

제 3차년도  
최종보고서

생산성 향상을 위한  
젖소의 건유기 관리기술 개발  
Development of Dry Cow Management  
Techniques for More Production Profit

연구 기관

서울대학교 수의과대학

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “생산성 향상을 위한 젓소의 건유기 관리기술 개발 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001 년 10 월 일

주관연구기관명 : 서울대학교수의과대학

총괄연구책임자 : 한 홍 울

세부연구책임자 : 류 판 동

세부연구책임자 : 최 민 철

세부연구책임자 : 박 회 명

연 구 원 : 박 선 일, 황 철 용

연 구 원 : 황 범 태, 조 재 진

연 구 원 : 김 중 민, 반 현 정

연 구 원 : 남 향 미, 유 중 현

연 구 원 : 김 준 규, 윤 순 식

연 구 원 : 문 두 환, 김 용 환

# 요 약 문

## I. 제 목

생산성 향상을 위한 젖소의 건유기 관리기술 개발 연구  
Development of Dry Cow Management Techniques for  
More Production Profit

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

오늘날 산업동물의 수의학적 질병 및 건강관리 대책은 저비용으로 고품질이 보장되는 생산성 증대에 초점이 맞추어져 있다. 우리나라는 현재 individual therapeutic medicine 와 preventive medicine을 병용하는 수준에 머물고 있다.

그러나, 낙농업 분야에서 국제경쟁력이 큰 국가일수록 이미 이 단계를 벗어나 생산품의 고품질화(high quality)와 생산성 향상(high productivity)을 위한 productive medicine차원으로 방향을 전환한지 오래이지만 우리나라의 현실은 이를 위한 기초 조사적 자료나 지침서도 없는 실정이다.

특히 젖소산업에서 차기 생산능력을 결정짓는 중요한 시기는 건유·전환기간이다. 본 연구는 첫째, 낙농현장에서 목장관리자나 지도소요원이 활용할 수 있는 건유·전환기 젖소의 건강관리 지침서를 작성하고, 둘째, 목장 현장에서 가장 골칫거리인 주된 유방염원인균에 대한 유방염 혼합백신을 개발하고, 셋째, 새로운 약물 전달 매체를 이용한 건유기전용의 유방내주입제와 유두침지 소독제를 개발하는데 그 목적이 있다.

### Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

#### 1. 연구개발내용

##### 가. 건유·전환기 젖소 건강관리 지침서(표준서) 작성

건유·전환기 젖소의 건강관리 지침서작성의 목적은 분만후 산유능력의 증대, 분만관련성 각종 질병의 예방, 건강한 송아지 생산, 번식능력 향상 및 경제 수명 연장을 추구하는데 있다. 본 지침서는 모두 8부제로 구성되어 있다.

제 1절에는 건유우 관리의 기본, 제 2절에는 건유기간과 생산성, 제 3절 건유기의 신체 충질지수관리, 제 4절 건유기의 음-양 이온 균형, 제 5절 당, 지질 및 아미노산대사, 제 6절 건유기 유두소독과 우유품질 개선, 제 7절 초임우 및 초산우 사양관리, 제 8절은 건유기 관리부실이 야기시킬 수 있는 젖소의 질병등으로 구성되어 있다.

##### 나. 유방염 혼합백신 개발

우리나라에서 사육되는 젖소의 주된 유방염 원인균인 *Staphylococcus aureus*균과 *Streptococcus agalaciae*균의 감염을 예방할 목적으로 제조된 혼합백신이다. 생분해 microsphere에 내장된 백신항원이 서서히 방출되는 서방형 백신으로 건유초기에 유방상림과절부위에 피하주사하는 형태로 개발되었다. 접종후 6개월까지 유효 혈중농도를 지속시킨다. 그러나 대장균과 같은 기타의 원인균에 관한 예방효과는 전혀 없다.

##### 다. 건유기전용 유방내 주입제 개발

이 건유기전용 치료약은 최종 착유후 유방내로 1회 주입하여 그 효과가 건유우의 유방내에서 4주일간 지속되는 것을 목표로 개발되었다. microsphere에 내장된 항생물질이 microsphere표면의 구멍을 통하여 서서히 방출되어 비유기 간증에 감염된 유방내 원인균을 박멸한다. 그러나 내약성 균주에 대한 살균효과는 없다.

#### 라. 건유기전용 유두침지 소독제 개발

유방감염 호기는 건유후 수일간과 분만 전후 수일간이며 그 주된 감염통로는 유두공이다. 이 유두침지제는 건유기 전용약 주입직후 1회 유두침지로 유두표면에서 적어도 7일간 살균력을 지닐 수 있도록 제조되었다. biogradable microsphere의 크기에 상관없이 서방형으로 유출되는 povidone iodine과 chlorhexdin을 주제로 개발되었다.

## 2. 연구의 범위

### 가. 건유·전환기 젖소 건강관리 지침서 작성

건유·전환기를 건유전기(분만 8주전부터 분만 3주전까지), 건유후기(분만 3주전부터 close up기로 분만직전까지), 비유전기(분만직후부터 분만후 3~4주까지) 등으로 3기로 분류하였다. 각 단계별로 필요한 건강관리 사항을 정리하였다. 특히 BCS와 영양사료급여 및 건유기관리와 연관된 각종 질병의 발생기전과 예방법에 관하여 기술되어 있다. 마지막 부분에는 각 관리단계별 질병예방 관리사항을 표로 정리하여 사육관리인이 쉽게 실행할 수 있도록 작성되었다.

### 나. 유방염 혼합 백신 개발

새로운 약물전달방법(drug delivery system)인 순수 서방형 biodegradable microsphere의 제조 공정, bovine serum albumin이 내장된 microsphere제조공정, microsphere제조 회수율, 백신항원의 microsphere내 내장을 실험, bovine serum albumin 방출실험, microsphere의 광학현미경 검사, microsphere 크기 분포, 황색포도상구균과 연쇄상구균의 백신항원 제조 및 내장, 유방염 혼합백신 약의실험 성적등이 포함되어 있다.

#### 다. 건유기전용 유방내 주입제 개발

항생제가 내장된 생분해 microsphere 제조 공정, microsphere내 cephalixin 내장을 및 방출실험, 입자크기, 표면검사, 감수성 약제 선발, biodegradable microsphere에 내장된 cephalixin의 건유기 약의 치료실험 및 약의 적용후 유방 감염율등이 포함되어 있다.

#### 라. 건유기전용 유두침지 소독제 개발

Povidone iodine 및 chlorhexidine 이 내장된 microsphere 제조공정, 유두침지 소독제의 내장을 실험, povidone iodine 및 chlorhexidine 내장 생분해 microsphere의 방출 실험, 이들의 캡슐형성 효과실험, 현미경 촬영조사, 약의 적용 시험성적 등이 포함되어 있다.

## IV. 연구개발결과 및 활용에 관한 건의

### 1. 연구개발결과

이 연구는 우리나라 낙농현장에서 가장 경솔히 취급되고 있는 건유기에 있는 젖소

의 건강관리에 관한 기술을 개발하여 보급하므로써, 젖소의 경제수명을 연장시키고 고품질 원유생산 증대를 도모하고자 시도되었다. 이 연구의 내용은 건유·전환기 젖소 건강관리 지침서 작성, biodegradable microsphere를 이용한 유방염 혼합백신 개발, 그리고 서방형 건유기전용 유방내 주입제 및 건유기전용 유두침지 소독제 개발등 4개 부분으로 구성되어 있다.

#### 첫째, 건유·전환기 젖소 건강관리 지침서

이 지침서의 내용은 젖소의 건유·전환기를 3단계, 즉 건유전기(분만전 8주부터 분만전 3주까지의 early dry period), 건유후기(분만전 3주부터 분만직전까지의 prefresh close-up period), 비유전기(분만직후부터 비유후 3~4주까지의 early lactation period) 등으로 구분하고, 각 단계별로 필요한 건강관리사항을 담고 있다. 낙농현장에서 목장관리자가 손쉽게 시행할 수 있도록 BCS와 건유기 영양사료관리에 관한 내용이 포함되어 분만과 관련된 생산저해성 질병의 예방이 가능하도록 한 것이 특징이다.

#### 둘째, 유방염 혼합백신 개발

Biodegradable microsphere를 이용한 유방염 혼합백신의 제조는 DL-PLGA비율을 50:50으로 보정해 microsphere를 제조하는 것이 가장 적당하며, 본 연구에서 제조된 유방염 혼합백신의 건유우 접종은 혈중 유효항체가를 빠른 시간내에 상승시키고 4개월간 지속시킨다. 앞으로 유방염백신 항원형조합과 유선방어기전에 대한 연구결과를 접목하면 새로운 젖소 유방염 예방백신으로 이용가능하리라 사료된다.

#### 셋째, 건유기전용 유방내 주입제 개발

서방형 biodegradable microsphere에 내장된 cephalixin 항생제가 최종 건유후 유두내 주입으로 유방내에서 서서히 방출되어 4주간 살균효과가 지속된다. 이 방법은 목장에 따라 감수성이 큰 항생제를 선택적으로 적용할 수 있고, 비유기간 중에 감염된 기감염원을 건유 유방에서 박멸할 수 있다. 건유기간중 유방의 신규 감염 예방효과는 만족할만 하다.

#### 넷째, 건유기전용 유두침지 소독제 개발

유방감염이 가장 잘 형성되는 시기는 건유직후 7일과 분만전후 각 7일간이다. 이 유두침지 소독약을 이 시기에 각 1회 침지로 유두표면에서 서서히 방출되어 7일간 살균효과를 발휘하여 이 기간동안의 신규 유방감염을 효과적으로 예방한다. 건유기 유방의 신규감염 예방효과는 양호하다.

## 2. 활용에 대한 건의

- 가. 젖소의 내분비계와 생리대사 기능의 변화가 극심한 건유·전환기와 연관된 생산저해성 질병의 예방과 생산성을 증대시킬 수 있는 가장 경제적이고 누구나 실행가능한 전환기 건강관리기술이 작성됨에 따라, 이를 이용한 실질적인 낙농현장의 경제적 수익이 있도록 산업체와 행정조직이 연계된 지도체계의 활성화가 요청된다. 일상적 적용이 생활화될 수 있도록 목장관리인의 교육이 진행되지 않는다면 이 연구의 의미가 없다. 연수교육재료로 사용될 수 있을 것이다.
- 나. 서방형 유방염 혼합백신의 현장적용은 생분해 microsphere 제조공정상의 입자 크기 조절과 제작비용의 감소가 시판용 최종생산물 제작에 걸림돌이 되고 있다. 어떻게 하면 생산단가를 저렴하게 할 수 있을듯도 한데 아직은 가능성이 희박하다. 이 연구에서 밝힌 생분해 microsphere공장을 이용한 유지침지 소독제이나 건유기 전용 유방내 주입제의 생산에는 입자크기가 효능에 하등의 영향을 미치지 않기 때문에 시판용 최종생산품의 생산이 훨씬 쉽게 될 것이다. 본 연구팀은 이 두가지의 건유기 전용약제가 생산공정으로 연계될수 있다고 본다.
- 다. 하나의 문제는 *Streptococcus agalactiae*균에 대한 항체가 수준이 불만족스러운데, 이 문제는 현재 젖소 유방염을 연구하는 세계적인 연구소의 연구팀들이 이 문제해결에 몰두하고 있기 때문에, 아마도 앞으로 수년이내에 좋은 결과가 도출될 수 있을 것이고 우리 연구실도 응용할 수 있게 되면 이 혼합백신의 효능을 더 보강할 수 있을 것이다. 아마도 DNA 또는 genetic vaccine의 microparticle delivery 기술에 관한 응용이 이분야에 접목될 것이 확실하다



라. 앞으로 유방염 백신개발에 있어서는 주된 원인균은 백신접종으로 관리가 가능할 수 있을지라도, 수 많은 기타 세균에 의한 유방감염을 예방하는 것은 불가능하다. 또한 1일2회 착유로 인한 유방내 항체가 저하는 큰 걸림돌이 되고 있다. 그러므로 이 연구에서 개발한 건유기간 중의 건강관리기술의 병용이 절실히 요청되고 이것이 효과적으로 실용화 되었을때 우리가 현재 겪고있는 건유·전환기 관련성 경제적 손실을 크게 막을 수 있게 될 것이다.

# SUMMARY

## I. Title

### Development of Dry Cow Management Techniques for More Production Profit

## II. Purpose and Significance of Research

Nowadays veterinary practice on disease and health management measures for industrialized farm animals focus on productivity increase which shall ensure low cost and high quality.

Veterinary practice in Korea is still in the primitive phase of using either 'individual therapeutic medicine' or 'preventive medicine', or both to date.

While developed countries which have higher international market shares in dairy products adopted 'productive medicine' for high quality and productivity long ago, we do not have any fundamental survey data or guidelines for the 'productive medicine'.

Specially in the case of dairy industry, 'transitional period' is most important time frame to determine the next cycle of productivity.

The overall objectives of the study were to prepare a guideline for cow health management during transitional period, develop vaccines against the causative agents of mastitis which are most problematic on site, develop an intramammary infusion drug for 'dry period treatment purpose only' utilizing a new drug delivery vehicle, and develop a teat dipping disinfectant for dry period treatment purpose only.

### III. Contents and Scope of Research

#### 1. Contents of Research

##### a. Preparation of Guideline for Dry and Transition Cow Health Management

The preparation of the guideline for health management of cow during dry and transition period was aimed at an increase in post-partum lactation capability, prevention of diseases associated with parturition, production of healthy calves, an increase in reproduction capability, and an increase in longevity. The guideline consists of 8 chapters: the first - Principles of dry cow management; the second - Dry period and productivity; the third - Management of body condition score; the fourth - Anion/cation balance of dry period; the fifth - Glucose, lipid and amino acid metabolism; the sixth - Teat disinfection during dry period and improvement of milk quality; the seventh - Heifer and cow management; the eighth - Cow diseases caused by the failure of dry cow management includes summarized tables of health care of the dry cow.

##### b. Development of Combined Bovine Mastitis Vaccine

A combined vaccine was developed to prevent the infection of *staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* which are the major pathogens of bovine mastitis in Korea.

The active ingredients of the vaccine are encapsulated by biodegradable microspheres, so that they are slowly released when inoculated subcutaneously on the site of udder lymph node at the early dry period.

The effectiveness of the sustained vaccine persists for 4 months although the significant level of active markers are detected in blood for 6 months post-inoculation. There is no preventive effect on other pathogens such as *E. coli*.

##### c. Development of Intramammary Injection Drug for Dry Cow Treatment

Dry cow treatment drug infusion drug development dry cow treatment product  
The drug was designed to be efficacious in the udder of dry cow for 4 weeks upon injection into the udder after final milking.

The drug of which an active ingredient (cephalexins) is encapsulated by biodegradable microsphere is slowly released through the pore on the surface of the microsphere, and then can kill pathogenic bacteria in mammary gland which infected during lactation period by single injection.

One of the inherent problem is that there is no bactericidal activity for cephalosporin-resistant bacteria.

#### d. Development of Teat Dipping Disinfectant of dry cow

In general, udder infection occurs within a few days right after withdrawal of lactation, and a few days before and after parturition. The major route of infection is the orifice of the teat.

Internal pressure of the udder is increasing until 72 hours right after the withdrawal of lactation causes the leakage of milk and enhances the opportunities to get infected.

The disinfectant is prescribed for pertaining microbicidal activity on the surface of the teat at least for 7 days upon single time dipping after the injection of the drug for dry period treatment purpose only.

The disinfectant consists of povidone-iodine and chlorohexidin which are slowly releasing irrespective of the size of the specifically prepared microspheres.

## 2. Scope of Research

### a. Preparation of Guideline for Cow Health Management During Dry and Transition Period

In the guideline, the transition period was classified into 'Early Dry Period' (8 to 3 weeks before calving), 'Late Dry Period' or 'Prefresh Close-up Period' (3 weeks to before calving), and 'Early Lactation Period' (after calving to 3 to 4 weeks post-calving).

Requirements for health management were itemized step by step.

The guideline describes especially BCS, feeding nutritions, pathogenesis of

diseases associated with dry period management, and preventive measures. The last part of the guideline provides summary table of management options for disease prevention in each period to help farm managers follow up easily.

#### b. Development of Combined Bovine Mastitis Vaccine

This subject covers a preparation process of biodegradable microsphere which acts as a slowly releasing vehicle of new drug delivery system, a preparation process of bovine serum albumin (BSA)-encapsulated microsphere, calculation of recovery rate of microsphere preparation, calculation of encapsulation rate of vaccine antigens in microsphere, examination of BSA release, light microscopic examination of microsphere morphology, examination of size distribution of microspheres, field trial of the combined bovine mastitis vaccine against *S. aureus* and *S. agalactiae*.

#### c. Development of Intramammary Injection Drug for Dry Period Treatment

##### Purpose

This subject covers a preparation process of antibiotics-encapsulated biodegradable microsphere, examination of cephalexin release from encapsulated microsphere, examination of encapsulation rate of antibiotics in microsphere, selection of susceptible drugs, field trial of antibiotics-encapsulated biodegradable microsphere and subsequent examination of udder infection rate.

#### d. Development of Teat-dipping Disinfectant for Dry Period Treatment Purpose

This subject covers a preparation process of betadine-encapsulated microsphere, examination of encapsulation rate of teat-dipping disinfectant in microsphere, examination of betadine release from betadine-encapsulated biodegradable microspheres, examination of capsulation effect of betadine, microscopic examination, and field trial.

## IV. Results of Research, and Recommendations for Use

## 1. Results of Research

This study was attempted to help enhance cow's economic life expectancy and high quality milk production by way of the development and transfer of cow health management techniques for the dry period at which cows tend not to be cared for properly on dairy farm sites in Korea.

The overall results of the study consisted of the four main subjects including (1) the preparation of a guideline for cow health management during transitional period, (2) development of a combined mastitis vaccine using biodegradable microspheres, (3) development of a slow-releasing drug for dry period treatment purpose, and (4) development of a teats-dipping disinfectant for dry period treatment purpose.

First, a guideline for cow health management during dry and transition period

In the guideline, the transition period was classified into three phases including 'Early Dry Period' (8 to 3 weeks before calving), 'Late Dry Period' or 'Prefresh Close-up Period' (3 weeks to before calving), and 'Early Lactation Period' (after parturition to 3 to 4 weeks post-calving). Each section of the three phases describes requirements for cow health management.

The features of the guideline help enable farm managers to take care of cows properly just by following up the provided guidance including BCS, nutritional feed management during the dry period, so that they can be able to prevent parturition-associated diseases which cause significant loss of productivity.

Second, development of a combined bovine mastitis vaccine

The vaccine was targeted to prevent the infection of *staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*) which are the major pathogens of bovine mastitis in Korea. The vaccine antigens are encapsulated by biodegradable microspheres, so that they are slowly released during the transitional period when inoculated once subcutaneously at the late lactation period. The effectiveness of the vaccine lasts for 4 months so that it can prevent mastitis caused by the two bacterial species.

Third, development of a therapeutic drug for dry period treatment purpose

The effectiveness of the drug made up of cephalexin-encapsulated slow-releasing biodegradable microspheres lasts for 4 weeks in the udder of dry cow upon injection into the udder after final milking. This methodology can be applied selectively to more susceptible antibiotics on a farm-to-farm basis and to killing

of the infectious agents established during the lactation period. The preventable effect of the drug on mastitis infection during the dry period is in very effective. Fourth, development of teats-soaking disinfectant for dry period treatment

The most vulnerable period of udder infection consists of a week right after withdrawal of lactation and a week before and after parturition.

The disinfectant plays a microbicidal role on the surface of the teat at least for 7 days upon single time dipping and reduces significant level of new infection during the period. The preventable effect of the disinfectant on mastitis infection is in acceptable level.

## 2. Recommendations for Use

- a. It is recommended that the industry-based, administrative organization-linked extension service system on milk promotion should be activated to increase the income of the on site dairy farm. The documented guideline of cow health management for the transitional period shall provide an economical and practicable way of disease prevention and productivity increase. Without continued training and education of farm managers, this type of extended research effort will become useless. The guideline may serve as one of the candidate training manuals for farm managers. --
- b. Regarding on site application of the combined bovine mastitis vaccine, difficulty in the control of microsphere size and high production cost are major problems to manufacture commercially available mass production. It is not feasible to produce cheap microspheres so far. On the other hand, the size of microspheres for drug or disinfectant encapsulation did not hinder the efficacy of the encapsulated ones. These products can easily be manufactured for the commercial purpose. The authors hope these later two products be available commercially.
- c. Another problem with the combined mastitis vaccine was relatively low level of antibody titer for *S. agalactiae*. This is quite a challenge for scientists and experts working for cow mastitis all over the world. Since many of them recognize the obstacle and concentrate on solving this problem. It may take

several years to overcome this problem.

- d. In the future mastitis control depends not only on the development and use of mastitis vaccine but also on the combinatorial application with the other control technology since mastitis vaccine shall be limited to major pathogenic bacteria and the other numerous pathogenic bacteria shall not be formulated in the vaccine. Therefore, the development of therapeutic drug and disinfectant was required in the study. When the combinatorial use of the technologies of the vaccine, drug therapy, and disinfection is practised effectively, the outcome of mastitis control would be maximized.



# CONTENTS

Chapter 1. Introduction

Chapter 2. Health management guidelines of dry and transition cow

Chapter 3. Combined mastitis vaccine for *Staphylococcus aureus* &  
*Streptococcus agalactiae*

Chapter 4. Biodegradable microsphered teat infusion drug for dry cow

Chapter 5. Microsphered teat dipping disinfectants for dry cow

Chapter 6. Results

Chapter 7. References

# 목 차

제 1 장 서 론	19
제 2 장 건유·전환기 젖소 건강관리 지침서	22
제 1절 서 설	제 2절 건유기 관리기본
제 3절 건유기간과 생산성	제 4절 건유기의 신체충실지수관리
제 5절 건유기의 음이온-양이온 균형	제 6절 당 지질 및 아미노산대사
제 7절 건유기 유두소독과 우유품질개선	
제 8절 초임우 및 초산우 사용관리	
제 9절 건유기 관리부실이 야기할 수 있는 젖소의 질병	
제 10절 참고문헌	
제 3 장 유방염 혼합백신 개발	103
제 1절 서 설	제 2절 재료 및 방법
제 3절 결 과	제 4절 고 찰
제 5절 결론	제 6절 참고문헌
제 4 장 건유기 전용 유방내 주입약 개발	140
제 1절 서 설	제2절 재료 및 방법
제 3절 결 과	제 4절 고 찰
제5절 결론	제6절 참고문헌

제 5 장 건유기전용 유두침지 소독제 개발 ..... 163

제 1절 서 술

제 2절 재료 및 방법

제 3절 결 과

제 4절 고 찰

제 5절 결론

제 6절 참고문헌

제 6 장 결 론 ..... 196

제 7 장 참고문헌 ..... 198

# 제 1 장 서 론

오늘날 모든 산업동물의 수의학적 질병 및 건강관리 대책은 저비용으로 고품질이 보장되는 생산성 증대에 초점이 맞추어 지고 있다. 우리는 현재 두당 중심의 개체치료(Individual therapeutic medicine) 수단을 병용하는 우군 단위의 herd management 를 위한 예방의학적(preventive medicine) 단계에 머물고 있는 수준이다. 그러나 축산업 분야에서 국제경쟁력이 큰 국가일수록 이미 이 단계를 벗어나서 생산품의 질(high quality)을 개선하고 생산성(high productivity)을 향상시키기 위한 생산의학적(productive medicine) 차원으로 방향을 전환한지 오래이지만 우리나라의 현실은 이를 위한 기초조사적 자료나 표준도 없는 실정이다.

특히, 젖소 산업에 있어서 차기 생산능을 결정짓는 중요한 시기인 건유기 젖소 건강관리에 관한 정보를 낙농가에게 제공하여 활용하게 할 수 있고 지도소 요원이 지도할 수 있는 지침서(guidelines)를 우리는 가지고 있지 못하며 한 유증합성 조직 수준에서 감염을 예방하고 관리함으로써 직접적으로 생산능을 배가시킬 수 있는 기술을 확보하고 있지 못하다.

젖소의 건유기 관리기술은 선진낙농국들에 의해 그들의 환경친화적 프로그램이 이미 개발되어 있고 그 중 건유기 유두침지소독과 건유기 전용 유방내 주입 계획은 우리나라에서도 널리 보급되어 있다. 그러나 아직도 우리나라는 건유기의 각 단계별 1)각종 주요 미량광물질을 포함하는 BCS 지도표준, 2)포괄적인 건유기 백신접종 프로그램, 그리고 3)사양관리지침이 개발된 적이 없다. 또한 기존 감염을 퇴치할 수 있는 절호의 기회가 건유기임에도 불구하고 현행기술로는 건유기 유방염 치료율은 50% 수준에 이룸으로써 치료율을 증가시킬 수 있는 4)새로운 약물 전달 매체를 이용한 건유기 치료기술과 5)우리나라 목장현장에서 가장 골치거리 유방염세균인 황색포도상구균에 대한 유방염 백신 개발 및 6)서방형 유두침지 소독제 개발에 의한 건유기간중의 신규감염을 효과적으로 막을 만한 기술등이 개발되어 있지 않다. 최근에 우군단위가 점차 대규모화되는 시점에서 건유기 건강관리 기술을 개발함으로써 저비용으로 생산 현장의 작업능과 생산능을 향상시켜야 할 단계에 이르렀다. 선진 낙농

국의 관리 계획과 본 연구실이 그 동안에 부분적으로 적용하여 온 축적된 기술을 통합하는 우리나라 낙농현장에 적합한 기술 개발은 현 시점에서 시급한 과제이다.

젖소 생산성은 건유기 관리에 의하여 좌우되며 질병에 대한 저항성을 보강할 수 있는 결정적인 기간이다. 그러나 우리나라 낙농가들은 대부분이 그 중요성을 쉽게 간과하고 있다. 특히 유선조직의 기능재생과 비유능력은 100% 건유기 관리에 의해서 결정된다.

건유기간이 다음번 비유에 미치는 악영향은 종부일자의 부정확으로 정확한 건유기를 알아내기가 불가능한 경우이다. 임신감정으로 도움을 얻어내지만 그러나 정확하게 건유기간을 결정할 수 없다. 임신이 체크되거나 혹은 되지 않은 종부우군은 0 일에서부터 280일 이상의 건유기를 갖고 있다. 약 33%의 소는 40-45일 보다 짧은 건유기간을 가질 것이고 33%의 소는 45-80일 그리고 또 33%의 소는 80일 이상의 건유기를 갖게 될 것이다. 즉 너무 길거나 또는 짧은 건유기를 갖게 된다는 것이다. 이 처럼 건유기간의 적절한 설정의 실패로 인해 농가에게는 커다란 경제적 손실이 발생하게 된다. 이외에도 농가는 다음과 같은 이유로 인해 추가적인 경제적 손실을 입고 있다.

첫째 : 분만전후에 다발하는 대사성 질병과 생식기계 질병의 발생은 건유기간중 건유우의 건강관리와 밀접한 상관성이 있고 이로 인한 폐기소와 산유량 감소는 낙농소득의 4.8%에서부터 10.2%에 이른다(Dodd, 1976).

둘째 : 건유기간은 비유기에 감염되고 손상받은 유선조직이 100% 재생될 수 있는 기간이다. 우리나라 준임상형 유방염 감염우는 현재 약 37%로 보고되고 있어 산유량의 감소로 초래된 경제적 손실을 분방단위로 10-26%로 계산(Fetrow, 1992)하고 있기 때문에 이를 우리나라 실정에 환산한다면 연간 약 1,000억원이 넘는 계산이 된다(오늘날 유방염 치료기법상의 전 세계적인 추세는 항생물질과 소염제의 투여이다. 그러나 유선내 항균기간이 짧다). 새로운 약물전달체계를 이용하는 건유기 전용 주입제를 개발하여 적어도 5주간에 걸쳐 유방내에서 약효를 발휘할 수 있는 새로운 제제의 개발이 필요하고 본 연구의 결과로 이것이 성공되면 현재의 경제적 손실을 1/2이상으로 막을 수 있게 된다.

셋째 : 젖소에 있어 건유기간은 손상유선조직의 재생기간임과 동시에 유방감염을

이 가장 높은 기간이다. 특히 건유 초기 10일간과 분만전후 10일간은 매우 중요하다. 이때 감염을 차단하는 유일한 방법은 유두침지 소독을 매일 2회이상 실시하여 균의 침입을 막는 것이다. 그러나 오늘날 사용되고 있는 유두침지약은 건유기용으로 Latex제제가 권장되었으나 피부부작용으로 그에 상응하는 약제개발이 시급한 상황이다. 한편 우리나라에서 사용되고 있는 유두침지약은 단순한 비유기용을 건유기에 적용하고 있을 따름이다. 이 문제에 있어서 가장 바람직한 것은 한 번 침지하면 유두 표면에서 장기간 약제를 방출하는 서방형 약제의 개발로 감염주기를 막을 수 있어야 한다. 이에 관한 연구는 아직 시도된 바가 없어서 본 연구에서 이것이 개발되면 국제적 인정을 얻게될 것이다.

낙농업 역사가 50년이 넘는 이 시점에서 때늦은 감은 있지만 이제라도 건유·전환기 건강관리 표준서(지침서)를 작성하여 실제 낙농현장에서 활용할 수 있게 하고 생산성을 개선 할 수 있도록 하는데 본 연구의 필요성이 있다.

## 제 2 장 건유·전환기 젖소의 건강관리 지침서

### 제 1 절 서 설

젖소의 내분비계와 생리대사에 가장 굴곡이 심한 변화를 주는 기간은 분만전 8주의 건유시작에서 부터 분만 후 3~4주까지이다. 그러므로 이 기간에 손색없는 건강 관리는 차기 비유능력을 증대시키고 경제수명을 연장시킬 수 있는 좋은 기간이기도 하지만 부실한 관리는 그 영향이 비유전기간에 미치고 위험성이 크며 정반대의 역효과를 초래할 수 있는 중요한 기간이다. 이 연구는 전환기 젖소의 건강관리요령을 목장현장에서 실용화할 수 있도록 지침서를 작성하였다.

### 제 2 절 건유기 관리의 기본

#### 1. 건유기간(Dry period) 구분과 우군 분리

분만 전 3주부터 분만 후 3~4주까지는 가장 엄격한 영양관리가 요구된다. 이 기간에 젖소는 분만을 위한 내분비계 및 생리상태의 현저한 변화, 임신태아의 빠른 성장, 에너지와 단백질 요구량은 증가하지만 사료 섭취 량의 20 ~ 30 %감소, 젖을 합성하는 유선조직의 증식과 초유준비, 그리고 칼슘 대사와 관련하여 사료에서 음균형 상태가 유익하게 되는 생리변화 등 가장 섬세하고 깊고 폭이 넓은 변화를 경험하게 된다. 또한 분만과 급격한 유생산 증가 그리고 착유 사료로의 전환 등의 스트레스에 직접적으로 노출되어 면역력이 저하하며 젖소는 가장 감염을 받기 쉽게 된다. 분만을 전후한 이 기간을 전환기 (Transition period)라고 칭한다. 건유기(Dry period)를 크게 건유전기와 건유후기 (분만전 3주간의 close up기)로 나눌 때, 전환기는 건유후기와 분만 후 비유초기 3-4주를 지칭하게 된다. 이런

구분은 고능력우를 보유한 실제의 낙농 현장에서 중요한 의미를 갖는데, 이는 분만전후 보다 세밀한 관리를 하도록 유도하는 수단이 된다고 할 수 있다. 개념적으로 전환기는 건유후기부터 시작하지만, 건유 전기의 관리 없이 건유 후기를 다루는 것은 일반적인 낙농현장과 차이가 있으며, 실제에 있어 젖소의 생리적 변화와 감염폭은 건유초기, 즉 건유가 시작되면서부터 증폭이 된다는 점을 주목할 필요가 있다. 그러므로 본 전환기 건강관리 지침은 전환기에 건유전기를 포함시켜 다음과 같이 관리우군을 설정하였다. 이와같은 관리 우군 설정은 규모가 큰 목장에서는 우군구분하여 접목이 가능하겠지만, 규모가 작은 목장에서라도 개념적인 차이를 이해한다면 보다 나은 관리에 도움이 되리라고 본다.

가. 건유전기 : 분만전 8주부터 분만전 3주까지

나. 건유후기 : 분만직전 3주간의 close-up기

다. 비유초기 : 분만직후 3~4주간.

## 2. 건유시의 관리

가. 건유의 목적은 ① 젖소의 영양상태를 조절하고 영양소를 비축하여 차기 비유에 대비하고 ② 반추위의 기능을 회복시키며 ③ 비유기 동안에 손상된 유선세포의 재생을 촉진하며 ④ 임신모우 자궁 내에서의 건강한 태아의 성장을 유지하며 ⑤ 비유기간에 감염된 유방감염과 같은 질병을 치료하는 절호의 기회로써 모체와 태아의 건강유지와 차기 비유능력을 증대시키는데 있다.

나. 건유방법은 급속 건유법이 유방감염 기회를 감소시키는 효과가 있다.

다. 건유기 치료는 건유기에 들어가는 모든소의 모든 분방을 대상으로하되, 그 방법은:

첫째. 유효농도의 유두침지 소독액에 네 젖꼭지를 30초 이상 침지하고

둘째. 70% 알콜솜으로 유두 끝 부위를 철저히 문질러 세척과 소독하며

셋째. 적어도 3주간 유방 내에서 살균력을 가지는 건유기 전용 치료약의 삽입부를 알콜솜으로 소독한 후 유두공에 밀착한 상태에서 주입하고



(이때 깊게 삼입은 금물임)

넷째. 주입 직후 강 옥도링크 (5%)액에 젖꼭지를 30초간 침지한다. 이렇게 하면 최종 착유 후 72시간까지 유방에 축적되는 유즙이 젖꼭지를 통하여 세어 나올 가능성이 없어진다. 강 옥도 액 침지는 살균뿐만 아니라 유두 침부를 유착시킴으로써 유두공을 밀착시키는 효과가 있다.

다섯째. 비유기간중에 유방염에 감염되었던 개체는 항생제의 전신투여 (근육 또는 정맥)를 병행하는 것이 추천된다. 기감염균을 제거하고 유선조직 재생과 유즙 생산 및 조성을 정상수준으로 더 빨리 회복시키고 폐사를 예방할 수 있다. 이때 테트라사이클린계의 항생제의 전신투여는 삼가하는 것이 좋다

여섯째. 착유우군에서 분리하여 건유우군에 합류시킨다. 이것은 ① 고비유우의 급속 건유 효과를 증대시키고 ② 잘못 착유하여 버리는 실수로 약물 잔류 오염을 예방하며 ③ 전유우 집중관리가 용이하다.

일곱째. 농후사료와 음수 섭취를 가능한 한 건유후 몇 일간 제한한다

여덟째. 건유우 우사 환경에 환풍장치와 청결, 특히 우상과 축사 바닥을 건조시키는 것은 매우 중요하다.

아홉째. 건유우는 젖을 안내는 소, 적당히 두어도 괜찮은 소, 신경 쓸 일이 없는 소라는 생각을 버려라. 분만 후 보답을 기대하고 경제 수명을 위해서는 건유 초기 관리는 매우 중요하다.

열 번째. 유방감염이 가장 잘 일어나는 시기는 건유직후 7일간과 분만전후 7일간이다. 건강한 젖통은 젖소의 생명이다.

라. 이 시기에 발굽 삭제를 하는 것도 필요하다.

마. 유즙내 체세포수가 LS3이하가 되게하고 준임상형 유방감염우를 검출하여 감수성 약제로 집중치료하며, 대장균속 세균감염을 예방하기 위한 J5백신을 접종한다.

바. BCS가 3.5정도로 유지하고 균형잡힌 사료급여, 특히 칼슘과 인의 균형적인 급여를 실시한다.

사. 포도상구균, 대장균 유방염 백신을 건유기 시작 2~4주전에 접종한다.

### 3. 건유전기의 관리

가. 건유우는 BCS 3.5 정도로 살찐 상태로 건유기에 들어가도록 관리해야 한다. 비유말기에 몸 상태를 잡아주는 관리가 절대로 필요하며, 중요한 것은 건유우가 살이 썩 있더라도 건유기간 중 살을 빼서는 안 된다. 그렇지 않으면 분만 후 지방간, 케토시스 등과 같은 질병에 노출된다. 반면에 축주는 건유기간 동안 소들이 너무 많이 사료를 섭취한다고 걱정할 필요가 없다. 과도한 영양을 갖는 사료가 아니라면 조사료 위주로 충분한 섭취량을 갖도록 유도하는 것이 바람직하다.

나. 사료와 물은 항상 24시간 소가 접근할 수 있도록 배려하고 매일 음수공급상태를 체크한다.

다. 옳은 영양수준의 건유전기용 사료를 준다. 착유소 사료를 줘서는 안된다. TMR도 이상적이다.

라. 적어도 건유우가 충분한 운동을 할수 있도록 한다.

마. 건유소는 계류하지 않도록 한다. 이상적으로는 모든 비유기를 통하여 소는 계류하지 않는 것이 좋다. free stall 사육 소는 건유기에 계류할 수밖에 없다면 그것이 stress가 되어 나쁜 영향을 받게된다. 계류하는 편이 유방상태를 관찰하기 쉬운 면도 있고, 시설에 여유가 없기 때문에 건유초기 소를 계류 관리하고 있는 농장이 있지만 그것은 득보다 실이 많으며 피해야 한다.

바. 건유우사육환경은 운동을 할 수 있고, 우상은 언제나 건조한 상태로 유지하여 유방염이 생기지 않도록 청결히 한다. 그리고 자세한 관찰이 필요할 때는 사료를 먹고 있을 때 고정하여 유방을 관찰하고 침지를 한다. 이때 침지효과는 불명확하지만 침지를 함으로써 유방을 관찰할 수 있고 자연적인 coating막을 만들 수 있다.

사. 건유시설

- 1) 가능하면 한 쪽은 청결하고, 다른 한쪽(사조측)은 세분할 수 있을 것. 조건에 따라서 다르지만 한 쪽의 청결한 부분은 후에 stall을 증설하려고 할 때

에 그것이 가능한 치수를 잡아 놓으면 좋다.

- 2) 사료급여 공간은 전 두수가 일시에 먹을 수 있는 상태로 하는 것이 좋다.
- 3) 여름철에는 선풍기가 꼭 필요하다. 서향으로 경사진 곳에서는 한냉 및 모래 바람 등으로 서쪽을 차단하는 것도 필요하다.

#### 아. 사료

- 1) 건유에 들어간 소의 건물섭취능력은 체중의 2%정도 된다. 적어도 그 반은 건 건초, 두과 이외의 화본과 건초 등을 준비한다.
- 2) 길거나 줄기부가 많은 화본과 건초는 섬유소 함량이 많아 제 1위의 포만감이 유지되고 저작이 자극되어, 제4위 전위증 예방에 도움이 된다.
- 3) 에너지 섭취 과잉, 비만, 제4위 전위증이나 지방간의 원인이 되기 때문에 corn silage의 과급여는 피한다.
- 4) 건유후기(close-up)를 제외하고 건유우에 필요한 농후사료는 많아도 1.5kg~2kg정도로 한다. 조사료의 품질을 보면서 energy나 단백질의 섭취 면에서 농후사료량을 가감한다. 또한 급여하는 농후사료에는 필요한 vitamin이나 미량광물질을 포함시킨다. 이들 영양소의 섭취량을 확실히 지키기 위해서는 TMR이 권장되나 규모가 작은 농가에서 건유용 TMR을 별도로 준비하는 것이 쉽지 않은 것이 현실이다. 건유우용 배합사료 이용은 두당 3kg 전후에서 적용하는 것이 바람직하며, 조사료는 충분히 급여한다.
- 5) 최고수준의 자유채식이더라도 평균적인 채식량을 파악해야한다.
- 6) 제1위 용적을 확보하기 위해서는 건유기간 조사료를 충분히 급여해야 한다. 그러나 건유전기의 조사료 위주의 사양시 반추위의 용모돌기(섬모)가 1~2주간 감소하게 되는데, 용모돌기(섬모)가 감소한 상태에서 분만하고 농후사료를 증량 급여하면 휘발성 저급지방산의 생산이 증가하고 반추위에서 모두 흡수하지 못하는 문제점이 생긴다. 이때 위벽에서 흡수되지 못한 휘발성 저급지방산은 반추위 내 pH를 저하시켜 acidosis와 제4위 전위증을 가져올 수 있다. 따라서 뒤에 언급하는 건유후기에는 비유촉진 사양 (돌아먹이기)이 필요하다.
- 7) 건유시의 털 모양은 굉장히 귀중한 monitor 항목이다.

- 8) BCS는 건유초기에는 guideline대로 3.25-3.5이어야 한다.
  - 9) 포식시켰을 때에 10kg 정도 먹을 수 있는 품질의 조사료가 절대조건이다.
  - 10) 임신우에서는 초산의 영향이 걱정되기 때문에 이용하는 어린 풀은 초산이나 magnesium등의 사료분석을 해야한다. 분석한 초산수준에 따라서 자급 사료의 급여량은 전체의 반 이내로 하든지, 3분의 1이하로 하든지, 경우에 따라서는 임신전 육성우에게로 돌리는 것도 필요하다. 극단적으로 열악한 저질이면 폐기하여야 한다.
  - 11) 육성우를 어느 정도 보유하고 있으면 성우가 먹다 남긴 사료도 적절히 활용할 수 있다. 남은 사료를 6~10개월령의 송아지에서 이용하는 것도 한 방법이다.
  - 12) TMR로 하였을 때 교반기의 종류에 따라서 사료입자가 지나치게 세절되는 경우가 있기 때문에 미세한 조정이 필요하다. 5~10cm길이로 절단된 것이 대부분이 되도록 한다는 건유우 사료급여의 전제를 지켜가지 않으면 아무리 치밀하게 일을 하더라도 실패하기 쉽다.
  - 13) TMR 방식이 아닌 경우는 10kg 포식할 수 있는 조사료와 농후사료 약 2-3kg을 급여한다. 소의 건강상태를 볼 때 barometer는 농후사료를 급여하였을 때에 소가 접근하는지 어떤지를 보고 혹시 접근하지 않는 소가 있다면 그것은 어딘가 이상한 소이다. 발굽병이나 장기간 동안 비유하고 건유된 소로서 털이 거칠어져 있는 것을 볼 수 있다.
  - 14) 무기물 공급은 급여하는 조사료의 양과 질에 따라 불균형을 방지해야 되지만 미네랄블럭이나 완충제 이용은 분만후 유방부종의 원인이 되므로 반드시 제한하여야 한다. 특히, Na, K등이 다량 함유된 제품은 더욱 위험하다.
  - 15) 알팔파 건초만 급여시 칼슘과 인의 불균형과 칼륨함량이 높아 분만 후 유열, 후산정체 등의 대사성 질병의 발생이 증가한다. 화분과 위주로 급여하는 것이 권장되며, 조사료와 농후사료의 비율은 80:20 정도로 유지하는 것이 적당하나 조사료의 품질에 따라 농후 사료량은 조절해야 한다.
- 자. 유방변화를 매일 점검하여 염증이나 부종을 체크하고 만약 염증이 있다면 그

분방유즙을 3회 치료하고 건유기 치료약을 주입한다. 이때 근육주사를 병행하고 사용한 치료약품명을 기록한다.

차. 발굽상태를 체크하여 이에 대처한다.

#### 4. 건유후기(close-up)의 관리

가. 분만전 3주간부터 close up기로 이행한다.

나. 건유한 시점에 이미 BCS가 3이하인 소는 처음부터 close up기 우군에 넣어 버린다. 그래서, 다소라도 BCS를 조정한다. 0.25정도의 BCS 조정은 큰 문제가 아니다.

다. 분만 7일 전부터 유두침지 소독을 실시해야 한다.

라. close up기에 살찐 소도 close up 우군에 넣는다. 왜냐하면 살찐 소일수록 건물섭취량(DMI)이 감소하기 때문이다. 영양수준은 guideline로 한다.

마. 가능하면 TMR로 하면 좋지만 규모가 크지 않은 목장에서 현실적으로는 시설이나 노동력 측면에서 TMR이 어렵다. 그러므로 양질조사료위주에 전환기 음이온 사료를 34kg 수준 적용하거나, 건유전기로부터 급여하고 있는 기초가 되는 사료에 에너지와 단백질 그리고 광물질 균형을 고려하여 close up용 자가배합을 만들어 급여할 수도 있다. 조사료도 가능한 양질의 화분과 조사료를 이시기에 이용하는 것이 권장되며, 조약한 조사료는 섭취량을 제한하게 된다. 이 시기에는 송아지 성장이 급속히 이루어지며, 반추위를 압박하므로 특징적으로 섭취량이 감소하는 시기이며, 섭취량 예측은 대단히 어렵다. 그러나 개체별로 파악하는 것은 관리상 큰 도움이 된다.

바. close up에 들어갈 때에 혈중 selenium 수준을 측정한다. 만약에 그것이 낮은 경우는 selenium 주사를 할 필요가 있다. 그렇게 하는 것으로 후산정체나 산욕열이 예방되고 그것에 의해 식욕 감퇴, 케토시스, 제4위 전위증 등을 상당히 예방할 수 있다. 셀레늄 수준은 조사료가 생육된 지역 토양에 따라 크게 영향을 받는다.

- 1) 구입 조사료로 사육하고 있는 낙농목장에서는 selenium 수준이 상당히 낮은 경우가 있다.
  - 2) 자급 corn silage를 주체로 급여하고 있는 농장은 혈중 selenium 수준도 높은 경향이 있다.
- 사. 4산 이후(특히 고비유우)가 되면 자동적으로 수의사에게 칼슘주사로 대처하여 주던가, 유열예방 경구투여제를 급여하는 것이 좋다. 무심히 엎드려 있는 소, 무엇인가 이상한 소에 대하여는 일찍 대응하는 것이 좋다. 기립불능이 되지 않더라도 유방부종이 발생하거나, 후산이 나오지 않거나, 제4위 전위증이나 케토시스가 발생하는 첫번째 요인은 이 시기의 잠재적인 저 calcium 혈증에 있다.
- 아. 반추위내용모는 휘발성 저급지방산을 흡수하여 반추위내 pH를 정상으로 회복시키는 역할을 담당한다. 반추위내 산도가 중성을 유지하게 되면 미생물의 활동이 왕성해 진다. 움모들기의 발육기간은 대체로 1개월 정도이다. 그러므로 분만 2~3주전에 비유축진사양을 실시하는 것이 좋다. 비유축진사양은 분만 후 착유사료에 대한 미생물의 적응을 유도하며, 반추위 내 발효를 원활하게 하고 에너지의 흡수와 반추위 내 pH가 안정을 유지하게 한다.
- 자. 이 시기의 소에서는 식욕이 감소하고 특히 분만 3~5일 전에는 30% 정도 감소한다. 하지만 이시기는 태아성장, 초유준비 등으로 에너지 요구량은 상대적으로 증가하므로, 급여하는 사료의 energy 및 단백질 함량을 높여야 한다. 양질 조사료 이용이나 농후사료 비율을 상향 조정하여, 소의 energy 섭취를 높이면 체 분해에 의한 지방 동원을 감소시키고 혈액의 NEFA 농도 상승도 완화할 수 있다. 이것은 분만 후 지방간이나 ketosis를 줄이는데도 도움이 된다. 최종적으로 곡물은 체중의 0.5~0.75% 정도까지 높이고 selenium도 부족하지 않도록 한다.
- 차. 케토시스는 고능력우에서 주의를 요하며, 임상형이 아닌 준임상형인 경우에도 사료 섭취량을 제한하며, 대사성 질병 발생을 증가시키고, 생산성에 큰 영향을 미치게 된다. 분만 2주전부터 1일 두당 6g의 나이아신을 첨가하

거나, 프로피온산 염을 150g정도 이용하는 것은 케토시스 예방에 도움이 된다.

카. 완충제는 사용하지 않는다. 중조, 탄산칼슘 또는 완충제와 같은 화합물은 사료 중 음양이온 균형을 깨뜨려 결과적으로 유열이나 부종을 발생 확률이 커지기 때문이다.

타. 건유우 관리측사의 바닥을 가능한 건조시키고 항상 우상의 깔판을 깨끗이 한다. 유방과 피모상태를 관찰하여 건강상태를 체크한다.

1) 유두외상 특히 압상은 환경성 원인균에 의한 산전유방염 감염율이 거의 100%에 이르므로 국소치료 및 유두밴드 착용이 필수적이다.

2) BCS 3.5를 유지하도록 한다.

## 5. 분만전후 수일간의 관리

가. 최대 요점은 쾌적한 환경이다. 불량한 환경에서 오는 스트레스는 섭취량 감소를 더욱 심화시키는 것은 물론 후산정체와 자궁내막염 등 번식장애의 주요한 원인이 되며, 비유 최성기 유량감소와 전체 산유량 감소에 요인으로 작용한다.

나. 가능하면 분만용 독방에 넣는다. 결코 계류하지 않는다. 계류하면 stress가 쌓여 채식량이 떨어지거나 분만직후 비유의 회복에 좋지않는 영향을 미친다.

다. 후산이 깔짚의 톱밥 투성이가 되거나 소가 섰을 때에 그것이 톱밥과 함께 질 내로 들어가 산후 자궁회복이 늦거나 송아지 위생에도 좋지 않다. 독방이 없는 농장에서는 어떻게 하면 청결한 분만장소를 확보할 수 있는가를 생각해야 한다. 짚을 이용한 청결한 바닥관리가 권장된다.

라. 분만전에 유방이 붓기 시작하면 털깎기를 하여 준다.

마. 사료는 분만할 때까지는 건유사료 또는 전환기 사료를 주고, 분만하면 그 날에서 착유우 사료를 주는 것이 원칙이나 그 전환이 쉽지 않은 경우도 현실이다. 1~3일쯤 건유용 사료를 급여하면서 착유우용 사료로 바꿔 가는

사람도 있다. 그렇더라도 대부분의 소는 일시에 바꾸더라도 큰 문제를 일으키지 않을 것이다.

바. 필요하다면 조산을 실시하되 너무 일찍 조산을 서두르지 않도록 하고 분만진통이 충분히 진행된 후 무리하게 힘을 가하지 않도록 해야한다. 멸균된 산과 기구, 깨끗한물, 윤활제, 강옥도 징크액등을 쉽게 이용가능해야 한다.

사. 미끄러운 바닥은 피한다. 분만칸은 최소 12\*12 피트 정도의 넓이로 청결하고 세균오염이 적은 깔짚을 써야한다. 문은 넓고 뿔수가 있어야 하고 한 사람이 소를 보정시킬수 있어야 한다.

아. 소에게 물과 최고급 사료를 급여한다. 가장 중요한 것은 소가 사료를 섭취하고 물을 마시며, 반추할 수 있도록 유도하는 것이다. 제대로 반추와 저작을 하고 있는지 관찰한다.

자. 하루에 1~2회 정도 체온을 측정한다.

차. 유방을 유심히 관찰한다. 임상형 유방염의 증상으로 부종이나 열감이 있으면 착유를 계속하고 비유기 치료에 돌입한다. 이때 증상정도에 따라 항생제의 전신투여도 권장된다. 이것은 산전유방염관리의 핵심이다. 최소한 1일 2회 유두침지 소독을 실시하는 것은 유방염 예방 효과가 있다.

1) 지나친 유방의 부종이 관찰되면 분만전에 이뇨제 투여로 치료한다.

2) 분만전의 소는 신체상태와 분만의 기미 또는 유열증상을 체크한다.

카. 분만우에게 필요시 칼슘제를 투여하고 소의 거동을 유심히 관찰한다. 사료 급여량은 분만전과 비슷하게 급여하고 깨끗한 음수를 주며 필요시 전해질을 추가 급여한다.

타. 조산이 필요한 경우 따뜻한 비눗물로 외음부를 닦아준다. 이때 유방피부에 유두침지액의 질은 분무는 살균효과가 크다. 송아지의 위치가 정상적인가 파악한다.

파. 초유는 매번 착유시마다 완전히 짜낸다.

하. 갓난 송아지는 두부가 하향되게하고 깨끗한 수건으로 전신을 문질러 닦아준다. 이때 더러운 수건을 구강내로 삽입하여 끈적끈적한 태수를 제거



거하는 행위는 면역력이 없는 송아지의 구강내로 세균을 접종하는 결과 가 되므로 절대로 금기된다. 동시에 배꼽을 강옥도징크액으로 적셔서 소독하고 관찰한다. 갓난 송아지의 가장 흔한 세균감염경로는 구강과 배꼽이다. 송아지 팬으로 옮겨서 온열등을 사용하여 건조시키도록 한다. 가능한 분만후 15분 이내에 양질의 초유 0.5~1.0리터 정도를 급여한다. 이어서 6~8시간 간격으로 동일량의 초유를 급여하고 이때마다 배꼽에 강옥도징크액을 도포한다. 특히 건유초에 백신접종된 성우의 초유는 깨끗하게 착유하여 비닐팩이나 플라스틱병에 넣어 -20℃의 냉동고에 보관하여 두었다가 필요시에 다른 갓난송아지에 급여한다.

## 6. 비유전기 관리

- 가. 분만후 초기는 건유기의 연장이다. 비유전기에 급여되는 사료형태는 건유 후기 2~3주 동안에 급여되었던 사료와 거의 같아야 한다.
- 나. 분만우의 에너지 흡수를 충족시키기 위해서는 분만직후 매일 4kg의 농후사료를 급여시켜야 한다. 대부분의 경우 14일간 매일 0.7~1kg의 농후사료량을 증가시키므로써 분만후 비유에 필요한 에너지를 만들수 있다.
- 다. 매 착유시마다 첫 두세줄기의 젖을 짜서 스타킹검사를 실시하고 응유유무를 살핀다. 유방염 조기 검출법중에서 가장 손쉽고 경제적이며 누구나 할수 있는 검사법이다. 스타킹검에서 양성인 분방은 CMT검사를 실시한다. 2가 이상의 양성반응 분방유즙은 무균적 채취로 수거하고 세균배양검사를 의뢰한다. 또한 분만우의 CMT치는 건유초의 CMT치와 비교하여 건유기 치료의 효과를 평가할수 있으며, 건유기 신규감염을 알수 있다. 세균검사결과에서 전염성세균인 Staph. aureus균, Strep. apalactiae균 감염으로 판정된 개체는 격리시키고 집중치료한다.
- 라. 분만우는 감염의 위험이 높으므로 깨끗하고 건조한 우상에서 사양되어야 한다. 특히 착유직후 30분동안 사료나 물을 먹도록 유도하여 분뇨바닥에 유두를 노출시키고 눕는 행위를 막아야 한다. CMT 2가 이상 양성분방은

젖을 자주 짜주고 옥시톡신 10~20IU를 혈관에 주사하여 완전착유를 유도해야 한다.

마. 착유순서는 매 착유시마다 유방의 표면과 유두에 부착된 오물을 1회용 수건으로 씻어낸후 스타킹컵에 첫 두세줄기의 젖을 짜서 검사하고, 유두침지액에 네 젖꼭지를 담그고 최소한 30초간 유지시킨다. 이어서 2~3마리의 유방을 똑같은 방법으로 진행하는 사이에 30초가 지나면 1회용 수건으로 젖꼭지를 닦아내고 유두컵을 부착한다. 착유가 끝난후에 즉시 유두침지소독을 유두컵이 물려있던 부위까지 실시한다.

바. 산전유방염이 확인된 분방의 유즙은 무균적 가검유즙을 채취하고 옥시톡신을 혈관주사후 강력한 마사지로 완전히 착유해내고, 고장성 멸균식염수 500mg을 유두를 통하여 주입하여 부종을 종식시킬 필요가 있다. 이때 항생제 전신 및 유방내 주입을 병행한다. 세균배양검사서 얻은 결과에 따라 치료방법을 전환할수 있다.

표 1. 건유우의 영양가이드라인 예

		건유전기	건유후기(close up)
건물섭취량(체중%)		1.8~2.2	1.6~1.8
NE ℓ (Mcal/kg)		1.23	1.54
TDN		60	65
NFC	%DM	22	37
전분	%DM	12	28
CP	%DM	12	15
SIP	%CP	40	28
DIP	%CP	70	62
UIP	%CP	30	38
Ca	%DM	0.31~0.25	0.36~0.41
P	%DM	0.19~0.21	0.22~0.25
Mg	%DM	0.18~0.20	0.22~0.25
K	%DM	0.66~0.75	0.70~0.80
K가 1%이상 되고, Mg를 0.30~0.35%으로 한다.			

표 2. 건유우의 영양상태와 조사료 품질에 따른 배합사료 급여량

건유우의 영양상태	조사료 품질	배합사료 급여량(kg)
양 호	우 량	1.4~2.7
	보 통	1.8~3.2
	저 질	2.3~3.7
보 통	우 량	2.7~4.1
	보 통	3.2~4.5
	저 질	3.7~5.0
불 량	우 량	4.1~5.4
	보 통	4.5~6.0
	저 질	5.0~6.4

## 제 3 절 건유기간과 생산성

### 1. 건유의 중요성

- 가. 건유는 착유를 중지함으로써 새 한 비유기가 끝난 것이 아니라 다음 비유기를 위한 준비 기간으로 가장 중요한 시기이다.
- 나. 유방내 유즙을 합성하는 유선조직의 휴식과 산유량을 결정하는 유선상피세포의 재생과 증식을 돕는다.
- 다. 비유기 농후사료 다급에 따른 소화기관의 부담 경감과 회복의 기회가 된다.
- 라. 비유기 불균형된 영양분의 보충과 다음 비유기 우유 생산을 위한 영양분을 축적하게 한다.
- 마. 자궁내 송아지의 발육이 건유기에 50% 정도 이루어지므로 정상적인 송아지의 발육을 위해서도 필요하다.
- 바. 비유기에 형성된 유방감염을 퇴치할수 있는 절호의 기회이며 건유기 유방염을 예방한다.

### 2. 건유기 특히 전환기간의 내분비계의 변화

- 가. 임신말기부터 비유초기까지의 변화로는 혈장내 인슐린 농도의 저하, 성장 호르몬 증가 등이 촉진 되는데 분만시에는 두 호르몬의 혈장내 농도가 급격히 상승한다.
- 나. 갑상선 호르몬 (T4)도 임신말기에 점진적으로 증가하게 되고 분만시에는 약 50%가 감소하다가 다시 점진적으로 상승한다. T3도 T4와 유사한 양상을 보이지만 T4처럼 현저하지는 않다.
- 다. Estrogen 중에서 특히 태반 estrogen은 임신말기에 증가하지만 분만시에는 급속히 혈중농도가 감소한다.
- 라. Progesterone 농도는 건유기간중 임신유지를 위해 상승해 있지만 분만 약 2일

전에 급속히 감소한다.

마. Glucocorticoid 호르몬과 프로락틴 농도는 분만일에 증가하지만 다음날 바로 분만전 농도로 돌아간다.

바. 임신말기에 이와 같은 호르몬 변화는 큰 스트레스가 되며, 건물 섭취량(DMI)이 감소하게 되고, 지방조직에서 지방이 유리되고 간장에서 글리코젠이 동원된다. 체지방 분해에 의한 유리지방산 (NEFA)는 분만 2~3주전에 지속적으로 증가하게 되는데 분만 2~3일 부터 분만이 완료되기 전까지 현저히 상승한다. NEFA의 초기 증가량은 DMI감소와 연관되어 호르몬 변화와 어떤 상관성이 있는지 알 수 없지만 prefresh기간동안 강제급식을 했을 때, NEFA가 사라지는 않지만 증가가 크지 않은 것을 보면 NEFA의 변화도 호르몬의 영향이라고 추정할 수 있다. NEFA는 분만당일에 급속히 상승하는데 이는 분만과 관련된 스트레스이며 분만 후에는 혈중농도가 급속히 감소하지만 분만전 보다는 높은 농도를 유지한다.

### 3. 건유기간과 생산성

가. 건유시기는 일반적으로 분만2개월 전으로 이 시기에는 젖소의 우유 생산량도 줄고 피모가 윤택해지며 영양 상태도 갈비뼈가 약간 보일 정도로 회복되므로 적당하며, 건유가 완전히 되는 기간이 7~10일 정도 소요되므로 최소한 분만 45일 전에는 건유가 들어가야 한다.

나. 젖소의 이상적인 건유기간은 산유량 면에서 볼 때 45~70일이 적당하고 건유기간 결정시 가장 중요한 것은 산유능력과 건유시 젖소의 건강상태인데 이를 위해서는 이전 비유기의 유량과 산차, 체중, 체위 등의 점검이 필요하다.

다. 젖소가 많이 여윈 겨우는 건유기간을 연장하는 것도 좋지만 70일 이상 건유시 영양적, 산유량적 측면에서 비경제적이다.

라. 건유기간이 너무 길면 과비로 분만시 난산, 유열, 케토시스 등의 대사성 질병이 유발되고 또한 유선조직의 퇴화로 산유능력이 떨어지기 때문에 100일 이상은 절대 초과해서는 안된다.

마. 건유기간이 너무 짧으면 다음 비유기때 우유 생산량과 초유중 면역 단백질 함량이 감소한다.

표 3. 건유기간과 우유 생산성

건유일수	5-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	91이상
산유량증감 (kg/비유기)	-585	-285	-71	+86	+135	+142	+72	+29	-49

표 4. 건유기간과 총 면역단백질량

건유일수	28일	42일	60일
총 면역단백질(Ig/%)	2.8	4.1	6.0

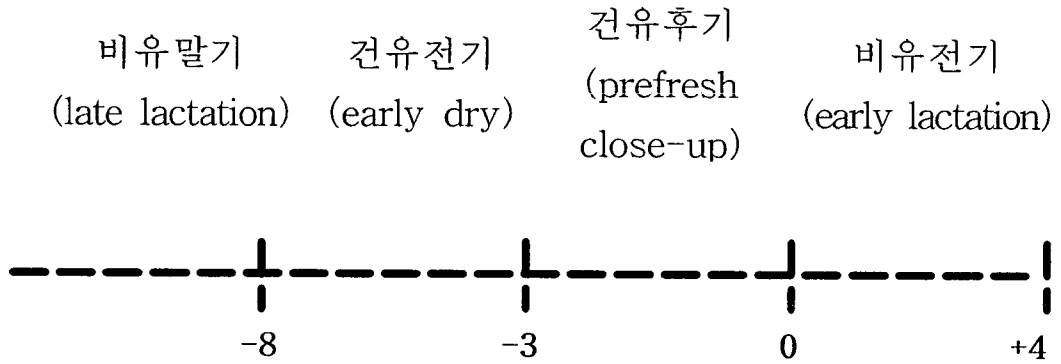
표 5. 건유기간이 산유량에 미치는 영향

건유기간	예상유량(%)
80일 이상	80-100
60-80	100
50-60	95-100
40-50	85-95
30-40	80-85
20-30	75-85
10-20	70-75
0-10	50-70

# 관리우군 분류와 분만기 간격

## 관리우군

(Management groups)



분만전후 기간

(Weeks before/ after calving)

그림 1

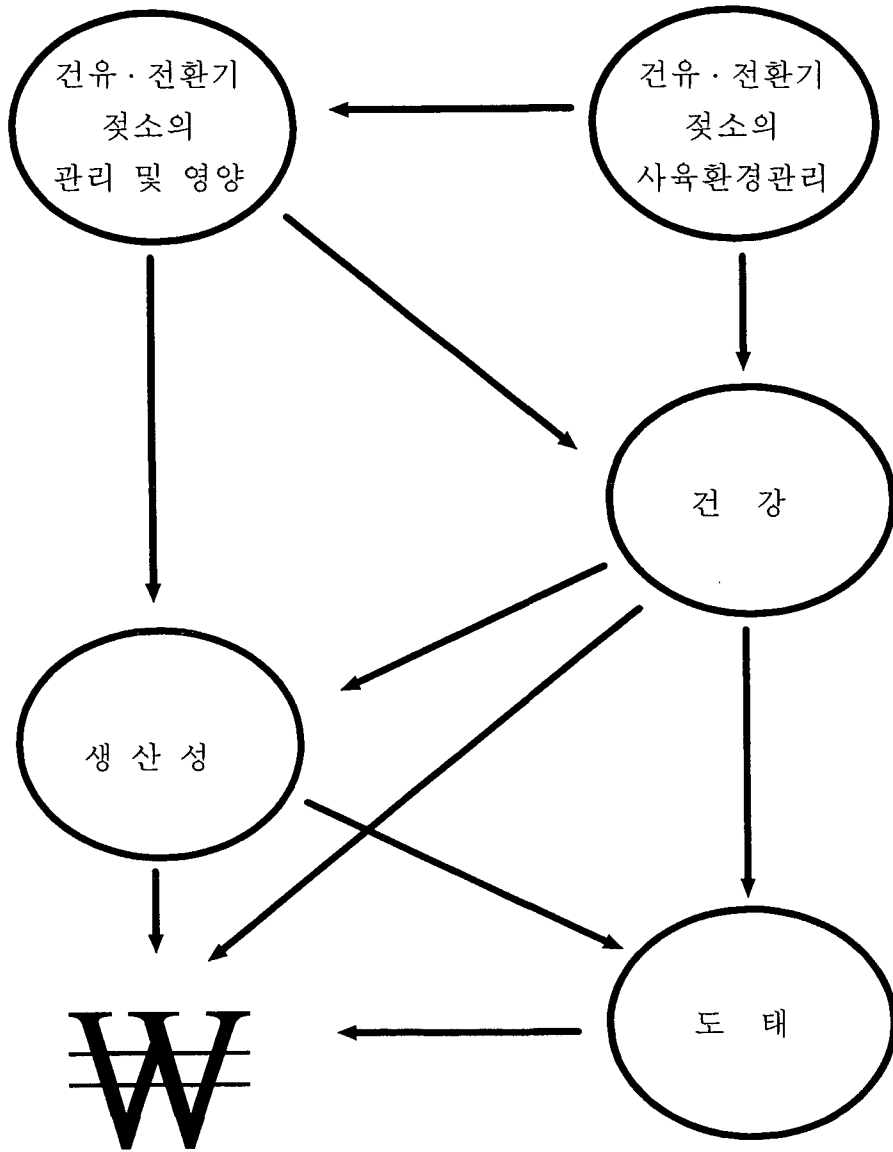


그림 2



## 제 4 절 건유기의 신체충실지수 (BCS)관리

### 1. 신체 충실지수 일반

가. 우군의 평균 산유량이 계속 증가함에 따라 적절한 body condition (BCS)을 유지하기가 어렵게 되었다. 비유초기 젖소들은 필요한 만큼의 충분한 에너지를 섭취하지 못하며, 이때는 체지방과 체단백질을 분해 이용하여 우유를 생산한다. 에너지면에서 0.45kg의 체조직 분해는 3.2kg의 우유를 생산할 수 있는 에너지를 제공한다. 체형점수 1점은 젖소 체중 약 56kg과 같은 계산이 된다. 대체로 젖소는 비유초기 45~67kg의 체중감소를 감안하여 충분한 축적을 준비해 두어야 한다. 이러한 이론을 감안할 때 비유 초기는 체내 축적된 에너지에 의존하여 우유를 생산하는 것이 확실하며, 이 에너지를 이용하여 산유량 최고점에 도달한다. 높은 산유량 최고점 (milk peak) 도달은 전비유기 유량에 미치는 영향이 큰데, 연구에 의하면 최고 비유기 때 1.0 kg의 유량증가는 전비유기를 볼 때 200kg 이상의 유량증가를 가져온다

나. 체조직의 이동은 유량증가와 소득증대에 크게 기여한다. 체조직의 이용 또는 체형점수의 낮아짐은 커다란 산유량의 증가를 가져오기 때문에 가능하면 소의 체중을 많이 감소시켜야 많은 유량을 얻을 수 있다고 단순하게 생각할 수도 있다. 그러나 지나친 체점수의 감소는 번식장애, 건강불량, 다음 비유기 전까지 최적의 체형회복 실패로 인한 유량감소는 물론 빠른 도태를 초래한다.

다. 체점수가 0.5이하나 0.5에서 1사이의 감소는 수정과 크게 관계가 없으며, 1회수정 수태율이 약간 떨어지는 것에 그친다. 그러나 체점수가 1점이상 감소시 분만후 최초 수정일이 79일 이상으로 늘어났으며, 1회수정 수태율은 17%로 크게 떨어졌다.

라. 과다한 체점수의 감소는 공태일수, 수정횟수, 도태두수의 증가로 큰 경제

적 손실을 본다는 사실이다.

- 마. 분만시 과비육된 젖소는 더 많은 문제가 있어 케토시스, 유열, 난산, 후산 정체, 자궁염, 과비우증후군 등의 발병 가능성이 훨씬 높다.
- 바. 섭취량과 배분량이 많은 젖소에서 체중측정에 의해서도 변화 파악이 쉽지 않기 때문에 BCS는 현실적으로 그 효용성과 관리척도로서의 기능이 커진다고 볼 수 있다. 중요한 지침은 분만후 비유초기의 BCS변화가 가능한 1 이상 변하지 않도록 영양 사양관리를 해주는 것이다. 과도한 BCS 감소는 과도한 체지방 및 체조직 분해를 의미하며, 이는 간에 극심한 부담을 주는 것은 물론 식욕저하에 의해 더욱 심화되는 역기능 대사현상이 나타난다는 점을 주의해야 한다.
- 사. BCS관리의 요점은 결국 섭취량 증대와 가장 밀접한 연관을 가지며, 섭취량이 정상이라면 영양농도 균형을 통해 목적하는 바 BCS 관리가 가능할 수 있다.

## 2. 비유단계별 적정신체충실지수와 생산성

- 가. 신체충실지수란 젖소의 효율적 관리를 위한 중요한 관리 항목중의 하나이다. 신체충실지수는 우유생산성, 사료섭취량, 번식 및 질병 등에 많은 영향을 미치므로 생육단계별 적정 신체충실지수 유지가 필요하다.
- 나. 비유단계별 적정신체충실지수

비유단계	목 표	범 위
건유기	3.5	3.25~3.75
분만우	3.5	3.25~3.75
비유초기	3.0	2.5~3.25
비유중기	3.25	2.75~3.25
비유말기	3.5	3.0~3.5
초임우	3.5	3.25~3.75

- 다. 능력이 좋은 젖소라도 신체충실지수 2.5 이하와 3.75 이상은 되지 않도록 한다. 유우의 적정 신체충실지수는 3.0~3.5이다.

### 3. 신체충실지수 측정방법

가. 신체 상태를 육안과 간단한 촉진을 병행하여 측정하는 방법으로 신체 각 부위를 종합적으로 평가하여 점수를 부여하며 측정부위는 미근부의 함몰 정도를 관찰하고 좌골이나 요각부위 지방 축적정도와 등선의 형태 및 지방 축적정도, 익상돌기 부위를 촉진하여 측정하고 촉진하는 손은 항상 동일한 손을 사용하며 측정시에는 편평한 장소를 선택한 후 소가 긴장하지 않도록 안정을 취하게 하고 먼저 소의 옆에서 전체를 관찰한 후 뒤에서 촉진으로 판정한다.

### 4. 신체충실지수 판정기준

가. 신체충실지수 1 : 매우 여윈

- 1) 미근부 밑과 좌골 사이가 많이 움푹하고 골격이 튀어나와 있음
- 2) 근육이 거의 없고 각이 심하게 저 있어 둔부가 움푹 들어가 있음
- 3) 뼈죽한 봉우리 현상이고 척추하나가 뚜렷하게 튀어나온 것이 보임
- 4) 튀어나온 것을 만져보면 예리하고 날카롭게 느껴짐
- 5) 피하의 근육을 손으로 만져 촉감이 없다.
- 6) 너무 말라 각각의 척추까지 선명하게 보인다.

나. 신체충실지수 2 : 여윈

- 1) 미근부 밑과 좌골 사이는 움푹하지만 그 부분의 골격에는 근육이 다소 붙어있음
- 2) 골부위가 튀어나와 있지만 음문은 튀어나와 있지 않고
- 3) 근육이 붙어 있어 척추 하나하나를 눈으로 관찰할 수 없지만 손으로 만져보면 쉽게 식별이 가능함
- 4) 튀어나온 정도는 심하지 않으나 돌기 하나하나를 눈으로 확인 할 수 있음

- 5) 등뼈가 돌출되어 보인다.
- 6) 갈비 부위가 나타나 보인다.
- 7) 신체충실도 부족으로 우유생산에 문제가 발생된다.

다. 신체충실지수 3 : 정상

- 1) 미근부 및 좌골부위에 지방 축적이 없고 매끄럽게 보임
- 2) 등, 허리, 요추의 상부가 등그런 봉우리 형상
- 3) 튀어나온 울퉁불퉁한 것이 명확하지 않고 매끄러움
- 4) 피부에 여유가 있으며 꼬리와 양 좌골 사이에 근육이 부착되어 있다.
- 5) 등, 허리요추의 상부가 약간 둥글게 보인다.
- 6) 둔부는 약간 움푹하다.

라. 신체충실지수 4 : 비만

- 1) 미근부나 좌골주위는 둥글고 피하지방이 축적되어 있는 양상
- 2) 요골과 요각 사이는 둥글고 편평하며 근육의 부착 정도를 느낄 수 있음
- 3) 등부분은 둥글고 매끄럽지만 허리와 둔부는 평평하게 보임
- 4) 튀어나온 부분은 나타나지 않고 둥글게 되어 있으나 손으로 누르면 느낄 수 있음
- 5) 각각의 요추가 명확하게 판단되지 않는다
- 6) 꼬리와 좌골사이 지방이 부착되어 있다.
- 7) 등뼈, 좌우 요각과 좌골사이 근육의 부착정도를 느낄 수 있다.

마. 신체충실지수 5 : 매우 비만

- 1) 미근부는 지방조직으로 매몰되어 있고
- 2) 골격 모양이 명확히 보이지 않고 피하지방 축적이 현저함
- 3) 요각과 좌골이 완전히 나타나 있지 않고 늑골에 지방이 피복 되어 있음
- 4) 지방이 더 이상 붙기 어려우며 미근부는 지방조직으로 채워져 있다.
- 5) 갈비에 지방이 피복 되어 있다.
- 6) 소의 유방 주위에 지방이 축적되어 있다.

## 5. 신체충실지수 관리

### 가. 신체충실지수를 감소시키는 요인

- 1) 우유 생산량이 높은 개체 또는 비유 초기
- 2) 사료 섭취량이 낮을 때
- 3) 사료중 단백질과 에너지가 부족할 때
- 4) 제 1위의 기능이 떨어질 때 등이다.

### 나. 신체충실지수 증가 요인

- 1) 사료의 에너지가 높을 때 또는 배합사료의 급여량이 높을 때
- 2) 우유 생산능력이 낮을 때
- 3) 조사료의 급여 비율이 낮을 때 등이다
- 4) 건유기간이 길 때

### 다. 신체충실지수 변화 일반

- 1) 비유기간동안 건강한 젖소의 신체충실지수는 1.0이상 변화되어서는 안된다.
- 2) 비유초기 신체충실지수 변화 폭은 0.5 단위 이내가 좋다
- 3) 신체충실지수 4.0이상 되면 체지방에 의한 내장 압박등 식욕이 감퇴하고 회복에 오랜 시간이 소요되며 케토시스, 후산정체 등 대사성 질병의 발생 비율이 높아지며 질병에 대한 저항력도 감소한다.

### 라. 건유기 신체충실지수와 생산성

- 1) 젖소의 신체상태는 에너지 균형의 과부족으로 나타나는 결과이며 신체충실지수는 근육과 지방 내에 축적된 대사 에너지의 양을 측정하는 방법으로 건유기에 체지방의 축적 상태를 정확히 평가하여 분만 후 젖소의 건강과 산유량 증대를 위해 적절한 신체충실지수를 유지하도록 하는 것이 바람직하다.
- 2) 분만전 60일 즉 건유기에 송아지 크기가 거의 절반정도 이루어지므로 건유기의 신체충실지수가 매우 중요하다.
- 3) 비유말기 신체충실지수는 젖소의 유전적 능력, 비유기 사양관리 방법에

따라서 다르겠지만 일반적으로 3.0~4.0으로 관리하는 것이 차기 분만후 산유량이 가장 많다.

- 4) 건유기간중 고영양분 사료의 급여시 분만후 비만으로 인한 난산, 기립불능 등의 대사성 질병의 수반으로 경제적 손실을 초래할 수 있으므로 적절한 영양관리가 필요하다.

마. 건유기 신체충실지수와 질병 발생률

- 1) 신체충실지수 3.0 이하와 4.0 이상에서 소화기 장애와 식욕마비증상이 많았고, 도태율은 4.5 이상에서 50%로 가장 높았음
- 2) 분만상태는 신체충실지수 3.0 이하와 4.0 이상에서 난산의 비율이 높았고 특히 4.5 이상인 과비 상태에서 50%로 가장 높았음
- 3) 건유 기간중 거의 계류시켰으나 운동이 부족한 경우는 신체충실지수를 3.40~3.75 정도 유지하고, 초산우는 난산을 방지하기 위해서도 3.50~3.70정도가 바람직함
- 4) 건유기에 적당한 신체충실지수를 유지하기 위해서는 조사료의 종류와 급여량, 배합사료의 영양분 함량과 급여량 등을 조절하고, 비유초기 사료섭취량 극대화를 위해서는 건유 말기에 비유촉진 사양을 실시하여야 한다.

표 6. 건유기 신체충실지수

구 분	신 체 충 실 지 수				
	3.0 이하	3.0~3.5	3.5~4.0	4.0~4.5	4.5 이상
질병발생률(%)					
- 소화기	22.2	-	12.5	26.7	-
- 식욕마비	11.1	2.2	-	13.3	50.0
- 기 타	22.2	11.1	-	-	-
- 계	56.6	13.3	12.5	40.0	50.0
도 태 율 (%)	22.2	2.2	-	13.3	50.5
분만상태 (%)					
- 순 산	66.7	68.9	31.3	20.0	-
- 조 산	-	28.9	59.4	60.0	50.0
- 난 산	22.2	2.2	6.3	20.0	50.0
- 기 타	11.1	-	3.0	-	-

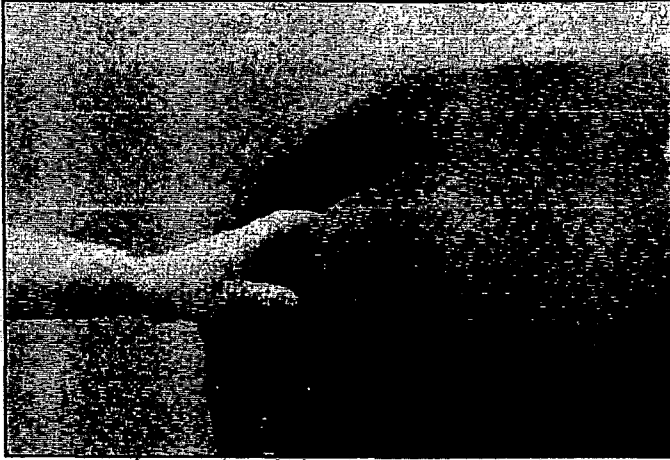
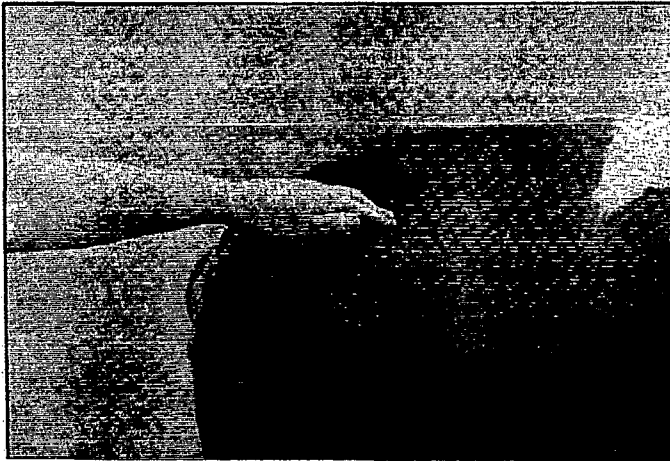


그림 3

신체충실지수(BCS)  
측정방법



○ 반드시 손으로 만져서 측정해야한다.

○ 미근부 함몰 정도 관찰

○ 좌골, 요각부위의 지방 축적 정도 측정

○ 익상돌기 부위 측정



○ 동일한 손을 사용하라

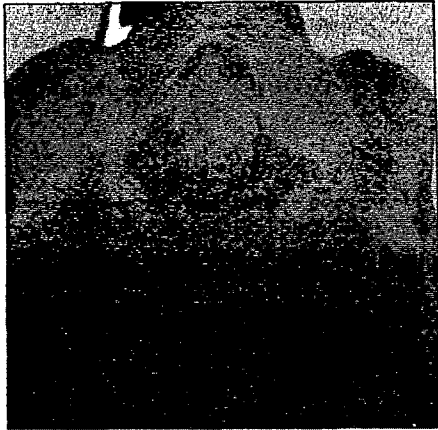
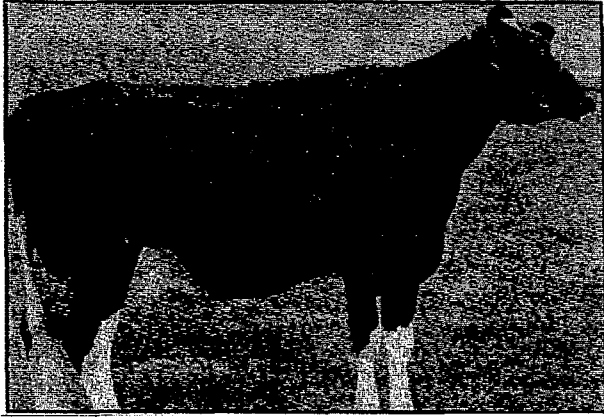


그림 4. BCS 1의 측정



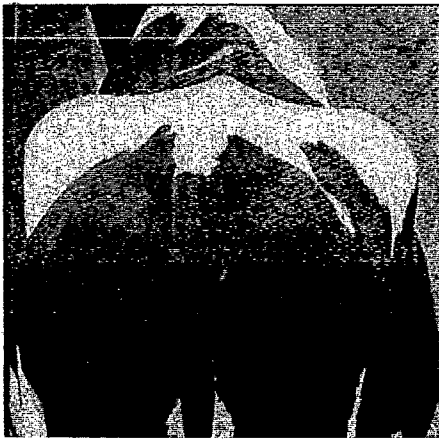


그림 5. BCS 2의 측정

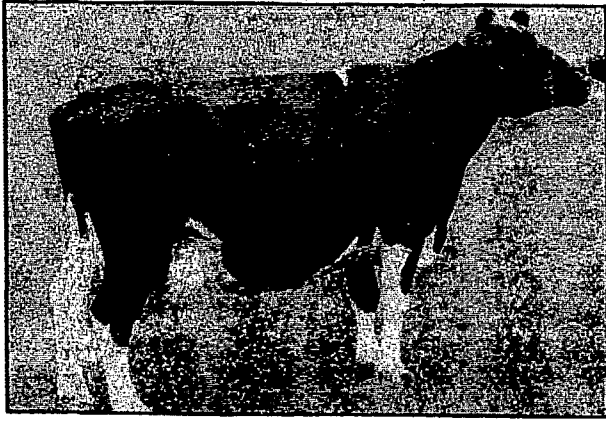


그림 6. BCS 3의 측정

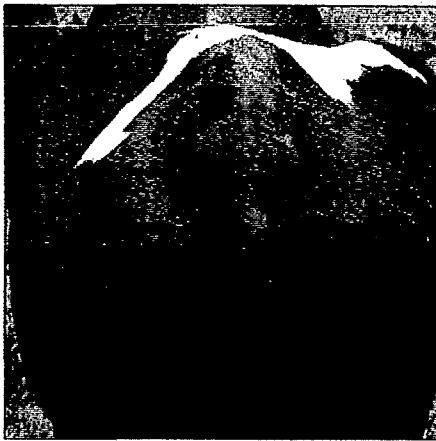


그림 7. BCS 4의 측정

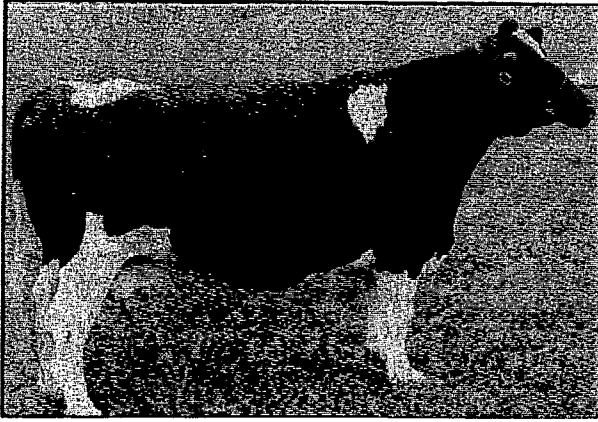
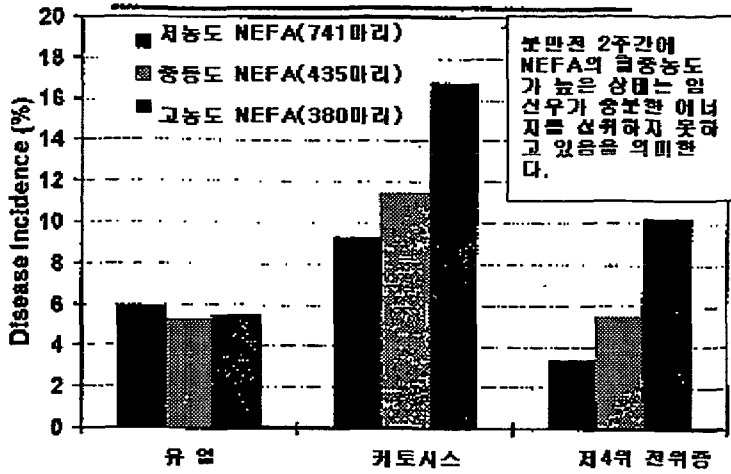
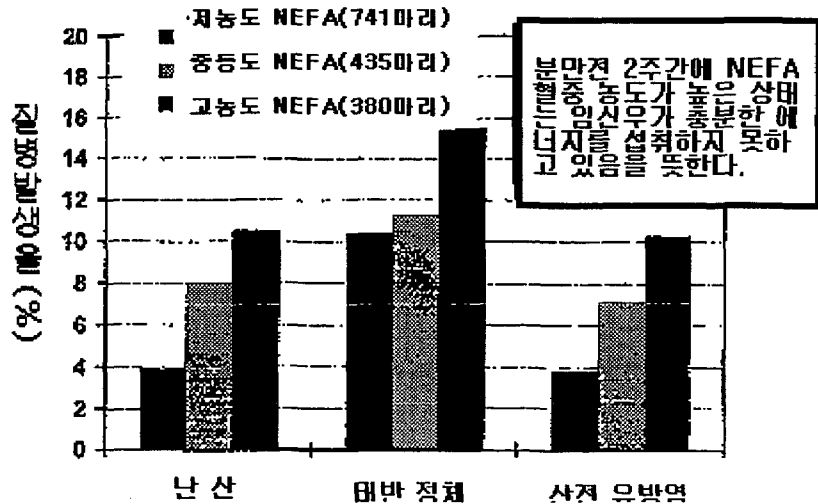


그림 8. BCS 5의 측정

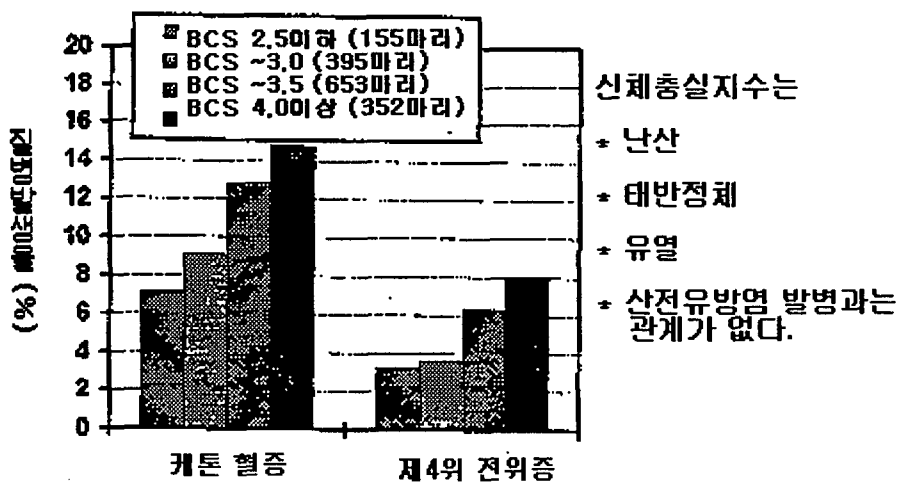
### 혈중 NEFA 농도와 질병 발생을



### 혈중 NEFA 농도와 질병 발생을



### 신체충실지수 (BCS)와 질병발생을



## 제 5 절 건유기의 음이온-양이온 균형(CAB, DCAD)

### 1. 음이온, 양이온

- 가. 젖소 사료 내 양이온, 음이온에 대한 개념은 알칼리성의 건유우 사료가 젖소의 건강에 얼마나 좋지 않은 영향을 미치는지, 그리고 음이온염의 급여가 얼마나 효과가 있는지를 측정하기 위해서 고안되었다.
- 나. 음이온염의 사용은 건유우(분만 직후의 소 포함)에게 칼슘 등 양이온 함량이 높은 조사료를 급여할 방법의 일환으로 도입
- 다. 대표적인 양이온(cation)은 나트륨(Na)과 칼륨(K)
- 라. 대표적인 음이온은 염소(Cl)와 황(S)
- 마. 대표적인 양이온, 음이온은 산출되어 DCAD(dietary cation anion difference) 또는 CAB(cation anion balance)로서 표시한다.
- 바. 황을 제외한 무기물들은 1가로 구성되어 있는데 무기태 1가 이온은 장에서 흡수효율이 높으며 항상성은 주로 뇨에 의해서 조절된다.
- 사. 일반적으로 사료내 음이온 함량에 영향을 많이 미치는 것은 염소이다. 즉 사료 내 양이온 함량이 높다면 상대적으로 염소의 함량이 낮다고 할 수 있다. 상응하는 염소의 흡수 없이 과도한 칼륨이 흡수되면 젖소 체내에 알칼리성 효과를 일으키며 뇨내 칼륨과  $\text{HCO}_3^-$  함량을 증가시켜 뇨중 알칼리도를 높인다.

## 2. 젖소와 음이온제

- 가. 최근 십여년 사이에 미국에서는 분만 3주전부터 음이온 조정제 투여에 의한 이들 질병 방지에 관한 연구가 상당히 많이 이루어지고 있다.
- 나. 건유우는 분만전 20일간은 음이온화가 필요하고, 경도의 산성화가 되어야 정상적인 혈중 칼슘함량을 유지할 수 있다.
- 다. 건유우의 음이온화는 뇨의 pH에 의해 알 수 있는데, 이 때의 pH는 6.0~6.8을 나타낸다. 산성인 음이온염의 첨가는 칼륨과 칼슘을 뇨로 배출하는 것을 촉진시키므로 뇨의 상태를 산성쪽으로 바꾸어준다. 이에 비해 착유우는 양이온 상태를 유지해야 하고 뇨의 pH는 7.0~8.0으로 알카리 상태가 바람직하다.
- 라. 저칼슘혈증은 자궁과 심장 등의 근육을 이완시키기 때문에 자궁퇴축, 제4위전위 등의 주요원인이 되며, 분만에 가까워짐에 따라 식욕이 감퇴되는 것에도 어느 정도 영향을 미친다. 분만 전후에 있는 소의 뇨 pH를 측정하는 것은 이러한 저칼슘혈증에 대한 감수성 측정 및 음이온염제의 효과를 테스트하는데 훌륭한 역할을 해 준다. 따라서 음이온제를 사용할 때는 뇨중 pH를 측정하여(산성화되어 있어야 함) 사용량을 결정해야 한다.

## 3. 음이온제 급여방법

- 가. 황산마그네슘등은 일일 두당 100g 전후를 농후사료와 함께 급여한다. (기호성 낮음)
- 나. 미국에서 개발된 바이오크롤이란 제품은 일일 두당 1kg을 사료와 혼합하여 급여한다.
- 다. 일본에서는 캐브라고 불리는 음이온제가 시판되고 있다. 이 액제는 일일 두당 100cc를 물로 희석해서 사료에 살포해 급여한다. 급여는 분만전 20일부터 분만시까지로 하고 7일마다 뇨의 pH를 측정한다. 건유우의 체상태가 음이온화 되었을 경우 칼슘의 급여량을 일일 두당 150~200g으로 증가시키고 인의 급여량을 억제하는 것이 효과적이다.



- 라. 요즘 새롭게 등장한 음이온제로 음이온염의 작용을 기초로 한 모노소듐 글루타메이트 생산부산물인 있는데, 이 첨가제는 건물기준으로 8.6%의 염소와 2.4%의 황을 함유하고 있다. 1kg당 음이온염 1.5가를 공급하므로 효과적이다. 권장 급여량은 1일 두당 약 1kg이지만 사료 중 음양이온 균형을 고려하여 급여한다.
- 마. 음이온 첨가제는 일반적으로 기호성이 많이 떨어지기 때문에 기호성을 향상시킨 음이온 배합사료가 개발되어 있는데, 이를 권장량 (보통 3-5kg) 급여하는 것도 편리한 방법이 된다.

#### 4. 음이온 조정의 효과

건유우가 음이온화 되면 뇨중에 배설되는 칼슘량이 감소하고 장에서의 칼슘 흡수량이 높아진다. 또한 소화기나 자궁 등은 평활근으로 구성되어 있고, 칼슘이 중요한 역할을 하고 있다. 따라서 음이온으로 건유우 체상태가 바뀌면 유열, 기립불능증 외에 난산, 태반정체, 식욕부진이나 제4위 전위증 등도 예방된다.

#### 5. 음이온 이용시 주의사항

- 가. 사료내 K의 함량이 낮을 경우 염화염 형태가 아닌 다른 형태의 음이온염을 첨가하면 오히려 좋지 않은 현상이 발생할 수 있으므로 사료내 K 함량이 낮을 경우 음이온염 제제의 선택에 신중을 기해야 한다.
- 나. 음이온제를 급여하고 있는 경우 건유사료내 칼슘함량은 오히려 높여주어야 하는데 약 1.5~1.8% 정도가 적당하다.
- 다. 젖소가 섭취하는 물 중에도 어느 정도의 나트륨, 염소, 황 등이 들어 있으므로 CAB를 계산할 때 고려해 주어야 한다.
- 라. 음이온제는 마그네슘의 이용성을 저해할 수도 있으므로 암모늄염을 사용할 경우 사료내 마그네슘의 함량을 높여 주어야 한다.

- 마. 젖소에 사일리지, 건초나, 농후사료를 급여하면 양이온 사료가 된다. 특히 초지에다량의 슬러리나 생분뇨의 사용에 의해서 재배된 사료작물은 칼륨의 함량이 높기 때문에 양이온화가 진전된다.
- 바. 황산마그네슘(MgSO<sub>4</sub>)을 이용하여 Mg의 함량을 NRC의 0.316%에서 0.35~0.4% 증량급여하여야 하는데, 이는 Ca과 대사에 매우 중요한 부갑상선 호르몬은 Mg의 함량이 낮으면 분비가 억제됨으로 이를 예방하는 효과가 있다.
- 사. 황산칼슘, 황산마그네슘 등으로 황(S)의 수준을 NRC 요구량의 0.16에서 0.45% 정도로 높여 공급하므로써 유열발생 억제에 매우 중요한 황을 충분히 급여한다.
- 아. 인(P)의 섭취량을 일일 60g 이하 수준 유지한다.
- 자. 염화암모늄(NH<sub>4</sub>Cl)을 양이온-음이온 균형을 -10mEq/100g의 수준으로 급여한다.
- 차. 급여하는 사료에 두당 황산마그네슘 40~80g, 황산칼슘 60~80g, 염화암모늄 120~180g 정도를 농가가 급여하는 사료의 양이온-음이온 균형가에 따라 차등 급여한다.
- 카. 음이온 사료는 기호성이 떨어지므로 TMR을 사용하거나 사일리지 등과 같은 습윤사료와 혼합하여 사용하면 기호성을 다소 개선할 수 있다.
- 타. 급여시기는 분만전 3~5주 동안 급여한다.
- 파. 음이온 급여효과는 경산우가 초산우보다 더 높다.

## 6. 건유우에 대한 음·양이온 사료 급여방법

- 가. 국내 젖소 사육농가에서는 사료 배합시 주로 조단백질과 TDN 요구량 기준으로 사료를 배합하고 있으나, 이보다 한 단계 더 세분화된 분해성 및 미분해성 단백질, 정미에너지 그리고 광물질도 양-음이온 균형을 고려한 사료배합 기술로 대체하는 것이 필요하다.
- 나. 건유우의 영양관리는 반추위 정체, 태반정체, 유방염 및 산유량과 3~9배 연관성이 있는 혈중 저칼슘에 의한 임상형, 준임상형 유열과 같은 대사성 질병을

감소시켜 우유생산성 및 번식효율을 증가시켜 준다.

다. 건유우에 음이온 사료를 급여하면 칼슘대사에 관계하는 호르몬의 작용을 활성화시켜 혈중칼슘의 함량을 증가시켜 유열 및 이와 관련된 대사성 질병을 예방 할 수 있다.

라. 음이온 사료급여시 유열방지 기전

1) 건유후기 동안 음이온 사료를 급여하면 체내가 약 대사성 산성 상태가 되는데 체내는 항상 전기적 중성을 유지하려고 하기 때문에 산염기 균형을 이루기 위하여 체내에 있는 양이온인  $Ca^{++}$ 을 분비하게 되는데 그 결과로 뼈에 있는 칼슘이 동원되고, 소장에서의 칼슘 흡수율이 증가한다.

2) 칼슘대사에는 부갑상선 호르몬 및  $1,25(OH)_2Vit D$ 가 관여하는데 만약 급여하는 사료가 음이온일 경우엔 이들 호르몬의 작용을 촉진시켜 칼슘의 혈중 함량을 증가시켜 유열발생 감소시킨다.

마. 국내 주요 조사료 및 유통배합사료의 양-음이온 균형가

1) 국내 낙농가들이 젖소 사료로 많이 이용하고 있는 대부분의 사료를 양-음이온 형태의 사료이며 특히 건유우에 많이 이용하고 있는 볏짚 및 건초를 양-음이온 균형가가 각각 약+38.6 및 66.6mEq/100g으로 상당히 높은 수준의 양이온 사료이다.

2) 옥수수 사일레지는 약 +9.9mEq/100g 정도의 양이온 사료이며 또한 국내에서 유통되고 있는 건유우용 배합사료의 양-음이온 균형가는 +2.6~25.9mEq/100g 정도의 양이온 사료이다.

3) 실제 낙농가들의 건유우용 볏짚위주의 조 : 농 분리 및 완전혼합사료 급여농가의 양-음이온 균형가는 +20~+25mEq/100g 정도의 고수준의 양이온 사료로 급여하고 있다.

4) 양이온 사료를 음이온 사료로 만들기 위하여 음이온 첨가제인 황산칼슘, 황산마그네슘 및 염화암모늄 등과 같은 음이온 사료를 첨가하므로 쉽게 조절이 가능하나, 위에서 언급한 상관관계와 기호성을 고려해야 한다.

바. 양-음이온 균형 사료 급여시 건유우 생산성 반응

1) 유열발생은 혈중 칼슘함량과 매우 높은 상관관계가 있는데 혈중 칼슘함량

이 8.0mg/dl 이하이거나 혈중 이온화 칼슘의 함량이 4.0mg/dl 이하일 경우는 임상형 및 준임상형 유열에 이환되는 확률이 높은 개체로 인정할 수 있는데 건유기때 음이온 사료를 급여하면 혈중 칼슘 및 이온화 칼슘의 함량이 유열발생 안전 수준인 8.0 및 4.0mg/dl와 비슷한 수준인 반면에 양이온 사료를 급여하여 유열발생 안전수준보다 훨씬 낮은 수준이다.

- 2) 뇨 pH로도 유열발생 가능 유무를 판단할 수 있는데 만약 뇨의 pH가 6.4~7.5일 경우가 유열발생 확률이 가장 낮고 뇨의 pH가 8.0에 가까우면 유열이 일어날 가능성이 높아지는데 이 기준을 감안해도 음이온 사료를 급여하므로써 뇨의 pH가 6.4~7.0 정도로 유지하고 유열이 발생할 확률을 감소시킬 수 있다.
- 3) 건유후기에 -10~-25mEq/100g 정도의 음이온 사료를 건유우에 급여하면 임상형 및 준임상형 유열을 현저하게 감소시킬 수 있으며 이것에 의하여 305일 산유량도 약 4%~6%가 증가하여 연간 300~400kg가 증가되었으며 수태율 또한 증가되고 수태당 수정회수는 감소하여 번식효율이 현저하게 개선된다.
- 4) 우유중 체세포수가 음이온 사료급여시 ml당 약 6만개로 양이온 사료를 급여할 경우 ml당 약 30만개보다 훨씬 감소한다.
- 5) 국내에서 유통되고 있는 대부분 건유우 사료는 양이온 사료로 농가에 급여되고 있다. 음이온 사료로 개발된 전환기사료를 이용하거나 음이온 사료를 만들기 위하여 음이온 첨가제인 황산마그네슘, 황산칼슘 및 염화암모늄 등을 구입하여 혼합하여 음이온 사료로 만들어 건유우에 급여하는 것이 필요하다.

#### 사. 양-음이온 계산방법

- 1) 계산식 : 사육농가가 급여하고 있는 사료중의 양이온인 Na, K와 음이온인 Cl, S를 분석하여 계산한 후 다음의 계산식,

즉, 양이온-음이온 균형가(mEq/100g)

$$= [(\%Na \div 0.023) + (\%K \div 0.039)] - [(\%Cl \div 0.0355) + (\%S \div 0.016)] \text{에 의하}$$

2) 표현방법 : 급여하는 사료의 kg 또는 100g당 mEq

양이온 사료 → 음이온 사료로의 조정 : 급여하는 사료의 양-음이온 차이가 +20.0mEq/100g 전후의 사료가 적합

바. 건유· 전환기 젖소의 미량광물질 수준측정

건유· 전환기 젖소를 3단계로 분류하여 건유전기, 건유후기, 비유전기에 각각 채혈하여 측정한 혈청내 전해질과 비타민 A,D,E의 수준은 다음과 같다.

	Na <sup>+</sup> (mmol/L)	K <sup>+</sup> (mmol/L)	Cl <sup>-</sup> (mmol/L)	Mg <sup>2+</sup> (mg/dl)	Pi (mg/dl)	Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	Fe <sup>2+</sup> (mg/dl)
건유초기	139.82 135~147	6.78 5.0~9.9	111.05 104~119	2.61 1.93~4.43	1.8 0.63~5.12	8.42 5.8~11.7	183.97 63.8~472.3
건유후기	140.28 133~147	6.8 5.1~8.7	111.4 94~119	2.8 1.72~4.47	2.13 1.10~5.32	9.63 5.6~63	160.09 70.0~297.9
비유전기	138.05 103~146	5.92 4.0~9.6	114.34 109~129	2.28 1.17~5.43	1.79 0.95~5.56	8.28 5.9~11.5	183.33 103.6~380.0

	Cu (mmol/L)	Zn (mmol/L)	Selenium (mmol/L)	Vit A (mg/dl)	Vit D (mg/dl)	Vit E (mg/dl)
건유전기	5.19 (4.25~5.69)	13.9 (11.0~19.0)	2.2 (1.7~2.5)	48 32~54	측정치 신빙성 결여	측정치 신빙성 결여
건유후기	5.20 (3.91~6.18)	13.3 (12.6~18.9)	1.9 (1.6~2.1)	52 (29~61)		
비유전기	5.13 (3.62~6.02)	12.5 (11.2~17.6)	1.7 (1.42~1.9)	33 (24~52)		

또한 충청지역과 대관령지역 각1개소의 건초, 건유사료, 수입건초 및 TMR배합사료간에는 상기 광물질과 비타민 측정치에 유의성있는 차이가 없었다. 특히 TMR사료제조시에 성분비율이 거의 유사하였기 때문에 기대했던것처럼 특별한 차이를 발견할수 없었다.

비타민 A, D, E의 1일 추가 급여량은 급여 사료질과 건물 섭취량에 따라 의 존되지만 일반적인 추천은 건유 전기에 각 50,000IU, 20,000IU, 300-500IU 이 며 건유 후기에는 각 100,000IU, 30,000IU, 1,000IU 등이 권장된다.

## 제 6 절 당, 지질 및 아미노산의 대사

### 1. 젖소가 반추위 내에서 농후사료를 소화하고 흡수하는 과정

가. 농후사료중 전분과 당분 그리고 섬유소는 포도당과 과당이 되고 다시 포도당과 과당은 휘발성저급지방산으로 만들어져 제1위 위벽에서 흡수되어 에너지원으로 사용된다.

- 1) 초산은 유지방, 유량을 높이는데 사용
- 2) 낙산은 제1위 용모돌기(섬모)의 발육을 촉진
- 3) 프로피온산은 유량의 증가를 가져오는데 사용된다. 특히 프로피온산은 흡수되어 포도당으로 만들어지고, 이 포도당이 혈당치의 증가를 가져오며, 혈당의 증가는 인슐린의 분비를 촉진시켜 체지방의 이용을 저하시키므로 젖소는 살이 덜 빠지게 된다. 즉 과도한 BCS 저하를 막을 수 있다. 이렇게 비유초기에 높은 산유량을 뒷받침하고 BCS의 과도한 저하를 막기 위해서 젖소는 많은 사료를 섭취하여야 한다. 많은 사료의 섭취를 위해서는 반추위가 사료를 섭취하고 소화 흡수할 수 있는 여건을 건유기에 만들어 주어야 한다.
- 4) 건유말기부터 비유초기에 걸쳐서는 글루코스, 지질 그리고 단백질 대사는 양적으로 크게 변화하는 것은 물론, 태아의 급성장, 분만, 우유의 합성, 분비 등 모체내에서의 영양소분배의 방향도 극적으로 변하고 있다. 이 시기에는 당지질이나 아미노산의 체내 이동량도 증대하는데, 이런 대사의 중심적인 부위는 지방조직, 유선, 그리고 간장이라고 할 수 있다.

#### 나. 지방조직

- 1) 지방조직에는 중성지방(TG)이 존재하고, 이것은 늘 합성과 분해를 되풀이하고 있다.
- 2) 유량 약 30kg/일에서 에너지출납이 장인 젖소에서는 지방조직을 매개로 한 에너지의 흐름은 14Mcal/일 정도이고 이것은 약 10kg의 우유생산에

상당한다. 에너지 출납이 부인상태에서는 이 비율이 더욱 높게 된다.

- 3) 사람에서는 글루코스를 원료로 하여 지방산을 합성하지만 반추동물에서는 이 경로가 일치하지 않고, 초산, 낙산 등의 저급지방산 및 케톤체를 원료로 하여 지방산이 합성된다. 합성된 지방산은 지방조직 내에서 에스테르화 되어 트리글리세라이드가 되고, 반대로 TG가 분해되면 NEFA가 방출된다.
- 4) 축적된 지방의 양은 ester화와 분해와의 상대적 비율에 따라 좌우되고 인슐린은 지방의 합성 및 축적을 촉진시킨다.
- 5) 한편 분해(지방동원)는 호르몬감수성리파제(HSL)에 의해서 촉매되어 베타아드레날린 작용에 의해서 촉진된다. 태반성 락트겐, 성장호르몬도 호르몬감수성리파제(HSL) 활성을 높이는 등 임신말기에서 비유초기에 걸쳐서는 지방동원을 촉진하는 내분비상태로 되고 그 결과로서 혈액 NEFA 농도가 상승한다.
- 6) NEFA는 심장이나 신장 등 많은 체조직에서 에너지원으로 이용되고 있지만, 비유중의 젖소에게 있어서 실질적으로 NEFA가 흡수되는 것은 간장과 유선이다. 건유말기(분만2~4주전)부터 지방조직의 동원이 활발해져 분만이나 비유에 대응하는 대사이동 시작된다. 호르몬감수성리파제(HSL) 활성상승은 그 후도 계속해서 분만후 2개월 정도에 피크에 달하지만 그 후의 비유중에도 높은 활성이 유지된다. 지방조직으로부터 NEFA 방출량(동원과 합성의 상대차)이 최대가 되는 것은 분만1~2개월 후이고, 비유최성기에 일치한다. 그런데 혈액의 NEFA농도가 최고가 되는 것은 분만시 또는 그 직후이고 반드시 지방동원의 피크와는 일치하지 않는다. 이것에 관해서는 지방조직으로부터 NEFA의 방출은 확실히 분만보다도 늦게 최대가 되지만 그 시기에는 NEFA가 유선에 의해서 활발히 처리되기 때문에 혈액 NEFA 농도는 낮은 값을 보이는 것이다.
- 7) 분만시에는 NEFA의 참된 방출량은 아직 최대는 아니지만 유선에 의한 처리량이 대단히 적기 때문에 혈액 NEFA농도의 상승을 초래하고 또한 간장으로의 NEFA 유입도 증대하는 것이다.

- 8) 임신말기에 혈액 cholesterol 농도가 저하하고 분만후는 서서히 상승한다.  
이것은 임신말기와 비유초기에 있어서 에너지 섭취가 적기 때문이라고 생각되고 있다.

#### 다. 유선

- 1) 유선은 여러 가지의 기질을 흡수하여 우유를 합성한다.
- 2) 비유중에는 글루코스가 우선적으로 유선에 배분되지만 유선에서의 글루코스 흡수는 인슐린에 의존하지 않는다. 이것 때문에 심한 저혈당 및 저인슐린 조건이라도 유당합성을 위해 글루코스가 유선에서 흡수된다.
- 3) 유선에 이용가능한 글루코스의 양이 비유를 제한하는 인자가 되는데, 글루코스 공급이 부족한 경우에는 실험적으로 글루코스를 주입하면, 유량이 일시적으로 증가하는 경우도 있다.
- 4) 아미노산은 유단백질 합성의 기질이고 더욱이 아미노산은 에너지원으로서도 쓰이고 있다. 유선에서의 아미노산 흡수, 유단백질합성에는 인슐린이 필요하게 된다.
- 5) 지방조직으로부터 방출된 NEFA는 albumin과 결합하여 순환혈액중에 출현하여 유선에 달하지만 그 흡수량은 혈액 NEFA 농도와 유선 혈유량에 달려 있다. 유선에서의 NEFA 흡수를 동-정맥차법에 의해서 확인할 수 있는 것은 NEFA 농도가 0.3~0.75m몰/ℓ 인 경우이지만 저농도이기 때문에 동-정맥차가 작더라도 유선에서의 혈류량은 현저히 많기 때문에 생리적 의의는 크다.
- 6) 초산 또는 낙산을 원료로 하여 최초의 단계부터 지방산을 합성하는 것에 비하면, 사료에서 섭취한 지방으로부터 유지방을 생산하는 때에는 에너지 효율이 뛰어나다. 단지 사료에 유지를 첨가하면 유선에서의 단~중쇄지방산의 합성이 감퇴하고 대신 탄소수 18의 스테아린산이나 올레인산의 비율이 늘어난다. 유선에서 장쇄지방산의 원료로는 혈액중의 리포단백질에 포함된 TG나 cholesterol ester 지방산도 올라가고, 이들 리포단백질의 기원은 간장 및 장관이다. 사료에서 섭취한 유지도 소장으로 흡수되면 lymph를 거쳐 순환혈액에 리포단백질로서 유입하여 조직에 공급된다. 혈액중의



리포단백질 지방산이 조직에 받아들일 때는 리포단백질 lipase(LPL)가 관여하고 있고 이 효소활성은 특히 유선과 지방조직에서 높다. 지방조직에서 이 효소는 인슐린에 의해서 촉진되고 유선에서의 LPL 작용은 프로락틴에 의해서 자극된다. 혈액의 TG가 유선에서 흡수되는 것도 농도에 비례하고 혈액 TG가 10~30mg/dl범위에서는 동맥혈액의 TG의 약 30~50% 정도가 흡수된다. 이 효율적인 흡수에는 유선 혈류량의 증대가 크게 관계하고 있다. 인슐린은 지방조직의 LPL을 촉진시키지만 비유초기에는 인슐린 농도가 낮기 때문에 지방산은 지방조직이 아니라 유선에서 우선적으로 흡수된다.

- 7) 비유중(비유초기)에는 다른 말초조직을 희생하여서라도 유선에 글루코스나 지방산을 우선적으로 운반하도록 체내의 대사가 이동하고 있다. 이것은 고도로 개량된 젖소의 장점이지만 한편으로는 케토시스나 지방간 등 대사성 질병의 숙명에 직면하게 되는 원인도 된다.

#### 라. 간장

- 1) 반추동물의 간장에서는 지방산을 거의 합성하지 않기 때문에 간장에 존재하는 지방산의 대부분은 순환혈액으로부터 흡수한다. 특히 NEFA에 연유되어 있다. 간장에서의 NEFA 흡수량도 혈액의 NEFA 농도와 혈류량에 좌우되고 비유우에서는 간장에서의 혈유량이 증대되어 있기 때문에 NEFA 농도가 높아질수록 간장에서는 많은 지방산이 흡수된다.
- 2) 젖소의 간장 지방함량(TG)은 분만 17일 이전에는 14%이던 것이 분만직후에는 그 약 2배에 달하는 예도 있다. 재미있는 것은 분만전부터 유지사료를 급여하더라도 간장의 지방함량에는 차이가 없고 또한, 유지급여에 의해서 혈액의 NEFA 농도가 상승하더라도 케톤체농도의 상승도 따르지 않는다고 한다.
- 3) 간장에 들어 간 지방산의 일부는 미토콘드리아 내에서 산화된 후에 아세틸CoA를 생성하고 아세틸CoA는 구연산회로 또는 케톤체합성 경로로 들어간다. 산화되지 않은 NEFA는 다시 ester화 되어 TG로서 간장에 축적된다. 다시 ester화된 TG가 아포단백질 및 다른 지질과 함께 리포단백질

로 합성되면 순환혈액중에 분비되지만 반추동물의 간장에서는 리포단백질로서 방출하는 능력은 대단히 적다. 분만뒤의 젖소에서는 지방조직으로부터 급격한 지방동원이 있기 때문에 혈액의 NEFA 농도가 상승하여 많은 소에게 지방간을 유발시키고 그 회복에는 2개월 가까이 걸린다. 이와 같이 지방간 또는 간장에의 지방 침윤에는, 반추동물의 간장에서는 리포단백질로서 TG분비능이 약하다는 것이 관계한다. 따라서, 간장에 지방축적을 막기 위해서는 혈액의 NEFA농도(지방조직에서 유래)를 높이지 않은 사육이 기본이라고 할 수 있다. 그것을 위하여는 충분한 영양소를 사료로부터 직접적으로 유선에 공급시켜 지방조직으로부터의 동원을 적게 하는 것이 중요하다. 간장에서 지방산이 대사 되면 초산이나 케톤체( $\beta$ -HB)로 되어 버린다. 순환혈액중에 존재하는 초산의 2% 정도,  $\beta$ -HB의 약 5%는 간장에서의 NEFA대사에 연유된 것이어서 절식 조건에서는 이들의 값은 16% 및 30%까지도 상승한 예가 있다.

- 4) 반추동물에서는 글루코스로서의 탄수화물의 흡수량은 대단히 적다. 부족한 글루코스의 대부분은 간장에서 합성되고 그 기질로는 프로피온산, 피루빈산, 젖산 등 이외에 아미노산도 쓰인다. 젖소에 전분질 급여를 늘리면 유단백질이 향상하는 경우가 있다. 그 이유로서 프로피온산 등으로부터 글루코스합성이 증대하고 당신생에 소비대는 아미노산이 감소하기 때문에 많은 아미노산을 유단백질합성에 이용할 수 있기 때문이라고 말하여 진다.

#### 마. 젖소에서 지질급여시의 대사변화

- 1) 유지를 급여하면 혈액의 NEFA를 비롯하여 TG, 인지질, cholesterol 등의 농도가 상승한다. NEFA의 상승은 혈액 리포단백질중의 TG(사료, 장관유래)가 몸의 각부에서 흡수될 때 리포단백질 lipase(LPL:간장이외의 모든 조직에 존재)에 의해서 일단 가수분해되어 방출된 지방산(즉 NEFA)을 반영한 것으로 말할 수 있다. 이 NEFA가 조직에 의하여 완전히 제거되지 않기 때문에 혈액의 NEFA 농도가 상승한다. 실제, 절식시나 분만 전후의 젖소를 제외하면 순환혈액중 NEFA의 대부분은 사료(장관흡수)이고 지방

조직으로부터의 NEFA의 동원은 작다. 또한 사료로부터의 NEFA는 대사가 빠르다.

- 2) 내분비면에서는 지방급여에 의해서 혈액의 성장호르몬(GH : 소마토트로핀) 농도는 변화하지 않지만 인슐린(INS)이나 글루카곤(GLU)과의 비율로 보면, INS/GH나 INS/GLU는 상승한다. 이것은 내분비적으로는 지방조직으로부터의 NEFA동원을 억제하는 대사 signal이다. 지방첨가에 의해서 혈액중에 장관유래의 NEFA공급을 높이는 것으로 지방조직으로부터의 동원을 낮출 수 있으면 간장에의 부담을 적게 하는 것이다. 또한 지방 급여에 의해서 NEFA(특히 지방조직유래)의 상승이 억제되고 케토시스나 지방간의 위험성이 줄어들 것으로 생각된다.
- 3) 혈액중 지질은 유래에 따라 대사가 다른 경우가 있다. 예를 들면 유지첨가 등으로 보급된 지방과 지방조직으로부터 동원된 지방산은 별도의 것으로 소가 알아차리게 되어 지방첨가는 영양적 조작법으로서 유효할 수 있다. 지방조직 유래의 지방산과 비교하여 외인성(사료유래)의 지방산은 간장보다도 별도의 부위(간의 조직)에서 대사를 받기 쉽다고 알려져 있다. 흡수된 지방산은 소장벽에서 TG가 많은 리포단백질로서 lymph에 들어가 최종적으로 흉관을 거쳐 전신순환에 들어간다. 이렇게 하면 외인성 지방산을 대사하는 간외조직의 능력을 초과할 때까지는 간장에 지방산 유입이 적어 간장에 부담도 적기 때문이다. 그러나 유지급여는 유단백질을 저하되는 것은 확실하고 특히 casein의 비율이 저하하여 비단백태질소(요소 등)이 불어난다. 유단백질을 저하의 기전에 관해서 다음의 [http://www.kvri.ac.kr/](#)도 있다. 사료로부터 혈액으로 트리글리세라이드 또는 NEFA의 공급이 증대되는 것에 따라 실제로는 부(-)의 에너지 상태에 있더라도 소는 정(+)의 상태에 있는 것 같은 착각을 품어 지방동원을 감함과 동시에 유선에서의 아미노산 흡수도 감퇴시키기 때문이라는 가설이다.
- 4) 유지를 급여한 젖소에서는 번식성적에 개선경향이 보인다. 하나는 유지급여에 의해 에너지 영양이 개선되어 분만 후 조기에 체중이 회복되는 경향을 보여 그에 따라 난소기능의 회복도 빨라졌기 때문이라고 설명된다. 또

한 유지급여에서는 혈액의 cholesterol이 상승하고 있어 이것은 생식관련 스테로이드 홀몬의 합성에 유리하게 작용하거나 필수지방산 공급에 의한 것이라 생각된다.

## 제 7 절 건유기 유두소독과 우유품질 개선

### 1. 체세포수 변화

가. 착유우의 건유시 건유연고를 목장주의 임의 선택에 의한 광범위 건유연고 주입으로 분만후 체세포수와 유방염 발병 가능성이 증가되어 산유량 손실까지 볼 수 있으므로 건유기 개체관리의 중요성이 매우 중요하다.

- 1) 건유 방법을 점감에서 급속 건유로 개선시 건유 준비기간(점감 :7~70일, 급속: 1~2일) 단축으로 산유량 손실을 방지
- 2) 급속 건유시에도 점감 건유와 마찬가지로 분만후 체세포수는 약간 증가하였지만 큰 차이가 없다.
- 3) 최종 착유후 유두침지 소독 -> 70% 알콜솜 세척 소독 -> 건유기 전공약 유두내 주입 -> 5% 강 옥도 링크액 침지 순서의 건유기 치료를 모든 건유우에 적용한다.
- 4) 급속 건유와 일반 건유연고를 주입한 다음 건유후 최소한 7일 정도 유두 소독만 실시하여도 유방염의 신감염율을 방지하여 분만후 체세포수를 어느 정도 감소시킬 수 있다.
- 5) 이전 산차의 비유기때 증가된 체세포수로 인한 산유량 손실은 다음 산차의 비유기때 약 50% 정도 이환되어 증가하고, 체세포수가 높을 때보다 낮을 때일수록 체세포수가 증가율이 더 많으므로 목장에서의 지속적인 개체관리가 매우 중요하다.

### 나. 세균수와 대장균수의 변화

- 1) 우유내 세균수와 대장균수의 증가는 환경에 의한 오염과 계절 및 목장에서 착유과정 등에 따라서 매우 큰 영향을 받을 수 있고 특히 고온기의 여름철에 급성 임상형 유방염을 일으키는 원인이 될 수 있다.
- 2) 건유 7일전에 무균적으로 채취한 유즙을 세균배양 검사와 감수성 검사에서 얻은 결과에 기초하여 건유기 치료를 실시한다.

- 3) 건유연고 주입시에도 광범위한 일반건유연고보다는 유방염 원인균에 감수성이 있는 것을 주입하여 유선 감염으로 인한 대장균의 유방내 침입을 방지하는 것이 바람직하다.
- 4) 건유연고 주입후 최소한 7일간과 분만전 7일동안 유두침지 소독을 지속하는 것은 환경성 유방염 세균에 의한 산전감염을 예방하는 효과가 크다.
- 5) 유두 손상은 포도상구균이나 연쇄상구균의 감염 기회를 증가시켜 유방염의 신감염율이나 임상형 유방염으로 이환율이 50%정도로 높다는 것을 인식하여야 한다.

#### 다. 유방염 감염을

- 1) 기존에 감염된 유방염을 치료할 수 있는 가장 좋은 시기는 건유기 치료로서 70~98%까지 치료가 가능하다.
- 2) 국내 목장의 유방염 감염율은 지역이나 계절 등에 따라서 다소 차이가 있지만 보통 40~50% 정도는 항상 상존하기 때문에 개체 특성에 따른 관리가 반드시 필요하다
- 3) 육안적 평가가 불가능한 준임상형 잠재성 유방염은 산유량 손실이 35% 정도로 경제적인 손실이 매우 크기 때문에 정기적인 체세포수 검사를 실시해야 한다.
- 4) 준임상형 유방염은 임상형으로 40% 정도가 쉽게 이환되므로 건유기 치료를 반드시 실시해야 한다.
- 5) 효율적인 건유기 관리로 유방염 감염을 감소시킬 수 있는 하나의 방법은 건유연고 주입시에도 건유전 7일경에 원유내 유방염 원인균에 감수성이 있는 선발된 건유연고를 주입하여 비유기에 감염된 유방염을 치료한다.
- 6) 건유 후 7~10일과 분만전 7일동안 유두소독만 실시하여도 분만후 유방염의 신감염율과 비유기 임상형 유방염을 어느 정도 감소시킬 수 있다.
- 7) 목장의 사료급여 조건에 따라서 단백질 함량이 높은 농후사료의 과잉 공급으로 인해 유방염의 진행 상태가 심화되고, 나아가서는 수태율의 저하와 같은 번식문제도 발생할 수 있기 때문에 건유기 신체충실도 지수에 따라 적절한 단백질과 에너지를 비율을 고려하여 영양분을 공급해야 한다.

## 제 8 절 초임우 및 초산우 사양관리

### 1. 초임우의 사양관리

- 가. 초임우는 건유우와 생리적으로 매우 비슷하다. 임신시기의 영양소 요구량은 건유우와 비슷하나 일 0.7~0.8kg의 증체를 계속해야 한다. 초임우는 분만 2개월 전부터 건유우와 동일한 사양을 해야한다. (특히 비타민 E, 셀레늄, 미량광물질, 반추위 비분해단백질 등)
- 나. 초임우는 건유우와 같이 사양한다. 우군의 크기가 크다면 초임우군을 따로 분리할 수 있다.
- 다. 초임우는 건물섭취량이 적고 산독증에 민감하며, 새로운 환경에 적응해야 하기 때문에 착유사료를 처음 급여할 때 매우 조심스럽게 바꾸어 급여해야 한다. 초산우의 경우 분만시에는 23~25개월령이 되어야 하며, 분만후 체중은 540kg, 체고는 130~140cm, 체점수는 3~3.5 사이가 되어야 한다.
- 라. 임신한 육성우는 자기도 증체하고 있기 때문에 건유전기의 영양수준으로는 약간 낮다. 그러므로 보충급여나 착유우용의 잔사로 보충한다. 그것에는 육성우의 체고와 체중에 대한 monitoring을 하면서 보충하는 사료를 정하는 것이 좋다.

### 2. 초산우 사양관리

- 가. 고능력우군은 초산우 또는 24개월령의 소가 보통 30~40%이다. 중점적으로 관리해야 할 사항은 2산차 슬럼프(2산차 산유량이 초산차 산유량보다 떨어지는 현상)를 예방하는 일이다.
- 나. 관리가 잘된 초산우는 적절한 선발과정을 거쳤다면 우군의 다른 소들보다 우수해야 한다. 초산우군을 따로 분리하면 우군내 사회적 상호작용을 최소화하고 건물섭취량을 증가시키며 우유생산량을 증가시킬 수 있다.

다. 고능력 초산우는 보통의 젖소보다 건유기간이 좀 길어야 한다(건유기간 70~80일) 초산우의 체점수는 3~3.5정도 이어야 하며, 피크시의 산유량은 우군내 경산우 피크 산유량 75% 수준 이상이 되어야 한다.

라. 비유지속성은 전월 유량의 94%이상이 되는 것이 바람직하며, 초산우는 비유기동안 체고가 5~7.5cm이상 크는 것은 좋지 않다(육성우 시기에 발육상태가 좋지 않았다는 증거).



## 제 9 절 건유기 관리 부실이 야기시킬 수 있는 젖소의 질병

대부분의 젖소의 질병은 분만 3주 전부터 분만 후 3주, 즉 전환기에 발생한다. 우리나라에서는 분만 전후의 질병이 약 45%를 차지하고 있으며 이러한 분만 전후의 질병은 건유기의 사양관리 및 체점수 조절의 실패에서 기인한다.

### 1. 분만 전후에 질병이 많이 발생하는 요인

- 가. 젖소는 분만후 급속히 비유를 개시하기 때문에 호르몬 밸런스가 변화한다.
- 나. 소는 비유전기간을 통해서 가장 심한 스트레스를 받게 된다. 특히 분만 전후의 사료적 요인, 생리적 요인, 환경적 요인 등에 의한 스트레스는 불안이 증폭되어 사료 섭취량이 감소하고 저혈당증으로 케토시스까지 병발 할 수 있다.
- 다. 이 시기에 백혈구는 감소하여 면역이 저하된다.
- 라. 분만으로 인하여 체력 소모가 가장 심하다.
- 마. 분만에 대비한 BCS는 3.5 정도가 이상적이지만, 건유기는 생산성에 직접적인 영향을 끼치지 않는 시기로서 관리자들로부터 소홀하게 되는 시기로 제대로 BCS가 지켜지지 않는다.

### 2. 분만 전후 질병과 관련된 임신우의 상태 및 사양 관리

- 가. 최고 비유기 이후의 영양 개선은 비유말기에 유량이 적을때 시도하는 것이 원칙이고 절대로 건유시킨 후에 살을 찌워서 는 안된다. 그 이유는 분만전에 출산이 가까워지면 배가 몹시 불러지고 이때 좌측에 있는 비장이 압박을 받아 현저하게 기능이 저하된다. 그로 인해 비장의 기능까지 겹쳐서 간의 기능이 작용해야 하므로 그만큼 부담이 커지기 때문이다. 쌍둥이 임신인 경우에 이러한 증상은 더욱 가중된다.
- 나. 이 시기에 태아의 발육에 따른 노폐물의 처리 등 분만전 모체의 간기능 부담

은 이중 삼중이 된다. 이 때 인위적으로 사료를 다급하는 것은 간장에 영양소의 대사라는 일을 가중시켜 간장이 피로에 지친 상태로 분만을 맞이하게 된다.

다. 급격한 사료변동이나 품질이 불량한 사료를 급여하는 것은 간장의 부담을 증폭시킨다.

라. 건유시에는 영양 개선을 위한 적절한 사양관리가 필요하며 배합사료의 과급 및 수태의 지연으로 인한 과비 상태에서 건유에 들어간 소에게 너무 급격한 사료의 변동은 간기능 저하의 원인이 되어 모든 질병의 도화선이 된다.

마. 분만후 비유량 증가에 따라 영양소 배출이 급격히 증가하나 섭취량은 점진적으로 증가한다. 이때 나머지 부족되는 영양은 체조직 분해로 동원되는데 이 균형이 깨지게 되면 케토시스, 유열, 번식불량 등 여러 문제점이 노출된다. 따라서 가장 중요한 것은 건물 섭취량을 증대시키는 사양관리라고 할 수 있다.

### 3. 건유기 관리 소홀로 발생할 수 있는 분만 전후의 질병

#### 가. 유열

##### 1) 유열의 특징

가) 고능력우에서 분만후 72시간 이내에 주로 발병한다. (간혹 한달 또는 두달 후에 일어 나는 경우도 있음). 연간 약 6%의 젖소에서 발생한다.

나) 혈중 칼슘 농도가 혈액 100ml당 5mg이하로 저 칼슘혈증 (정상 혈중 칼슘 농도 : 100ml당 9-10mg)이 야기되어 근육과 신장의 정상적인 작용 방해

다) 일반적으로 젖소는 분만시 50%가 혈액속의 칼슘농도가 100ml당 7mg이하이지만 이 정도에서는 특별한 증상을 나타내지 않고 식욕이 감퇴되어 케토시스, 태반정체, 제4위전위증 등의 질병을 일으키기 쉽고 면역력을 떨어뜨려 유방감염을 증가시킨다.

라) 초산우의 경우에는 유열이 발생하는 경우가 거의 없다. 일반적으로 초산우는 경산우에 비해 초유의 양이 적고 뼈의 성장이 계속되고 있기 때

문에 뼈속의 세포 활동이 활발하여 혈액속의 칼슘이 떨어지면 즉시 방출하기 때문이다.

## 2) 유열의 발생 기전

유열은 저칼슘혈증을 특징으로 하지만 저마그네슘혈증도 함께 나타난다. 저칼슘혈증의 정도는 세포와 칼슘 풀에 남아있는 칼슘의 양과 칼슘 손실에 따른 항상성 기전의 작용정도에 따라 달라진다. 수유 첫날 칼슘의 항상성은 부갑상선호르몬에 의해 유지되어, 오줌으로의 칼슘손실을 줄여주며 뼈의 칼슘 재흡수를 자극하고 1,25-dihydroxyvitamin D의 생산을 높여 장내로의 칼슘이동을 증가시킨다. 유열의 위험은 이들 세가지 기전에 의해 줄일 수 있다.

분만시 산-염기 균형이 유열 발생을 결정 짓는 중요한 요인이다. 대사성 알칼리증은 부갑상선호르몬의 활동을 방해해서 수유시 칼슘필요량을 조달하는 기전이 작용하지 못하게 한다. 또한 부갑상선 호르몬의 수용체를 변화시켜 부갑상선 호르몬이 결합하지 못하게 한다. 칼륨과 나트륨을 상대적으로 많이 먹인 소는 대사성 알칼리증이 되기 쉽기 때문에 유열에 걸리기 쉽다. 부갑상선은 저 칼슘혈증을 인식해서 부갑상선 호르몬을 분비한다. 그러나 조직에서 부갑상선 호르몬에 대해 느리게 반응해서 적절한 뼈의 칼슘 재흡수와 1,25-dihydroxyvitamin D의 작용이 일어나지 못하게 된다. 이런 이유 때문에 유열은 치료해야 하며 재발하게 되면 지속적인 치료가 요구된다. 이런 소들은 높은 부갑상선 호르몬 수준을 유지하지만 분만 중 1,25-dihydroxyvitamin D의 생산이 거의 이뤄지지 않는다.

가) 초유의 칼슘 농도는 일반 우유에 비해 두배 정도 높기 때문에 젖소는 칼슘을 초유로 보내기 위해 혈중의 칼슘을 다량으로 빼내오게 된다. 이렇게 빠져나간 칼슘은 반드시 보충해주어야 하는데 칼슘의 보충은 뼈에 저장되어 있는 칼슘을 빨리 동원해야 하는 것이다.

나) 혈액속의 칼슘농도가 떨어지면 갑상선에서는 부갑상선 호르몬이라는 것을 분비하게 되는데, 이것은 뼈속의 골세포를 자극하여 뼈 속의 칼슘을 혈액속으로 들어가게 한다. 또한 부갑상선 호르몬은 소의 심장을 자

극하여 비타민 D로부터 만들어지는 제2차 호르몬을 분비하게 된다. 25 하이드록시 비타민이라고 하는 이호르몬은 간에서 합성되어 장에 있는 세포의 칼슘 펌프를 작동시켜서 사료 중의 칼슘을 빨리 흡수하여 혈액 속으로 이동시킴으로서 정상적인 수준의 칼슘농도를 유지하도록 한다.

다) 보통 이러한 시스템이 항상 순조롭게 작동하고 있기 때문에 혈액속의 칼슘 농도는 정상적인 수준을 유지한다. 그러나 이러한 시스템에 문제가 발생하면 혈중 칼슘 농도가 낮아져 유열이 발생한다.

### 3) 유열시 증상

가) 혈액 내 칼슘의 농도가 낮다 (저칼슘혈증)

나) 대부분은 누워서 고개를 옆으로 돌린다.

다) 우울해 보인다.

라) 발병초기에 잘 걷지 못하는 수도 있다.

마) 눈이 멍청해 보이고 동공이 풀려 있다.

바) 체온이 약간 하락한다.

사) 귀가 차갑다.

아) 졸린듯한 행동을 보인다.

자) 약간의 근육경련을 일으킨다.

차) 서지 못한다 (기립불능)

카) 심장의 박동수가 증가한 (50-85회/분)

타) 심하면 뇌사로 인한 폐사에 이르기도 한다.

파) 산차가 증가 (주로 3산 이상) 할수록 발병률이 높아진다.

### 4) 유열발생의 영양적 고찰

식이성 양이온-음이온 차이. 유열의 기병론에서 대사성 알칼리증이 중요한 요소이기 때문에 이를 방지하는 것이 중요하다. 소의 혈액이 알칼리인 경우는 칼륨 같은 양이온이 사료에 많이 포함되어 있기 때문이다. 양이온을 가진 미네랄은 칼륨, 나트륨, 칼슘, 마그네슘이다. 양이온을 섭취하여 혈중으로 흡수가 되면, 혈액이 알칼리화 된다. 식이성 양이온이 흡수 되지 않는다면, 혈액 pH에 영향을 끼치지 않는다. 소에서 사료에 포함된 칼륨과 나

트륨은 거의 모두 흡수되기 때문에 알칼리화 시키는데 아주 중요한 양 이온이다. 칼슘과 마그네슘은 사료로부터 잘 흡수 되지 않기 때문에 별로 중요하지 않다. 칼륨과 나트륨이 포함된 건조 사료는 유열에 대한 감수성을 높인다. 분만 전 칼륨과 나트륨의 첨가는 유열 발생률을 증가시킨다. 임상적으로 분만 전 사료에 칼슘을 첨가 할 경우에 유열이 증가하지 않는다.

저 마그네슘 혈증은 저칼슘 혈증의 두 번째로 흔한 원인이며 분만중의 유열은 저 마그네슘 혈증이다. 저마그네슘 혈증은 부갑상선 호르몬의 분비를 저하 시키며 부갑상선 호르몬 수용체와 G-stimulatory 단백질 복합체를 변형시켜 부갑상선호르몬 대한 반응을 변화시킨다. 분만전 마그네슘을 먹인 소는 분만 후 약간의 고마그네슘 혈증을 나타낸다. 분만 후 24시간 이내에 혈중 마그네슘 수치가 2.0mg/dl이하이면 마그네슘 공급이 적절하지 못한 것이다.

#### 5) 유열의 예방법

- 가) 건유기 때 칼슘, 인, 마그네슘을 적절히 급여한다.
- 나) 건유기 중 칼슘과 인의 비율은 1.1-1.5 : 1 이 적당하다.
- 다) 발병초기에 치료하는 것이 유리하며 재발의 위험성도 낮다.
- 라) 재발이 자주 일어나는 것은 특히 칼슘과 인의 함량은 적당하나 마그네슘의 함량이 부족할 경우에 발생한다.
- 마) 건유사료내 건물기준으로 마그네슘 함량은 0.2%가 적당하다.
- 바) 건유기간 중 칼슘, 인, 마그네슘의 적절한 함량이 중요하다.
- 사) 건유후기때 음이온제를 급여하여 건유우의 체상태를 음이온화시킨다.
- 아) 건유후기에는 인의 함량을 높이고 칼슘의 함량을 낮춘다 (음이온사료 적용시는 칼슘함량을 정상으로 유지한다).
- 자) 분만직후 첫 착유시 젖을 완전히 짜지 않고 남긴다.
- 차) 분만 5-7일 전부터 사료에 많은 양의 비타민D를 첨가하면 효과가 좋으나 만일 분만 4일 전부터 이를 중단하면 체내 칼슘흡수율이 떨어지므로 더욱 위험하다. 반면에 7일이상 계속 급여하면 오히려 독성이 나타난다.

카) 분만 8일전에 비타민 D를 주사하거나 분만시 젖형태의 칼슘을 급여한다.

타) 비타민 D3는 독성이 강하여 많은 양을 주사하면 즉사하거나 시름시름하다가 폐사한다.

파) 건유기와 건유말기 사료에 칼슘과 나트륨을 제한한다. (칼슘과 나트륨은 혈액이 알칼리화 되게 하여 뼈에 들어있는 칼슘의 방출이 억제되거나 신장에서 비타민 D가 합성되지 못하게 하여장에서 칼슘을 흡수하지 못하게 되어 칼슘주사를 반복해도 증상이 호전되지 못한다)

#### 6) 유열의 처치법

가) 마그네슘이 첨가된 칼슘글루코네이트 250-500ml를 주사한다. (보통은 주사 후 수분 이내에 소는 일어날 수 있음)

나) 주사후 8-12시간내에 일어나지 못하면 다시 주사한다.

다) 오랫동안 일어나지 못하는 소는 기립불능증에 걸린 것으로 판단할 수 있으며 증상은 유열과 비슷하나 상해에 의한 것이 많다. 주로 분만 2-3일 후에 일어나며 보통 고능력우에서 많이 발생한다.

건유중인 젖소의 착유로 인한 약물잔류를 방지

#### 나. 지방간과 케토시스

##### 1) 케토시스의 특징

가) 젖소가 우유를 생산하는 데에는 많은 양의 영양분 및 에너지가 필요한데 이러한 우유생산에 필요한 영양소와 에너지는 섭취한 사료와 몸에 가지고 있던 지방이나 단백질을 분해하여 이용한다. (하루 우유 45kg정도 생산하는데 체내에 축적된 지방과 단백질을 각각 2kg, 350g소모)

나) 이때 생기는 케톤체나 유리지방산이 간의 능력을 떨어뜨려 일어나는 질병을 케토시스라 한다.

다) 또한 분만 후 30일 전후에 많은 양의 우유를 생산하는 소이거나, 우유는 많이 생산하지 않더라도 어떤 이유에서든지 사료를 먹지 않아 영양

에너지가 모자라게 되면 똑같은 이유로 케토시스가 발생한다.

라) 분만 후 산유량이 절정에 도달했을 때 섭취량이 그것을 따라 가지 못하면 정도의 차이는 있으나, 어떤 소든지 케토시스에 걸리게 되고, 어떤 병이든지 사료를 먹지 않고 며칠이 지나면 케토시스에 걸리게 된다.

마) 케토시스 (아세톤증)는 고능력우에 있어서 분만 후 10-60일 사이에 주로 발생하나, 스트레스가 심하고, 섭취량이 급감하는 경우에는 분만전에도 케토시스 증상이 나타날 수 있다.

바) 분만 후 3주간이 제일 중요한 시기이다.

사) 혈액내 당이 부족한 것이 원인이 되어 케톤체가 생성된다.

아) 원인의 60%는 케톤증에 의하여 나머지 40%는 태반정체, 자궁내막염, 제4위 전위 등, 신장염 등이 원인이다.

자) 세 가지의 중요한 케톤체는

acetone, acetoacetate, beta-hydroxybutyrate(BHB)

## 2) 지방간과 케톤증의 발병기전

지방간과 케톤증은 혈중 NEFA의 농도가 높을 때 가장 잘 발생한다. NEFA가 가장 많이 증가할 때는 분만시로 1000  $\mu$  eq/L를 초과할 때도 많다. 간에 흡수되는 NEFA는 혈중 NEFA의 농도에 정비례한다. 간의 지방대사과정과 지방대사와 지방간, 케톤증과의 관계에 대한 관심은 높아 졌고 최근 들어 그 관계가 밝혀 졌으나 여기에서는 자세히 다루지 않기로 한다. 간단히 말해서 간에 흡수된 NEFA는 미토콘드리아와 페록시즘에서 에스터화 될 수도 있고 산화 될 수도 있다. NEFA가 한번 에스터화 되면 TG (트리글리세라이드)가 생성되며 TG는 VLDL (very low density lipoprotein)의 한 부분이 되어 간 밖으로 나가거나 저장된다. 다른 종에 비해 반추류는 TG의 방출이 매우 느린 편이다. 그러므로 간에 NEFA의 흡수가 많아지는 상황이라면 (예를 들어 혈중 포도당과 인슐린의 농도가 낮을 경우) 지방산의 에스터화와 TG의 간으로의 축적은 더욱 늘어날 것이다. 반추류에서 간에서 TG의 방출이 느린 것에 대한 원인은 확실하게 밝혀진 바가 없다. NEFA의 완전한 산화는 이산화탄소의 생성을 유도하고

불완전한 산화는 케톤, 주로 acetoacetate와 beta-hydroxybutyrate의 생성을 유도한다. 케톤 형성은 혈중 포도당과 인슐린 농도가 낮을 때 잘 형성되며 이것을 지방조직에서의 지방산 이동을 촉진 시키기 때문이다. 인슐린 농도가 낮으면 간세포의 malonyl-Co A 농도와 carnitine palmitoyltransferase-1에서 malonyl-Co A으로 전환시키는 민감도를 감소 시킴으로써 지방산의 산화를 촉진시키기 때문이다. carnitine palmitoyltransferase-1은 지방산의 산화를 위해 지방산을 세포질에서 미토콘드리아로의 이동에 관여하며 이것은 malonyl-CoA에 의해서 방해된다. 프로피온 산은 케톤의 형성을 방해한다. 프로피온 산의 항케톤 작용은 인슐린 분비에 대한 간접적인 효과와 간대사에 대한 직접적인 효과 때문인 것 같다. 케톤 혈증은 분만시나 수유시에 모유생산을 위한 에너지 요구량이 에너지 섭취량을 훨씬 초과하여 NEFA가 혈중에 갑자기 증가함에 따라 쉽게 일어난다.

간에 TG농도 증가는 분만 직후의 암소에서 흔히 발생한다. 지방간은 에너지가 감소할 수 있는 어떤 질병을 가지고 있는 암소에서 합병증으로 나타날 수 있다. 지질단백질로의 TG의 이동이 느리기 때문에 한번 지방간이 발생하면 오랜 시간동안 지속된다. TG의 고갈은 보통 소가 에너지가 증가할 수 있는 시점에 도달했을 때 시작되는데 완전하게 일어나려면 수 주일이 걸리기도 한다. 케톤증은 보통 산후 2~4주 후에 일어나는데 지방간과 케톤증이 나타나는 사이에 시간차가 있는 이유는 알려진 바가 없다. 그러나 간에 축적된 TG농도가 증가하고 저장된 글리코젠의 농도가 감소한 암소가 가장 케톤증에 걸리기 쉬우며 케톤증을 실험적으로 유발할 때 케톤증보다 지방간이 먼저 오게 된다. 지방산의 산화와 케톤의 형성이 간에서의 과도한 지방을 고갈시키는 주 경로인 것 같다. 케톤은 지방 조직에서의 지방산의 이동을 막고 궁극적으로 간의 지방산 섭취와 TG의 축적을 감소시킨다.

부(-)의 에너지 상태의 정도와 기간을 줄이기 위해서는 지방간과 케톤증의 예방이 필수적이다. 지방간의 예방에서 가장 중요한 시기는 비유 시작 1주



전과 분만후 1주 정도이다. 이 기간은 소의 케톤증의 지침인 지방간이 가장 잘 일어날 수 있는 기간이다. 분만 전후의 각 1주동안 DMI를 극대화시키기 위해서는 소가 너무 비만한 것과 급격한 사료의 변화, 기호성이 적은 사료, 분만 전후에 생기기 쉬운 질병, 환경적인 스트레스 등을 피해야 한다, 공중보건학에서 body condition score의 효과는 다양하지만 너무 말랐거나 너무 비만한 소는 피해야 한다. body condition score가 3이하인 마른 소는 정(+)의 에너지 조절기간에 간이 지방의 축적 장소가 아니기 때문에 건유기 동안에 지방간을 유발하지 않고 상태를 호전시키기 위해서 추가적인 에너지 공급이 되어야 한다, 그러나 body condition score가 4이상인 비만한 소는 지방조직에서 지방의 이동을 증진시키고 혈중 NEFA와 간의 TG축적을 증진시키기 위해 사료의 제한이 어떻게 이루어져서는 안된다.

### 3) 케토시스의 증상

- 가) 둔하며 우울한 움직임을 보인다.
- 나) 한곳에 시선을 집중한다.
- 다) 급격한 체중감소가 일어난다.
- 라) 유량이 감소한다.
- 마) 변비가 생긴다.
- 바) 똥이 점액질로 뒤덮여 있다.
- 사) 불편한 몸동작을 보인다.
- 아) 간혹 매우 흥분된 상태를 나타낸다.
- 자) 케톤체 (정확히는 아세톤)는 휘발성이 강하여 소의 우유나 오줌에서 또는 숨을 쉴 때 단내 (또는 아세톤 냄새)가 나는 원인이 된다.
- 차) 건초나 짚류를 선호하며 곡류는 점차 멀리한다.
- 카) 체온이 상승하면 다른 원인들도 관련되어 있는 것이다.

### 4) 케토시스의 예방법

- 가) 분만전후에 모든 질병 즉, 태반정체, 지방간, 유방염, 제4위전위증, 유열, 부제병 등과 케토시스는 한가지 질병으로 보고 예방 조치한다.
- 나) 우선 건유 30일 전에 사료를 조절하여 몸의 컨디션이 3.5가 되도록 하

- 고, 일단 건유에 들어가면 조사료 위주로 사양관리를 유지한다.
- 다) 분만 15일전에 셀레늄제제를 근육주사하여 태반정체가 되는것을 예방한다
- 라) 분만전에 젖이 크게 붓고 부종이 심하면 식욕이 떨어지고 유방염의 위험이 있으므로 착유해 주는 것이 좋고, 만일 유열이 걱정되면 비타민 D3를 주사하거나, 칼슘주사를 해도 좋다. 분만 약 15일 전 모든 감염중 특히, 유방염 예방을 위해서 면역증강제를 주사한다.
- 마) 일단 분만 후에는 자기목장에서 보유하고 있는 사료중 가장 기호성이 좋은 사료를 급여하고, 산유량이 올라갈수록 에너지가 부족해지므로 보호지방이나 고에너지 사료를 반드시 보충 급여 하도록 한다. 건유시부터 AO제제를 첨가하여 제1위의 기능을 최고로 올려 놓아 여러 가지 소화기 질병으로부터 벗어나도록 하는 것도 도움이 된다.
- 바) 지방산 (초산, 프로피온산, 낙산)은 반추위내 미생물에 의해서 생성되는데 반추동물 에너지 요구량의 40-70%를 공급한다. 이들 지방산 중 프로피온산이 케톤증을 막는데 가장 결정적인 역할을 하는데 이러한 프로피온산은 에너지가 높은 사료를 급여할 때 생성된다.
- 사) 낙산의 경우는 바람직하지 않은데 이는 낙산이 케톤체의 전구체가 되기 때문이다.
- 아) 기호성은 좋지 않으나 프로피온산 나트륨, 프로피온산 칼슘, 프로필렌 글리콜 등을 사료에 첨가하거나 경구 투여하는 것도 예방의 한 방법이다.
- 자) 분만 14일전부터 분만후 7주까지 피로피온산 나트륨을 하루에 약 110g 급여하면 발병률을 18%까지 줄일 수 있다.
- 차) 분만하기 전 또는 매일 나이아신을 하루에 6g (3 ~ 12 gn)씩 사료에 첨가하여 먹이면 혈중 케톤 농도를 줄일 수 있다.
- propylene glycol은 포도당 전구체로 혈중 NEFA 농도를 줄이고 분만시 지방간의 형성이나 산후 혈중 케톤농도의 증가를 예방하기 위해 경구투여한다. 프로피온산염도 포도당 전구체로써 경구투여 효과가 있다. 비만

추동물에서 lipotropic하다고 알려진 choline, inositol, methionine 등의 사용은 지방간이나 케톤증의 예방과 치료에 뚜렷한 효과가 없다.

카) 비유전기에 체중이 너무 많이 빠지지 않도록 조심한다.

타) 가장 정확한 방법은 혈중 케톤체 농도를 측정하는 것이며, 우유와 오줌 속의 케톤체 농도를 측정하는 것도 진단의 한 방법이다.

파) 분만 3-4주 전부터 균형된 사료를 급여하며 분만 후에는 에너지 농도를 높여준다.

하) 길이가 긴 양질 조사료를 적절히 급여하며, 분만 전후에 사료의 급작스런 변경을 가능한 피한다.

#### 4) 케토시스의 처치법

가) 혈당 농도를 높이는 방법 : 50% 포도당 수용액을 500ml 급여한다.

나) 위의 방법이 유일한 처방이라면 재발의 위험성이 높으므로 인슐린과 함께 포도당을 정맥주사하는 것이 좋다.

다) 또 다른 조치로는 며칠동안 코티코스테로이드를 보충 한 후 혈당을 높이는 조치를 취한다.

라) 케토시스는 모든 병의 2차 증상으로 발생되기 때문에 원인병을 치료해서 뿌리를 뽑지 않으면 재발한다.

#### 다. 제 4위 전위증

우리나라 모든 소의 20%에서 발병하며 그 중 약 10%가 이 질병으로 도태된다. 수술로 완치될 수 있으나, 분만전후 산유량이 피크를 유지해야 될 때 나타나는 질병이므로 목장에 경제적인 피해가 심한 질병이다.

##### 1) 제 4위의 생리와 원인

가) 비임신우에서 제 4위는 복부의 배쪽면의 대부분을 차지한다. 임신하게 됨에 따라, 자궁이 팽창하면서 복부의 대부분을 차지하게 된다. 자궁은 위의 뒤쪽 아래로 미끄러져 들어가기 시작한다. 그리고 제4위를 앞쪽으로

로 그리고 소의 좌측 부분으로 약간 이동시킨다. 분만후, 자궁은 퇴축하고 제 4위는 원위치로 돌아간다. 제4위의 좌측전위시에 제4위의 유문부는 위의 아래부분으로 완벽하게 들어간다, 여기에는 세가지 요소가 관여하는데, 첫째 퇴축된 자궁에 의해 비어진 공간을 위가 감당하지 못한다. 둘째, 제4위에 연결된 망막은 제4위의 좌측 전위를 위해 펼쳐져야 한다, 셋째는 제4위 무력증이다. 정상적으로 제4위에서 생산된 가스들은 4위 수축에 따라 다시 위속으로 들어온다. 이러한 이유로 4위의 좌측전위가 유인된다. 제 4위 근무력증의 원인은 분명하지 않다.

나) 분만에 즈음해서 혈장 칼슘농도의 감소는 제 4위 수축력을 감소시켜서 무력증과 확장을 유발한다. 혈장에서 5mg/dl 정도의 칼슘농도일 때 제 4위 운동성이 70%정도 감소하고 수축력 또한 50%정도로 감소한다. 혈장에서 7.5 mg/dl정도의 칼슘농도일 때는 각각 30% 그리고 25% 정도로 감소한다. 유혈의 임상증상은 칼슘농도가 4mg/dl일 때까지 나타나지 않는다. 최근 혈장 칼슘농도에 대한 조사에서 분만 후 10일이 지날 때까지 10~50%의 소에서 준임상형의 저칼슘혈증으로 남아 있다. Oetzel은 분만에 즈음해서 저칼슘혈증을 막을 목적으로 칼슘을 경구투여하면 좌측전위 예방에 효과가 있다고 보고했다.

다) 임신말기와 비유초기에 사료내에서 영양소를 농축시킬 목적으로 건초의 양을 줄이면 전위발생 확률이 높아진다. 제 4위내 휘발성 지방산은 위의 수축력을 감소시킨다. 그러나 1위내 휘발성 지방산은 제 4위내 휘발성 지방산 농도와 관련이 그리 높지 않다. 고 농후사료와 낮은 건초위주의 사료는 제4위에서의 휘발성 지방산 생산을 증가시킨다. 제1위내 상층 부유물질들은 곡류 입자들을 잡아서 이것들이 위액 상층에서 발효되게 한다. 여기서 생산된 휘발성 지방산들은 일반적으로 제 1위내에서 흡수가 된다. 위액에 부유하는 물질들이 부적절한 경우에는 곡류 입자들이 제1위와 제2위의 저면으로 가라앉게 되고 발효되어 제4위로 넘어가게 된다. 즉, 제1위에서 흡수하기 전에 제4위로 들어가기 위해 재빠르게 이동하게 된다. 소가 많은양의 건초를 급여받고 있는 동안에

는 위액에 떠있는 물질이 두께가 두껍지만, 그 깊이는 비유초기에 빠르게 감소한다, 이러한 위내의 물질들이 반추를 자극하게 되고 완충역할을 하는 침의 분비는 곡류를 더 많이 섭취하게 됨에 따라 감소한다. 또한 비유초기에는 아직 발달하지 않은 위내 유두근이 더 많은 휘발성 지방산을 생산하게 함으로써 위를 빠르게 통과하게 한다.

라) 신체 총실 지수가 높은 소들은 제4위 좌측전위가 발생할 확률이 더 높다. 효과적인 섬유소량의 섭취는 위내의 충만도와 수축력에 영향을 준다. TMR은 전체 사료를 농축하는 건초의 비율과 좌측전위에 영향을 줄 것이다. 만약 TMR이 급여되지 않는다면 분만후의 농후사료는 천천히 증가되어야 한다. (0.3 ~ 0.4 kg/day) 또한 급여되는 농후사료는 최소한 하루에 3회 정도로 나누어서 급여되어야 한다. 제1위에서 생성된 산, 그리고 산을 중화시키기 위해 분비되는 침분비량, 건초 사료는 천천히 산을 분비시키고 이러한 사료들은 저작을 자극하기 때문에 침분비가 많이 되도록 자극한다. 위의 pH는 건초사료를 공급할 때 상승하는 경향이 있다. 제1위 산증은 곡물이 많이 함유된 사료를 먹이는 것과 관련이 있고 이러한 산증은 일반적으로 비유기의 첫달에 주로 발생한다. 건유기때 젖소는 에너지가 적은 건초가 많이 함유된 사료를 먹고 비유기때보다 섬유소가 많이 함유된 사료를 먹인다. 이것은 2가지 방식에서 제 1위에 영향을 미친다. 사료에 있는 starch의 감소로 인해 세균총들은 lactate를 생산하는 세균(*Streptococcus bovis*, *lactobacilli*)들로부터 멀어진다. 그러므로 lactate를 acetate, propionate 또는 그 밖에 long chain fatty acid로 전환할 수 있는 세균총들 (*Megasphaera elsdenii* and *Selenomonas ruminantium*)이 감소한다. 초기 건유기간에 낮은 에너지의 사료를 주는 또 다른 효과는 움모길이의 감소와 제1위 점막에서 VFA를 흡수하는 능력의 감소이다. 흡수의 50% 이상이 건유기 처음 7주동안 소실될 수도 있다. 젖소에게 갑자기 높은 에너지의 비유사료로 바꿔주면 제1위의 산증이 일어날 위험이 증가되게 되는데 이것은 lactate를 생산하는 세균들이 높은 비율의 starch 사료에 급속

도로 반응하여 많은 양의 lactate를 만들어 내기 때문이다. 따라서 제1위에 lactate가 쌓이는 것을 효과적으로 막기 위해 3~4주에 걸쳐 사료를 천천히 바꿔준다. lactate는 propionate, acetate or butyrate보다 강한 산성을 띄기 때문에 lactate가 있게 되면 VFA보다 제1위내 pH에 더욱 강한 영향을 미칠 수 있으며 특별히 제1위 pH가 6.0이하로 까지 떨어질 수 있다. 또한 lactate와 다른 VFA는 단지 분화되지 않은 산 상태로 더 많이 존재하게 된다. lactate의 pKa는 VFA보다 낮기 때문에 제 1위로부터 acetate, propionate or butyrate보다 더욱 천천히 흡수된다.

마) 정상상태에서는 단지 적은 양의 lactate만이 제 1위내에서 생산되고 그것은 모두 L-lactate형태를 가진다. 과도한 곡물급여로 인한 병인론에 대한 초기 가설은 곡물의 과도한 섭취상태에서 D-lactate가 lactobacilli에 의해 높은 비율로 생산된다는 점에 중요성을 부여했다. D-lactate는 L-lactate처럼 제 1위로 흡수되지 않고 또한 일부 흡수된다 하더라도 조직에서 아주 천천히 대사된다는 이론이다. 그러나 D-lactate는 제 1위에서 흡수되고 L-lactate와 같은 비율로 조직에서 대사된다. 제1위 산증에 대한 병인론을 조사하는 연구는 도살장의 수소를 사용하는데 이 모델은 lactic acid 생산이 제 1위 산증을 일으키는데 중요한 요소임을 보여준다. 그러나 최근 젖소와 관련된 연구는 초기와 중기 비유우에서 관찰되는 제1위 산증은 제1위에 VFA의 축적과 VFA의 생산과 더욱 밀접한 관계가 있음을 보여주고 있다. 제1위내에 lactic acid가 고농도로 있는 것이 젖소에서 산증을 유발하는 주요한 요인으로는 볼 수 없을 지도 모른다.

바) lactic acid와 제1위내 세균총이 죽을 때 분비되는 endotoxin 과 histamine은 전신적으로 흡수된다. 그리고 이것은 자라나고 있는 발굽벽의 미세혈관에 영향을 미치고 결과적으로 제염염을 유발한다. 혈액으로 흡수된 organic acid의 양이 간과 이러한 anion을 대사시키는 다른 조직의 능력을 초과하게 되면 대사성 산증이 제1위 산증으로부터

일어날 수도 있다.

사) 제염염 (pododermatitis aseptic diffusa)은 발굽 안쪽의 피부층의 염증을 말한다. 제염염은 5.5 ~ 30%에 이른다. 제염염은 다양한 병인이 있고 여러 가지 독립적인 요소들과 관련되어 있다. 영양과 관련된 요소는 제염염이 발생하는데 중요한 요인으로 분류되고 있다. 특히 쉽게 발효되는 탄수화물이 많이 들어 있는 사료를 급여한 경우 이것은 산증상태를 유발할 수 있고 이것이 제염염을 발생시킬 수 있다. 조사료 비율이 60:40으로 낮은 급여는 제염염 증상이 증가되고 발굽이 딱딱해지는 것이 감소된다. 침분비를 자극시키는 적당한 효과를 가진 섬유소를 포함한 다른 영양학적 요소들과 mycotoxin의 존재는 제염염을 일으킬 수 있다. 대사성 그리고 소화기계 질병도 요인이다. biotin의 공급은 발굽을 강화시키고 제염염에 더욱 저항성이 생기도록 한다.

아) 유방염이나 자궁염과 같은 감염성 질병들은 특별한 endotoxin에 의한 손상 때문에 일어날 수 있다. 딱딱한 바닥이나 누울수 있는 공간의 부족, 부적당한 표면위에서 초과적인 운동과 같은 환경적인 요소가 기계적인 손상을 초래한다. 과도한 체중과 발과 다리의 어떤 구조적 이상이 걷는데 더 많은 부담과 스트레스를 줄 수 있고 이것은 어떤 내부의 기계적인 손상을 가져오게 되어 제염염이 발생할 수 있다. 이와 같이 사료급여 관리 부실은 반추위 정상적인 대사를 무너뜨리고, 전위는 물론 위산증, 제염염등의 문제들과 상호 연관을 갖게 되는 것을 알 수 있다. 제 4위전위 기전은 아래 3가지로 요약할 수 있다.

- (1) 사료내 높은 농후사료 수준 때문에 휘발성지방산의 생성이 과다하여 이들이 제4위로 유입되어 4위의 수축력을 약화시킨다.
- (2) 특히 분만 후 농후 사료급여가 과다하면 제 4위의 근육수축력이 감소하여 제4위내에 가스가 저류 되어 전위가 발생한다.
- (3) 과비우는 더욱 전위발생률이 높다.

## 2) 제4위 전위증의 종류

- 가) 좌측으로 돌아가면 좌측전위(CDA) (치료가 잘됨)
- 나) 우측으로 돌아가면 우측전위(RDA) (치료가 잘 안됨)
- 다) 우측으로 돌아가면서 주위의 제3위나 십이지장과 함께 꼬이는 열전성 전위 (24시간 정도 지나면 폐사)
- 라) 단순히 제4위 마비로 인한 소화불량으로 식욕부진이 반복되는 4위확장 증도 있다

### 3) 제4위 전위증의 증상

- 가) 주된 증상으로 갑자기 또는 점차 식욕이 감소한다.
- 나) 위장의 움직임 둔해진다.
- 다) 연변과 때로는 설사를 동반한 변색된 배변이 있다.
- 라) 탈수현상과 함께 의기소침하며 자극에도 일어서지 않는다.
- 마) 제 때에 치료하지 않으면 케토시스도 합병한다.
- 바) 전위의 약 50%는 태반정체나 자궁내막염 등과 같은 생식기 질병에 이환된 소에서 속발된다.
- 사) 전위의 경우 똥이 변색되고 설사 증상을 보이는 반면 케토시스는 변비가 많다.
- 아) 상복부의 청타진으로 전위부에서 “핑”음을 들을 수 있다.

### 4) 제 4위 전위증 처치법

- 가) 분만후(1개월 이내) 전위증 소가 다수 발생한다면 사료급여와 사양관리를 다시 한 번 체크한다.
- 나) 적절한 양의 조사료를 새로 태어난 몸집이 큰 송아지나 분만우에게 공급한다.
- 다) 소를 기울이거나 단순히 굴리기만 해도 상당한 효과가 있다.
- 라) 대부분의 경우는 외과적인 수술을 필요로 한다.

## 라. 과비우 증후군

### 1) 과비우 증후군의 원인



가) 비유후기와 건유기때 사료를 과급하는 경우에 발생한다.

2) 과비우 증후군의 증상

가) 과비우들은 분만 후 대사성 질병과 전염성 질병에 노출될 확률이 크며 치료도 별 효과적이지 못하다. 가장 흔한 증상은 식욕감소로 인한 사료 섭취를 거부한다(체지방이 생체 기관 주변에 쌓여 소화기관을 압박함으로써, 그리고 정상보다 높은 유리지방산의 혈중농도로 인하여 식욕이 감소). 이러한 증상은 분만 후 그리고 특히 건유기간이 길었던 과비우에서 주로 발생한다.

나) 난산, 태반정체, 자궁염, 유방염

다) 제 4위 전위증

라) (만성) 케토시스

마) 유열

바) 움직임 둔화

사) 현저한 산유량 감소

아) 체중감소

자) 불안한 듯한 자세

차) 질병감염에 의한 체온상승

3) 과비우 증후군의 예방

가) 건유기간을 짧게 하거나 분만간격을 12~13개월로 줄인다.

나) 건유우와 비건유기우에 대한 적절한 사양관리를 유지한다.

다) 건유우를 두군으로 나누어 사료를 적게 급여한다.

라) 사료내 적절한 영양소 함량을 체크한다.

마) 어린 송아지의 경우 사일리지 급여량을 줄이고 화본과건초를 더 급여한다.

바) 분만에 가까운 시기에 급격한 사료의 변경을 피한다.

사) 건유후기에는 사료내 단백질 함량을 줄인다.

아) 사료내 농후사료와 사일리지의 양을 줄이고 건초의 양을 늘린다.

자) 치료보다는 예방이 더 쉽다.

## 마. 유방부종

### 1) 유방부종의 증상

- 가) 분만 전후 2~3주 사이에 주로 발생되며 양측 유방이 모두 붓는 증상이 발생한다.
- 나) 심각한 경우에 부종과 울혈이 유방과 배꼽 주위까지 퍼질 수 있으며 음문과 가슴부분까지 퍼지는 경우도 있다.
- 다) 발생빈도와 심각성은 경산우보다 초임우에서 더 심각하며 초임우일 경우 나이가 들수록 더 심각할 수 있다.

### 2) 유방부종의 원인

- 가) 유선의 간질 조직에 림프액의 축적으로 발생된다(정상적으로는 정맥과 림프관계에 의해서 제거됨). 임신후반기에 스테로이드 호르몬의 양적인 변화, 혈중 글로브린의 감소는 혈관 투과성을 증가시킬 수 있다.
- 나) 임파관 내부로 지방덩어리가 침착된 것과 조직액의 흐름이 원활하지 못한 것이 가장 큰 이유이다.
- 다) 과도한 곡류사료급여와 건유 사료내 높은 수준의 소금, 나트륨, 칼륨 섭취는 치명적인 원인이 된다.
- 라) 건유기의 신체 총실지수 조절이 충분히 이루어져 지방 침착이 적어진 소는 유방부종의 발생이 거의 없다.
- 마) 유방조직은 본질적으로 지방세포가 침착되기 쉬운 조직이고 비만우일수록 유선세포 내 지방세포가 증가하고 결합조직의 증식, 혈행 장애 등과 아울러 유선조직에 무리한 부담을 준다.
- 바) 만성 유방부종은 빈혈과 저마그네슘혈증과 관련이 있다.
- 사) 산화과정에서 생기는 산화스트레스는 유방부종의 원인이다. 비타민E와 아연은 항산화 기능에 상호 보조적 역할을 하며 예방효과가 있다.

### 3) 유방부종의 치료

- 가) 분만 2~3주전에 건유사료 내의 우회 단백질 수준을 증가시킨다.
- 나) 분만전 착유는 심하게 부어오른 유방의 치료에 좋다.
- 다) 찬물과 더운물을 번갈아 닦아 주면서 마사지를 병행한다.

라) 얼음주머니(Ice Bag)로 맞사지한다.

마) 이노제를 투여하되 오줌의 분비를 촉진하면 상당한 효과가 있다.

#### 4) 유방부종의 예방

가) 과도한 지방침착(BCS 4.0이상)을 피해야 한다.

나) 탄산수소칼슘과 염화나트륨의 두 가지 종류의 염이 한꺼번에 섭취된 경우는 칼슘과 나트륨의 농도를 낮추어야 유방부종에 악영향이 없다.

다) 분만후 염화칼슘 (이노효과) 투여는 유방 부종을 빠르게 퇴축시키는 경향이 있다.

#### 5) 유방부종의 예후

가) 한 번 유방부종이 발생하면 인대는 늘어나고 유방 부착이 나쁘게 되어 유방이 밑으로 처지게 된다. 그 결과 체세포 수의 증가, 유두손상을 가져와 일찍 도태되는 원인이 된다.

### 바. 태반정체와 자궁염

태반정체는 태반이 분만 12~24시간내에 배출되지 못한 상태이다. 자궁의 염증이나 감염은 종종 태반정체와 관계된다.

또한, 태반정체는 간접적으로 도태율의 증가, 난소낭종 발생을 증가, 유생산량 감소, 도태율 증가, 자궁염을 초래한다.

쌍태아, 다양한 스트레스요소, 짧은 건유기, mycotoxins이나 질소같은 독소에의 노출, 유전, 산욕마비, 태반의 비정상적으로 낮은 PGF2농도, 태아측 태반과 모체측 태반, 그리고, 혈중의 비특이적인 분만전후의 스테로이드, 뇌하수체, 그리고 부신 호르몬 등의 요소에 관계가 있다.

분만전후의 면역억제 역시 가능한 기여요소로 관련되어 왔다.

- 1) 영양적 요소와 예방법 : 태반정체의 영양학적 원인들은 무엇보다도 분만 전 6-8주에 먹인 사료와 관계된다. 식이 결핍 또는 에너지 불균형, 단백질, 인, 칼슘, 셀레늄, 요오드, 비타민 A,D,E , 그리고 식이 에너지, 단백질, 그리고 칼슘의 과잉등은 모두 태반정체와 자궁염에 관계된다.

- 가) 식이 에너지, 단백질의 심각한 결핍은 소가 약하고 분만 스트레스와 관련되어 태반을 배출하는 힘이 부족하기 때문에 태반정체가 유발된다. 건유기에 식이 조단백(8%)을 급여받는 소(50%발생)는 25%의 조단백을 급여받는 소(20%발생)에 비해서 태반정체율이 더 높게 나타났다. 분만전에 과도한 에너지 공급으로 비롯된 지방간 또한 종종 태반정체와 자궁염 발생율을 증가시킨다.
- 나) 태반정체율은 칼슘과 인대사 장애와 관계된다. 그러나 그 관련성은 매우 낮다.
- 다) 분만전후의 저칼슘혈증(임상적이거나 준임상적이거나 간에)과 태반정체사이의 관계가 최근 알려져 왔다. 식이에 칼슘이나 인의 과잉, 그리고 비타민 D3의 결핍은 모두 분만전후의 칼슘대사에 영향을 미치고 저칼슘혈증을 유발할 수 있다. 산욕마비를 가진 다산의 우를 산욕마비가 없는 암소와 비교했을 때 태반정체와 자궁염이 더 쉽게 노출된다는 것이 밝혀졌고 산욕마비를 가진 다산의 암소가 태반정체율이 4배 정도 더 높다. 저칼슘혈증은 자궁의 근육긴장도를 떨어뜨린다. 황화 암모늄과 염화 암모늄을 급여함으로써 분만전 식이의 양-음이온 차이를 감소시켜 저칼슘혈증과 태반정체율을 감소시켰다. 칼슘 섭취는 하루에 약 30~200g/cow 정도이다. 비록 많은 양의 식이 칼슘이 셀레늄 흡수를 감소시켰지만 분만전 14~21일전에 두당 1.32%의 칼슘에 음이온과 셀레늄 3mg을 투여가 권장된다.
- 라) 과산화물을 줄이기 위해서는 항산화제(셀레늄과 비타민 E)가 필요하다. 태반정체를 가진 소는 태반정체가 없는 소와 비교했을 때 분만 2주 전 동안에 혈중의 항산화제 농도가 더 낮았다. 혈중  $\alpha$ -tocopherol (비타민 E)농도가 전체 비유기중 가장 낮을 때 이런 요구를 충족시키기 위해 사료에 항산화제를 공급하는 것이 특히 분만전후에 중요하다. selenium 공급은 태반 정체발생률을 감소시켰다. selenium과 Vit k 병용투여는 antioxidant 효과보다는 태반 정체발생률 감소에 더 효과가 좋다.

기본적인 건조사료에는 selenium이 0.025~0.047 mg/kg 사이로 들어 있다.

낮은 용량의 selenium은 높은 용량의 사용보다 효과가 좋다.

분만 3주전에 0.1mg/kg의 selenium 근육주사가 권장된다.

태반정체가 있는 경우에 사료에 0.3mg/kg 혹은 1000IU Vit E 이상이 들어있다면 효과가 없다고 한다. 소에 대한 법적인 허용한도는 selenium 0.3mg/kg이다.

마) 비타민 결핍증은 태반정체 발생률을 높인다. 분만 4주전부터 하루에 600mg씩의 carotene을 섭취한 경우는 그렇지 않은 경우보다 더욱 발생률이 낮다.

바) 분만 21~15일전 설레늄, 비타민 E제제를 근육주사한다. 5%붕산수 3~5리터를 태반이 정체된 자궁내로 주입하면 2~3일후에 태반이 자연적으로 분리되어 나올수 있다.

#### 사. 저마그네슘성 테타니

1) 저마그네슘성 테타니는 칼륨과 질소가 풍부한 반면 마그네슘과 나트륨이 적은 초원목장에서 풀을 뜯는 초기 수유에 들어간 암소에서 가장 자주 나타난다.(우유 1리터 생산마다 혈중의 마그네슘이 0.15g씩 빠져나간다.) 이것이 가장 흔한 상황이며 이것을 보통 Graa tetany, Spring tetany, Grass staggers, 또는 Lactation tetany라고 부른다. 임상증상은 저카그네슘혈증의 경중에 달려있다. 이 병은 저칼슘혈증을 동반했을 때 더 급격하게 진행되고 더 심각해 진다. 보통 젖소는 방목할시 수유에 들어간지 1~3주사이에 이 병에 나타난다. 중등도의 저마그네슘혈증(0.5에서 0.75mmol/L사이 또는 1.1과 1.8mg/dl 사이)에서는 DMI의 감소, 초조함과 유지방과 전체 유량의 감소를 보인다. 이것은 어떤 우군에서는 만성적인 문제가 될 수 있고 종종 모른채로 지나간다. 이것은 결국 산욕마비에 쉽게 빠진다.

## 2) 예방

- 가) 만일 저마그네슘성 테타니가 우군의 한 소에서 나타났다면 더 이상의 손실을 막기 위한 예방적 조치가 즉각적으로 취해져야 한다. 추가적인 10~15g의 마그네슘을 각각의 임신우에, 30g을 수유후에 투여하면 저마그네슘성 테타니를 막을 수 있다.
- 대부분의 마그네슘은 맛이 없다. 산화 마그네슘이 가장 먹기 좋고, 가장 농축됐으며, 가장 싸지만 불행히도 가장 녹지 않는 형태이다. 마그네슘은 곡물에서 바로 얻을 수 있다. 단지 0.5~1kg의 곡물에 산화 마그네슘 60g이 포함되면 그걸로 충분하다. 그러나 곡물의 비용과 농축된 사료를 방목하는 소에게 먹여야 한다는 문제점이 이런 방법을 적용하기 힘들게 하는 부분이다.
- 나) 이온운반체(monensin, lasalocid)의 급여가 1위내에서 나트륨이 결합된 마그네슘의 수송시스템 활성을 유도하고 마그네슘의 흡수효과를 10%정도 증가시킨다. 그러나, 이온운반체는 투여시에 효과를 볼 수 있는 많은 동물종에게 투여하는 것이 승인되지 않았다. 1위 환약(Rumen boluses)제제가 방목우에게 실용적으로 이온운반체를 투여할 수 있게 발명되었다.
- 다) 암소가 산욕마비를 일으키기 쉬운 시기에 2.5~5g/L 또는 10-20lb/500 gal의 황화 마그네슘  $7H_2O$ (epsom salts) 또는 염화마그네슘  $6H_2O$ 를 음수에 첨가하면, 이것은 물의 기호도를 감소시키기 때문에, 만일 소가 다른 물을 공급받지 않는 경우에는 경제적인 마그네슘 공급법이 될 수 있다.
- 산화 마그네슘과 염을 포함한 활을 수 있게끔 제조한 당밀이나 미네랄 블록은 즉시 제조가 가능하고 분만전에 그것을 활는 방법을 배운다면 마그네슘을 공급할 수 있는 좋은 방법이다.
- 라) 제 1위내에 마그네슘을 잔류시키는 고농축 환약이 개발되었는데 이것은 2위내에서 머무르며 매일 소량의 마그네슘(1-1.5g)을 90일까지도 방출한다. 100g의 마그네슘 혼합(86%) 환약이 개발되었고 이것은 하

이 물질들은 비록 투여시 적은 양임에도 불구하고 성공적으로 나타난 경우가 있지만 혈중 마그네슘농도를 충분히 올리지는 못한다.

표 8. 건유·전환기젓소의 건강상태 결정시기 (치료선택)

건강검사	건유전 2주	건 유	건유초기 (0-10일)	분만직전 3주	분 만	분만후 0-3주
유방염	×	×	×		×	×
유방부종				×	×	×
건유우치료- 유방내 주입 및 전신투여		×				
IBR,PI3,BRSV		×	×	×		
사독 BVD		×	×	×		×
BVD modified live						×
렘토스파이로시스		×	×			
비브리오시스		×	×			
파스튜렐라				×	×	×
헤모필러스					×	
클로스트리디움		×			×	
유방염백신(J-5)		×	×	×	×	×
벌레제거		×			×	
셀레늄			×	×	×	
비타민 A, E				×		
대장균 K99 - 송아지				×		
로타, 코로나 송아지				×	×	



표 9. 건유·전환기 건강관리와 검사시기

건강검사	건유전 2주	건 유	건유초기 (0-10일)	분만직전 3주	분 만	분만후 0-3주
전염성 유방염	×	×	×			×
환경성 유방염		×	×	×	×	×
유 방 부 종				×	×	×
유 열				×	×	×
케 토 시 스					×	×
제 4위 전위증						×
태반 정 체						×
발 굽 관 리		×	×			
조산					×	
초 유 평 가					×	
초유-송아지					×	6-8시간
배꼽-송아지					×	
송 아 지 와 어미소 격리					×	
요 네 병					×	

표 10. 대사성 질병 및 번식장애 유발과 관련된 영양소

결    핍	과    잉	잠재적 이상	관    련    이상
비타민 D	비타민 D	유열	분만장애, 태반정체 유방염, 제4위전위증
셀레늄, 구리, 요오드, 비타민A, D, E	-	태반정체	지방간, 유열, 케토시스
코발트, 비타민 D	-	자궁퇴축지연, 자궁감염	태반정체, 지방간, 제4위 전위증
비타민 A, E와 셀레늄	-	유방염	유열, 제4위 전위
Niacin	-	케토시스	지방간, 제4위전위증
셀레늄, 비타민 E	-	태반정체	자궁 내막염

표11. 분만을 중심으로 어떤 처치를 할 것인가 (보기 I)

언제	무엇을
건유전 60일	<ul style="list-style-type: none"> <li>• BCS 상태에 따라 급여사료 영양소 조절</li> <li>• 건유 3~4주 전에 BST투여중지</li> </ul>
건유전 5일	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 만약 비유량이 일일 15kg이 초과시에는 농후사료 급여량 감소 또는 급여정지.</li> <li>• 임상형 유방염 병력우의 분방별 유즙 세균검사 및 치료</li> <li>• SCC기록 분석하고 CMT 검사, 준임상형 유방감염우 치료선정</li> <li>• 유방염 백신접종</li> </ul>
건유당일	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 급속건유</li> <li>• 모든 건유우의 모든 분방에 건유기 전 용약 주입</li> <li>• 임상형 경력우와 준임상형 유방감염우 치료, 전신 항생제 투여 치료병행</li> <li>• 발굽질병 손질</li> <li>• BCS 고려 균형잡힌 사료급여, 칼슘, 인의 공급균형</li> <li>• 건유기 유두침지소독 (7일간 지속) 단, 서방형 침지소독제는 1회 실시</li> </ul>
건유후 5일	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유방검사 (열감, 종창 유무확인)</li> </ul>

- 열감이나 증창이 없으면 젖을 짜지 말라.

분만전 8주

- BCS 상태에 따라 급여사료 영양소 조절
- 대장균 및 로타, 코로나, 유방염 백신 접종 (문제 있었던 우군은 첫해 이후는 접종생략)
- 비유기 사료로 서서히 전환시작
- 우군 문제가 있었다면 대장균, 로타, 코로나 백신 접종
- 비타민 E, 셀레늄 주사
- 비타민 A, D 주사 (단 겨울철에만)
- 유열, 분만성 자궁질병 예방

분만전 7일

- 유방검사, 염증증상 없으면 젖짜지 말 것
- 유방염 확인경우는 즉시 비유기 치료 실시
- 분만일까지 1일 2회 유두침지 소독 실시 (단 서방형 침지소독제는 분만일까지 1회 실시)
- 구충계획상에 있는 소는 구충실시

분만일

- 자주 관찰, 30분간 분만진통이나 여의치

않을때는 조산

- 유방, 유두의 침지소독으로 신규 유방 감염 예방.
- 분만시 발생하는 문제와 상해감소.
- 제4위 전위증과 산후 생식기 감염 예방
- 유방염 검사.
- 초유 3000ml 정도를 짜서 즉시 송아지 급여, 보온, 건조, 배꼽 등 송아지 관리.

---

분만후 3일까지

- 분만초기 건강상태, 유열, 유방염, 사료 섭취정도 등을 자주 관찰
  - 신규 유선 감염 예방
-

표 12. 건유우와 분만우 관리 (보기Ⅱ)

### 1. 건유우 관리

- 건유기간의 사양관리와 적절한 사료급여는 갓난 송아지와 육성우 성장과 건강에 지대한 영향을 미친다.
- 지침서 (부분적)
  - \* 분만전과 후의 각 2주 동안에는 백신접종 금기
  - \* 건유기에 들어갈 때 임신우의 BCS는 최소한 3.0에서 3.5유지 바람직
  - \* 분만시 BCS의 3.5 ~ 3.75 범위가 바람직
  - \* 건유후기에 주사료 변경을 피하라.
  - \* 건유우는 청결하고 유기물 오염이 적은 깔짚사용
  - \* 분만전 유두 및 유방의 청결, 위생관리는 유두침부에 유방염 원인균 농축을 감소시킨다.
  - \* 분만시 혈중칼슘농도 하락을 최소화하고, 건유후기때 칼슘보강 사료 수준을 유지하며, 양-음 이온 사료의 조절급여 및 분만시기에 가까워 질수록 사료섭취량을 늘려라.
  - \* 건유기 사료중 셀레니움과 비타민 E 수준을 적절히 유지하고, 이를 분만전 2주와 분만후 2 ~ 3주간 모니터링하라.
  - \* 최소한 분만전 3주이전에 그 우군에서 늘 문제되어온 질병에 대한 백신 접종 실시.

( K-99, Corona, BUD, BRSU, Rota, IBR, PI3, 유방염백신, J5 등)

건유기 사료영양과 분만관련성 질병에 관한 연구보고서는 건유기에 섭취했던 사료성상과 영양소 수준과 유열, 자궁내막염, 제4위 전위증, 케토시스 등의 발생율과 밀접한 상관관계가 있음을 지적하고 있다. 분만시에 두세종류의 질병을 가지고 있는 암소는 난소낭종 발생율이나 공태기간이 크게 늘어난다.

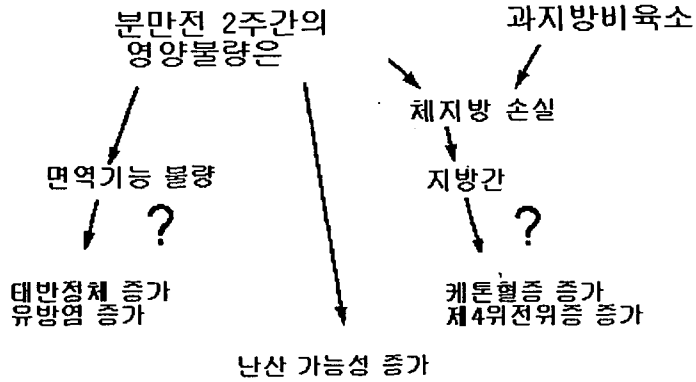
## 2. 분만시 관리

어미소와 갓난 송아지의 건강과 안정된 성장 분위기는 상호관련된다. 이 시기의 사양관리 부실과 영양소 결핍은 상응하는 경제적 손실을 초래한다.

### 관리 요약

- \* 분만칸은 청결, 분변등 유기물 오염이 적은 깔짚, 최소한 12ft×12ft 넓이의 공간을 갖도록 한다.
  - \* 출입문은 충분한 폭과 탈착이 가능해야 한다.
  - \* 분만칸은 한 사람이 그 소를 보정하고 다루는데 필요한 시설을 충분히 갖추고 있도록 한다.
  - \* 분만이 임박했을 때 팽창된 유방의 위생관리는 중요하다.
  - \* 조산은 분만에 무자극적이고 위생적이어야 한다.
  - \* 위생처리된 조산기구, 깨끗한 물, 산과용 윤활제를 사전에 준비할 것.
  - \* 초유저장 냉동고를 준비하고 건유후기에 백신펙종되고 그 목장에서 오랫동안 사육된 건강한 소의 초유를 위생적으로 짜서 냉동고에 보관하라.
  - \* 갓난 송아지 배꼽의 위생적 결찰과 강옥도액 살균처리는 매우 중요하다.
-

전환기에 기억해야 할 요점



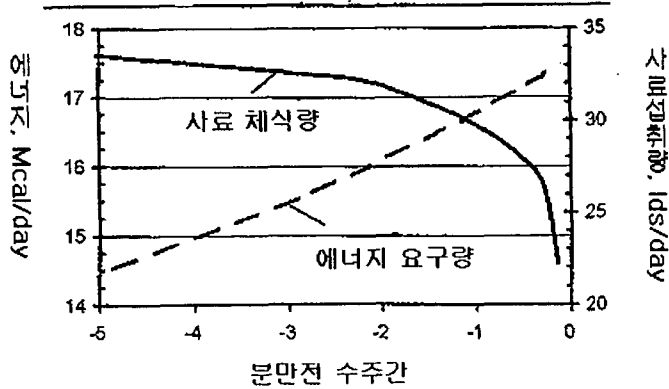
전환기에 기억해야 할 요점

1육소

분만전 2주간의

과지방

에너지 요구량과 사료섭취량의 변화

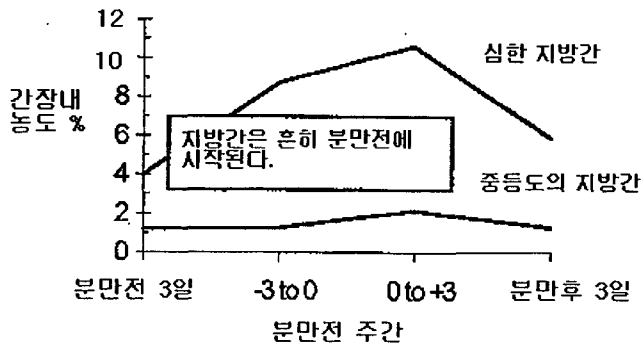




건유후기에 영양소 급여밀도를 높이면?

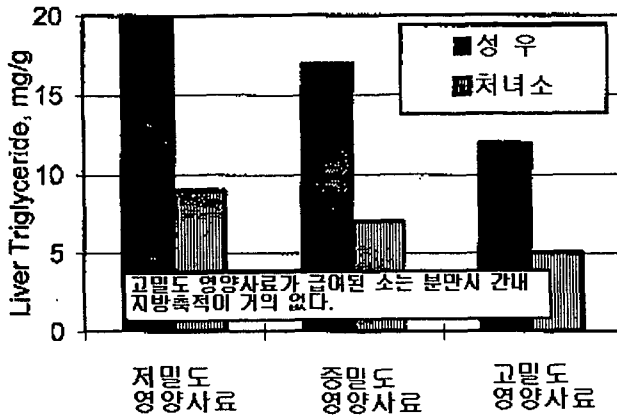


간지방 변화에 관한 연구보고(미시간 주립대학)



<Gerloff, 1985>  
9개 우군의 80두 조사

건유후기 급여사료조성과 분만시의 간지방 축적도

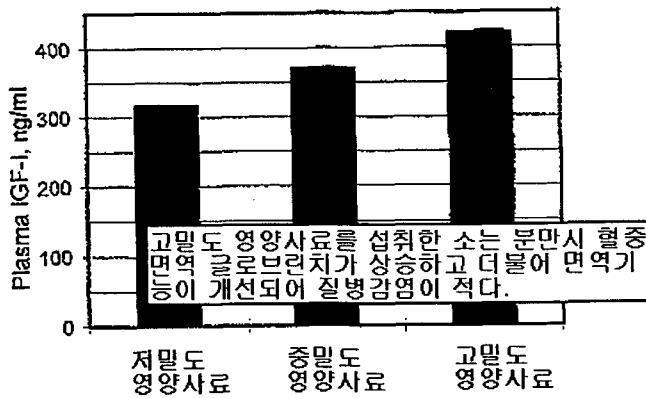


1도

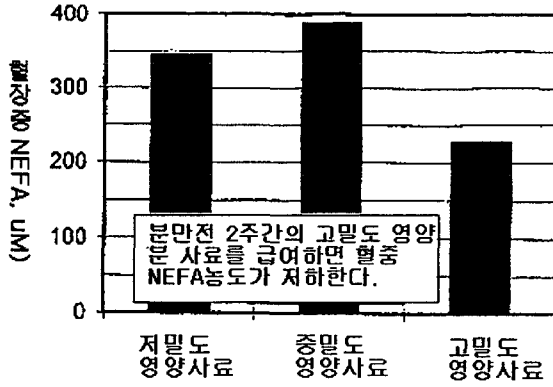
건유후기 급여사료조성과 분만시의 간지방

20

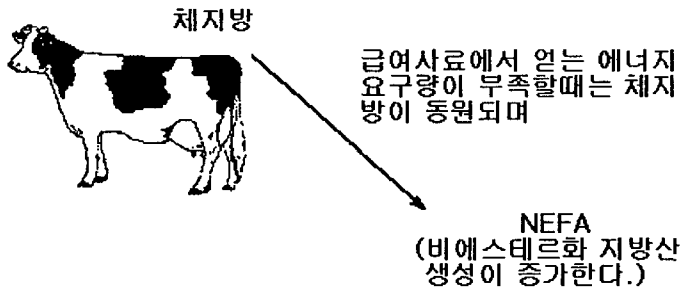
건유후기 급여사료조성과 분만시 면역 글로브린 치(IGF-I)



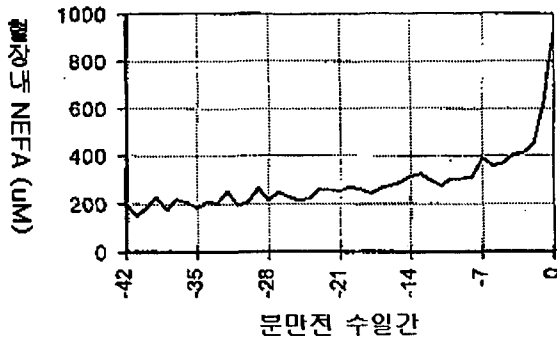
건유후기 급여사료 조성과 분만전 혈중 NEFA 농도



건유후기의 지방대사 변화



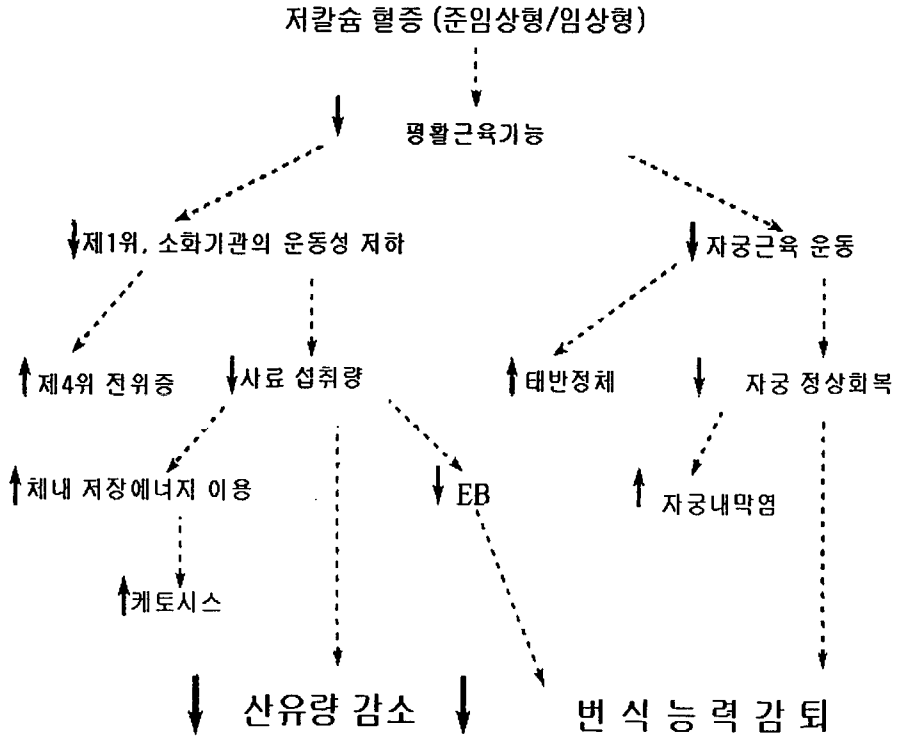
분만전 혈액중의 NEFA 수준 변화



분만전 유선조직의 변화



유선 조직은 분만전 3주 부터  
활성화 된다.



## 제 10 절 참고문헌

1. Michigan dairy extention programming team. 1996. managing the dry cow for more profit. 10-96:
2. Smith, A., D.R. Westgarth, M.R. Jones, F.K.Neave, F.H. Dodd, and G.C. Brander. 1967. Methods of reducing the incidence of udder infection in dry cows. Vet. Record 81:504.
3. Olsen, S. J. 1975. A mastitis control system based upon extensive use of matitis laboratories. IDF Bulletin Document 85 : 410.
4. Middleton, J.R., L.K. Fox. A comparison of betadine and chlorhexidine for drying-off mammary quarters chronically infected with staphylococcus aureus Proceeding of 34th NMC meeting 213-215.
5. Wustenberg, M. 1998. Focusing on dry cows. NMC regional meeting proceeding. 6-13.
6. Kelton, D. 2001 Deciding to dry-off: Does level of production matter? NMC 40th Annual Meeting proceedings. 69-99.
7. Williamson, J. 2001. Strategies for protecting the teat at dry off. NMC 40th Annual Meeting Proceedings. 88-94.
8. Erskine, R., 2001. Enhancing immunity during the dry period: pitfalls and opportunities. NMC 40th Annual Meeting proceedings. 95-106.

## 제 3 장 유방염 혼합백신 개발

### 제 1 절 서 술

젖소의 유방염에 있어 가장 문제시되는 황색포도상구균, 연쇄상구균 및 대장균의 예방백신이 일부 외국에서 이용되고 있지만 황색포도상구균과 연쇄상구균에 대한 예방백신은 정확한 병원성 인자에 대한 연구없이 항원을 정제하여 사용하고 있기 때문에 효과가 미지수이며 아직까지 본 유방병 연구실의 황색포도상구균에 대한 재조합 단백질을 이용한 예방백신 개발을 제외하고는 이렇다할 연구가 진척된 바 없다.

젖소의 건유기 관리기술은 선진낙농국들에 의해 그들의 환경친화성 프로그램이 이미 개발되어 있고 그 중 건유기 유두침지소독과 건유기 전용 유방내 주입 계획은 우리나라에서도 널리 보급되어 있다. 그러나 목장현장에서 가장 골치거리 유방염 세균인 황색포도상구균 및 여러 유방염 원인체를 효과적으로 예방할 수 있는 백신의 개발은 유방염 원인체별로 다양한 항원형이 존재하고 유즙분비에 의한 방어항체의 희석이라는 유방내의 독특한 생리적 특성으로 인해 많은 어려움을 겪고 있는 것이 사실이다. 또한 젖소의 유방염 예방백신 개발에 있어서 효과적인 방어항체 생성을 가장 유효히 이끌어 낼 수 있는 항원형을 찾는 연구와 함께 중요시되는 연구 분야중 하나는 기존의 일반 백신 부형제를 이용해 1회 예방접종을 실시할 경우 젖소의 장기간의 비유기간동안 지속적으로 항체를 유지 할 수 없기에 이를 해결하는 방안을 연구하는 것이다. 현재까지 연구결과 여러 백신부형제와 백신의 추가접종 기간을 설정한 연구가 이루어져 상당히 성과를 거두고 있거나 장기간의 항체가 유지를 위해서는 추가접종이 가장 효과적인 방법으로 인정 되어지고 있다. 근래 백신과 약물전달 체계 연구에서 한가지 주목되는 것은 생분해성 서방형 microsphere를 이용한 약물 전달법으로 인위적으로 생분해성 microsphere내에 약물을 내재시켜 약물방출을 조절하는 기술로 현재 장기간의 약물치료를 요하는 환자에게 꾸준히 장기간에 걸쳐서 일정농도의 약물을 급여하기 위한 방법으로 이용하기 위해 많은 연구가 진행되고 있다. 이러한 생분해성microsphere는 백신 연구분야 에서도 항원성분을 내재시 그 항

원성분의 방출속도와 기간을 조절할 수 있다는 점에서 새로운 백신부형제로의 활용성 여부에 많은 관심이 기울여지고 있는게 사실이다.

이에 본 연구는 생분해성 서방형 microsphere에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장하는 기술을 개발하고 이 기술을 이용해 제조된 젯소 유방염 혼합백신의 건유기 젯소 접종시의 항체가 상승과 지속기간을 알아보며 비유기간내의 신규감염을 예방능을 알아보기 위해 실시하였다.

## 제 2 절 재료 및 방법

### 1. 새로운 약물전달방법(drug delivery system)인 생분해 microsphere 제조

#### 가. 기본제조 과정

- 1) 이멀전-추출 과정으로 제조
- 2) methylene chloride/acetone(8.3%w/v, 80/20v/v)이 포함된 3ml의 PLGA (d,L-lactide-co-glycolide)에 ceftiofur, cefazolin, cephalixin, streptomycin, sulphate 등의 항생제를 부유시킴
- 3) polyvinylalcohol 수용액층(10%w/v)에 균질화시킴
- 4) 21℃에서 기계적으로 교반시켜(800rev/m) 안정한 이멀전을 만듦
- 5) 이멀전을 500ml의 증류수에 첨가
- 6) 용매는 여과하여 제거하며 microsphere를 다시 증류수로 세척하고 물에 재부유시켜 액체질소에 동결시킴

#### 나. 생분해 microsphere의 정상분석

- 1) 10mg이 함유된 microsphere를 50ml의 dimethylsulphoxide에 용해
- 2) 실온에서 교반하고 266nm에서 UV 흡광도 측정
- 3) 3반복으로 실험하며 용량은 microsphere mg당 항생제 용량으로 결정



다. 생분해 microsphere 크기분포 분석

- 1) microsphere의 크기는 coulter counter로 결정
- 2) 20mg의 microparticle을 Tween 80(0.02%w/v)액에서 5분간 초음파로 분쇄하여 부유시킴
- 3) 희석후 Isoton II로 분석

라. 생분해 microsphere의 현미경 검사

- 1) microsphere의 외부와 내부는 주사전자현미경(SEM)으로 촬영
- 2) 증발건조 후 gold층에 놓고 검경
- 3) microsphere를 에폭시 레진에 포배시킴
- 4) cross-section를 초박편절단기로 실행

## 2. 생분해 microsphere의 제조공정 및 제조과정상의 변수

가. 항생제, 유두침지제 및 백신항원을 내장하지 않은 생분해 microsphere 제조공정

microsphere 제조과정상의 변수	제조공정 조건
DL-PLG(85:15, 75:25, 65:35, 50:50)	2.5g
Dechloromethane	50ml
일차 이멸전속도	15,000RPM/min
이차 이멸전속도	15,000RPM/min
Polyvinylalcohol (%)	1%, 5%, 10%
교반속도	200 RPM
유기용매 증발시간	8 시간
용량	증류수 2L
건조시간	37°C, overnight

위의 공정으로 제조한 microsphere의 크기 분포 및 microshere의 형태유지기간 등을 사전에 예비실험을 통하여 각 공정단계별 최적 조건을 찾아 본 실험에 이용하였다.

#### 나. Bovine serum albumin이 내장된 microsphere제조공정

microsphere제조상의 변수	제조공정조건
DL-PLG(50:50), (85:15)	5g
Dichlormethane	100ml
1차 이멸전속도	15,000RPM/min
Bovine serum albumin	50mg/ml증류수
2차 이멸전 속도	15,000RPM/min
Polyvinylalcohol (%)	1%
교반속도	200 RPM
유기용매 증발건조	8 시간
용량	증류수 2L
건조시간	37°C, overnight

### 3. 백신항원의 microsphere내 내장을 위한 기초실험

#### 가. Bovine serum albumin의 microsphere내 내장및 내장을 조사

10mg microsphere/1.0ml의 0.1M sodium hydroxide/5% sodium dodecyl sulfate (SDS)를

이용하여 소화시킴



녹지않으면 hot plate bath(50℃)에서 용해시킴.



3000rpm으로 10분간 원심분리후 상층액 사용



100 $\mu$ l를 이용하여 단백질을 결정

#### 나. Bovine serum albumin 방출실험 과정

30mg의 microsphere를 5ml의 plastic tube에 넣음



5ml PBS(pH 7.4)에서 75rpm으로 교반시키면서 37℃에서 배양



주기적으로 샘플채취(1일, 2일, 4일, 7일, 이후에는 8주간 매주 1회 샘플검사)



6000g에서 20분간 원심분리



상층액에서 단백질을 측정



단백질량은 microBCA법으로 측정



방출실험은 3반복으로 실시



방출된 %는 이론상의 농도를 참고로 결정함

#### 4. Microsphere를 이용한 황색포도상구균과 연쇄상구균의 혼합백신 제조

##### 가. 황색포도상구균 및 연쇄상구균의 백신 항원제조

백신제조에 이용된 황색포도상구균과 연쇄상구균의 정상

균주번호	정상
SNU-1	$\alpha, \beta$ hemolytic <i>Staphylococcus aureus</i>
SNU-2	$\alpha, \beta$ hemolytic <i>Staphylococcus aureus</i>
SNU-3	$\alpha, \beta$ hemolytic <i>Staphylococcus aureus</i>
SNU-45	<i>Streptococcus agalactiae</i>
SNU-53	<i>Streptococcus uberis</i>
SNU-68	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>

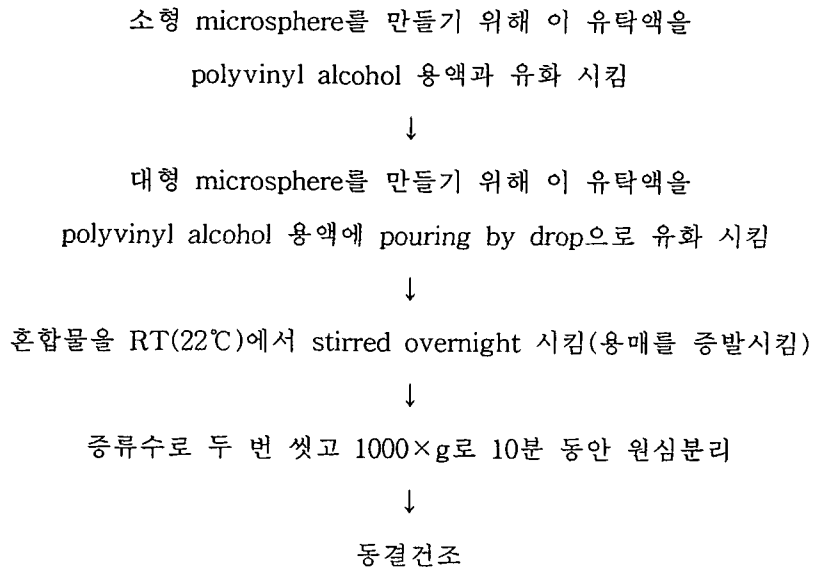
##### 나. 황색포도상구균 및 연쇄상구균의 백신항원 제조

- 선택된 균주를 BHI broth에서 37℃ 배양
- 0.4%(v/v)포르말린 첨가하여 불활화시킨 후 원심분리 (7,000rpm, 20분간, 4℃)
- 0.9% 생리식염수(pH 7.0)에 재부유
- 최종 5ml제조( $1 \times 10^{10}$ cfu/ml 황색포도상구균 +  $4 \times 10^9$  cfu/ml 연쇄상구균)
- *S. aureus* capsule crude extract 5mg 첨가
- sodium azide(0.001%), thimerosal (0.001%), formalin(0.4%) 첨가
- 면역보강제 aluminum hydroxide(3.5%) 첨가

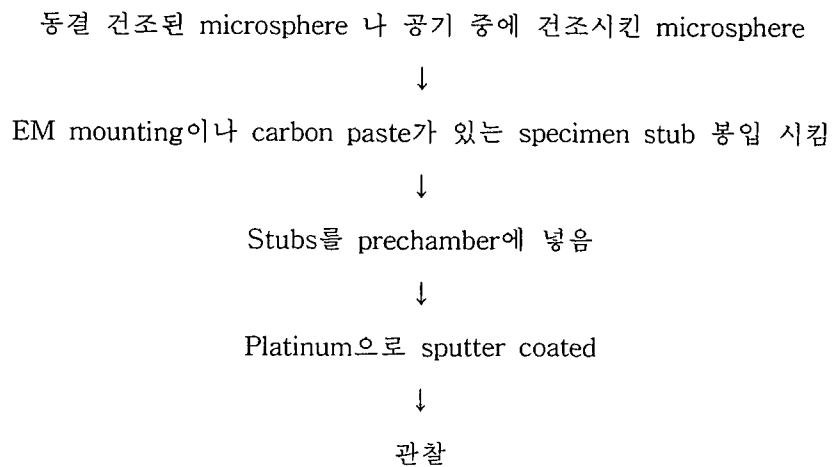
##### 다. 백신항원의 microsphere내 내재

500 $\mu$ l의 백신항원을 Poly(DL-Lactide-Co-Glycolide)와 균질화 시킴  
(homogenizer 이용, 1200rpm)

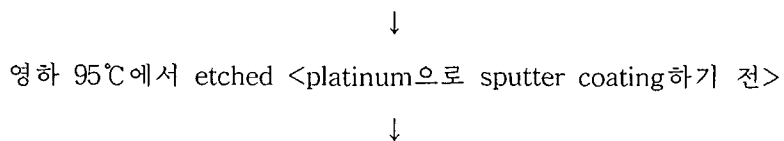
↓



라. 전자 현미경을 이용한 microsphere 표면상태, 크기 및 균질도 측정



\* Specimen을 액체 질소에 동결 → 진공 상태로 prechamber에 옮김



동결된 specimen은 영하 185℃로 유지되는 stage 에 옮김<in SEM voltage (2 또는 10kV)

## 5. Microsphere를 이용한 황색포도상구균과 연쇄상구균 혼합백신의 야외 접종실험

### 가. 백신접종

- 비유기와 상관없이 83두의 젖소에게 투여
- 50%의 건유우와 임신 7개월 이상의 소에게 접종
- 4주간격으로 유방상립과절 부위에 피하에 접종
- 백신접종부위 2달간 매주 관찰기록

### 나. 유즙채취 및 실험실 검사

- 2차접종후 4달간 매달 유즙 채취
- 첫줄기를 버리고 멸균 튜브에 3-5ml 유즙채취후 검사
- 수의사가 임상형 유방염의 발생수와 유방염 유즙을 채취하여 24시간 이내에 냉장시켜 실험실로 운반
- 유즙은 냉장보관하고 4-8시간 이내에 검사
- 균배양검사, 체세포측정, 유지방 및 착유량 측정 및 유방염 진단은 Giraud(1997)에 준하여 실시

### 다. Microsphere 혼합 백신 투여후 혈중 항체가 변화 측정

#### 1) 효소 면역 항체 검사법을 이용한 Staphylococcus 와 Streptococcus 항체 검사 절차

##### 가) Plate coated with antigen

Coating buffer를 사용하여 Staphylococcus와 Streptococcus 항원을 적절한 농도로 한 다음 well당 100 $\mu$ l씩 분주한다. 그리고 4℃에서 overnight 또는 37℃에서 1시간 반응

##### 나) Plate washed

PBST를 well 당 200 $\mu$ l씩 넣으면서 3회 세척

다) Blocking buffer added

Blocking buffer 150 $\mu$ l를 각 well에 첨가한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응

라) Plate washed

PBST를 well 당 200 $\mu$ l씩 넣으면서 3회 세척

마) Test sample added

가검혈청을 PBST로 희석한 후 well 당 100 $\mu$ l씩 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응

바) Plate washed

PBST를 well 당 200 $\mu$ l씩 넣으면서 3회 세척

사) Conjugate added

Peroxidase conjugated IgG를 1:1,000 으로 희석하여 well 당 100 $\mu$ l씩 첨가하여 37 $^{\circ}$ C 1시간 반응

아) Plate washed

PBST를 well 당 200 $\mu$ l씩 넣으면서 3회 세척

자) Substrate added

각 well에 substrate(OPD)를 well 당 100 $\mu$ l씩 넣고 30분간 반응

차) Stopping buffer added & Result read

각 well 당 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액을 50 $\mu$ l씩 넣어 반응을 정지시킨 후 405nm에서 흡광도(OD)를 측정

## 2) 항체가 검사를 위한 ELISA 항원 농도 및 혈청 희석 농도 결정

가) 항원 농도의 결정

항원	농도	비고
Staph. aureus	10 <sup>10</sup> CFU/ml	0.05M carbonate coating buffer pH9.6
Strep.agalactiae	10 <sup>9</sup> CFU/ml	

나) 혈청 희석 배수의 결정

항원	희석 배수	비고
Staph. aureus	1:500	Phosphate buffer saline
Strep.agalactiae	1:500	

다) Conjugate 농도의 결정

항원	희석배수	비고
Staph. aureus	1:1000	Peroxidase conjugate rabbit anti-bovine IgG(Sigma chemical Co.)
Strep.agalactiae	1:1000	

라) 통계 분석

Biodegradable microsphere 접종군과 대조군에 대한 평균 흡광도 값 Student's t-test로 비교하였다.

라. 백신효과의 판정

백신효과 판정은 백신 접종후 120일간의 유즙검사시 황색포도상구균과 무유연쇄상구균의 검출율을 기준으로 삼았다. 즉 이들 세균의 신규감염이 일어난 경우에는 '효과없음'으로 판정했으며 기존 감염이 사라지거나 신규감염이 일어나지 않은 경우에는 '효과있음'으로 판정하고 이들 결과를  $X^2$ -test를 통해 유의성 검정을 실시하였다.

## 제 3 절 결 과

### 1. DL-PLG 와 BSA 비율에 따른 수율조사



제조공정의 변수	Batch 번호	
	BSA	BSA
사용재료 용량	50mg	50mg
DL_PLG	50:50	85:15
회수량	5.05g	5.05g
수율	1.73g(34.3%)	3.96g(80.0%)

단백질 항원으로 사용된 BSA는 DL-PLGA의 비율중 lactide의 비율을 높일수록 수율은 높은 효과를 보였지만 입자가 커지는 단점을 가지고 있었다. 따라서 백신 항원으로 사용될 경우 일단 탐식구에 의해 탐식이 일어나야 하기 때문에 수율을 높이기 위해 입자의 크기를 높이는 것은 백신항원으로서 적당하지 않을 것이다. 따라서 수율은 낮지만 DL-PLGA의 비율을 50:50이 가장 적당하다고 생각된다.

## 2. DL-PLG와 BSA 비율에 따른 캡슐형성 효과실험

가. Bovine serum albumin-캡슐형성 효과 실험(DL-PLG, 50:50 microsphere)

번호	흡광도	표준흡광도	캡슐형성율
1	0.161	0.656 (0.2mg/100ul)	24.5%
2	0.152		
3	0.170		

나. Bovine serum albumin-캡슐형성 효과 실험(DL-PLG, 85:15 microsphere)

번호	흡광도	표준흡광도	캡슐형성을
1	0.124	0.656 (0.2mg/100ul)	23.4%
2	0.164		
3	0.173		

### 3. BSA 방출실험

가. Bovine serum albumin 방출실험(DL-PLG, 50:50 microsphere)

방출일	흡광도	방출량(%)	
		실험군	대조군
1일	0.089	12.2	1.2
	0.073		
	0.078		
2일	0.077	10.7	1.5
	0.069		
	0.071		
4일	0.090	13.7	1.3
	0.092		
	0.088		
7일	0.111	16.6	1.6
	0.120		
	0.096		
2주일	0.05	7.6	1.2
	0.063		
	0.047		
3주일	0.06	8.5	1.5
	0.059		
	0.05		
4주일	0.126	18.8	1.3
	0.121		
	0.121		

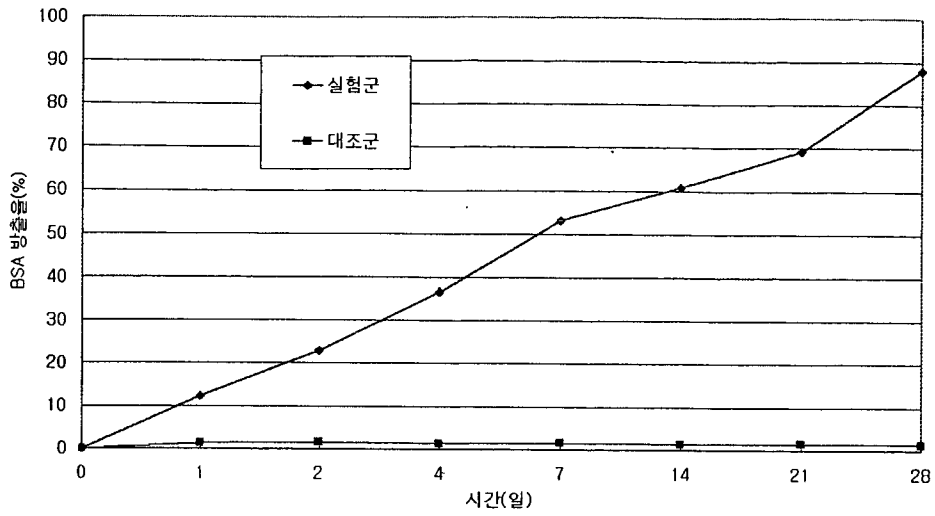


그림 1. DL-PLGA(50:50)을 이용하여 bovine serum albumin을  
내장시킨 PLGA microsphere내 방출 역동학적 변화

나. Bovine serum albumin 방출실험(DL-PLG, 85:15 microsphere)

방출일	흡광도	방출량(%)	
		실험군	대조군
1일	0.090	13.9	1.3
	0.079		
	0.103		
2일	0.072	11.4	1.5
	0.080		
	0.074		
4일	0.094	16.0	1.6
	0.133		
	0.089		
7일	0.115	17.4	1.3
	0.100		
	0.127		
2주일	0.043	8.4	1.4
	0.059		
	0.062		
3주일	0.055	7.6	1.3
	0.006		
	0.044		
4주일	0.115	16.6	1.5
	0.106		
	0.105		

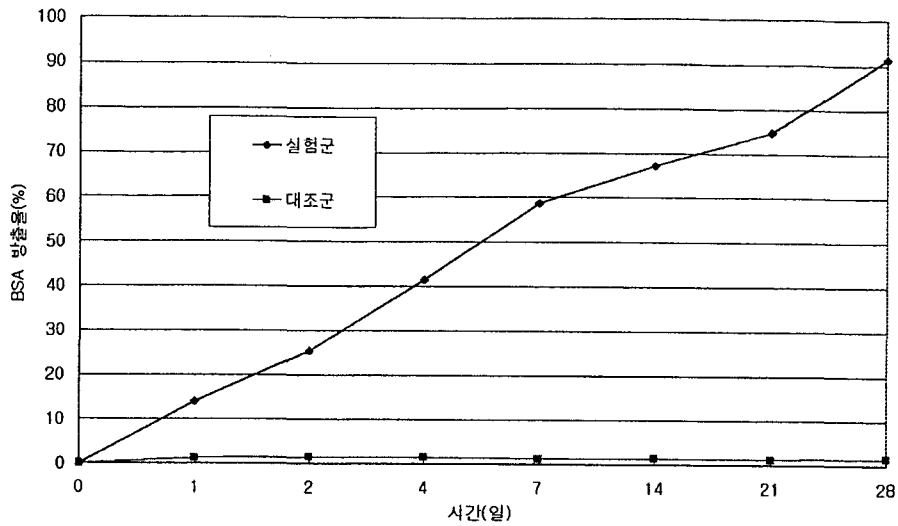


그림 2. DL-PLGA(85:15)를 이용하여 bovine serum albumin을 내장시킨 PLGA microsphere내 방출 역동학적 변화

내장항원(BSA), 항생물질 및 유두침지소독제의 방출실험에서는 BSA를 내장시킨 microsphere의 경우 지속형 서방형 생분해 제제의 제조가 가능할 것으로 생각된다. 본 실험결과로 보아 약 4주간에 방출량이 90%정도에 이르기 때문에 입자의 크기를 좀 증가시키면 4주이상의 방출효과가 있을 것으로 생각된다. 아울러 백신으로 이용할 경우 1차 방출과 2차 방출이 시간을 두고 일어나는 것이 면역반응에 효과적일 것으로 생각되기 때문에 cephalexin이나 베타딘의 실험결과와 유사하게 단백질 방출능을 조절하는 것이 유리할 것으로 생각된다.

#### 4. DL-PLG별로 제조한 microsphere의 광학현미경 촬영

Microsphere의 크기분포측면에서 중요한 점은 DL-PLGA의 비율중 lactide의 비율을 증가시키면 입자의 크기가 증가했으며 1차 캡슐과 2차캡슐을 관찰할 수 있었다. 증류수에 보관할 경우 약 10일 경과후까지 크기와 캡슐형태에 있어 큰 변화는 보이지 않았다. 입자크기에 큰 영향을 주는 것으로는 PVA의 농도를 증가시키면 입자의 크기가 작아지면서 균질화하는 경향을 보였다. 하지만 제조과정상 점도가 너무 증가하여 수율이 낮아지는 단점이 있으며 microsphere의 수확량도 낮아지는 단점을 가지고 있었다.

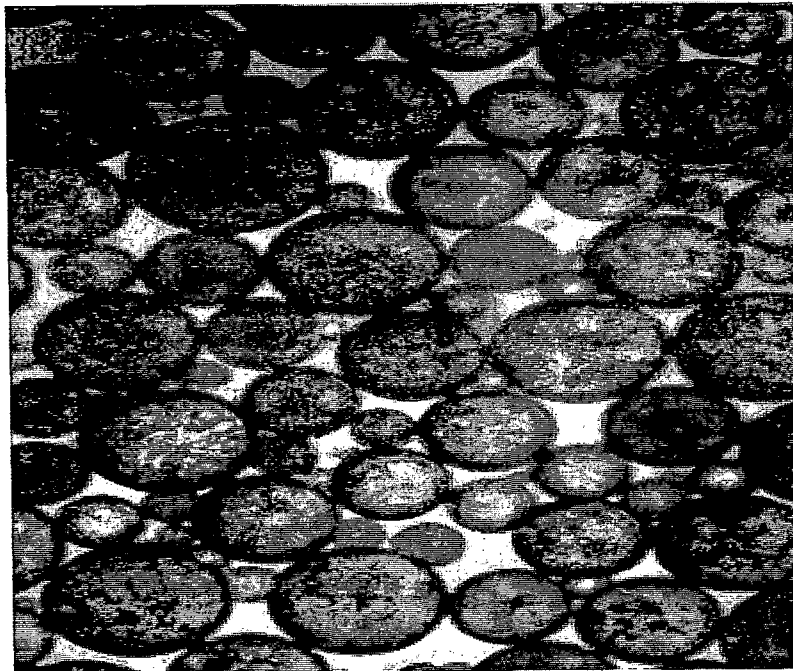


그림 3. PVA 1%와 DL-PLGA microsphere(75:25)를 이용하여 제조후 6일 경과(400배 관찰)



그림 4. PVA 1%와 DL-PLGA(75:25)를 이용하여  
제조후 8일 경과(400배 관찰)

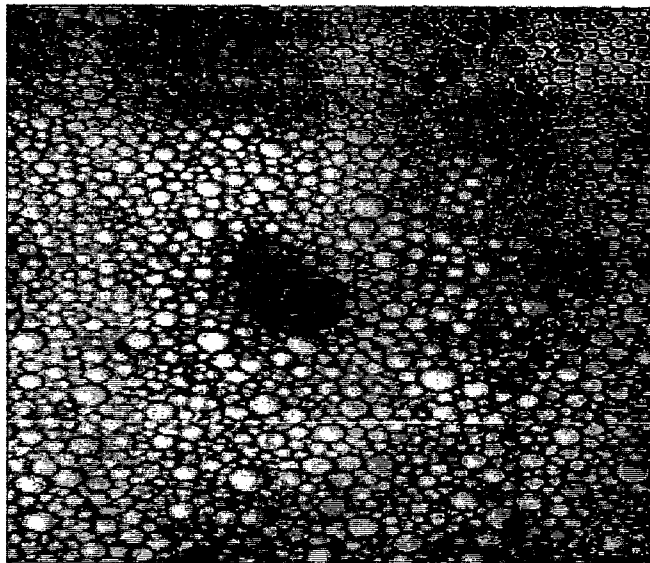


그림 5. PVA 5%를 이용하여 DL-PLGA(75:25)  
제조후 1일 경과(40배 관찰)

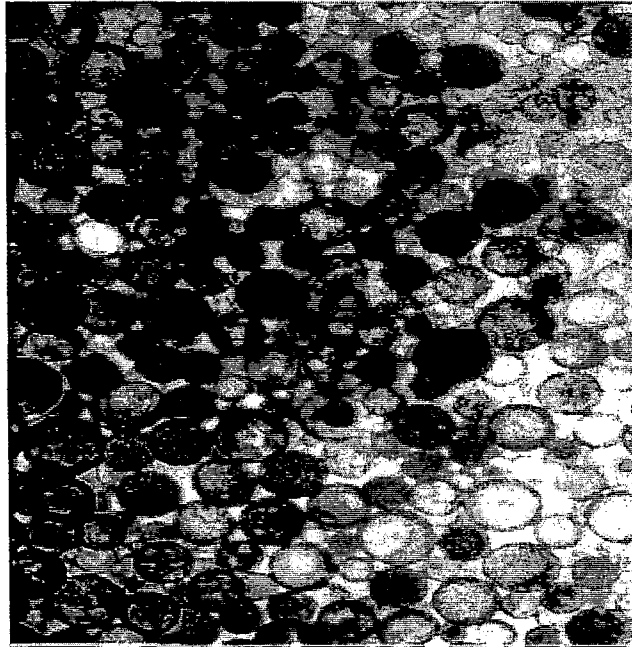


그림 6. PVA 1%를 이용하여 BSA 내장  
microsphere(50:50) 제조후 (100배 촬영)



## 5. DL-PLG별로 제조한 microsphere의 크기 분포

- 가. 단백질을 내장하지 않고 1% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(75:25)를 제조한 8일후 크기분포 (100배 촬영)-그림 7.
- 나. 단백질을 내장하지 않고 5% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(75:25)를 제조한 6일후 크기분포 (100배 촬영)-그림 8.
- 다. 단백질을 내장하지 않고 10% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(75:25)를 제조한 6일후 크기분포 (100배 촬영)-그림 9.
- 라. 단백질을 내장하지 않고 1% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(85:15)를 제조후 37°C 탈수시킨 크기분포 (100배 촬영)-그림 10.
- 마. 단백질을 내장시켜 1% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(50:50)를 제조 2일후 크기분포 (100배 촬영)-그림 11.
- 바. 단백질을 내장시켜 1% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(50:50)를 제조 직후 크기분포 (100배 촬영)-그림 12.
- 사. 단백질을 내장시켜 1% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(50:50)를 탈수 시킨후 크기분포 (100배 촬영)-그림 13.
- 아. 단백질을 내장시켜 1% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(85:15)를 제조 2일후 크기분포 (100배 촬영)-그림 14.
- 자. 단백질을 내장시켜 1% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(50:50)를 37°C로 탈수시키지 않고 증류수에 2일간 방치후 크기분포 (100배 촬영)-그림 15.
- 차. 단백질을 내장시켜 1% Polyvinyl alcohol를 사용하여 DL-PLG(85:15)를 37°C로 탈수시키지 않고 증류수에 2일간 방치후 크기분포 (40배 촬영)-그림 16.

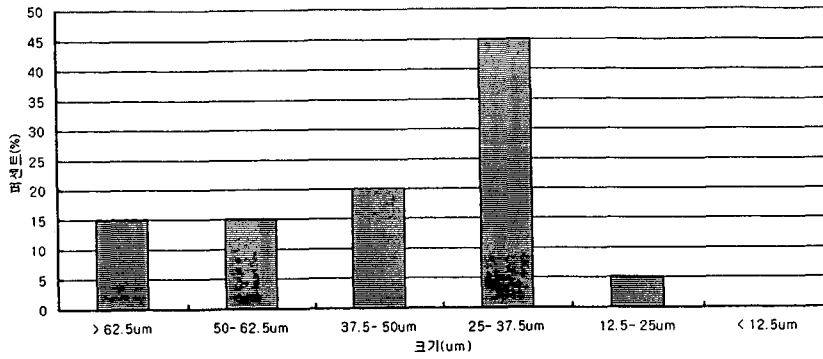


그림 7. 단백질을 내장하지 않고 1% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere(75:25)를 제조한 8일후의 크기분포 (100배 촬영)

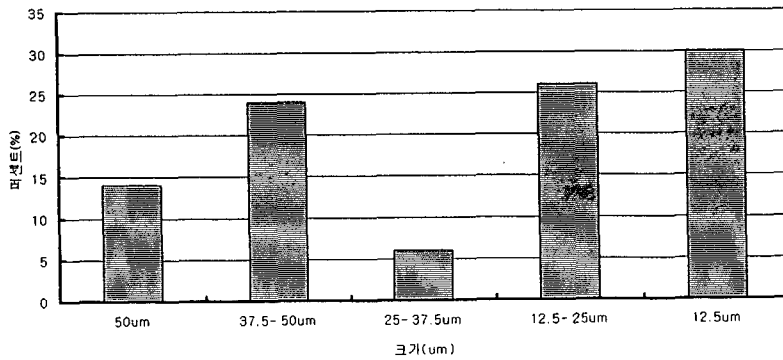


그림 8. 5% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere(75:25)를 제조한 6일후 크기분포(100배 촬영)

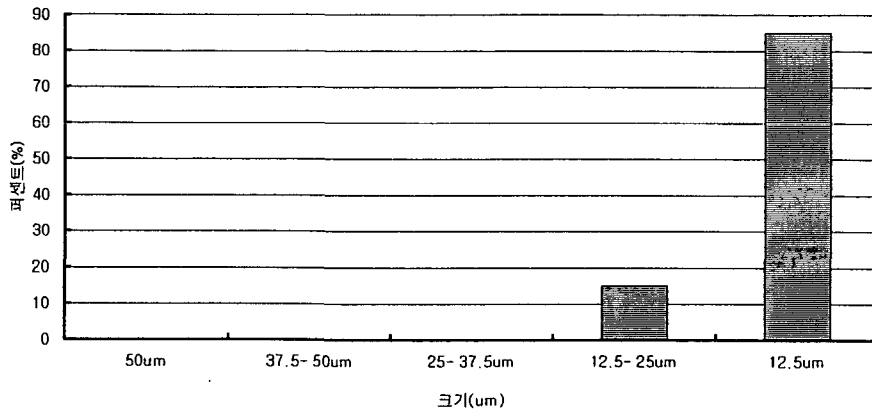


그림 9. 10% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere(75:25)를 제조한 6일후 크기분포(100배 촬영)

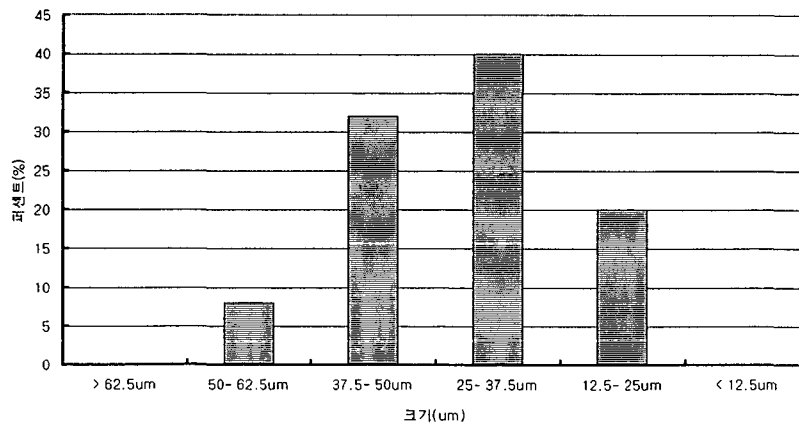


그림 10. 1% PVA를 사용하여 DL-PLGA(85:15)를 제조후 37도로 탈수시킨후 크기분포(100배 촬영)

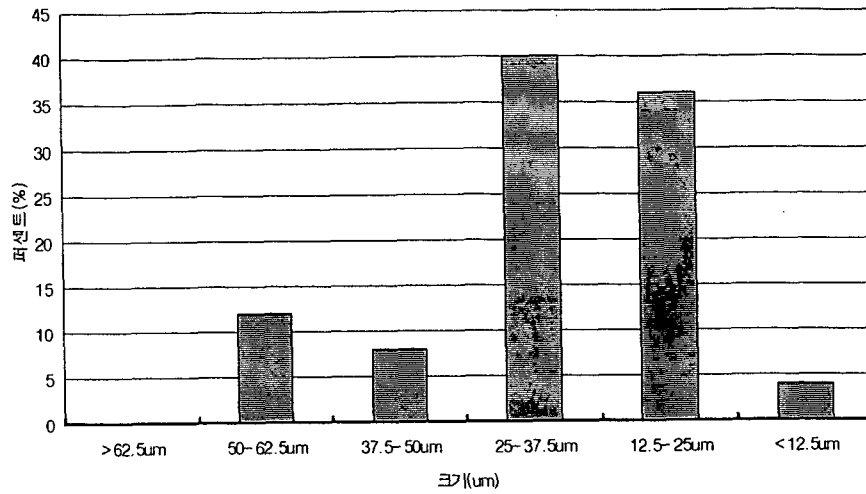


그림 11. 단백질을 1% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere(50:50) 제조 2일후 크기분포(100배 촬영)

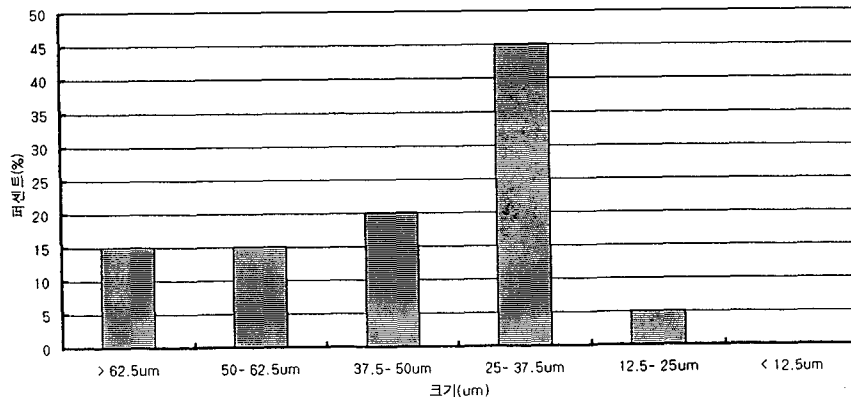


그림 12. 1% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere(50:50)내 단백질을 내장시킨 직후 크기분포(100배 촬영)

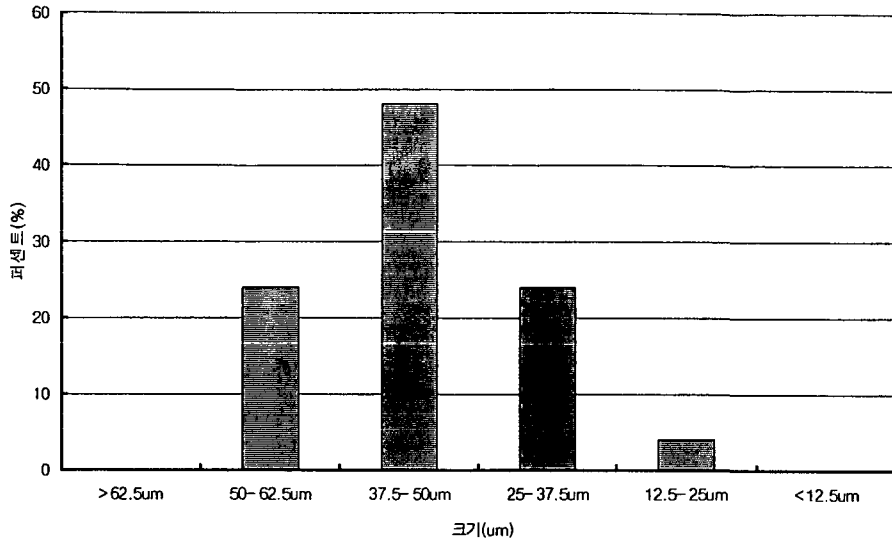


그림 13. 1% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere(50:50) 내에 단백질을 내장시켜 탈수시킨 후 크기분포(100배 촬영)

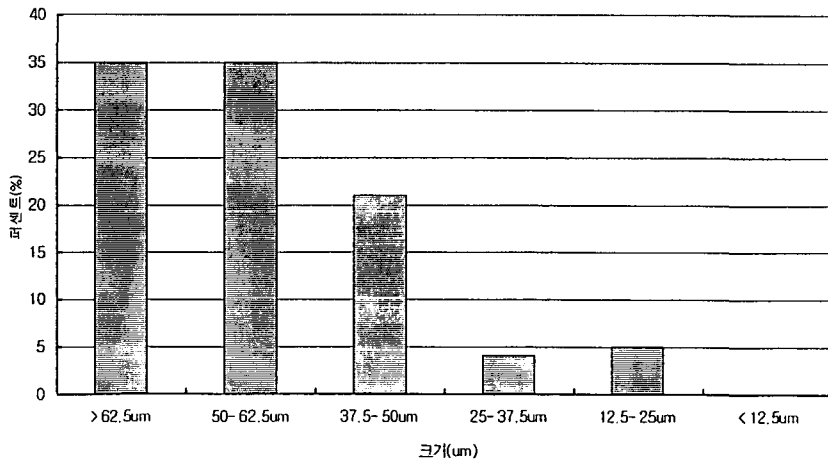


그림 14. 1% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere(85:15)를 제조 2일후 크기분포(100배 촬영)

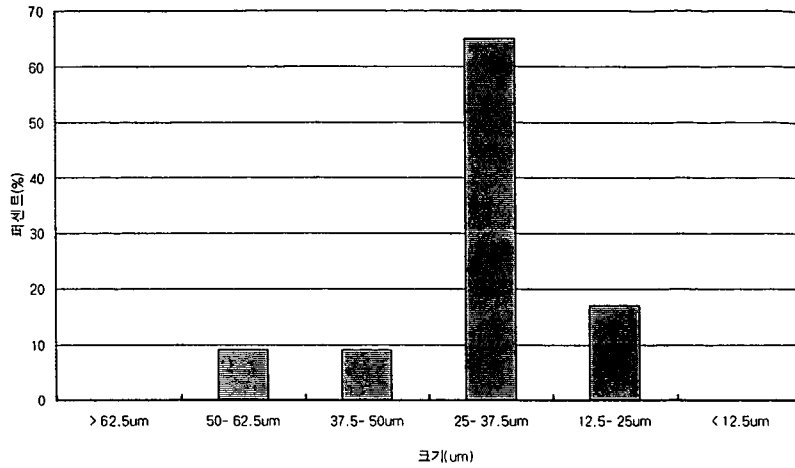


그림 15. 1% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere내에 단백질을 내장시켜 37도로 탈수시키지 않고 증류수에 2일간 방치후 크기분포(100배 촬영)

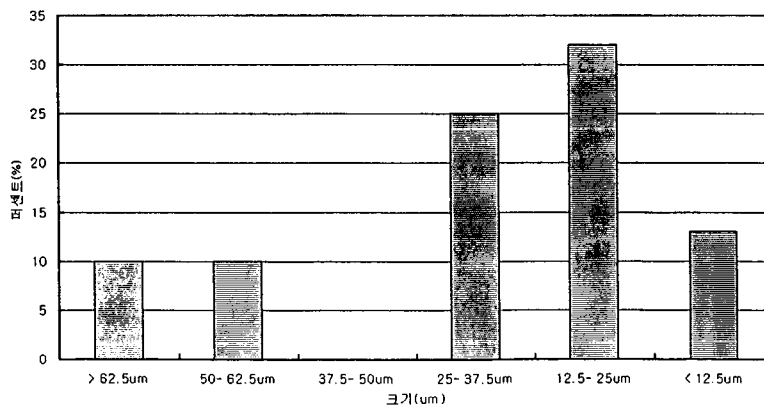


그림 16. 1% PVA를 사용하여 DL-PLGA microsphere(85:15)내에 단백질을 내장시켜 37도로 탈수시키지 않고 증류수에 2일간 방치후 크기분포(40배 촬영)

입자의 크기를 시간경과와 DL-PLGA의 비율 및 PVA의 농도에 따라 분석한 결과 대부분의 microsphere에서 100마이크로미터이내의 상당히 균질화된 것을 얻을 수 있었다.

## 6. 황색포도상구균과 연쇄상구균의 혼합백신 내장 microsphere제조

가. 황색포도상구균과 연쇄상구균 내장 microsphere의 수율조사

총 사용량	황색포도상 구균	1mg	1mg	1mg	1mg
	연쇄상구균	1mg	1mg	1mg	1mg
DL-PLG 비율		85:15	75:25	65:35	50:50
DL-PLG 사용량		8g	8g	8g	8g
총회수량		8.2g	8.2g	8.2g	8.2g
제조수율		6.7g(6.7/8.2%)	7.2g(7.2/8.2%)	6.9g(6.9/8.2%)	5.7g(5.7/8.2%)

나. 크기분석(particle size)

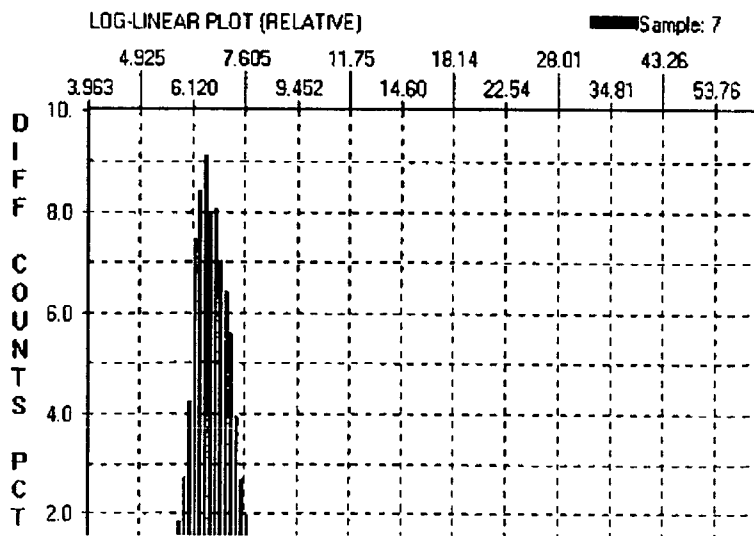


그림 17. DL-PLGA(85:15)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

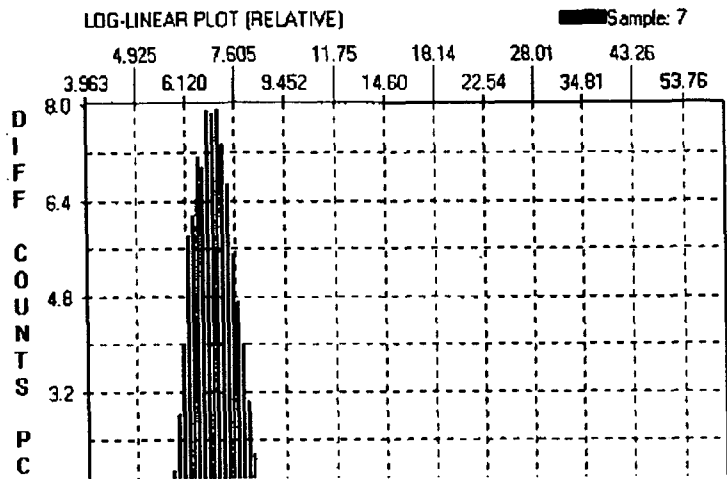


그림 18. DL-PLGA(75:25)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

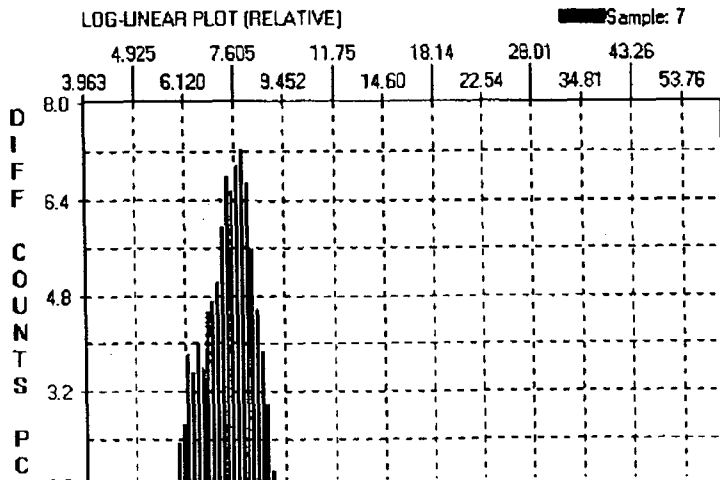


그림 58. DL-PLGA(65:35)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 입자들의 크기 및 균질도 측정



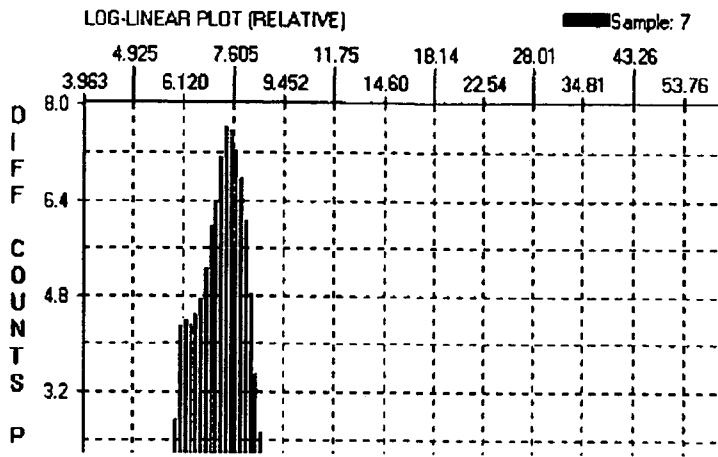


그림 59. DL-PLGA(50:50)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

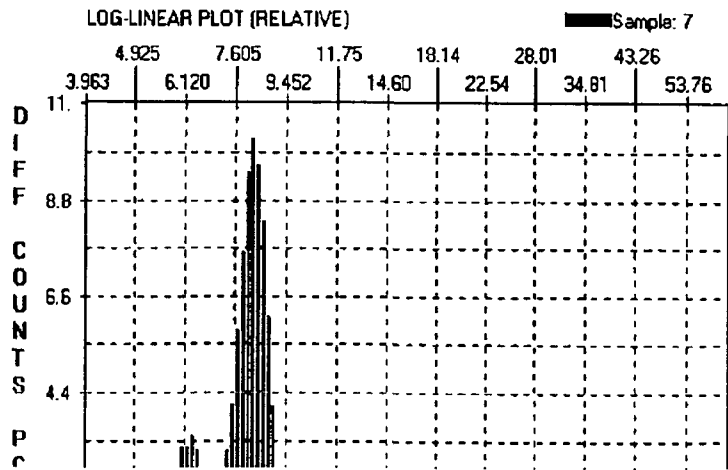


그림 60. DL-PLGA(85:15)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 동결건조후 입자들의 크기 및 균질도 측정

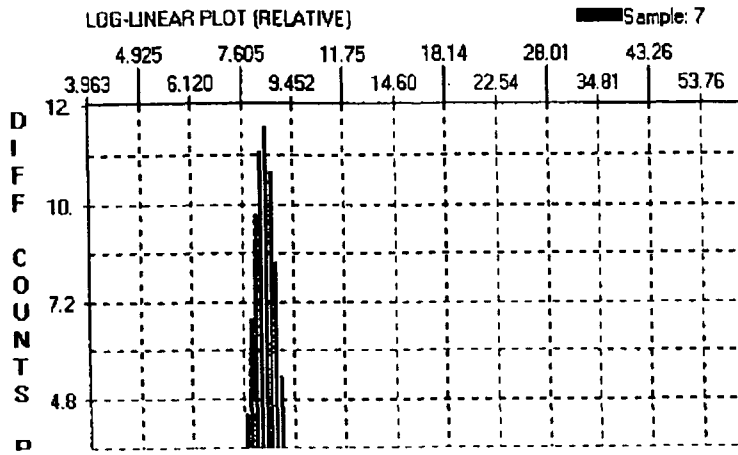


그림 61. DL-PLGA(75:25)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 동결건조 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

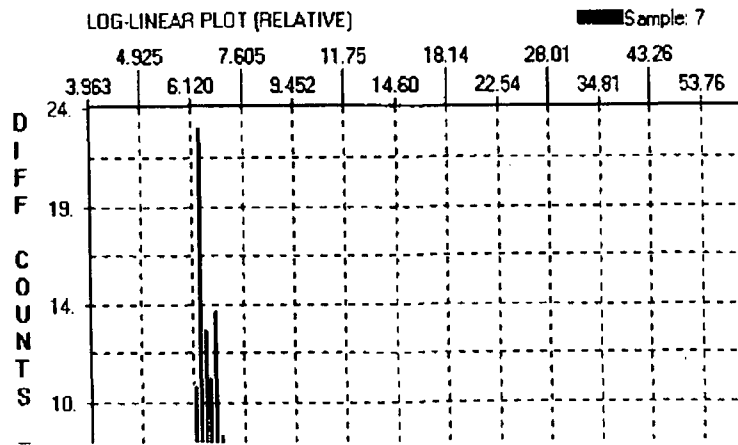


그림 62. DL-PLGA(65:35)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 동결건조 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

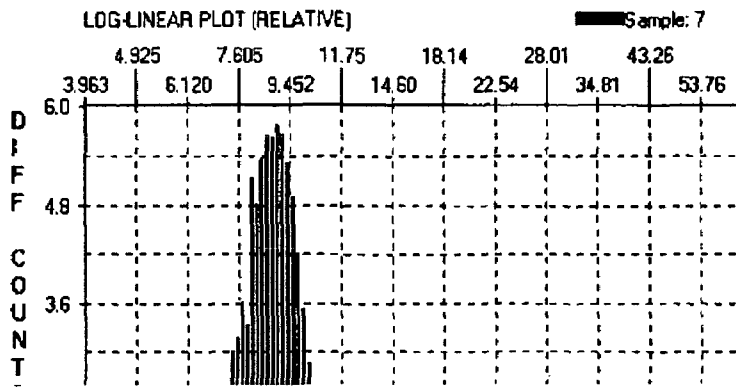


그림 63. DL-PLGA(50:50)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 동결건조 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

다. 전자현미경 촬영조사

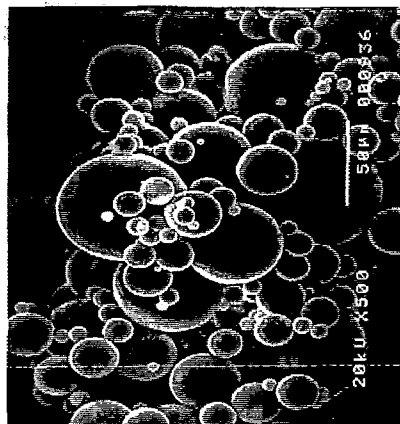


그림 25. DL-PLGA(85:15)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 입자들의 표면 상태, 크기 및 균질도 측정

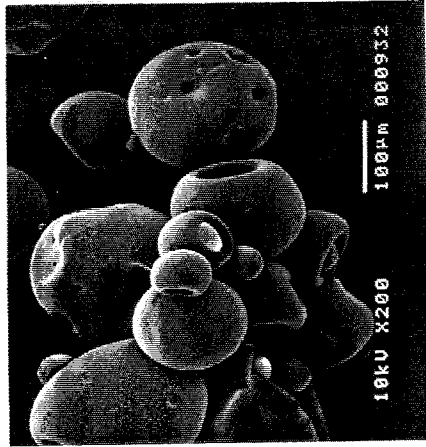


그림 26. DL-PLGA(75:25)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 입자들의 표면 상태, 크기 및 균질도 측정

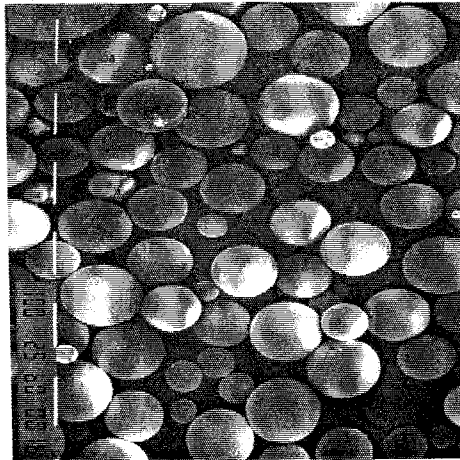


그림 27. DL-PLGA(65:35)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 입자들의 표면 상태, 크기 및 균질도 측정

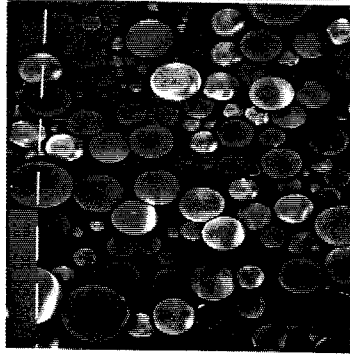


그림 28. DL-PLGA(50:50)에 황색포도상구균과 연쇄상구균의 항원을 내장시킨 후 입자들의 표면 상태, 크기 및 균질도 측정

### 7. Microsphere를 이용한 황색포도상구균과 연쇄상구균 혼합백신의 야외 접종실험

가. 효소면역 항체검사법을 이용한 황색포도상구균과 연쇄상구균에 대한 혈중 항체가 변화

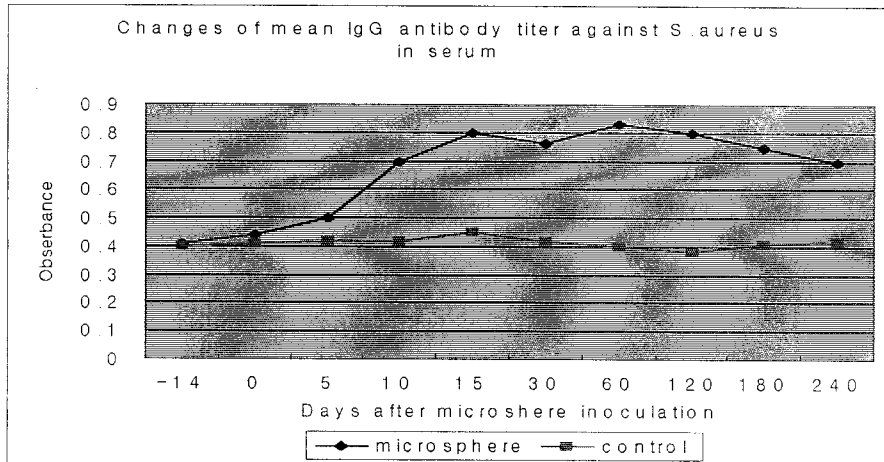


그림 68. *Staphylococcus aureus*에 대한 평균 혈중 IgG 항체가 변화

혼합백신 접종군과 비접종군간의 황색포도상구균에 대한 혈중 평균 IgG 항체가 백신 투여후 10일째부터 접종군의 항체가가 유의하게 높아져 투여 240일까지 지속됨을 확인하였다 ( $p < 0.05$ ).

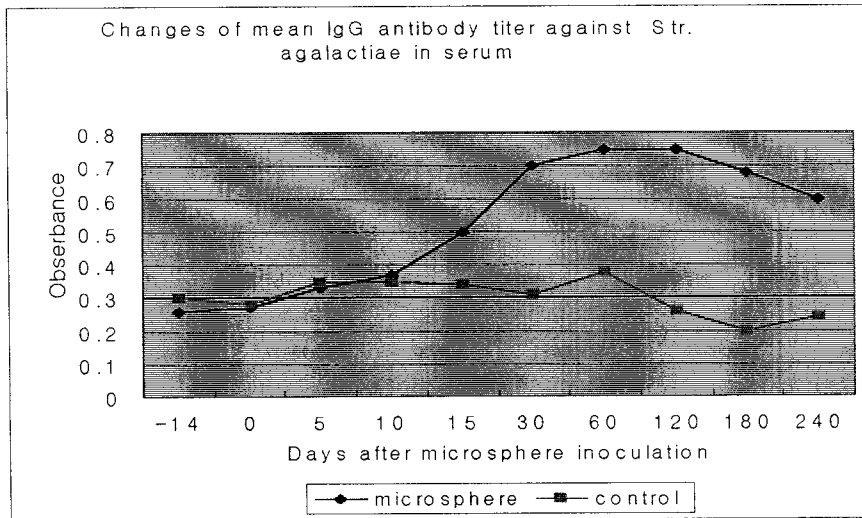


그림 69. *Streptococcus agalactiae*에 대한  
평균 혈중 IgG 항체가변화

혼합백신 접종군과 비접종군간의 무유연쇄상구균에 대한 혈중 평균 IgG 항체가는 백신 투여후 15일째부터 접종군의 항체가가 유의하게 높아져 투여 240일까지 지속됨을 확인하였다 ( $p < 0.05$ ).

나. 혼합백신의 신규감염을 예방효과

총 83두의 332 분방에 대한 혼합백신 투여의 신규감염을 예방효과 검정에서는 유의성있는 효과를 나타내지 못한것으로 분석되었다 ( $p > 0.05$ ).

투여경로	백신효과	
	효과있음	효과없음
피하 (분방 수)	275	5
근육 (분방 수)	51	1

## 제 4 절 고 찰

단백질인 백신항원을 효과적으로 microsphere와 혼합시키기 위한 예비실험으로 실시한 DL-PLG와 BSA 비율에 따른 microsphere의 수율 조사에서는 단백질 항원으로 사용된 BSA는 DL-PLGA의 비율중 lactide의 비율을 높일수록 수율은 높은 효과를 보였지만 입자가 커지는 단점을 가지고 있었다. 따라서 백신항원으로 사용될 경우 일단 탐식구에 의해 탐식이 일어나야 하기 때문에 수율을 높이기 위해 입자의 크기를 높이는 것은 백신항원으로서 적당하지 않을 것으로 보여진다. 따라서 본 실험에서 제시된 바와 같이 수율은 낮지만 DL-PLGA의 비율을 50:50로 정해 microsphere 백신을 제조하는 것이 가장 적당하다고 사료된다.

Microsphere의 크기분포측면에서 중요한 점은 앞서 기술한 바와같이 DL-PLGA의 비율중 lactide의 비율을 증가시키면 입자의 크기가 증가한다는 것으로 이 경우 1차 캡슐과 2차캡슐을 관찰할 수 있었다. 증류수에 보관할 경우 약 10일 경과후까지 크기와 캡슐형태에 있어 큰 변화는 보이지 않았다. 입자크기에 큰 영향을 주는 것으로는 PVA의 농도로 농도를 증가시키면 입자의 크기가 작아지면서 균질화하는 경향을 보였다. 하지만 제조과정상 점도가 너무 증가하여 수율이 낮아지는 단점이 있으며 microsphere의 수확량도 낮아지는 단점을 가지고 있었다.

단백질 내장항원(BSA)의 방출실험에서는 BSA를 내장시킨 microsphere의 경우 분해되는 속도가 꾸준하고 장기간 지속되기에 지속형 서방형 생분해 제제의 제조가 가능할 것으로 생각된다. 본 실험결과로 보아 약 4주간에 방출량이 90%정도에 이르기 때문에 입자의 크기를 좀더 증가시키면 4주이상의 방출효과가 있을 것으로 생각된다. 아울러 백신으로 이용할 경우 1차 방출과 2차 방출이 시간을 두고 일어나는 것이 면역반응에 효과적일 것으로 생각되기 때문에 cephalixin이나 베타딘의 실험결과와 유사하게 단백질 방출능을 조절하는 것이 유리할 것으로 사료된다.

황색포도상구균과 무유연쇄상구균의 정제 항원을 microsphere에 내재시킨 혼합 백신을 건유초기의 젖소에 투여한 결과 혈중 항체가 변화에 있어서는 황색포도상

구균은 접종후 10일째부터 무유연쇄상구균은 접종후 15일째부터 비접종군인 대조군에 비해 유의성 있게 증가되는 양상을 보였다. 이는 기존의 여러 실험단계의 젃소 유방염 백신 투여시 관찰되는 항체가 상승경향과 유사한 경향으로 microsphere 내재 항원이 비교적 시간을 두고 오랫동안 지속적으로 방출된다는 이론에 근거하면 이미 접종후 15일경부터 항체생성에 충분한 양의 항원이 노출된다는 것으로 기존의 부형제를 이용한 백신의 효과와 비교해 항체형성능 면에서는 유사하다고 볼 수 있다. 상승 항체가의 지속기간에 있어서는 관찰 기간인 240일 동안 황색포도상구균과 무유연쇄상구균 모두에서 접종군이 비접종군에 비해 유의하게 높은 수치를 유지해 상당히 오랜기간동안 유지됨을 확인 할 수 있었다. 이는 기존의 실험단계의 젃소 유방염 백신이 항체가를 오랜기간동안 유지하기 위해 첫 접종후 2~3주후에 다시 재접종을 실시해야만 혈중항체가를 높게 유지할 수 있다는 점과 비교하면 microsphere를 이용한 서방형 젃소 유방염 혼합백신은 이러한 재접종 과정을 생략할 수 있다는 점에서 기존의 부형제를 이용한 백신보다 더욱 효과적이라고 볼 수 있다.

총 83두의 332 분방에 대한 혼합백신 투여의 신규감염을 예방효과 검정에서는 유의성있는 효과를 나타내지 못한 것으로 분석되었다 ( $p>0.05$ ). 그러나 이는 혼합백신 접종군과 비접종군을 포함한 실험우군에서 신규감염이나 유방염에 이환된 젃소의 수가 너무 적어 초래된 통계결과 분석으로 해석되어 진다. 그러나 이와 같은 분석은 건유초 접종후 분만후 1주의 가검유즙내에서 이들 균들의 감염율이 매우 낮은 것을 보면 건유기간중 신규 유방감염을 효과적으로 예방하고 있음이 확인되었다. 다만 분만후 1일2회씩 착유하기 때문에 유방내 항체가의 유지가 어렵다는 것을 암시한다. 또한 젃소 유방염 백신 연구에서 공통적으로 당면하고 있는 문제점 중 하나인 혈중항체가의 지속에도 불구하고 실제적으로는 예방효과가 만족스럽지 못한 이유에 대한 추가적인 연구들이 현재 본 실험실과 기타 연구자들에 의해 연구되고 있음으로 이들 문제만 해결된다면 이번 연구결과로 항체가 상승과 지속력이 확인된 microsphere를 이용한 젃소 유방염 혼합백신의 실질적인 유방염 예방효과를 높일 수 있을 것으로 사료된다.



## 제 5 절 결 론

1. 백신항원을 microsphere와 혼합시키기 위한 예비실험인 DL-PLG와 BSA 비율에 따른 microsphere의 수율은 항원으로 사용된 BSA는 DL-PLGA의 비율중 lactide의 비율을 높일수록 수율은 높았지만 입자가 커지는 단점을 가지고 있었다. 따라서 백신항원이 일단 탐식구에 의해 탐식이 일어나야 하기 때문에 수율을 높이기 위해 입자의 크기를 높이는 것은 백신항원으로서 적당하지 않을 것으로 보여진다. 따라서 수율은 낮지만 DL-PLGA의 비율을 50:50보정해 microsphere 백신을 제조하는 것이 가장 적당하다.
2. 황색포도상구균과 무유연쇄상구균의 정제 항원을 microsphere에 내재시킨 혼합백신을 건유초기에 접종한 결과 혈중 항체가는 황색포도상구균이 접종후 10일째부터 무유연쇄상구균은 15일째부터 비접종군에 비해 유의성 있게 증가하였으며 240일동안 지속적으로 높게 유지되어 본 혼합백신이 혈중 항체가의 상승과 지속성이 효과적임을 확인하였다.
3. 야외접종 실험에서 분만후 1주까지는 유의성 있는 신규 유방감염 예방효과가 인정되었다. 그러나 분만후 2주부터 4주까지 혈중항체가는 높았으나 1일 2회 착유로 인한 유즙내 항체가의 물리적 손실로 통계적 유의성이 없었다.  
이상의 결과를 종합해 볼 때 microsphere를 이용한 유방염 혼합백신의 제조시 DL-PLGA 비율은 50:50보정이 권장된다. 본 연구로 조제된 유방염 혼합백신은 건유기 젖소에 접종시 혈중 항체가를 빠른 시간내에 상승시키고 장기간 지속시킬 수 있으나 앞으로 더욱 효과적인 유방염 백신 항원과 유선의 방어기전 연구결과와 본 연구의 결과를 조합해 나간다면 젖소 유방염 백신의 새로운 형태로 이용될 것이라고 사료된다.

## 제 6 절 참 고 문 헌

1. Arthur L, Ney MD, Jorge A, Granja MD, Patricia A, Schuster MD, Dean T, Tsukayama MD, Donald M, Jacobs MD and Melvin P, Bublick MD. The use of Biodegradable Amikacin Microspheres to Prevent Vascular Graft Infection. *Journal of Surgical Research* 1994;57:698-705.
2. Hideshi Natsume, Kenji Sugibayashi, and Yasunori Morimoto. In vitro release profile of mitomycin C from Albumin microspheres: Extrapolation from microspheres to microspheres. *Pharmaceutical Research* 1991;8(2):185-190.
3. Elliot Jacob, George Cierny III, Karen Zorn, James F. McNeill, and Michael T. Fallon. Delayed local treatment of rabbit tibial fracture with biodegradable cefazolin microspheres. *Clinical orthopaedics and related research* 1997;336:278-285.
4. Elliot Jacob, George Cierny, Michael T Fallon, James F. McNeil and George S. Siderys. Evaluation of biodegradable cefazoin sodium microspheres for the prevention of infection in rabbits with experimental open tibial fractures stabilized with internal fixation. *Journal of Orthopaedic Research*. 1993;11:404-411.
5. Jeffrey L. Cleland. Solvent evaporation processes for the production of controlled release biodegradable microsphere formulations for therapeutics and vaccines. *Biotechnol. Prog.* 1998;14(1):102-107.
6. Cleland JL, Langer R. Formulation and delivery of proteins and peptides:

Design and development strategies. In Protein Formulations and Drug Delivery; Cleland JL, Langer R., Eds.; ACS Symposium Series, Vol. 567; American Chemical Society: Washington DC, 1994;1-21.

7. Cleland JL. Protein delivery from biodegradable microspheres. In protein delivery: Physical Systems; Saunders, L., Hendren, W., Eds.; Plenum: New York, 1997;1-43.
8. Cleland JL, Duenas ET, Daugherty AL, Marian M, Yang J, Wilson M, Celniker AC, Shahzamani A, Quarmby V, Chu H, Mukku V, Mac A, Roussakis M, Gillette N, Boyd B, Yeung D, Brooks D, Maa YF, Hsu C, Jones AJS. Recombinant human growth hormone poly(lactide-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres provide a long lasting effect. J Controlled Release 1997;47:135-150.
9. Kissel T, Koneberg R. Injectable biodegradable microspheres for vaccine delivery. In Microparticulate systems for the delivery of proteins and vaccines; Cohen, S., Bernstein, H., Eds.; Dekker: New York, 1996:51-88.

## 제 4 장 건유기전용 유방내 주입제 개발

### 제 1 절 서 술

젖소의 유방감염이 가장 잘 형성되는 시기는 건유직후 7일간, 분만전 7일간, 그리고 분만후 7일간이다. 1일 2회 착유과정을 정지하고 급속건유된 유방에서는 건유후 72시간 까지 유즙합성이 지속되기 때문에 유방내압이 상승하여 유두공을 통한 유즙의 유출을 가끔 보게되며, 비유기 동안에 Staph.aureus 균과 Strep. agalactiae 균과 같은 전염성 원인균에 감염되어 있었던 유방은 유방염증이 악화된다. 그 정도는 경증에서부터 급성임상형까지 다양하다. 경증의 경우는 유선조직의 자연방어 기전인 탐식세포출현과 항체가의 상승으로 대부분이 자연 회복과정을 밟아 치료된다. 그러나 마지막 착유후 소독과정을 거친 유두를 통하여 항생제를 주입한다면 염증 악화를 차단할 수 있다. 오늘날 전 세계적으로 실행되고 있는 젖소 유방염 예방관리 방법은 모든 건유기에 들어가는 젖소의 모든 젖꼭지에 건유기 전용 항생제를 주입하는 방법을 채택하여 왔고 이 방법은 확실한 유방염 예방효과가 있다. 그러나 유방내 주입된 항생제의 살균효과가 대부분 10일 미만이다. 어떤 방법으로 유방에 주입된 항생제가 유선조직의 퇴축이 완전히 끝나는 3주간이 지날 때까지 유방내에서 살균효과를 지속할 수 있다면 기존에 감염된 원인균을 완전히 박멸할 수 있게 된다. 또한 건유직후 7일 동안에 유두공을 통하여 침입성이 가장 큰 환경성 원인균도 죽일 수 있을 것이다.

이 연구는 건유일에 유방으로 주입된 항생제가 최소한 3주이상 유방내에서 살균효과를 발휘하도록 고안된 서방형 건유기 약을 제조하고 그 임상효능을 평가하고자 시도되었다.

### 제 2 절 재 료 및 방 법

실험실 내 과정을 거쳐서 제조된 생분해 microsphere 내 함유된 항생제 주입제를 건유 당일에 유방 내로 주입하고 분만 후에 대조군과 비교하여 과연 건유기 치료 효과가 어느 정도인가를 확인하기 위한 다양한 현장 및 실험실 검사가 실시 되었다.

## 1. Biodegradable microsphere내 항생제 내장실험

가. 새로운 감수성 약제선발 및 Biodegradable microsphere내 항생제 내장

- 제 2장에서 이미 설명한 방법과 동일하게 제조한 microsphere내에 즉, 100mg의 Poly-(DL-Lactide-co-glycolide) microsphere에 ceftiofur, cephalirin, cefazolin, iodine, chlorhexidine을 carboxymethyl cellulose 0.2ml에 재부유시켜 제조

나. 실험계획

- 4군데 목장의 90마리 건유기 홀스타인 젖소를 항생제 혼합치료군과 단독 항생제 치료군 및 PBS투여 대조군으로 각 10마리씩 선발
- Linear score 5이상이며 S. aureus감염분방이 20%이상인 우군선발
- 건유기간이 30일 이내이거나 100일 이상인 우군은 실험에서 제외
- 질병으로 인해 분만 21일 이내에 유즙채취가 안되거나 유산, 도태, 폐사 등으로 인해 실험의 진행이 곤란한 경우 제외
- 대조군은 10ml의 PBS주입
- 주입전 70% 알콜솜으로 멸균시키며 분만 후까지 유즙 채취 또는 치료하지 않음
- 건유전 3주와 1주전 그리고 건유시에 모든 소의 모든 분방 유즙 채취하여 검사
- 분만 후 1주간격으로 3회 채취검사
- 균분리는 Gram negative bacillus(coliforms 포함), streptococcus agalactia, streptococcus spp. staphylococcus aureus, corynebacterium spp 또는 CNS(coagulase-negative staphylococci)

- 3종류 이상의 세균분리가 이루어지면 오염으로 간주
- 목부와 수의사는 건유후 3일간 건강검진하고 축진으로 분방상태 기록
- 나머지 건유기간 및 분만후의 건강기록(유산포함)

#### 다. IMI와 치료의 정의

- 건유전 3차례 검사중 2차례 양성이면 IMI로 간주
- S aureus IMI는 3번 검사중 1회양성도 양성으로 간주
- 세균치료결과는 건유시 IMI가 있는 분방이 분만시 음성일 경우 치료되었다고 판정
- 치료율은 건유시 감염양성분방수를 치료분방수로 나누어 계산
- 신규 IMI는 건유시 세균학적으로 음성이었던 모든 분방을 분만 후 양성 분방수로 나누어 계산

#### 라. 유즙채취 및 실험실 검사

- 분만 후 3개월간 매 2주간격으로 모든 소의 모든 분방의 유즙을 채취하고 이후 30일 간격으로 검사
- 5 $\mu$ l의 유즙은 7.5%(v/v) sheep blood agar에서 37 $^{\circ}$ C, 40시간 배양
- 균집락의 수와 형태 그리고 용혈능검사
- G(+)는 catalase검사
- Staphylococcus aureus, Staphylococcus spp는 coagulase검사와 Streptococcus spp는 CAMP assay 검사
- SCC검사
- 산유량과 유지방의 월별자료 기록

#### 마. 유방염 진단

- 임상형 유방염은 Staph. aureus 또는 Strep. spp가 유즙에서 1차원인균으로 존재하고 체세포수가 높은 경우(>2.4 $\times 10^5$  cells/ml)
- 잠복감염은 SCC증가없이 원인균이 분리된 경우

#### 바. 통계분석

- IMI분석은 Fisher's exact test로 검정

## 2. 연구수행내용

가. Biodegradable microsphere에 내장된 항생제를 이용한 건유기 병용 치료

1) 생분해 microsphere의 제조

가) 항생제가 내장된 microsphere제조과정

DL-PLG(65:35)	2.5g
DCM	50ml
First emulsion speed	15,000RPM/5min
Cephalexin	200mg/증류수 2ml
Second emulsion speed	15,000RPM/5min
PVA (%)	1%
Stirring rate	200 RPM
Solvent evaporation	8 Hours
Volume	DW 2L
Drying time	37°C, Overnight

나) 항생제의 microsphere내 내장을 실험

10mg microsphere/1.0ml의 0.1M Sodium hydroxide/5% sodium dodecyl sulfate (SDS)를 이용하여 소화시킴

↓

녹지않으면 hot plate bath(50°C)에서 용해시킴

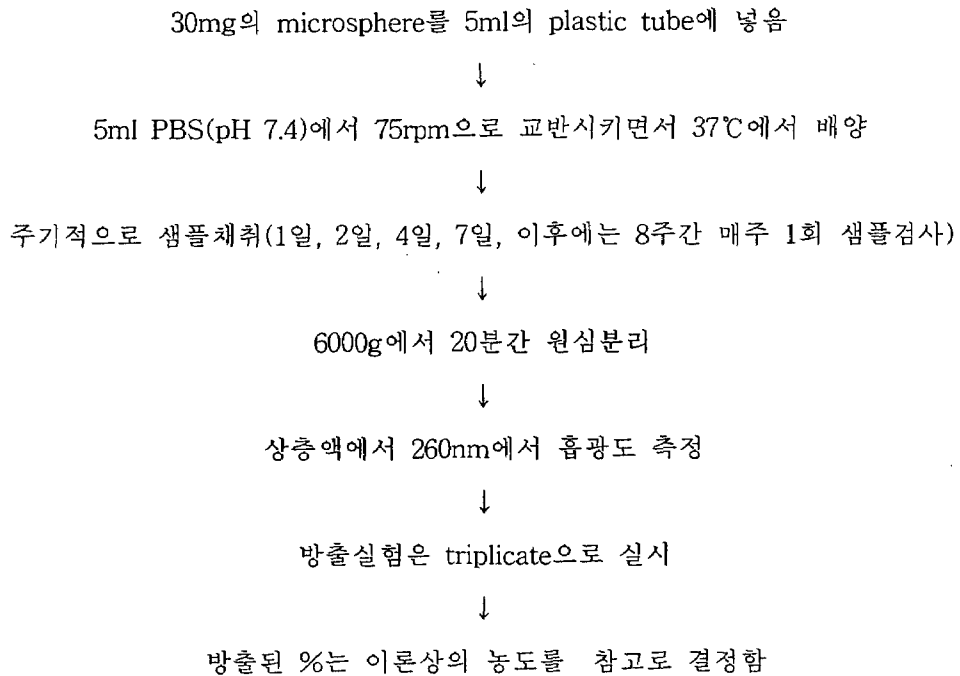
↓

3000rpm으로 10분간 원심분리후 상층액 사용

↓

100 $\mu$ l를 이용하여 항생제량 및 유두침지소독제의 양을 결정

다) 항생제내장 생분해 microsphere의 방출실험 과정



2) 유방염 원인균에 대한 감수성 약제선발



항생제 종류	A 목장	항생제 종류	B 목장
겐타마이신(감수성)	95%	테트라사이클린(저항성)	15%
페니실린(저항성)	92%	스트렙토마이신(저항성)	73%
트리메토프림설파(감수성)	73%	노보바이오신(감수성)	92%
스트렙토마이신(감수성)	15%	겐타마이신(저항성)	17%
세파렉신(감수성)	97%	페니실린(저항성)	83%
테트라사이클린(감수성)	35%	트리메토프림설파(감수성)	86%
		세파렉신(저항성)	12%
항생제 종류	C 목장	항생제 종류	D 목장
트리메토프림설파(감수성)	47%	겐타마이신(저항성)	7%
겐타마이신(저항성)	17%	테트라사이클린(저항성)	86%
테트라사이클린(저항성)	72%	세팔렉신(저항성)	3%
스트렙토마이신(감수성)	18%	스트렙토마이신(감수성)	12%
노보바이오신(저항성)	5%	페니실린(저항성)	86%
겐타마이신(저항성)	21%	트리메토프림설파(감수성)	68%
페니실린(저항성)	71%	노보바이오신(감수성)	92%
세팔렉신(감수성)	87%		
항생제 종류	E 목장	항생제 종류	F 목장
스트렙토마이신(감수성)	14%	노보바이오신(감수성)	89%
테트라사이클린(저항성)	92%	겐타마이신(저항성)	23%
페니실린(저항성)	88%	트리메토프림설파(저항)	69%
세팔렉신(저항성)	16%	세팔렉신(감수성)	91%
노보바이오신(저항성)	18%	페니실린(저항성)	90%
트리메토프림설파(저항성)	47%	테트라사이클린(저항성)	78%
겐타마이신(저항성)	26%	스트렙토마이신(저항성)	69%

항생제 종류	G 목장	항생제 종류	H 목장
겐타마이신(저항성)	46%	테트라사이클린(감수성)	13%
페니실린(저항성)	85%	스트렙토마이신(감수성)	10%
트리메토프림설파(저항성)	68%	노보바이오신(저항성)	8%
스트렙토마이신(저항성)	93%	겐타마이신(감수성)	54%
세파렉신(감수성)	80%	페니실린(감수성)	9%
테트라사이클린(저항성)	91%	트리메토프림설파(감수성)	52%
노보바이오신(저항성)	14%	세파렉신(저항성)	8%
항생제 종류	I 목장	항생제 종류	J 목장
트리메토프림설파(저항성)	44%	겐타마이신(저항성)	41%
겐타마이신(저항성)	24%	테트라사이클린(저항성)	80%
테트라사이클린(저항성)	62%	세팔렉신(저항성)	24%
스트렙토마이신(저항성)	81%	스트렙토마이신(저항성)	81%
노보바이오신(저항성)	11%	페니실린(저항성)	72%
설파메타딘(저항성)	70%	트리메토프림설파(감수성)	44%
페니실린(저항성)	72%	노보바이오신(저항성)	12%
세팔렉신(저항성)	11%	엔로프록사신	26%
항생제 종류	K 목장	항생제 종류	HI 목장
스트렙토마이신(감수성)	12%	페니실린(저항성)	98.8%
테트라사이클린(저항성)	71%	스트렙토마이신(저항성)	100%
페니실린(저항성)	83%	겐타마이신(저항성)	62%
세팔렉신(감수성)	19%	세파렉신(저항성)	68%
노보바이오신(저항성)	17%	설파메타딘(저항성)	89%
트리메토프림설파(저항성)	48%	테트라사이클린(저항성)	99%
겐타마이신(감수성)	57%	엔로프록사신(저항성)	42%
항생제 종류	TS 목장	항생제 종류	TS 목장
페니실린(저항성)	98%	겐타마이신(저항성)	41%
엠펜실린(저항성)	72%	설파메타딘(저항성)	77%
세파렉신(저항성)	80%		
엔로프록사신(저항성)	32%		
스트렙토마이신(저항성)	98%		
테트라사이클린(저항성)	84%		

### 제 3 절 결 과

#### 1. Biodegradable microsphere내 항생제 내장을 실험

가. 항생제 내장 microsphere의 수율조사

Cephalexin 사용량	600mg	600mg	600mg	600mg
DL-PLG 비율	85:15	75:25	65:35	50:50
DL-PLG 사용량	7.5g	7.5g	7.5g	7.5g
총회수량	8.1g	8.1g	8.1g	8.1g
제조 수율	7.0g(7.0/8.1%)	6.7g(6.7/8.1%)	7.3g(7.3/8.1%)	6.2g(7.3/8.1%)

나. Cephalexin-캡슐형성 효과 실험(DL-PLG, 65:35 microsphere)

번호	흡광도	표준흡광도	조제액
1	0.479	0.668 (5mg/1ml)	74.2%
2	0.382		
3	0.626		

다. 크기분석(particle size)

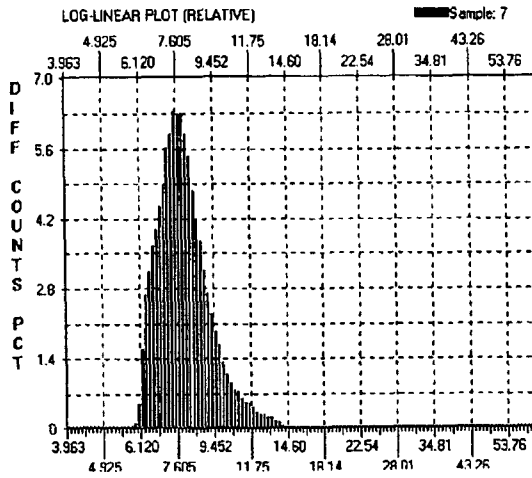


그림 1. DL-PLGA(85:15)에 항생제를 내장시킨 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

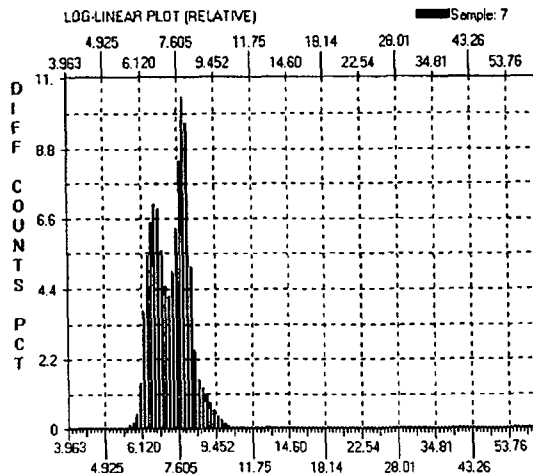


그림 2. DL-PLGA(75:25)에 항생제를 내장시킨 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

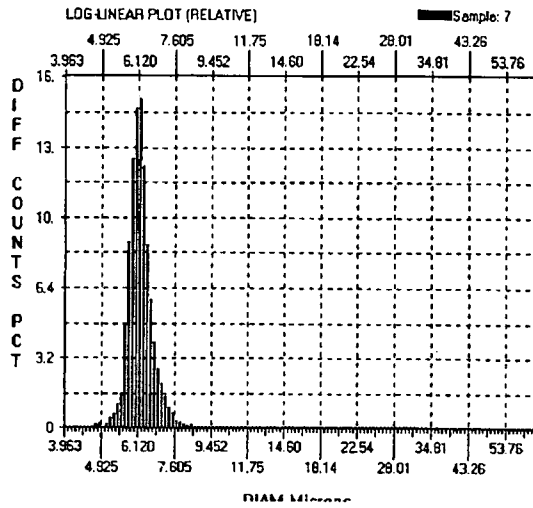


그림 3. DL-PLGA(65:35)에 항생제를 내장시킨 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

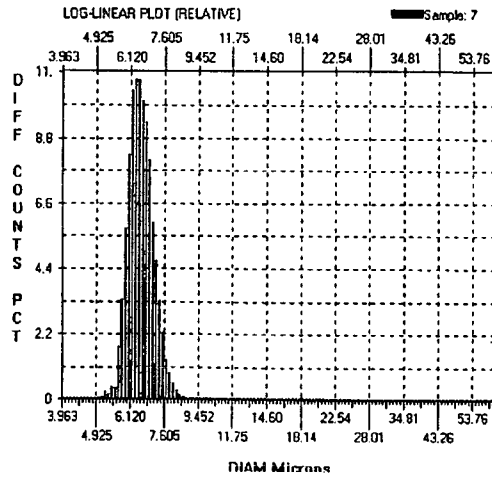


그림 4. DL-PLGA(50:50)에 항생제를 내장시킨 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

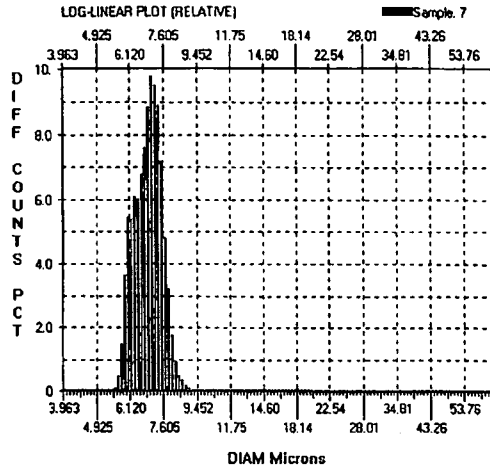


그림 5. DL-PLGA(85:15)에 항생제를 내장시킨 후 동결건조 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

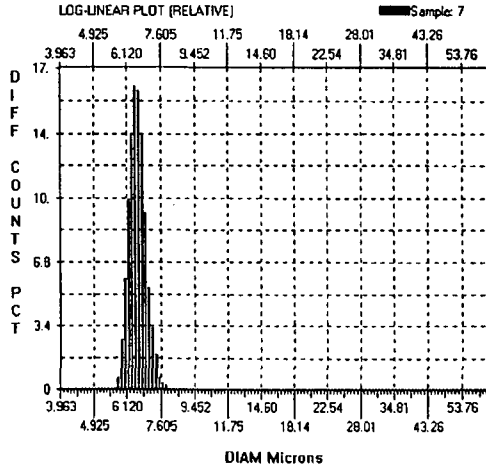


그림 6. DL-PLGA(75:25)에 항생제를 내장시킨 후 동결건조 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

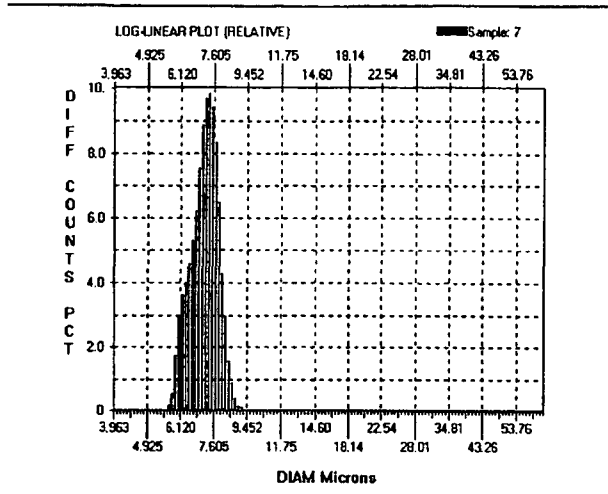
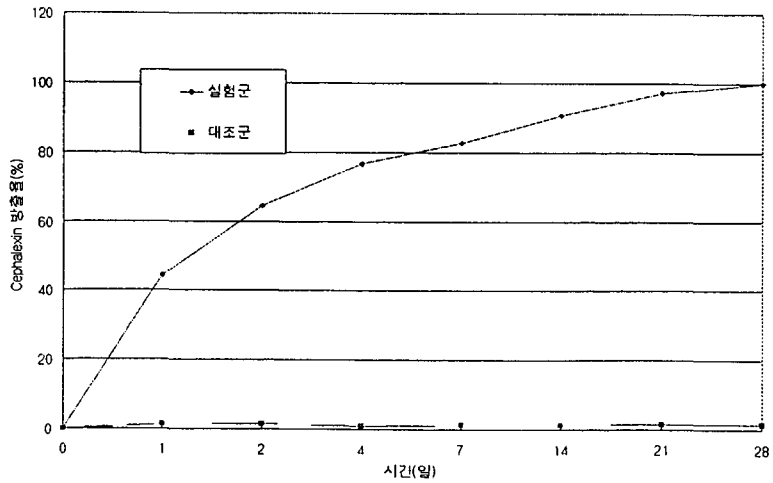


그림 7. DL-PLGA(65:35)에 항생제를 내장시킨 후 동결건조 후 입자들의 크기 및 균질도 측정

라. DL-PLGA(65:35)을 이용하여 Cephalexin 항생제를 내장시킨 microsphere 내 방출 역동학적인 변화



마. DL-PLGA(65:35)을 이용하여 Cephalexin 항생제 방출 실험

방출일	흡광도	방출량(%)	
		실험 군	대조 군
1일	0.119	40.4	1.3
	0.145		
	0.093		
2일	0.047	20.1	1.5
	0.045		
	0.069		
4일	0.031	12.3	1.1
	0.034		
	0.033		
7일	0.016	6.0	1.4
	0.014		
	0.017		
2주일	0.035	7.8	1.3
	0.014		
	0.014		
3주일	0.012	6.7	1.5
	0.011		
	0.031		
4주일	0.118	6.7	1.7
	0.169		
	0.122		



바. 전자 현미경 촬영 사진으로 본 표면구조

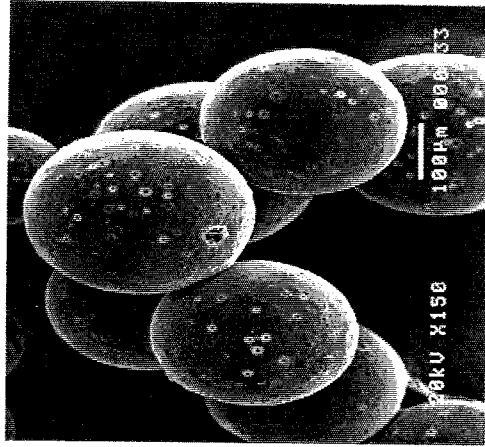


그림 1. DL-PLGA(85:15)에 항생제를 내장시킨 후 입자들의 표면 상태, 크기 및 균질도 측정

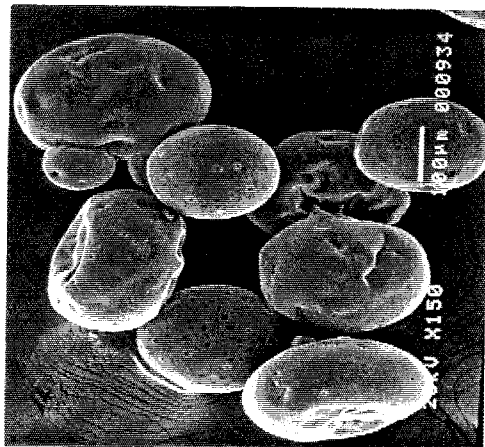


그림 2. DL-PLGA(75:25)에 항생제를 내장시킨 후 표면 상태, 크기 및 균질도 측정

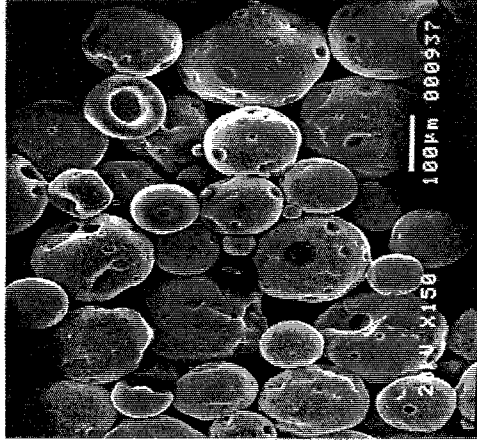


그림 3. DL-PLGA(65:35)에 항생제를 내장시킨 후 표면상태, 크기 및 균질도 측정

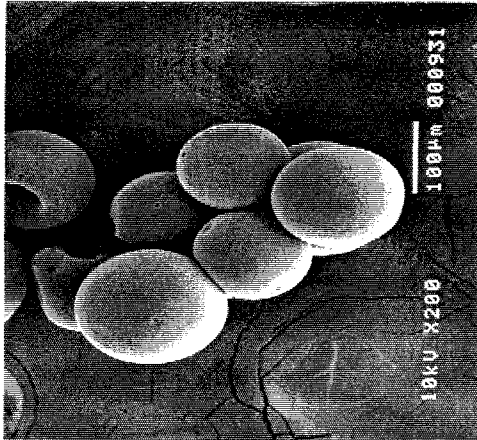


그림 4. DL-PLGA(50:50)에 항생제를 내장시킨 후 표면 상태, 크기 및 균질도 측정

## 2. 목장 현장 적용 시험 성적

### 가. 생분해 Microsphere 건유기 유방 주입제 치료 시험

#### 통계 분석

- 1) 혼합 항생제 투여군, 단독 항생제 투여군, 대조군의 세 그룹별 약효에 대한 효과의 유의성을 검정하기 위해 카이제곱 테스트를 실시한 결과 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. ( $p=0.025$ )

표1. 세균감염기준으로 판정한 실험군간의 건유기 유방감염 예방효과

		EFFECT		TOTAL
		효과있음	효과없음	
GROUP	혼합항생제	40		40
	단독항생제	39	1	40
	대조군	35	5	40
TOTAL		114	6	120

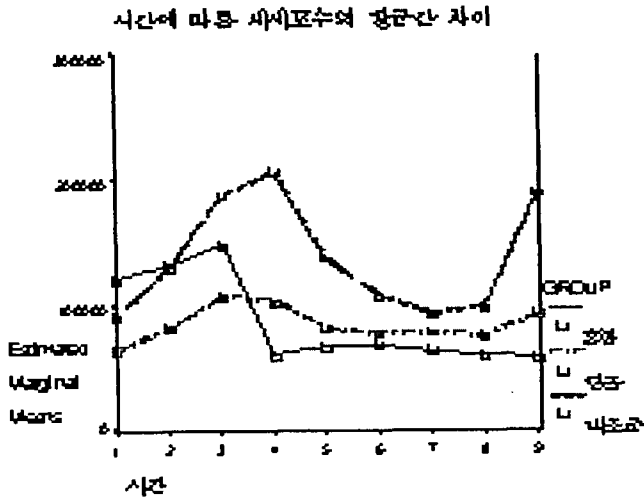
- 2) 혼합 항생제 투여군, 단독 항생제 투여군, 대조군의 체세포 수 차이에 대한 유의성 검정을 하기 위해 카이제곱 테스트를 실시한 결과 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. ( $p=0.044$ ) 체세포 수는 25만 이상인 군과 25만 미만인 군으로 구분하였다.

표2. 체세포 기준으로 판정한 실험군간의 효과비교

		체세포수		TOTAL
		효과있음	효과없음	
GROUP	혼합항생제	35	1	36
	단독항생제	25	3	28
	대조군	29	8	37
TOTAL		89	12	101

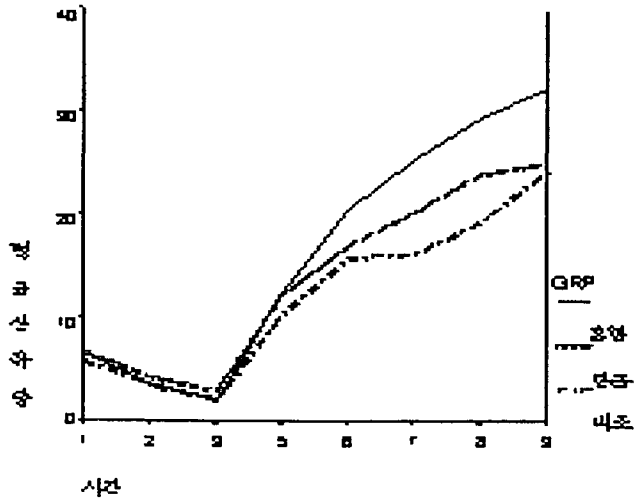
3) 그룹간의 유의성은  $p=0.065$ 로 유의수준 5%에선 유의하게 나오지 않았으나 이러한 사실은 세균에 대한 부분을 고려하지 않은 결과로 보여지며, 다중비교 결과(LSD)는 혼합 항생제군과 대조군에서 체세포수 평균간 차이가 있음을 알 수 있다. 시간의 경과에 따른 전반적인 추세는 그림과 같다.

표3. 전유기약 주입후 시간에 따른 체세포수 비교



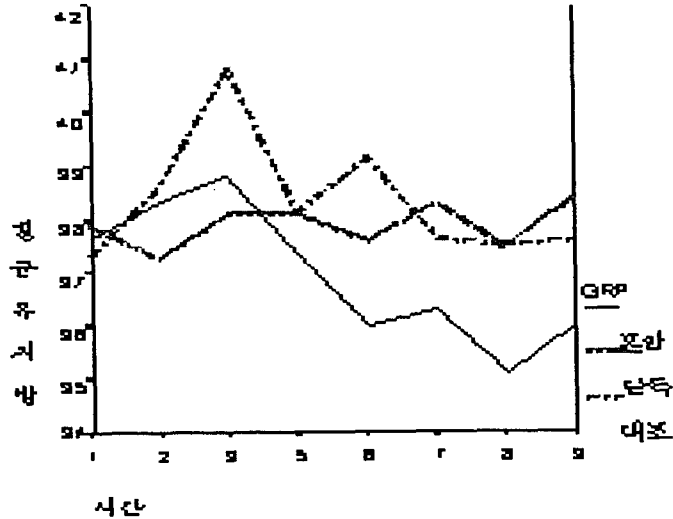
4) 산유량의 평균을 건유 전 3주에서 분만 후 2개월(1-9차)까지 그래프를 통해 살펴보았다. 분만 후 2개월까지 전반적인 증가 양상을 보였음을 알 수 있다.

표4. 건유기 전용약 주입이 평균 산유량에 미친 효과 비교



- 5) 유지방의 평균을 건유 전 3주에서 분만 후 2개월까지 그래프를 통해 살펴 보았다. 혼합 항생제 주입군은 유지방이 분만 후에 전반적으로 낮아졌으며 단독 항생제 주입군은 큰 차이를 보이지 않았다.

표5. 건유기전용약 주입후 평균유지방%에 미친 효과 비교



#### 제 4 절 고 찰

이 연구의 목적은 건유초일에 1회 주입한 항생제가 유방염에서 최소한 3주이상 살균효과를 얻고자 시도되었다. 내량기술에서는 D,L-PLGA의 조합비율에 따라 크기가 다르게 분포하였다. 본 연구에서는 DL-PLGA의 비율을 85:15, 75:25, 65:35 및 50:50으로 조정하고 이 비율과 관련성이 높은 PVA를 일정하게 1%로 제조하였다. 그 결과 lactide의 비율을 증가시키면 증가시킬수록 생분해 microspher의 직경이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 lactide와 glycolide의 비율을 일정하게 하고 PVA의 비율을 달리 할 경우 10%에서는 균질하지만 작고 항생제 내장율이 있어 다른 1%와 5%의 사용할 때보다 우수하지 못하였다. 또한 2차 이멀전 형성 시 너무 점도가 높기 때문에 10%의 PVA를 이용하고자 할 경우 항생제 내장율이 낮을 뿐만 아니라

고가의 항생제가 손실될 가능성이 많아 현실화하기는 어렵다고 생각된다. 하지만 크기면에서 PVA의 비율을 증가시킬수록 microsphere의 크기가 증가됨을 알 수 있었다.

Jacob 등은 개방창의 감염실험에서 생분해 microsphere를 이용해 cefazolin sodium을 내장시켜 8주간 관찰한 바에 의하면 황색포도상구균의 창상부위 감염이 대조군에 비해 훨씬 감소하였으며 이러한 서방형 cefazolin microsphere가 개방창 감염시 장기간 방출되기 때문에 1회 항생제 주사로 이러한 감염을 극복할 수 있다고 한 것은 본 실험을 통해 확인되었다. 본 실험에서 제조한 cephalixin microsphere의 방출기간은 5주정도 였으므로 건유 기간이 두 달인 점을 감안할 경우 좀더 크기가 큰 생분해 microsphere를 제조하여 유방내 방출기간을 조절할 수 있으며 또한 내장할 수 있는 항생물질의 양을 쉽게 조절 가능하다고 생각된다.

또한 본 실험에서는 PLGA의 비율을 65:35로 하고 polyvinyl alcohol(이하 PVA)을 1%로 할 경우 microsphere의 크기는 모두 100마이크로미터이하의 직경을 보였다. 이러한 결과는 PLGA의 비율을 50:50으로 조정하여 제작한 크기가 125-1,000마이크로미터의 직경을 보인 Jacob 등의 연구결과는 본 저자가 제작한 microsphere보다 큰 microshere가 제작된 것이다. 이는 microsphere의 제조과정에서 필요한 여러 가지 변수의 차이에서 비롯된 것이라고 생각된다. 특히 polyvinyl alcohol을 본인의 경우 1%를 사용하였지만 Jacob 등은 10%를 사용하여 본인이 제작한 microsphere보다 직경이 큰 것이 생산되었다고 생각된다. core-loading dose의 경우 본 연구에서는 83%를 보인 반면 14.5%의 낮은 내장율을 보였다. 이러한 결과는 PLGA의 비율을 높이면 높일수록 직경이 큰 microsphere를 생산할 수 있었으며 PLGA의 비율을 일정하게 하고 PVA의 비율을 높이면 높일수록 microsphere의 직경이 증가함을 알 수 있었다.

본 실험에서는 cephalixin이 약 5주간 1차 방출 후 4주 후에 다시 이차 방출을 보이는 맥동성 방출형태를 보이는 것으로 관찰되었으며 이는 Cleland 등의 연구 결과와 일치하는 결과를 보여주었다. 백신 항원으로 사용하고자 할 경우에는 지속적인 방출양상을 보이는 것이 양성적인 치료 효과를 볼 수 있지만 항생제를 이용한 건유기 치료 방법과 같이 살균작용을 이용할 경우 맥동성 방출형태를 보이는 것이 치료

효과에 유의할 것으로 생각된다. 따라서 백신항원에 대한 내장기술 연구를 이미 수행하였던 Kissel 등의 연구결과와 유사한 결과를 도출할 수 있었다.

microsphere의 제조 과정 중 많은 변수가 있지만 본 실험으로 알 수 있는 중요한 변수는 1차 이멸전 형성 시 이용하는 균질기의 교반 속도와 교반 방법에 따라 microsphere의 직경 분포에 있어 중요한 차이가 있었다. 또한 균질 정도에 있어 심한 차이가 관찰되었으며 이차 이멸전 교반 속도에서도 microsphere의 직경 균질도에 큰 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 Cleland의 실험 결과와 일치함을 보였다.

결론적으로 생분해 microsphere의 크기를 조절하며 건유기 두 달간 지속할 수 있는 새로운 형태의 서방형 제제의 개발이 완료되었다고 생각한다.

## 제 5 절 결 론

이 연구는 다섯 가지 젯소 유방염 예방관리 방법중 하나인 건유기 전용 치료제의 유방내 효능기간을 연장시켜 건유기 치료효과를 증대시키고자 서방형 microsphere에 내장한 항생제 효과를 알아보았던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. DL-PLGA, poly (lactic · co · glycolic acid) microsphere에 내장한 cephalexin은 서방형으로 건유일에 1회 주입으로 유방내에서 5주간 살균효과를 발휘하였다.
2. 건유분방에 1회 주입한 이 주입제는 건유후 7일간의 신규감염을 차단하고 기존의 유방내 감염균을 박멸할 수 있는 유의성있는 효과가 인정되었다.



## 제 6 절      참 고 문 헌

1. Arthur L, Ney MD, Jorge A, Granja MD, Patricia A, Schuster MD, Dean T, Tsukayama MD, Donald M, Jacobs MD and Melvin P, Bubrick MD. The use of Biodegradable Amikacin Microspheres to Prevent Vascular Graft Infection. *Journal of Surgical Research* 1994;57:698-705.
2. Hideshi Natsume, Kenji Sugibayashi, and Yasunori Morimoto. In vitro release profile of mitomycin C from Albumin microspheres: Extrapolation from microspheres to microspheres. *Pharmaceutical Research* 1991;8(2):185-190.
3. Elliot Jacob, George Cierny III, Karen Zorn, James F. McNeill, and Michael T. Fallon. Delayed local treatment of rabbit tibial fracture with biodegradable cefazolin microspheres. *Clinical orthopaedics and related research* 1997;336:278-285.
4. Elliot Jacob, George Cierny, Michael T Fallon, James F. McNeil and George S. Siderys. Evaluation of biodegradable cefazolin sodium microspheres for the prevention of infection in rabbits with experimental open tibial fractures stabilized with internal fixation. *Journal of Orthopaedic Research*. 1993;11:404-411.
5. Jeffrey L. Cleland. Solvent evaporation processes for the production of controlled release biodegradable microsphere formulations for therapeutics and vaccines. *Biotechnol. Prog.* 1998;14(1):102-107.
6. Cleland JL, Langer R. Formulation and delivery of proteins and peptides: Design and development strategies. In *Protein Formulations and Drug Delivery*; Cleland JL, Langer R., Eds.; ACS Symposium Series, Vol. 567; American

Chemical Society: Washington DC, 1994:1-21.

7. Cleland JL. Protein delivery from biodegradable microspheres. In protein delivery: Physical Systems; Saunders, L., Hendren, W., Eds.; Plenum: New York, 1997:1-43.

8. Cleland JL, Duenas ET, Daugherty AL, Marian M, Yang J, Wilson M, Celniker AC, Shahzamani A, Quarmby V, Chu H, Mukku V, Mac A, Roussakis M, Gillette N, Boyd B, Yeung D, Brooks D, Maa YF, Hsu C, Jones AJS. Recombinant human growth hormone poly(lactide-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres provide a long lasting effect. *J Controlled Release* 1997;47:135-150.

9. Kissel T, Koneberg R. Injectable biodegradable microspheres for vaccine delivery. In *Microparticulate systems for the delivery of proteins and vaccines*; Cohen, S., Bernstein, H., Eds.; Dekker: New York, 1996:51-88.

## 제 5 장 건유기전용 유두침지 소독제 개발

### 제 1 절 서 술

젖소의 건유기 관리에 의하여 좌우되는데 이 시기는 질병에 대한 저항성을 보장할 수 있는 결정적인 기간임은 이미 알려져 있는 사실중 하나이다. 즉 유선조직의 기능 재생과 다음 비유기때의 비유능력은 거의 100% 건유기 관리에 의해 결정되어 지게 된다. 그러나 이 기간은 손상된 유선조직의 재생기간임과 동시에 유방 감염율이 가장 높은 기간으로 *Staph. aureus* 균과 *Strep. agalatae*균과 같은 전염성 유방염 원인에 감염되지 않기 위한 특별한 관리가 필요한 시기이기도 하다.

오늘날 전세계적으로 실행되고 있는 젖소 유방염 예방관리 방법중 하나인 건유기 관리지침은 모든 건유기에 들어가는 젖소의 모든 젖꼭지에 건유기 전용 항생제를 주입하고 건유기간동안 최소 1일 1회 이상의 유두침지를 권장하고 있다. 그러나 건유기 유방염 항생제는 유방내에서의 살균효과가 대부분 10일 전후로 평균 60일정도의 총 건유기간중 초기 건유기간에만 효과를 발휘할 수 있다는 단점이 있다. 또한 건유기간 동안 착유를 실시하지 않는 젖소에게 매일 일일이 유두침지를 한다는 것은 상당한 수고가 필요한 작업으로 실제로 목장에서는 전혀 실시되지 않고 있다. 그러므로 유선조직의 퇴축이 완전히 끝나는 최소 3주간이나 그 이상의 시기가 지날 때까지 유방내에서 살균력을 지속할 수 있는 건유기 전용 항생제 연고의 개발과 더불어 장기간 효과를 발휘할 수 있는 유두침지제를 개발해 이들을 건유기에 들어서서 젖소에 적용한다면 기존에 감염된 유방염 원인균을 완전히 박멸할 수 있을 뿐만 아니라 건유기간내 신규감염을 예방할 수 있을 것이다.

따라서 본 연구는 건유기간중에 신규감염을 예방하고 유두피부 보호를 목적으로 biodegradable microsphere를 이용한 장시간의 유두표피 살균력을 가진 새로운 건유기 전용 유두침지제를 개발하고 그 임상적 효능을 평가하고자 시도되었다.

## 제 2 절 재 료 및 방 법

### 1. 재 료 및 평 가 방 법

#### 가 감수성 유두침지 소독제 선발

##### 1) chlorhexidine(4종중 최우수 농도군 선발)

- 0.35% chlorhexidine digluconate + 2.6% glycerin
- 0.4% chlorhexidine digluconate + 1% glycerin
- 0.5% chlorhexidine digluconate + 0.5% glycerin
- 1% chlorhexidine digluconate + 1% glycerin

##### 2) iodine(10종중 최우수 농도군 선발)

- 0.05% iodine
- 0.1% iodine
- 0.1% iodine + 0.75% glycerin
- 0.175% iodine
- 0.18 iodine + 15% collagen protein emollient
- 0.25% iodine
- 0.3% iodine
- 0.5% iodine
- 1% iodine
- 1% iodine + 10% emollients(glycerin, lanolin + polyvinyl pyrrolidone)

##### 3) Linear dodecyl benzene sulfonic acid(2종중 최우수 농도군 선발)

- 1.94%
- 1.94% Linear dodecyl benzene sulfonic acid + 0.55% iodophor

##### 4) Sodium chlorite(2종중 최우수 농도군 선발)

- 0.64% Sodium chlorite + 2.64% lactic acid
- 0.64% Sodium chlorite + 3% mandelic acid

- 5) Sodium dichloro-s-triazene-trione(2종중 최우수 농도군 선발)
  - 1.0% Sodium dichloro-s-triazene-trione
  - 1.7% Sodium dichloro-s-triazene-trione
- 6) Sodium hypochlorite(2종중 최우수 농도군 선발)
  - 0.6% Sodium hypochlorite
  - 0.9% Sodium hypochlorite
- 7) Iodophor(3종중 최우수 농도군 선발)
  - 0.1% Iodophor
  - 0.25% Iodophor
  - 0.55% Iodophor + 1.9% Linear dodecyl benzene sulfonic acid
- 8) 정제형 Sodium dichloro-isocyanurate(NaDCC-Tablets)
- 9) Barrier test dip(장벽형성 유두침지소독제)
  - sodium lauryl sulfate(detergent)
  - petrolatum
  - lanolin cholesterol
  - methylcellulose
  - polyethylene glycol
  - polyethylene glycol monostearate
  - lauryl myristyl diethanolamide
  - sodium benzoate
- 10) 서방형 Biodegradable microsphere내에 위의 최우수농도군의 유두침지소독제 내장 연구 방법 1년차 7)번의 방법에 준하여 내장시킴

나. In vitro 유두침지소독제 평가

- 1) *Staphylococcus aureus*(Newbould 305, ATCC 29740)과 *Streptococcus agalactiae*(Cornell 48)균주 이용
- 2) 1바이얼의 동결 건조된 *Staphylococcus aureus*와 *Streptococcus agalactiae*를 2개의 6ml tube에 37°C, 7시간 배양

- 3) 37°C, 12시간 동안 접종한 250ml TSB를 gyratory shaker에서 배양
- 4) 6,500×g로 원심분리하여 pelleting시킨 후 0.1% proteose peptone으로 2차 세척하고 다시 0.1% proteose peptone액에 재부유
- 5) 균수 측정을 위해 standard plate count를 실시하여 혼합 균액은 각각 10<sup>8</sup>cfu/ml를 멸균 우유에 섞어 제조
- 6) 10분방울 실험에 이용하며 양성 대조균은 1% iodophor액을, 음성 대조균은 침지하지 않은 유두로 함
- 7) 유두를 잘 세척하고 세균 접종후 공기 중에서 5분간 건조(음성 대조균은 15분간 건조)
- 8) 유두 침지 소독액으로 침지하고 10분간 건조 후 각 유두를 1% Sodium thio sulfate가 함유된 5ml Lethen broth로 세척
- 9) 세척한 0.1ml 샘플을 Mannitol salt agar와 TKT/FC agar에 배양하여 균 수 측정
- 10) 음성 대조균의 세척액은 10배 희석하여 사용하고 침지 유두액의 세척액은 10<sup>-1</sup> 희석하여 배양
- 11) 각각 duplicate로 실시
- 12) 37°C, 48시간 배양하여 CFU 측정
- 13) 균수의 geometric means를 log형태로 변환

다. 유기물 부하평가실험(organic load assay)

- 1) *Serratia marcescens*, *Pseudomonas* spp 균을 이용
- 2) 두 개의 6ml TSB에 37°C, 6시간 배양
- 3) 6ml의 균액을 250ml TSB에 37°C, 12시간 gyratory shaker에서 배양
- 4) 희석하지 않은 broth는 high inoculum으로 사용하며 low inoculum은 10배 희석하여 제조
- 5) 40ml의 희석하지 않은 유두 침지 소독액에 10<sup>10</sup>(고농도), 10<sup>9</sup>(저농도)의 세균 접종
- 6) Flask는 잘 흔들어 혼합하고 1ml를 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-7</sup>으로 희석하여 Lethe

enagar plate에 접종

7) 플라스크의 broth를 8, 24, 48, 168시간 후에 샘플채취

라. In vivo 실험 대상 젖소 선정

- 1) 117두의 비유우 (chlorhexidine실험군 : 4주실험)
- 2) 127두의 비유우 (1% iodine실험군 : 5주실험)
- 3) 착유는 1일 2회 아침과 저녁 착유
- 4) 좌측 전후 분방은 실험 분방, 우측 전후 분방은 대조 분방

마. 유즙 채취 계획

- 1) 실험 대상 전체 소의 유즙 채취 후 세균 배양 검사 실시
- 2) 세균 공격 접종 1주일 전에 유즙 채취 후 세균 배양 검사 실시
- 3) 세균 공격 접종 1주일 전에 2중 유즙을 채취하여 각 분방의 세균 상태 검사
- 4) 2중 유즙 검사 결과가 일치하지 않을 때 3차 검사 실시
- 5) 실험군에서 *S aureus*와 *Streptococcus agalactiae* 감염 우군은 신규 IMI에서 제외
- 6) 우군 유즙 채취는 매주 검사하고 의심되는 분방 샘플은 48시간이내 재검사 실시
- 7) 이상 유두와 상처 입은 유두는 실험에서 제외

바. 치료 계획과 진단 과정

- 1) 세균 접종은 월요일에서 금요일까지 착유후 인공 감염을 시킴
- 2) 0.5% chlorhexidine과 1% iodine은 유두의 25mm까지 침지
- 3) 신규 감염은 *S aureus* 또는 *Streptococcus agalactiae*가 2회 연속 유즙 샘플 검사에서 분리된 경우와 균수가 >500 cfu/ml 또는 100-400 cfu/ml(3회 이상 채취시)일때로 정의
- 4) 감염된 분방은 항생제로 치료를 실시

사. 유방 준비와 유즙 채취

- 1) 유즙 채취는 몇 줄기의 유즙을 짜내고 유두 침부를 70% 알콜로 닦음
- 2) 멸균 플라스틱 튜브에 10ml의 유즙을 채취하여 5% calf blood와 0.1% esculin이 첨가된 trypticase soy agar(TSA)에 0.01ml의 유즙을 배양
- 3) plate는 37°C에서 48시간 배양
- 4) *S aureus*의 분리 동정은 용혈능과 tube coagulase test로 검사
- 5) *Streptococcus agalactiae*는 phadebact Streptococcus test를 이용 serogroup으로 동정

아. 접종 균액 제조

- 1) 매일 *S aureus*와 *Streptococcus agalactiae* 준비
- 2) stock된 ATCC 29740을 TSA에 접종하여 37°C, 8시간 배양
- 3) 8시간 배양액을 500ml TSB에 접종하여 16시간 배양
- 4) 균체를 원심 분리하여 수거한 후 proteose-peptone에 재부유하여 균수 측정
- 5) 5°C에서 보관하며 1주일간 매일 사용
- 6) *Streptococcus agalactiae* ATCC 27956을 이용
- 7) frozen stock에서 녹여 0.01ml를 5개의 TSA plate에 배양(37°C, 24시간)하여 1주일간 stock culture로 보관
- 8) 매일 균액 제조는 TSA stock plate에서 6개의 colony를 6ml의 5개 TSB액에 37°C, 15시간 배양한 후 500ml의 TSB에 배양
- 9) 500ml culture는 37°C에서 7시간 shaking시키면서 배양
- 10) O.D값을 측정한 Aliquot를  $5 \times 10^7$ cfu/ml로 맞춘 *Streptococcus agalactiae*를 우유에 섞어 제조
- 11) *S aureus*를 *Streptococcus agalactiae* 부유액에 섞어  $5 \times 10^7$ cfu/ml의 *S aureus*를 만듦

자. 유두 침지 소독액의 조성

- 1) iodine 소독액은 5% nonyl-phenoxyethoxyethanol iodine complex(1%



titratable iodine ; 12ppm free iodine + 10% glycerin)

차. 유두 침부와 유두 상피의 평가

- 1) 개발된 유두 침가 부와 유두 상피에 대한 주관적인 점수 방식으로 함
- 2) 평가된 점수는 genral linear model procedure를 사용하여 시간과 우군사이의 상호작용을 결정하는가를 비교 분석
- 3) 유두 평가를 위해 세가지 비교 분석
  - ANOVA 검정법 이용
  - 시간에 따른 치료군 안에서의 상호작용
  - 시간에 따른 치료군 사이의 상호작용
  - 양쪽 샘플 날에 있는 소의 데이터에서 실행
  - 여러 샘플 기간에 teatment lot을 떠난 젖소는 분석에서 제외
- 4) 유두침부 상태 점수
  - 0 : 치료가 필요 없을 정도가 아닌 물리적, 화학적 손상(찢렸거나 동상을 입은)을 입은 경우나 분방이 비유를 하지 못할 때
  - 1 : 유두 침부 괄약근이 자극 없이도 유연한 경우
  - 2 : 유두 침부의 ring이 올라간 경우
  - 3 : 유두 침부 괄약근이 약간 틈이 있으나 충혈은 없는 경우
  - 4 : 유두 침부 괄약근이 꽃이 핀 모양으로 많은 틈으로 반전되었고, 유두침부는 오래되고 회복된 딱지가 있다.
  - 5 : 유두 침부가 딱지 또는 열린 채 심하게 손상받고 궤양 소견이 있다. 크고 많은 사마귀가 있어서 유두 침부의 작용을 방해한다.
- 5) 유두상피 상태 점수
  - 0 : 치료가 필요 없을 정도가 아닌 물리적, 화학적 손상을 입은 경우나 분방이 비유를 하지 못할 때
  - 1 : 유두 상피는 부드럽고 scales나 틈(crack) 또는 균열이 없는 경우
  - 2 : 유두 상피가 약간 scaling 증상을 보일 경우
  - 3 : 유두 상피가 균열이 있고 약간의 사마귀가 존재하는 경우

- 4 : 유두 상피는 균열이 있고 틈이 생긴 경우. 충혈은 염증반응이 있음을 나타내고 수많은 사마귀가 있다.
- 5 : 유두 상피는 심하게 딱지나 열린 채 심하게 손상받고 궤양이 있다. 크고 많은 사마귀가 있어서 유두침부의 작용을 방해한다.

## 2. 연구 수행 내용

### 가. 감수성 유두침지 소독제 선발

#### 1) Chlorhexidine digluconate 시험균 4종 중 최우수 농도군 선발

##### a) 농도별 시험 용액 제조

- ① 0.35% Chlorhexidine digluconate + 2.6% Glycerin
- ② 0.4% Chlorhexidine digluconate + 1% Glycerin
- ③ 0.5% Chlorhexidine digluconate + 0.5% Glycerin
- ④ 1% Chlorhexidine digluconate + 1% Glycerin

##### b) 증류수, 우유 희석액, 우유 원액 각각에 대한 시험관내 살균력 시험

증류수, 우유 희석액(1 : 1), 우유 원액에 부유된 세균( $1 \times 10^5$ )에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

대조군 : 세균액 1ml + 증류수 1ml

실험군 : 세균액 1ml + (0.35% Chlorhexidine digluconate + 2.6% Glycerin) 1ml

세균액 1ml + (0.4% Chlorhexidine digluconate + 1% Glycerin) 1ml

세균액 1ml + (0.5% Chlorhexidine digluconate + 0.5% Glycerin) 1ml

세균액 1ml + (1% Chlorhexidine digluconate + 1% Glycerin) 1ml

2) Povidone iodine 시험군 7종중 최우수 농도군 선발

a) 농도별 시험 용액 제조

- ① 1% Povidone iodine
- ② 0.5% Povidone iodine
- ③ 0.3% Povidone iodine
- ④ 0.25% Povidone iodine
- ⑤ 0.1% Povidone iodine
- ⑥ 0.1% Povidone iodine + 0.75% Glycerin
- ⑦ 0.05% Povidone iodine

b) 증류수, 우유 희석액, 우유 원액 각각에 대한 시험관내 살균력 시험 증류수 우유 희석액(1 : 1), 우유 원액에 부유된 세균( $1 \times 10^5$ )에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

대조군 : 세균액 0.5ml + 증류수 0.5ml

실험군 : 세균액 0.5ml + 1% Povidone iodine 0.5ml

세균액 0.5ml + 0.5% Povidone iodine 0.5ml

세균액 0.5ml + 0.3% Povidone iodine 0.5ml

세균액 0.5ml + 0.25% Povidone iodine 0.5ml

세균액 0.5ml + 0.1% Povidone iodine 0.5ml

세균액 0.5ml + (0.1% Povidone iodine + 0.75% Glycerin) 0.5ml

세균액 0.5ml + 0.05% Povidone iodine 0.5ml

3) Linear dodecyl benzene sulfonic acid 시험군 2종중 최우수 농도군 선발

a) 농도별 시험 용액 제조

- ① 1.94% Linear dodecyl benzene sulfonic acid(Blu-Gard<sup>®</sup>, Economics Lab, Inc., St. Paul, MN)
- ② 1.94% Linear dodecyl benzene sulfonic acid + 0.55% iodine(Tandem<sup>®</sup>, IBA, Inc., Millbury, MA)

- b) 증류수, 우유 희석액, 우유 원액 각각에 대한 시험관내 살균력 시험  
증류수, 우유 희석액(1 : 1), 우유 원액에 부유된 세균( $1 \times 10^5$ )에 대한 각 농도  
별 용액의 살균력 시험

대조군 : 세균액 1ml + 증류수 1ml

실험군 : 세균액 1ml + 1.94% Linear dodecyl benzene sulfonic acid 1ml  
세균액 1ml + (1.94% Linear dodecyl benzene sulfonic acid  
+ 0.55% Glycerin) 1ml

4) Sodium chlorite 시험군 2종 중 최우수 농도군 선발

- a) 농도별 시험 용액 제조

① 0.64% Sodium chlorite + 2.64% lactic acid(UDDERgold<sup>®</sup>, Alcide Corp.,  
Norwalk, CT)

② 0.64% Sodium chlorite + 3% mandelic acid(Acide Corp., Norwalk, CT)

- b) 증류수, 우유 희석액, 우유 원액 각각에 대한 시험관내 살균력 시험

증류수, 우유 희석액(1 : 1), 우유 원액에 부유된 세균( $1 \times 10^5$ )에 대한 각 농  
도별 용액의 살균력 시험

대조군 : 세균액 1ml + 증류수 1ml

실험군 : 세균액 1ml + (0.64% Sodium chlorite + 2.64% lactic acid) 1ml  
세균액 1ml + (0.64% Sodium chlorite + 3% mandelic acid) 1ml

5) Sodium dichloro-s-triazene-trione 시험군 2종중 최우수 농도군 선발

- a) 농도별 시험 용액 제조

① 1.0% Sodium dichloro-s-triazene-trione(Kendall Co., Boston, MA)

② 1.7% Sodium dichloro-s-triazene-trione(Kendall Co., Boston, MA)

- b) 증류수, 우유 희석액, 우유 원액 각각에 대한 시험관내 살균력 시험

증류수, 우유 희석액(1 : 1), 우유 원액에 부유된 세균( $1 \times 10^5$ )에 대한 각 농  
도별 용액의 살균력 시험

대조군 : 세균액 1ml + 증류수 1ml

실험군 : 세균액 1ml + 1.0% Sodium dichloro-s-triazene-trione 1ml

세균액 1ml + 1.7% Sodium dichloro-s-triazene-trione 1ml

6) Sodium hypochlorite 시험군 2종중 최우수 농도군 선발

a) 농도별 시험 용액 제조

① 0.6% Sodium hypochlorite

② 0.9% Sodium hypochlorite

b) 증류수, 우유 회석액, 우유 원액 각각에 대한 시험관내 살균력 시험

증류수, 우유 회석액(1 : 1), 우유 원액에 부유된 세균( $1 \times 10^5$ )에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

대조군 : 세균액 1ml + 증류수 1ml

실험군 : 세균액 1ml + 0.6% Sodium hypochlorite 1ml

세균액 1ml + 0.9% Sodium hypochlorite 1ml

7) iodophor 시험군 2종중 최우수 농도군 선발

a) 농도별 시험 용액 제조

① 0.1% Iodophor(Pre-Vail<sup>®</sup>, IBA, Inc., Millbury, MA)

② 0.25% Iodophor(Bovadine II<sup>®</sup>, West Agro Chemical Co., Kansas City, MO)

b) 증류수, 우유 회석액, 우유 원액 각각에 대한 시험관내 살균력 시험

증류수, 우유 회석액(1 : 1), 우유 원액에 부유된 세균( $1 \times 10^5$ )에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

대조군 : 세균액 1ml + 증류수 1ml

실험군 : 세균액 1ml + 0.1% Iodophor

세균액 1ml + 0.25% Iodophor

세균액 1ml + (0.55% Iodophor + 1.9% Linear dodecyl benzene sulfonic acid)

8) 정제형 Sodium dichloro-isocyanurate(NaDCC-Tablets)

NaDCC-Tablets의 판매 증지로 실험에서 제외

9) Barrier teat dip(장벽형성 유두침지소독제)

- entsufon sodium(detergent)
- petrolatum
- lanolin cholesterols
- methylcellulose
- polyethylene glycol
- polyethylene glycol monostearate
- lauryl myristyl diethanolamide
- sodium benzoate

위 8개 장막 형성 피복제를 유두에 침지하여 유두 침부와 피부 상태를 점수화 하였다.

a) 유두 침부 평가

10)의 ④와 동일 방법으로 각 시험 용액을 유두 40개에 침지하고 5일, 10일, 30일 간격으로 점검하여 점수를 부여하였다.

b) 유두 상피 평가

10)의 ⑤와 동일 방법으로 각 시험 용액을 유두 40개에 침지하고 5일, 10일 30일 간격으로 점검하여 다음 기준에 의해 점수를 부여하였다.

10) 서방형 Biodegradable microsphere내에 위의 최우수농도군의 유두침지소독제 내장 연구 방법 1년차 7)번의 방법에 준하여 내장시킴

a) Povidone iodine이 내장된 microsphere제조공정

DL-PLG(85:15)	2.5g
Dichlormethane	50ml
First emulsion speed	12,000RPM/5min
Povidone iodine	5ml(10%용액)
Second emulsion speed	12,000RPM/2min
PVA (%)	1%
Stirring rate	200rpm
Solvent evaporation	8 hours
Volume	DW 2 l
Drying time	37°C, Overnight

b) Povidone iodine의 microsphere 내장을 실험

10mg microsphere/1.0ml의 0.1M Sodium hydroxide/5% sodium dodecyl sulfate (SDS)를 이용하여 소화시킴

↓

녹지않으면 hot plate bath(50°C)에서 용해시킴.

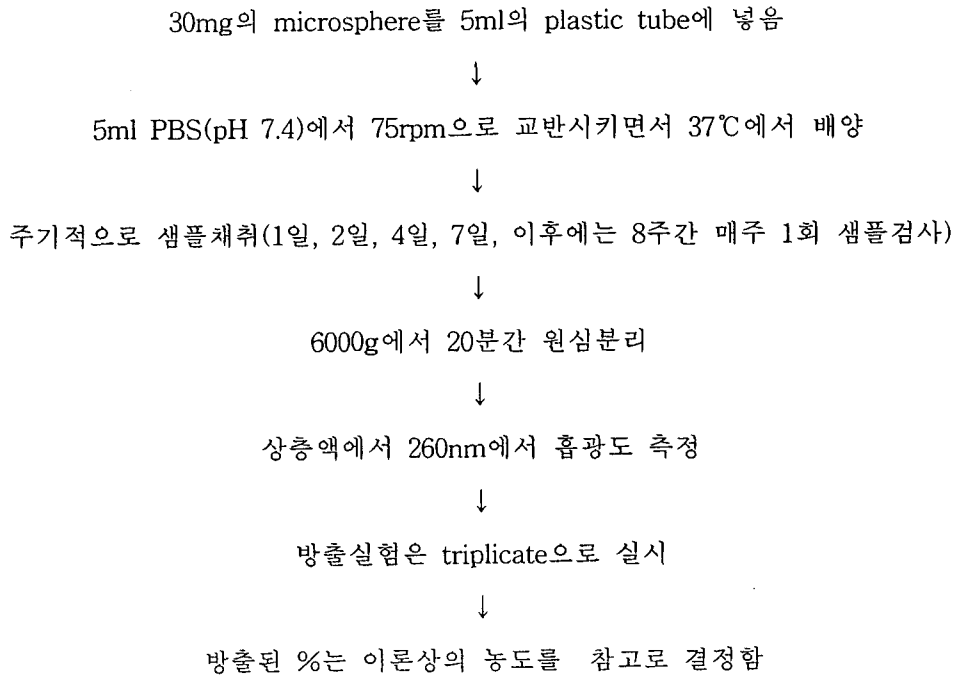
↓

3000rpm으로 10분간 원심분리 후 상층액 사용

↓

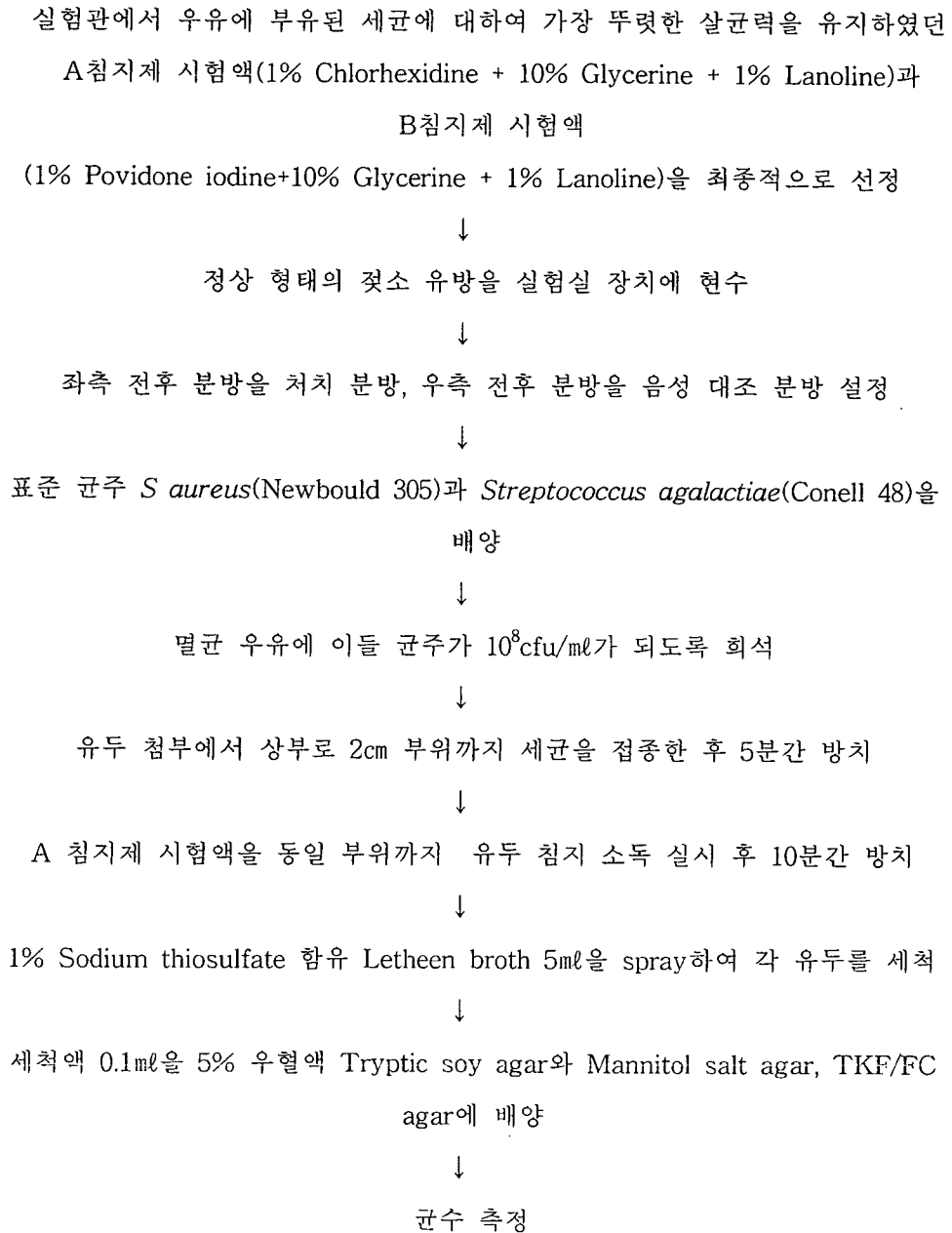
100 $\mu$ l를 이용하여 항생제량 및 유두침저소독제의 양을 결정

c) Povidone iodine 내장 생분해 microsphere의 방출실험 과정





나. In vitro 유두침지 소독제 평가



음성 대조군 유두도 동일한 방법으로 실시하였으나 세척액을 10배 희석하고 침지 후 세척액을  $10^{-1}$  희석하여 배양

↓

각각 10회 반복 실험 실시

↓

37°C에서 24~48시간 배양

↓

균수 측정

다. 유기물 부하 평가 실험

*Serratia marcescens*, *Pseudomonas* spp. 균은 목장 착유실에 상존하는 환경성 세균으로서 선택된 침지제의 이들 균들에 대한 효과 측정

↓

37°C에서 6시간 배양 후

↓

6ml의 균액을 250ml Tryptic soy broth에 37°C, 12시간 Gyrotory shaker로 배양

↓

40ml의 선택된 유두 침지제 A와 B제제에  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ 으로 희석하여 Letheen agar plate에 접종, broth에 8, 24, 48, 168시간 배양 후

↓

0,01ml을 취하여 5% 우혈액 Tryptic soy agar에 접종

↓

균수 측정

라. In vivo 실험

1) Chlorhexidine digluconate 유두 침지제 야외 실험

대관령 착유우 120두를 대상으로 5주간 실시



각 분방 유즙 무균 채취



세균 배양(5%우혈액 TSAE 배지)



좌측 전후 분방은 처치 분방, 우측 전후 분방은 대조 분방으로 배치



Chlorhexidine을 처치 분방에 착유 직후 유두 침지



매주 유즙 무균 채취 및 배양 검사 총 4주간 실시



매주 유두 첨부 및 유두 상피 검사



*Staphylococcus aureus* 또는 *Streptococcus agalactiae* 분리는 신규 감염



SCC가 500cfu/ml 또는 100~400cfu/ml 3회 이상이면 감염 분방으로 정의



감수성 검사 실시



감염 분방 치료

2) Povidone iodine 유두 침지제 약의 실험

대관령 착유우 127두 대상으로 5주간 실시



분반 유즙 무균 채취



세균 배양(5%우혈액 TSAE 배지)



좌측 전후 분방은 처치 분방, 우측 전후 분방은 대조 분방으로 배치



Chlorhexidine을 처치 분방에 착유 직후 유두 침지



매주마다 유즙 무균 채취 및 배양 검사 총 4주간 실시



매주 유두 침부 및 유두 상피 검사



*S aureus* 또는 *Streptococcus agalactiae* 분리능 신규 감염



SCC가 500cfu/ml 또는 100~400cfu/ml 3회 이상이면 감염 분방 정의



감수성 검사 실시



감염 분방 치료

### 제 3 절 결 과

#### 가. 새로운 피부 습윤제와 연화제 선발

##### (1) Chlorhexidine

증류수, 우유 회석액, 우유 원액에 부유된 세균에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

	시험액	1분	3분	5분	10분
대조군	증류수, 우유 회석액, 우유 원액	$10^5$	$10^5$	$10^5$	$10^5$
0.35% Chlorhexidine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^2$	$10^2$	$10^1$	$10^1$
	우유 원액	$10^3$	$10^2$	$10^2$	$10^2$
0.4% Chlorhexidine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^1$	0	0	0
	우유 원액	$10^3$	$10^2$	$10^1$	$10^1$
0.5% Chlorhexidine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^1$	0	0	0
	우유 원액	$10^2$	$10^1$	$10^1$	0
1% Chlorhexidine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	0	0	0	0
	우유 원액	0	0	0	0

각 혼합액을 시간대별로 혈액 배지에 접종하여 세균의 집락 형성 정도를 확인하여 최적 유효 농도 용액을 선발하였다. 그 결과 1% Chlorhexidine digluconate + 1% Glycerin 실험군이 선발되었다.

(2) Povidone iodine

증류수, 우유 회석액, 우유 원액에 부유된 세균에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

	시험액	1분	3분	5분	10분
대조군	증류수, 우유 회석액, 우유 원액	$10^5$	$10^5$	$10^5$	$10^5$
0.05% Povidone iodine	증류수	$10^4$	$10^4$	$10^2$	$10^2$
	우유 회석액	$10^5$	$10^5$	$10^3$	$10^2$
	우유 원액	$10^5$	$10^5$	$10^5$	$10^5$
0.1% Povidone iodine + 0.75% Glycerine	증류수	0	$10^2$	0	0
	우유 회석액	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^2$
	우유 원액	$10^4$	$10^4$	$10^3$	$10^2$
0.1% Povidone iodine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^4$	$10^4$	$10^4$	$10^4$
	우유 원액	$10^5$	$10^4$	$10^4$	$10^4$
0.25% povidone iodine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^2$
	우유 원액	$10^4$	$10^4$	$10^3$	$10^3$
0.3% Povidone iodine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^3$	$10^2$	$10^2$	$10^2$
	우유 원액	$10^2$	$10^2$	$10^1$	$10^1$
0.5% Povidone iodine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	0	0	0	0
	우유 원액	$10^2$	$10^1$	0	0
1% Povidone iodine	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	0	0	0	0
	우유 원액	0	0	0	0

각 혼합액을 시간대별로 혈액배지에 접종하여 세균의 집락 형성 정도를 확인하여 최적 유효 농도 용액을 선발하였다. 그 결과 1% Povidone iodine 실험군이 선발되었다.

(3) Linear dodecyl benzene sulfonic acid

증류수, 우유 회석액, 우유 원액에 부유된 세균에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

	시험액	1분	3분	5분	10분
대조군	증류수, 우유 회석액, 우유 원액	$10^9$	$10^9$	$10^9$	$10^9$
1.94% Linear dodecyl benzene sulfonic acid	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^1$	0	0	0
	우유 원액	$10^3$	$10^2$	$10^2$	$10^1$
1.94%Linear dodecyl benzene sulfonic acid + 0.55%Glycerin	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	0	0	0	0
	우유 원액	0	0	0	0

각 혼합액을 시간대별로 혈액배지에 접종하여 세균의 집락 형성 정도를 확인하여 최적 유효 농도 용액을 선발하였다. 그 결과 1.94% Linear dodecyl benzene sulfonic acid + 0.55% Glycerin 실험군이 더 우수하였다. 그러나 이미 Tandem<sup>®</sup> 상품이 시판되어 야외 적용시험에서 제외하였다.

(4) Sodium chlorite

증류수, 우유 회석액, 우유 원액에 부유된 세균에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

	시험액	1분	3분	5분	10분
대조군	증류수, 우유 회석액, 우유 원액	$10^9$	$10^9$	$10^9$	$10^9$
0.64% Sodium chlorite + 2.64% lactic acid	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^1$	0	0	0
	우유 원액	$10^2$	$10^2$	$10^1$	$10^1$
0.64% Sodium chlorite + 3% mandelic acid	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	0	0	0	0
	우유 원액	0	0	0	0

각 혼합액을 시간대별로 혈액배지에 접종하여 세균의 집락 형성 정도를 확인하여 최적 유효 농도 용액을 선발하였다. 그 결과 0.64% Sodium chlorite + 3% mandelic acid 실험군이 더 우수하였다. 그러나 이미 Acide Corp.사의 상품이 시판되어 야외 적용시험에서 제외하였다.



(5) Sodium dichloro-s-triazene-trione

증류수, 우유 희석액, 우유 원액에 부유된 세균에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

	시험액	1분	3분	5분	10분
대조군	증류수, 우유 희석액, 우유 원액	$10^9$	$10^9$	$10^9$	$10^9$
1.0% Sodium dichloro-s-triazene-tri one	증류수	0	0	0	0
	우유 희석액	$10^1$	0	0	0
	우유 원액	$10^2$	$10^2$	$10^1$	$10^1$
1.7% Sodium dichloro-s-triazene-tri one	증류수	0	0	0	0
	우유 희석액	$10^1$	0	0	0
	우유 원액	0	0	0	0

각 혼합액을 시간대별로 혈액배지에 접종하여 세균의 집락 형성 정도를 확인하여 최적 유효 농도 용액을 선발하였다. 그 결과 1.7% Sodium dichloro-s-triazene-trione 실험군이 더 우수하였다. 그러나 이미 Kendall Co.사의 상품이 시판되어 야외 적용시험에서 제외하였다.

(6) Sodium hypochlorite

증류수, 우유 회석액, 우유 원액에 부유된 세균에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

	시험액	1분	3분	5분	10분
대조군	증류수, 우유 회석액, 우유 원액	$10^5$	$10^5$	$10^5$	$10^5$
0.6% Sodium hypochlorite	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^3$	$10^2$	$10^1$	0
	우유 원액	$10^4$	$10^3$	$10^2$	$10^1$
0.9% Sodium hypochlorite	증류수	0	0	0	0
	우유 회석액	$10^2$	$10^1$	0	0
	우유 원액	$10^3$	$10^2$	$10^1$	0

피부 건조 및 균열 현상으로 본 야의 실험에서 제외함.

(7) Iodophore

① 증류수에 부유된 세균에 대한 각 농도별 용액의 살균력 시험

	시험액	1분	3분	5분	10분
대조군	증류수, 우유 희석액, 우유 원액	$10^9$	$10^9$	$10^9$	$10^9$
0.1% Iodophor	증류수	0	0	0	0
	우유 희석액	0	0	0	0
	우유 원액	$10^3$	$10^1$	0	0
0.25% Iodophor	증류수	0	0	0	0
	우유 희석액	0	0	0	0
	우유 원액	$10^2$	$10^1$	0	0

각 혼합액을 시간대별로 혈액배지에 접종하여 세균의 집락 형성 정도를 확인하여 최적 유효 농도 용액을 선발하였다. 그 결과 0.25% Iodophor 실험군이 선발되었다.

이상의 in vitro 실험 결과 우유 원액에서 가장 안전한 살균력을 가진 것은 1% Povidone iodine과 1% Chlorhexidine이었다. 이 2종의 침지제로 야외실험을 실시하였다.

(8) 유방 및 유두 침부 피부 상태 검사

Chlorhexidine과 Povidone iodine을 아래의 농도로 혼합하여 침지 후 평가한 결과 피부 습윤제 및 연화제 시험 결과

	유두 침부 상태		유두 상피 상태	
	Chlorhexidine e	Povidone iodine	Chlorhexidin e	Povidone iodine
10%Glycerine	0	0	0	0
15%Collagen protein emollient	2	2	1	2
2.64%Lactic acid	1	3	1	3
3%Mandelic acid	3	3	3	2
1.9 %Linear dodecyl benzene sulfonic acid	1	2	1	3

결론 : 유두 피부 습윤제 및 연화제로서 최적 제제는 10% Glycerin 이다.

(9) 발포제형 및 장막 형성 유두 침지 소독제 개발

	유두 상피 score		유두 침부 score	
	Chlorhexidin e	Povidone iodine	Chlorhexidin e	Povidone iodine
Entsufon sodium	1	1	1	1
Petrolatum	0	±1	0	±1
Lanolin cholesterol	0	0	0	0
Methylcellulose	1	1	1	1
Polyethylene glycol	2	0	2	0
Polyethylene glycol monostearate	1	0	1	1
Lauryl myristyl diethanolamide	0	1	0	1
Sodium benzoate	1	0	1	0

장막 형성 유두 침지 소독제에 가장 적절한 것은 Lanolin이 선정됨

최적 제제는 A제제(1%Povidone iodine + 10%Glycerin + 1%Lanolin), B제제 (1%Chlorhexidine + 10%Glycerin + 1%Lanolin)

(10) Biodegradable microsphere를 이용한 서방형 유두 침지 소독제 개발

- ① In vitro와 In vivo에서 가장 최적 제제로 선정된 제제는 1% Chlorhexidine과 1% Povidone iodine이며
- ② 이 두 제제를 각각 유두 침지 소독제 내장 연구 방법 1년차 7)번의 방법에 준하여 내장 시키고
- ③ Glycerin과 Lanolin이 10%가 되게 기제 A(1% Povidone iodine)과 기제 B(1% Chlorhexidine)에 혼합하고 여기에 다시 microsphere에 내장된 각각의 제제를 0.1%씩 혼합하여 건유기용 완제품 제작
- ④ A완제품

1% Chlorhexidine digluconate + 10% Glycerin + 1% Lanolin + 0.5% Chlorhexidine microsphere

B완제품

1% Povidone iodine + 10% Glycerin + 1% Lanolin + 0.5% Povidone iodine microsphere

나. In vitro Betadine-microsphere 제조 및 방출 실험

(1) Betadine-캡슐형성 효과 실험(DL-PLG, 65:35 microsphere)

번호	흡광도	표준흡광도	조제액
1	0.47	0.69 (1g/100ml)	69.6%
2	0.46		
3	0.51		

(2) Betadine(10%)-내장 microsphere 방출실험(DL-PLG, 65:35)

방출일	흡광도	방출량(%)	
		실험군	대조군
1일	0.30	40.6	1.3
	0.26		
	0.28		
2일	0.15	20.3	1.2
	0.13		
	0.14		
4일	0.037	4.5	1.5
	0.031		
	0.026		
7일	0.007	1.4	1.2
	0.007		
	0.017		
2주일	0.004	1.3	1.3
	0.018		
	0.005		
3주일	0.026	3.5	1.2
	0.027		
	0.018		
4주일	0.023	3.2	1.3
	0.025		
	0.019		

유두침지소독제의 방출실험에서는 실험결과로 보아 약 4주간에 방출량이 90%정도에 이르기 때문에 입자의 크기를 좀 증가시키면 4주이상의 방출효과가 있을 것으로 생각된다. 베타딘은 실험 1일이 경과하면 내장된 물질의 약 40%전후가 1차방출되기 때문에 항생제의 치료적인 측면과 유두침지소독제의 효과면에서 효과적이지 않을 것으로 생각된다.

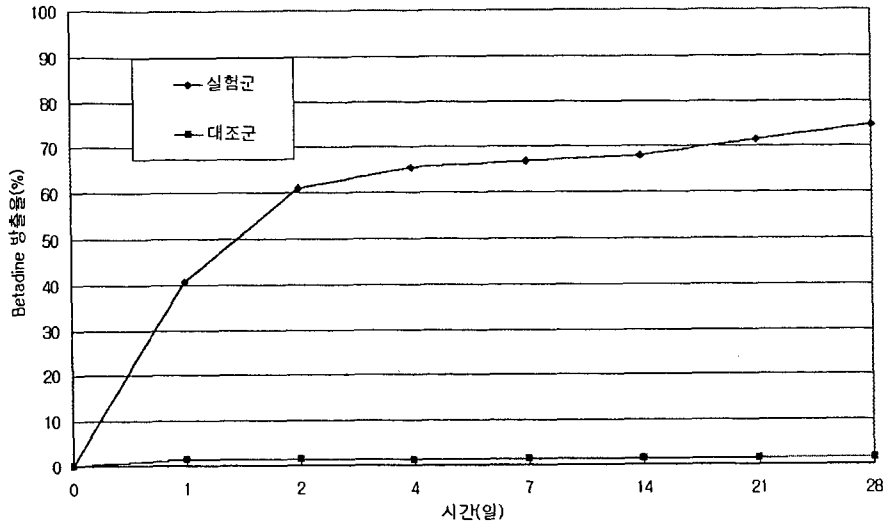


그림 1. DL-PLGA(50:50)을 이용하여 bovine serum albumin을 내장시킨 PLGA microsphere내 방출 역동학적 변화

(3) DL-PLG별로 제조한 microsphere의 광학현미경 촬영(그림2, 3, 4, 5 참고)

Microsphere의 크기분포 측면에서 중요한 점은 DL-PLGA의 비율중 lactide의 비율을 증가시키면 입자의 크기가 증가했으며 1차 캡슐과 2차캡슐을 관찰할 수 있었다. 증류수에 보관할 경우 약 10일 경과후까지 크기와 캡슐형태에 있어 큰 변화는 보이지 않았다. 입자크기에 큰 영향을 주는 것으로는 PVA의 농도를 증가시키면 입자의 크기가 작아지면서 균질화하는 경향을 보였다. 하지만 제조과정상 점도가 너무 증가하여 수율이 낮아지는 단점이 있으며 microsphere의 수확량도 낮아지는 단점을 가지고 있었다.

유두침지제로 이용되는 베타딘은 캡슐형성이 잘 이루어지지만 약 4주후에는 많은 입자가 정상적인 microsphere의 형태를 취하지 않고 분해되었다.



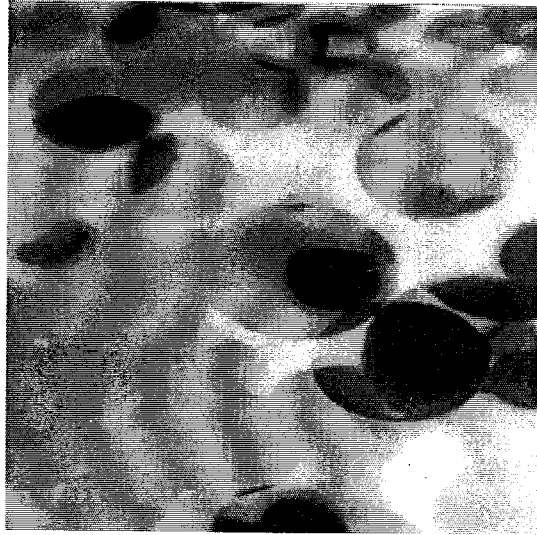


그림 2. 베타딘 내장 microsphere 제조후 실온에서 건조후 촬영(400배 촬영)

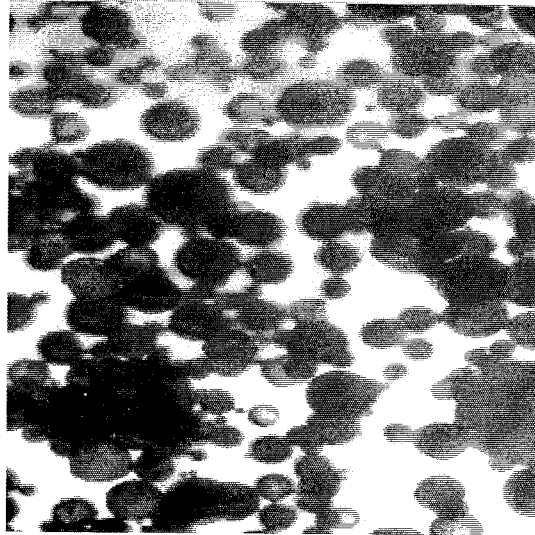


그림 3. 베타딘 내장 microsphere를 37도에서 건조후 촬영(400배)

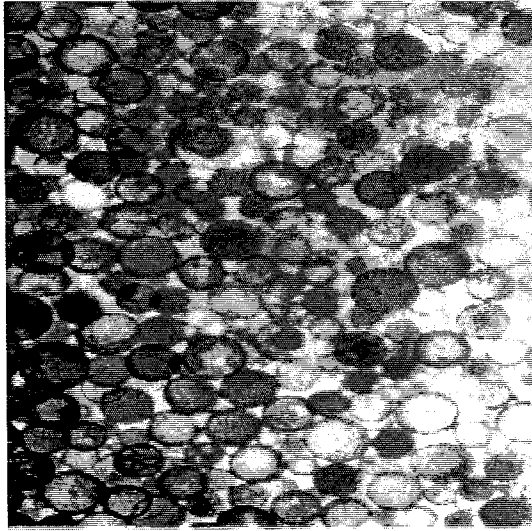


그림 4. 베타딘 내장 microsphere를 100배 촬영한 그림

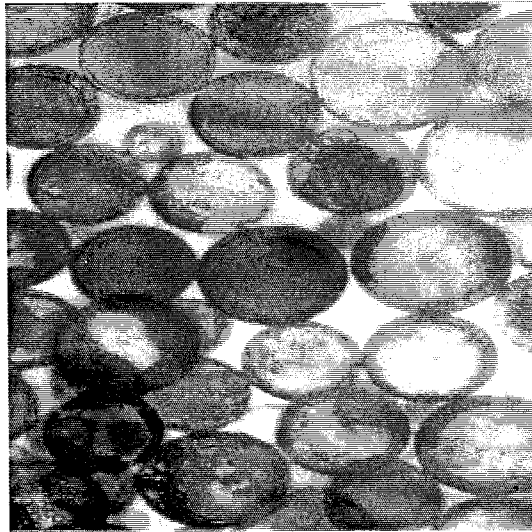


그림 5. 베타딘 내장 microsphere(75:25)를 PVA 1%를 이용하여 제조(100배 관찰)

다. 유기물 부하 평가 실험 결과

(1) 1% Povidone iodine 침지 실험액의 희석도별 Plate 접종 배양 결과

		Seratia marcesrens & Pseudomonas spp. 배양액							
희석도	10 <sup>10</sup> (고농도 접종)				10 <sup>9</sup> (저농도 접종)				
시간	8	24	48	168	8	24	48	168	
CFU( $\times 10^{-7}$ )	89	40	22	10	42	25	15	5	

(2) 1% Chlorhexidine digluconate 침지 실험액의 희석도별 Plate 접종 배양 결과

		Seratia marcesrens & Pseudomonas spp. 배양액							
희석도	10 <sup>10</sup> (고농도 접종)				10 <sup>9</sup> (저농도 접종)				
시간	8	24	48	168	8	24	48	168	
CFU( $\times 10^{-7}$ )	80	44	30	16	48	36	17	8	

라. 유두 침부 평가 결과

(1) 1% Povidone iodine 침지 5주간 실시 결과

실험군	처지	분방수	점수					
			0	1	2	3	4	5
1	침지	236	1	220	13	2	0	0
	대조	245	0	121	98	68	1	0
2	침지	95	1	70	22	2	0	0
	대조	89	1	34	19	32	3	0
Total	침지	331	2	290	35	4	0	0
	대조	334	1	155	117	100	4	0

(2) 1% Chlorhexidine digluconate 침지 5주간 실시 결과

실험군	처리	분방수	점수					
			0	1	2	3	4	5
3	침지	173	0	162	9	2	0	0
	대조	179	1	61	74	42	1	0
4	침지	92	1	73	16	2	0	0
	대조	96	1	29	39	27	1	0
Total	침지	265	1	235	25	4	0	0
	대조	275	2	90	113	69	2	0

마. 유두 상피 평가 결과

(1) 1% Povidone iodine 침지 5주간 실시 결과

실험군	처리	분방수	점수					
			0	1	2	3	4	5
1	침지	236	1	233	1	1	0	0
	대조	245	0	15	192	35	3	0
2	침지	95	1	91	1	2	0	0
	대조	89	1	6	48	32	2	0
Total	침지	331	2	324	2	3	0	0
	대조	334	1	21	240	67	5	0

(2) 1% Chlorhexidine digluconate 침지 5주간 실시 결과

실험군	처리	분방수	점수					
			0	1	2	3	4	5
3	침지	173	0	168	3	2	0	0
	대조	179	1	22	136	20	0	0
4	침지	92	1	81	9	1	0	0
	대조	96	1	17	46	29	3	0
Total	침지	265	1	249	12	3	0	0
	대조	275	2	39	182	49	3	0

새로운 유두 침지 소독제 선발 야외 실험

가. 1% Chlorhexidine digluconate 침지 실험액의 야외 성적

감염 분방수							
실험군	처리	분방수	<i>S aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CNS	other Streptococcus	Coliforms
1	침지	173	4	1	3	0	0
	대조	179	13	2	11	2	4
2	침지	92	1	4	16	3	1
	대조	96	9	16	29	7	3
Total	침지	275	5 <sup>⓪</sup>	5 <sup>⓪</sup>	14 <sup>⓪</sup>	1 <sup>⓪</sup>	1 <sup>⓪</sup>
	대조	275	22	19	43	4	4

① *S aureus*에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.

② *Streptococcus agalactiae*에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.

③ CNS에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.

- ④ other Strep.에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.
- ⑤ Coliforms에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.

나. 1% Povidone iodine 침지 실험액의 야외 실험 성적

감염 분방수							
실험군	처리	분방수	<i>S aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CNS	other Streptococcus	Coliforms
3	침지	236	7	1	3	0	0
	대조	245	26	2	11	2	4
4	침지	95	2	4	16	3	1
	대조	89	6	16	29	7	3
Total	침지	331	9 <sup>u</sup>	5 <sup>w</sup>	19 <sup>w</sup>	3 <sup>u</sup>	1 <sup>w</sup>
	대조	334	32	18	40	9	7

- ① *S aureus*에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.
- ② *Streptococcus agalactiae*에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.
- ③ CNS에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.
- ④ other Strep.에 대한 침지 효과 :  $p > 0.05$ 로 유의성이 없다.
- ⑤ Coliforms에 대한 침지 효과 :  $p < 0.05$ 로 유의성이 있다.

## 제 4 절 고 찰

젖소에 있어 건유기간은 손상유선조직의 재생기간임과 동시에 유방감염율이 가장 높은 기간이다. 특히 건유 초기 10일간과 분만 전후의 각 10일간은 매우 중요하다. 이때 감염을 차단하는 유일한 방법은 유두침지 소독을 매일 2회이상 실시하여 균의 침입을 막는 것이다. 그러나 오늘날 사용되고 있는 유두침지약은 건유기용으로 Latex제제가 권장되었으나 피부부작용으로 그에 상응하는 약제개발이 시급한 상황이다. 한편 우리나라에서 사용되고 있는 유두침지약은 단순한 비유기용을 건유기에 적용하고 있을 따름이다. 이 문제에 있어서 가장 바람직한 것은 한 번 침지하면 유두 표면에서 장기간 약제를 방출하는 서방형 약제의 개발로 감염주기를 막을 수 있어야 한다. 이에 관한 연구는 아직 시도된 바가 없어서 본 연구가 처음이라고 할 수 있다. 건유기간이 다음번 비유에 미치는 악영향은 종부일자의 부정확으로 정확한 건유기를 알아내기가 불가능한 경우이다. 임신감정으로 도움을 얻어내지만 그러나 정확하게 건유기간을 결정할 수 없다. 임신이 체크되거나 혹은 되지 않은 종부우군은 0일부터 280일 이상의 건유기를 갖고 있다. 약 33%의 소는 40-45일 보다 짧은 건유기간을 가질 것이고 33%의 소는 45-80일 그리고 또 33%의 소는 80일 이상의 건유기를 갖게 될 것이다. 즉 너무 길거나 또는 짧은 건유기를 갖게 된다는 것이다. 이 처럼 건유기간의 적절한 설정의 실패로 인해 농가에게는 커다란 경제적 손실이 발생하게 된다.

신규감염을 예방하기 위해 유두침지소독제의 사용은 크게 클로르헥시딘과 요오드제가 널리 사용되고 있지만 최근 요오드제의 부작용에 대한 보고가 있고 장기간 효력을 발휘하지 못하기 때문에 유두표면에 장막을 형성하면서 지속형 유두침지 소독제의 개발에 관심이 집중되고 있다. 또한 발포제 형태의 유두침지소독제는 새로운 용기가 필요하지 않고 계속적으로 정제형태의 유두소독제를 이용할 수 있어 간편하기 때문에 연구중에 있다(Timms 등, 1997). 유방내 주입을 하지 않고도 유두 침지만으로도 신규 감염을 효과적으로 대응할 수 있다(Timms Leo, 2001).

본 연구는 서방형 제제를 통한 유두 침지시 장기간의 소독제 방출이라는 착안을 통해 건유기시 유방 감염을 유의적으로 감소시킬 수 있었다. 우리나라 목장현장에서 가장 골치거리 질병인 젖소의 유방염에서 건유우에 대한 효과적인 관리 및 유방염 예방 및 치료를 위한 새로운 기법중 하나가 개발된 것이다. 이 기법은 앞으로 조기 도태로 잃게 되는 젖소 수의 감소, 임상형 유방염 발생의 감소, 원유손실의 감소, 치료 비용의 감소, 여분의 노동력 감소 등 축산 농가의 손실을 크게 막아 줄것으로 예상되고 유방염이 감소함에 따라 체세포수의 감소, 항생제 사용 감소로 고품질 원유의 생산이 가능하게 할 것이다. 특히 젖소가 *E coli* O157:H7, *Campylobacter*, *Listeria*, *Salmonella* 등 전염성 질병의 감염원이라는 보고가 있다(Buzby 등, 1996). Milk sample에서 *E coli* O157:H7, *Salmonella* spp, *Staph aureus*가 검출되었다(Murinda 등, 2001). 대장균성 유방염의 건유기와 착유 초기에 감염의 중요성이 인식되고 (Smith 등, 1985, Bradley 등, 2000)있는 점을 생각하면 이번 결과에서 대조군에 비해 신제제를 이용한 유두침지시 대장균성 유방염이 상당히 줄어든 것을 볼수 있다. 점점 축산물의 안정성과 국민 건강에 대한 관심이 증대하면서 이번에 개발한 신기술은 축산 농가의 골치거리를 해결하고 국민 보건에 기여한다고 할 수 있다.



## 제 5 절 결 론

본 연구의 in vitro 실험 결과 우유 원액에서 가장 안전한 살균력을 가진 것은 1% Povidone iodine과 1% Chlorhexidine이었다. 장막 형성 유두 침지 소독제에 가장 적절한 것은 Lanolin이 선정되었고 유두 피부 습윤제 및 연화제로서 최적 제제는 10% Glycerin 인 것으로 밝혀졌다.

이러한 결과를 조합하여 만든 최적 제제는 A제제(1% Povidone iodine + 10% Glycerin + 1% Lanolin)와 B제제(1% Chlorhexidine + 10% Glycerin + 1% Lanolin)였다.

A와 B 제제를 이용한 야외 실험에서 두 제제 모두 *S aureus*, *Streptococcus agalactiae*, CNS, Coliforms에 대해 대조군에 비해 유의성 있는 유두 침지 효과를 나타내었다.

## 제 6 절 참고문헌

1. Bradley, A.J. and M.J. Green (2000) A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *J Dairy Sci* 83 1957
2. Buzby, J.C., and T. Roberts. 1996. ERS updates US foodborne disease costs for seven pathogens. Economic Research Service/USDA. *Food Rev* 19:20
3. Eberhart, R.J. 1986. Management of dry cows to reduce mastitis. *J Dairy Sci* 69:1721
4. Murinda, S.E., et. al. 2001. Isolation of mastitis and Foodborne pathogens from dairy farms. *NMC Proceedings 2001*, 245-6
5. Pankey, J.W., Barker, R.M., Twomey, A., Duirs, G. 1982 Comparative efficacy of dry cow treatment regimens against *Staphylococcus aureus*. *New Zealand Veterinary Journal* 30, 13-15.
6. Smith, A., Westgarth, D.R., Jones, M.R., Neave, F.K., Dodd, F.H., Brander, G.C. 1967 Methods of reducing the incidence of udder infection in dry cows. *Veterinary Record* 81, 504-10.
7. Smith, K.K., D.A. Todhunter and P.S. Schoenberger (1985) Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. *J Dairy Sci* 68 402

8. Timms, L. 2001. Field trial evaluations of a novel persistent barrier teat dip for preventing mastitis during the dry period and as a potential substitute for dry cow antibiotic therapy. *NMC Proceedings 2001*, 262-3
9. Williamson, J.H., Woolford, M.W., and Day, A.M. 1995 The prophylactic effect of a dry cow antibiotic against *Streptococcus uberis*. *New Zealand Veterinary Journal* 43, 228-34
10. Woolford, M.W., et. al. 1998. The prophylactic effect of a teat sealer on bovine mastitis during the dry period and the following lactation. *New Zealand Veterinary Journal* 46:12-19

## 제 6 장 결 론

이 연구는 차기 비유기간의 생산성을 결정짓는 건유·전환기에 있는 젖소의 건강관리기술을 개발하여 우리나라 목축농가의 생산성을 향상시킬 목적으로 시도되었다. 이 연구사업의 내용은 건유·전환기 젖소의 건강관리기술 개발, 유방염 혼합백신 개발, 건유기전용 유방내 주입제 개발, 건유기전용 유두침지제 개발 등 4부분으로 구성되었다.

첫째, 건유·전환기 젖소 건강관리 지침서(표준서)

이 지침서에서 작성된 내용은 건유·전환기를 건유전기, 건유후기, 비유전기 등 3단계로 구분하고 각 단계별로 실행해야 할 건강관리 항목과 요령을 기술하였다. 이 기술을 잘 이행하면 분만전후에 발생하는 생산저해성 질병을 효과적으로 예방할 수 있고, 생산성을 증대시킬 수 있다. 이 기술은 앞으로 목축농가에 교육자료로 활용될 수 있고 젖소의 건유기와 전환기 관리체계 수립에 필요한 기초자료를 마련하였다.

둘째, 유방염 혼합백신 개발

biodegradable microsphere를 이용한 유방염 혼합백신 제조는 DL-PLGA의 비율을 50:50으로 보정하여 microsphere을 제조하는 것이 가장 적당하다. 본 연구에서 제조된 Staph. aureus균과 streph. agalactiae균의 혼합백신은 건유기 젖소에 1회 접종으로 혈중항체가를 빠른 시간내에 상승시키고 4개월동안 지속시킬 수 있다. 앞으로 이 두 균종의 백신항원형 조합과 유선조직내 방어기전에 관한 연구를 접목하면 새로운 젖소 유방염 예방백신으로 이용 가능하리라 사료된다.

셋째, 건유기전용 유방내 주입제 개발

이 연구에서 개발한 biodegradable microsphere내에 내장된 cephalexin은 서방형으로 건유일에 1회 주입으로 유방내에서 5주간 살균효과를 가진다. 이것은 건유직후에 형성되는 신규감염을 차단하고 기 감염균을 유방내에서 방제한다.

넷째, 건유기전용 유두침지 소독제 개발

이 연구에서 개발된 서방형 microsphere내에 내장된 povidon iodine제와 chlorhexidine제는 건유직후와 분만전7일에 1회 유두침지로 유두표면에서 서서히 방출되어 7일간 살균효과를 발휘하여 이 기간의 신규 유방감염을 효과적으로 예방한다.

다섯째, 이 연구에서 개발한 유방염 혼합백신, 서방형의 건유기전용 유방내 주입제 및 유두침지제를 함께 적용하는 목장현장관리가 일상화 될 때 건유기와 전환기 관련성 질병 발생율을 효과적으로 예방할 수 있으며, 건유기와 전환기에 있는 젖소의 건강관리기술 보급을 위한 기술교육이 전국적으로 실시될 때 경쟁력이 있는 고품질원유 대량생산이 가속화 될 것이다. 이 연구에서는 이에 필요한 핵심적 자료와 기술이 개발되었다.

이와같은 효과는 목장현장의 최일선에서 일하는 목부와 목장관리인의 의지와 과학적인 기술적용능력과 비례할 것이다.

## 제 7 장 참 고 문 헌

1. Arthur L, Ney MD, Jorge A, Granja MD, Patricia A, Schuster MD, Dean T, Tsukayama MD, Donald M, Jacobs MD and Melvin P, Bubrick MD. The use of Biodegradable Amikacin Microspheres to Prevent Vascular Graft Infection. *Journal of Surgical Research* 1994;57:698-705.
2. Hideshi Natsume, Kenji Sugibayashi, and Yasunori Morimoto. In vitro release profile of mitomycin C from Albumin microspheres: Extrapolation from macrospheres to microspheres. *Pharmaceutical Research* 1991;8(2):185-190.
3. Elliot Jacob, George Cierny III, Karen Zorn, James F. McNeill, and Michael T. Fallon. Delayed local treatment of rabbit tibial fracture with biodegradable cefazolin microspheres. *Clinical orthopaedics and related research* 1997;336:278-285.
4. Elliot Jacob, George Cierny, Michael T Fallon, James F. McNeil and George S. Siderys. Evaluation of biodegradable cefazoin sodium microspheres for the prevention of infection in rabbits with experimental open tibial fractures stabilized with internal fixation. *Journal of Orthopaedic Research*. 1993;11:404-411.
5. Jeffrey L. Cleland. Solvent evaporation processes for the production of controlled release biodegradable microsphere formulations for therapeutics and vaccines. *Biotechnol. Prog.* 1998;14(1):102-107.

6. Cleland JL, Langer R. Formulation and delivery of proteins and peptides: Design and development strategies. In Protein Formulations and Drug Delivery; Cleland JL, Langer R., Eds.; ACS Symposium Series, Vol. 567; American Chemical Society: Washington DC, 1994;1-21.
7. Cleland JL. Protein delivery from biodegradable microspheres. In protein delivery: Physical Systems; Saunders, L., Hendren, W., Eds.; Plenum: New York, 1997;1-43.
8. Cleland JL, Duenas ET, Daugherty AL, Marian M, Yang J, Wilson M, Celniker AC, Shahzamani A, Quarmby V, Chu H, Mukku V, Mac A, Roussakis M, Gillette N, Boyd B, Yeung D, Brooks D, Maa YF, Hsu C, Jones AJS. Recombinant human growth hormone poly(lactide-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres provide a long lasting effect. *J Controlled Release* 1997;47:135-150.
9. Kissel T, Koneberg R. Injectable biodegradable microspheres for vaccine delivery. In Microparticulate systems for the delivery of proteins and vaccines; Cohen, S., Bernstein, H., Eds.; Dekker: New York, 1996:51-88.
10. Bradley, A.J. and M.J. Green (2000) A study of the incidence and significance fo intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *J Dairy Sci* 83 1957
11. Buzby, J.C., and T. Roberts. 1996. ERS updates US foodborne disease costs for seven pathogens. Economic Research Service/USDA. *Food Rev* 19:20

12. Eberhart, R.J. 1986. Management of dry cows to reduce mastitis. *J Dairy Sci* 69:1721
13. Murinda, S.E., et. al. 2001. Isolation of mastitis and Foodborne pathogens from dairy farms. *NMC Proceedings 2001*, 245-6
14. Pankey, J.W., Barker, R.M., Twomey, A., Duirs, G. 1982 Comparative efficacy of dry cow treatment regimens against *Staphylococcus aureus*. *New Zealand Veterinary Journal* 30, 13-15.
15. Smith, A., Westgarth, D.R., Jones, M.R., Neave, F.K., Dodd, F.H., Brander, G.C. 1967 Methods of reducing the incidence of udder infection in dry cows. *Veterinary Record* 81, 504-10.
16. Smith, K.K., D.A. Todhunter and P.S. Schoenberger (1985) Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. *J Dairy Sci* 68 402
17. Timms, L. 2001. Field trial evaluations of a novel persistent barrier teat dip for preventing mastitis during the dry period and as a potential substitute for dry cow antibiotic therapy. *NMC Proceedings 2001*, 262-3
18. Williamson, J.H., Woolford, M.W., and Day, A.M. 1995 The prophylactic effect of a dry cow antibiotic against *Streptococcus uberis*. *New Zealand Veterinary Journal* 43, 228-34
19. Woolford, M.W., et. al. 1998. The prophylactic effect of a teat sealer on bovine mastitis during the dry period and the following lactation. *New Zealand Veterinary Journal* 46:12-19



20. Michigan dairy extension programming team. 1996. managing the dry cow for more profit. 10-96:
21. Smith, A., D.R. Westgarth, M.R. Jones, F.K. Neave, F.H. Dodd, and G.C. Brander. 1967. Methods of reducing the incidence of udder infection in dry cows. Vet. Record 81:504.
22. Olsen, S. J. 1975. A mastitis control system based upon extensive use of mastitis laboratories. IDF Bulletin Document 85 : 410.
23. Middleton, J.R., L.K. Fox. A comparison of betadine and chlorhexidine for drying-off mammary quarters chronically infected with staphylococcus aureus. Proceeding of 34th NMC meeting 213-215.
24. Wustenberg, M. 1998. Focusing on dry cows. NMC regional meeting proceeding. 6-13.
25. Kelton, D. 2001 Deciding to dry-off: Does level of production matter? NMC 40th Annual Meeting proceedings. 69-99.
26. Williamson, J. 2001. Strategies for protecting the teat at dry off. NMC 40th Annual Meeting Proceedings. 88-94.
27. Erskine, R., 2001. Enhancing immunity during the dry period: pitfalls and opportunities. NMC 40th Annual Meeting proceedings. 95-106.