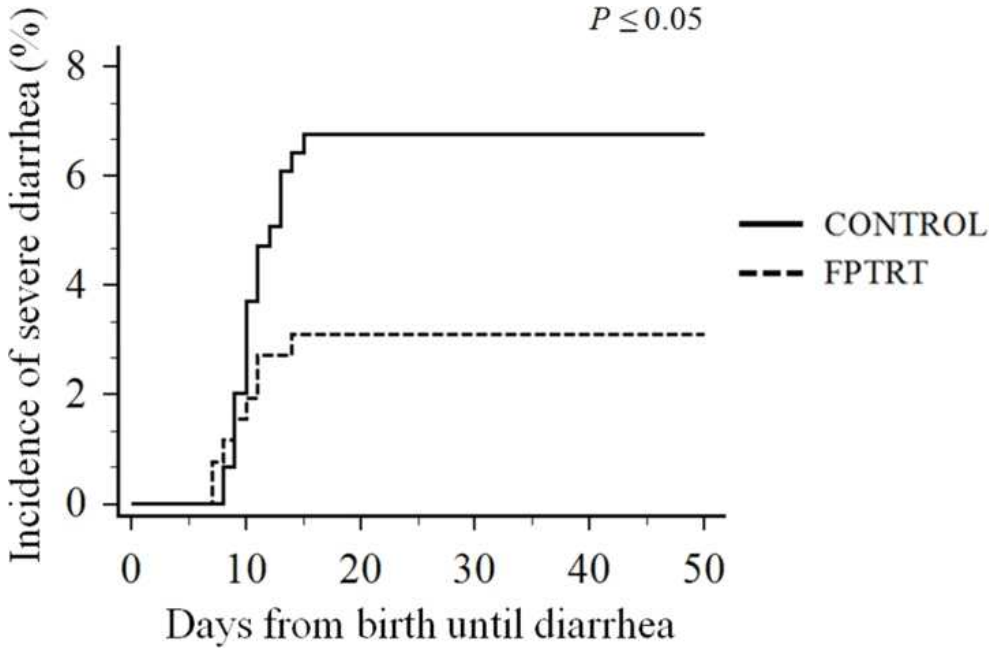


그림. Field trial. Effect of *F. prausnitzii* administration on incidence of severe diarrhea according by treatment groups: FPTRT (N = 258) or control (N = 296). Severe diarrhea was defined as dehydrated calves with loose or watery feces that were treated by the farm employees with oral electrolytes or intravenous fluids.

7. 연구개발결과의 보안등급

	코드번호	D-09
○ 해당사항 없음		

8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

					코드번호	D-10		
구입 기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입 가격 (천원)	구입처 (전화번호)	비고 (설치 장소)	NTIS장비 등록번호

9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

		코드번호	D-11
○ 해당사항 없음			

10. 연구개발과제의 대표적 연구실적

						코드번호	D-12		
번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	Gut microbiome responses of pigs under mycotoxin contamination in feed	전북대학교	연구책임자	대한수의학회국제학술대회초록집/대한민국	-	2016.11.11	단독사사	우수논문상
2							yyyy.mm.dd		
3							yyyy.mm.dd		
4							yyyy.mm.dd		
5							yyyy.mm.dd		

11. 기타사항

		코드번호	D-13
○			
작성요령(제출 시 삭제할 것)			
○ 기타 필요한 사항을 기술			

12. 참고문헌

코드번호	D-14
<ol style="list-style-type: none">1. el-Belely MS, Eissa HM, Ghoneim IM. Peripheral blood concentrations of plasma steroids and a metabolite of prostaglandin F2 alpha in pregnant cows vaccinated against foot and mouth disease. <i>Br Vet J</i> 1994; 150(6):595-602.2. Liao PC, Lin YL, Jong MH, Chung WB. Efficacy of foot-and-mouth disease vaccine in pigs with single dose immunization. <i>Vaccine</i>. 2003; 21(17-18):1807-10.3. Barnett PV, Carabin H. A review of emergency foot-and-mouth disease (FMD) vaccines. <i>Vaccine</i>. 2002; 20(11-12):1505-14.4. Eblé P, de Koeijer A, Bouma A, Stegeman A, Dekker A. Quantification of within- and between-pen transmission of Foot-and-Mouth disease virus in pigs. <i>Vet Res</i>. 2006; 37(5):647-54.	

<별첨작성 양식>

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 돼지 질병 저항성 향상을 위한 장내 세균총 조절 관리 프로그램 개발				
	(영문) Development of the porcine gut microbiome control measure for the disease prevention				
주 관 연구 기관	전북대학교 산학협력단		주 관 연 구	(소속) 수의과대학	
자 조 금 단 체	한돈자조금관리 위원회		책 임 자	(성명) 조호성	
총 연구개발비 (250,000천원)	계	250,000,000	총 연구 기간	2016.07.28. ~ 2017.07.27. (1년)	
	정부출연 연구개발비	200,000,000	총 참 연 구 원 수	총 인원	10
	자조금 단체 부담금	20,000,000		내부인원	10
	연구기관부담금	30,000,000		외부인원	0

○ 연구개발 목표 및 성과

- 국내 생산성 우수 양돈장의 돼지를 대상으로 표준 장내미생물총 군집 분포를 분석하고 이를 돼지의 면역 상태를 포함한 건강 상태를 평가하는 기준으로 활용하고자 함.
- 양돈농가 구제역 항체 형성을 우수·저조 농가 현장 사례조사를 통한 위험요인 분석 및 효율적인 예방접종 매뉴얼 개발
- 장내미생물총 조절 사양관리 프로그램 개발 및 이의 적용을 통한 질병 저항성 및 생산성 향상
- 생산성 저하 양돈장의 장내세균총 개선 시스템 개발 및 적용
- 구제역 항체가 형성에 영향을 미치는 위험 요인 분석
- 효율적인 구제역 백신 프로그램 실시 매뉴얼 개발

○ 연구내용 및 결과

- 생산성 우수 양돈장 돼지의 장내 미생물총 분석
 - MSY 25두 이상의 양돈장 돼지를 대상으로 장내 미생물총을 분석하여 표준 미생물 군집 분포도를 작성함
 - 체중 30kg과 90kg 구간을 비교할 때 일정한 군집 패턴을 나타내고 있었음
- 질병 상태의 양돈장 돼지 장내 미생물총 분석
 - 세균, 바이러스 감염 및 곰팡이 독소 노출 상태에서의 장내 미생물총 군집 분석 결과 정상과 비교할 때 다양성이 낮아지는 전형적인 비정상 패턴을 나타냈음.
- 생산성 우수 양돈장 돼지들의 구제역 항체 생성률 분석 및 사이토카인과의 연관성
 - 구제역 SP 항체가를 측정한 결과 평균 40% 정도의 항체 형성률을 유지함
 - 구제역 항체가 생성군과 미생성군에 대한 IL-1beta, IL-6, IL-12, TNF-alpha를 검사한 결과 모두 항체 형성률이 낮은 개체에서 활성이 높은 것으로 확인 되었으며 이 결과를 통해 이들 개체들이 다른 염증 반응을 유발하는 상태였음을 확인하였고 이 결과 구제역 백신에 대한 적절한 면역학적 반응을 하지 못하였음을 평가할 수 있었음

- 구제역 항체가 따른 돼지 장내 미생물총 군집의 비교

- 구제역 항체가 수치인 PI값이 50을 초과하는 그룹, 50 이하 및 50주변의 장내 미생물총 결과를 비교하였음.
- 항체 형성률이 낮은 돼지의 경우 항체 형성률이 높은 돼지에 비해 phylum 수준에서는 Firmicutes 가 증가하는 경향을 보였고 family 수준에서 평가하면 firmicutes 중 clostridia가 증가한 결과임을 고려할 때 항체 형성률이 낮은 돼지에서는 장내에 미생물총이 대사 이상의 패턴으로 변해가는 것임을 확인함.
- 또한 항체가 생성되지 않는 돼지에서는 항체가 형성된 건강한 그룹에 비해 prevotellaceae가 상대적으로 감소하는 경향을 나타나고 있음을 확인하였음.

- 돼지 고농도 프로바이오틱스 급여에 따른 장내미생물총의 변화

- 프로바이오틱스의 고농도급여의 경우 10^8 농도로 30일 급여함으로 장내 미생물총 개선에 효과적임을 확인함

- 구제역 항체가 형성에 영향을 미치는 요인 분석

- 항체형성을 향상을 위해 2차 접종 필요.
- 후보돈 입식 후 추가 백신접종시 항체형성 양호.
- 저조농가의 모든 분만전 백신접종을 저조.
- 이근부 대신 둔부 백신 접종 증가; 접종 경로별 항체 형성률 차이 없음.
- 주사침 교체: 자주 할수록 항체 형성률 높고 이상육 발생은 낮음.
- 스트레스 완화제 사용: 항체 형성률 차이 없음.
- 백신보관 및 사용 전 가온 여부 영향 있음.
- 주사기 유형 (연속, 일회용)에 따른 항체형성을 상관성 없음.
- 모체이행항체 간섭에 따른 항체형성을 저조.
- 백신 항원량에 따른 항체형성을 차이 발생.
- 보정 유무에 따른 항체형성을 차이 있음.

항체 형성률과 돈군의 면역활성(염증) 상관성 있음.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

- 국내 생산성이 높은 양돈장의 돼지를 대상으로 표준 장내미생물총 군집 분포도를 작성하였으며 이를 활용하여 돼지의 건강 상태를 분석하는 자료로 활용할 수 있음
- 돼지에서 장 건강을 평가하기 위한 건강한 표준 미생물총 분포도가 없어 생산성 향상을 위해 투여하는 다수의 미생물 제제의 효능을 정확하게 평가할 수 없는 문제가 있음. 따라서 본 연구에서 제시된 우리나라 돼지의 표준 장내미생물총 분포 지도를 바탕으로 다양한 효능 평가의 표준으로 활용될 수 있음.
- 본 연구에서 도출한 건강한 돼지와 비교되는 세균, 바이러스, 곰팡이 독소 노출 돼지에서의 장내 미생물총 군집 결과를 통해 질병상태를 파악할 수 있는 진단기법으로 활용될 수 있음.
- 기존의 저농도 프리바이오틱스의 개선방향으로 고농도 급여를 통해 장내미생물총을 개선하는 방안을 제시함으로써 사양관리 프로그램에 적용될 수 있음.
- *Faecalibacterium prausnitzii* 의 분리 배양을 통해 차세대 probiotics로 활용될 수 있음.
- 국내 양돈장에서 구제역 백신 후 항체 형성률이 다양한 것에 대한 논란과 함께 영향을 주는 요인들에 대한 궁금증이 높은 상황에서 본 연구에서 밝혀낸 구제역 백신 항체가 형성에 영향을 주는 요인들에 대한 분석 결과는 앞으로 많은 양돈장에서 지침으로 활용하여 구제역 방역에 활용될 것임.

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

			코드번호	D-15	
			과제번호	116043-1	
사업구분	가축질병대응사업				
연구분야			과제구분	단위	
사업명	농식품 R&D 바우처 시범 사업			주관	
총괄과제	기재하지 않음		총괄책임자	기재하지 않음	
과제명	돼지 질병 저항성 향상을 위한 장내 세균총 조절 관리 프로그램 개발		과제유형	개발	
연구기관	전북대학교 산학협력단		연구책임자	조호성	
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2016.07.28. -2017.07.27	200,000,000	50,000,000	250,000,000
	계		200,000,000	50,000,000	250,000,000
참여기업	한돈자조금				
상대국			상대국연구기관		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2017. 08. 27

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
전북대학교 수의과대학	교수	조호성

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수)

1. 국내 양돈산업에서 사양관리 및 질병 상태 분석의 기준이 되는 국내 돼지의 표준 장내미생물총 군집을 분석하고 다양한 질병상태의 결과와 비교함으로써 다양한 연구 및 사양관리 프로그램 개선에 활용될 것임.
2. 국내 구제역백신 상황하에서 항체가 생성물 저조의 문제에 대한 원인 분석과 이를 과학적으로 증명하여 개선 할 수 있는 방안을 제시함

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (우수)

1. 본 연구에서 양돈 분야에서 활용되는 프로바이오틱스의 효능을 과학적으로 검증하는 평가 시스템을 제시함으로써 이를 활용한 평가와 사양 프로그램 개선에 기여함
2. 구제역 항체가 형성 저하의 원인을 제시하고 이를 개선하는 방향에 적극 활용될 것임.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수)

1. 본 연구에서 제시한 국내 돼지의 표준 미생물총 분석 결과는 생균제 등의 효능 평가에 직접 활용될 것임
2. 또한 장내 미생물총 결과는 돼지의 건강상태를 전반적으로 파악하는 새로운 방법으로 활용될 것임
3. 구제역 항체가 생성 여부를 장내미생물총 교란 및 면역학적 이상상태라는 결과 제시를 통해 이를 활용한 다양한 시도가 가능해짐

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

1. 본 연구는 1년이라는 연구기간동안 다양한 방향으로 돼지의 정상과 비정상 장내미생물총을 정의하고 이를 개선하는 다양한 분석하는데 최선을 다함

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (우수)

본 연구를 수행함에 있어 1년이라는 짧은 기간안에 많은 분야에 활용하기는 어려웠으나 다양한 연구 결과를 언론 매체 및 학회 발표 등으로 적극 홍보하였고 매뉴얼 작성으로 정리한 내용을 정책에 활용될 수 있도록 제안을 추진할 예정임

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
국내 돼지의 장내 세균총 분석을 통한 표준 균집 분포도 작성	25	100	- 생산성 우수 양돈장을 대상으로한 표준 장내미생물총 균집 분석 달성
질병 상태/건강한 돼지의 장내 미생물총 균집 비교 분석	20	100	- 정상과 비교되는 다양한 질병상태의 장내미생물총 패턴을 제시함
건강한 장내 미생물 균집 관리를 위한 프로그램 작성	15	100	- 기존의 10^5 농도에 비해 10^8 농도의 급여가 장내미생물총을 개선하는데 효과 있음을 확인함
구제역 백신 항체 생성률과 면역 및 장내미생물과의 상관 관계 분석	20	100	- 구제역 백신 항체가 생성률에 장내 미생물총과 싸이토카인의 변화가 영향을 주고 있음을 확인함
구제역 항체 생성률 분석을 위한 위험 요인 분석	20	100	- 농장내 구제역 항체가 형성에 영향을 주는 요인을 분석함
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구는 국내 돼지의 장내 세균총 분석을 통한 표준 균집 분포도 작성하고 질병 상태의 돼지 장내 미생물총 균집 비교 분석을 통해 양상의 차이를 파악하는데 그 목적이 있었으며 이를 활용하여 고농도 프로바이오틱스 급여를 통한 건강 개선 효과를 검증할 수 있게 되었음. 또한 구제역 백신 항체 생성률과 면역 및 장내미생물과의 상관 관계 분석하고 구제역 항체 생성률 분석을 위한 위험 요인 분석함으로써 국내 양돈 농가가 겪고 있는 문제를 해결하는데 다양한 방식으로 기여할 수 있다고 판단됨

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

본 연구는 한돈자조금협회가 양돈 농가에서 필요한 연구주제를 제시하고 이를 수행하는 방식의 R&D 바우처 사업이며 이 사업을 통해 국내 양돈장 돼지의 표준 미생물총의 분석과 구제역 항체가 형성 저조의 원인을 밝히고 대처 방안을 마련하는 기초자료를 제시하는데 목표가 있었음. 따라서 1년이라는 짧은 기간에 야외 시험이나 심도있는 연구를 진행하기에 무리가 있었음.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

1. 국내 생산성이 높은 양돈장의 돼지를 대상으로 표준 장내미생물총 군집 분포도를 작성하였으며 이를 활용하여 돼지의 건강 상태를 분석하는 자료로 활용
2. 돼지에서 장 건강을 평가하기 위한 건강한 표준 미생물총 분포도 자료를 바탕으로 생산성 향상을 위해 투여하는 다수의 미생물 제제의 효능을 정확하게 평가할 수 있게 됨.
3. 연구에서 도출한 건강한 돼지와 비교되는 세균, 바이러스, 곰팡이 독소 노출 돼지에서의 장내 미생물총 군집 결과를 통해 질병상태를 파악할 수 있는 진단기법으로 활용될 수 있음.
4. 기존의 저농도 프리바이오틱스의 개선방향으로 고농도 급여를 통해 장내미생물총을 개선하는 방안을 제시함으로써 사양관리 프로그램에 적용될 수 있음. 이후 병원체 감염 실험을 통해 장내미생물총 이상과 감염병 감수성간의 관계를 규명할 것임.
5. *Faecalibacterium prausnitzii* 의 분리 배양을 통해 차세대 probiotics로 활용될 수 있음
6. 국내 양돈장에서 구제역 백신 후 항체 형성률이 다양한 것에 대한 논란과 함께 영향을 주는 요인들에 대한 궁금증이 높은 상황에서 본 연구에서 밝혀낸 구제역 백신 항체가 형성에 영향을 주는 요인들에 대한 분석 결과는 앞으로 많은 양돈장에서 지침으로 활용하여 구제역 방역에 활용될 것임.

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

2. 연구기관 자체의 검토결과

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제		분 야	농생명산업기술개발사업
연구과제명	돼지 질병 저항성 향상을 위한 장내 세균총 조절 관리 프로그램 개발			
주관연구기관	전북대학교 산학협력단		주관연구책임자	조호성
연구개발비	정부출연 연구개발비	자조금단체부담금	연구기관부담금(현물)	총연구개발비
	200,000,000	20,000,000	30,000,000	250,000,000
연구개발기간	2016.07.28. - 2017. 07. 27.			
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 국내 돼지의 장내 세균총 분석을 통한 표준 균집 분포도 작성	- 생산성 우수 양돈장을 대상으로한 표준 장내미생물총 균집 분석 달성
② 질병 상태/건강한 돼지의 장내 미생물총 균집 비교 분석	- 정상과 비교되는 다양한 질병상태의 장내미생물총 패턴을 제시함
③ 건강한 장내 미생물 균집 관리를 위한 프로그램 작성	- 기존의 10 ⁵ 농도에 비해 10 ⁸ 농도의 급여가 장내미생물총을 개선하는데 효과 있음을 확인함
④ 구제역 백신 항체 생성률과 면역 및 장내미생물과의 상관 관계 분석	- 구제역 백신 항체가 생성률에 장내 미생물총과 싸이토카인의 변화가 영향을 주고 있음을 확인함
⑤ 구제역 항체 생성률 분석을 위한 위험 요인 분석	- 농장내 구제역 항체가 형성에 영향을 주는 요인을 분석함

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
												논문	학술발표	정책 활용			홍보 전 시		
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치	SC I	비 SC I	논문 평균 IF	학술발표	교육지도	인력양성	정책 활용	홍보 전 시	
SC I																			

단위	건	건	건	건	백만원	백만원	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건	건	
가중치																			
최종목표	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	2
연구기간 내 달성실적	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2
달성율(%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	50	100	100

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	국내 돼지 장내 표준 미생물총 분포 지도 분석 기술
②	건강한 돈군 유지를 위한 장내 미생물 활용 균집 관리 프로그램
③	생산성 및 건강한 돼지 사육을 위한 신종 프로바이오틱스 제제 개발
④	구제역 항체 생성률 분석을 위한 위험 요인 분석 및 농장내 활용 기술

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복	외국기술 제	외국기술 소화·흡수	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해	정책 자료	기타
①의 기술		√						√		
②의 기술		√						√		
③의 기술	√						√			
④의 기술	√							√		

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	돼지의 프로바이오틱스의 효능 평가 및 건강 상태 분석을 위한 기준으로 활용됨
②의 기술	질병 상태의 장내 미생물총 분포도의 특징 분석을 통해 질병 기전 연구에 활용됨
③의 기술	단순한 장내 미생물총 개선에 더 나아가 질병 치료를 위한 새로운 가축용 프로바이오틱스 제제의 개발로 활용됨
④의 기술	돼지에서 구제역 백신 후 항체가 형성 저조에 대한 다양한 원인 분석과 해결책 제시로 농가의 구제역 백신 프로그램 적용에 적극 활용됨

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술발표			정책 활용	홍보 전 시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치																			
최종목표	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	1	2
연구기간 내 달성실적	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	2
연구종료 후 성과창출 계획	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)