

# 난황항체를 이용한 돼지 대장균 설사증 방제기법 개발 I. 대장균 pilus 항원과 LT로 면역시킨 닭의 면역반응

우승룡 · 김종만 · 권창희 · 이희수 · 임숙경 · 김종엽

국립수의과학검역원  
(1998년 8월 18일 접수)

## Development of preventive method for enterotoxigenic colibacillosis using egg yolk antibodies

### I. Immune responses of hens immunized against combined *Escherichia coli* pilus antigens and heat labile toxin

Seng-ryong Woo, Jong-man Kim, Chang-hee Kwon, Hee-su Lee,  
Suk-kyoung Lym, Jong-yeom Kim

National Veterinary Research and Quarantine Services

(Received Aug 18, 1998)

**Abstract** : Immunogenicity of *Escherichia coli* pilus and LT were evaluated in 20-week-old hens. The antigens were consisted of K88, K99, 987p pilus and heat labile toxin purified from enterotoxigenic *Escherichia coli*. The durations of antibody titers in sera and egg yolk were investigated by an enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). After first inoculation, antibody titers in sera reached at peak 2 weeks postinoculation. However, peak antibody titers in egg yolk were detected 4 weeks postinoculation, indicating that transfer of immunoglobulin from serum to egg yolk took about two weeks period. Although there were slight reduction in titers, the specific antibodies in egg yolk lasted up to 3 months. Immune responses against monovalent and combined antigens were showed as almost same patterns. The transfer rate of antibodies from serum to egg yolk didn't show any significant differences among three pilus antigens in this study. Considering the concentrations of antigens in each inoculated group, multivalent antigens containing heat labile toxin of *E coli* were found to be more immunogenic than monovalent antigen in producing specific antibodies. From this experiment, it was demonstrated that multivalent antigens containing three pilus and heat labile toxin could be a promising candidate for the production of egg yolk antibodies for prophylactic use in preventing swine colibacillosis in future.

**Key words** : *Escherichia coli* , pilus, LT, egg yolk, immune responses.

## 서 론

독소원성 대장균에 의한 어린 가축의 설사증은 주로 돼지 및 송아지에서 문제되며, 특정한 병원성 인자를 가진 대장균의 감염에 의하여 발생한다<sup>1-3</sup>. 독소원성 대장균은 장관벽에 부착하여 균의 증식을 유도하는 부착인자와 장관내의 삼투압을 변화시켜서 설사를 일으키는 장독소의 생성이라는 주요한 두가지 병원성 인자를 가진다<sup>4-7</sup>. 이러한 독소원성 대장균에 의한 설사는 면역기능이 불완전한 신생아돈에서 주로 발생하며, 포유자돈 및 이유자돈에서도 발생한다.

대장균 설사증의 예방을 위해서는 대장균의 병원성 인자인 부착인자와 이열성 독소를 함유하는 vaccine을 제조하여, 임신모돈에게 분만전 2회 주사하고, 분만후 초유를 통하여 항체를 전달함으로써 질병의 예방을 이루려는 시도가 일반적이다<sup>8</sup>. 하지만 임신모돈의 상태에 따라 충분한 항체의 생성이 이루어지지 않는 경우, 초유가 부족한 경우에는 자돈들에게 충분한 방어력을 제공할 항체의 전달은 이루어지지 않는다. 또한 초유를 통한 모체이행항체는 지속기간이 짧으며 이유시까지 자돈들에게 충분한 방어력을 제공하지 못한다.

난황항체는 주로 달걀중의 난황내의 이뮤노글로블린 중 IgG를 의미한다. 난황중의 항체가는 주로 면역된 닭의 혈중 항체가를 예측할 목적으로 이용되어 왔다<sup>9,10</sup>. 즉, 면역된 닭의 혈중 항체가를 측정하기 위한 대체적인 방법으로 이용되었다. 최근에는 이러한 난황항체를 이용하여 대장균 설사증을 예방 및 치료하기 위한 시도가 이루어져 왔으며 많은 연구자들은 난황항체가 대장균 설사증의 예방 및 치료용 제제로서 매우 유용함을 보고하였다<sup>11-15</sup>.

본 연구는 독소원성 대장균의 부착인자와 이열성 독소를 함유하는 백신을 제조하여 닭에 면역시킨 후 닭의 혈중 및 난황내의 항체가의 변화를 관찰하고, 산업화에 필요한 고역가의 난황항체의 생산과 항체 지속기간을 조사하기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

사용균주 : 대장균 백신의 제조를 위하여 미국 NADC (National Animal Disease Center)와 South Dakota Univ-

ersity에서 분양받아 수의과대학검역원에서 보관중인 S-175(K88), S-20(K99), 987p(987p), S-99(LT) 네가지 균주를 사용하였다.

Pilus 항원의 제조 : S-175, S-20, 987p 세가지 균주를 합성배지인 Minca broth에 접종한 후 37℃에서 18시간동안 진탕 배양하였다. 배양한 균액을 8,000rpm으로 20분간 원심분리하여 균을 수확한 후 PBS(pH 7.2)로 처음배양액의 1/10로 부유시켰다. 부유된 균액을 mixer를 이용하여 4℃에서 2분간 blending하여 균체에서 pili를 분리하였다. 이후 30,000g에서 15분간 원심분리하여 pili가 함유된 상층액을 모으고 ammonium sulfate를 60% 포화되게 가한 후 4℃에서 하룻밤동안 두었다. 재원심분리하여 침전물을 모으고 처음배양액의 1/100양의 PBS(pH 7.2)로 침전물을 부유시킨 후에 4℃ 48시간동안 투석하였다. 투석한 액을 0.45µm filter로 여과후 단백질의 농도를(BCA reagent, pierce company) 측정하여 백신제조에 사용하였으며, 참고적으로 K88, K99, 항원의 역가는 MRHA(Mannose Resistant Hemagglutination) 방법으로 조사하였다<sup>16</sup>.

LT toxoid의 제조 : 이열성 독소를 산생하는 S-99 균주를 CAYE(Casamino Acid Yeast Extract) 배지에 접종한 후 37℃에서 18시간동안 배양한 후 lincomycin(45µg/ml)이 첨가된 CAYE 배지에 계대하여 37℃ 24시간동안 진탕 배양하였다. 배양한 균액을 원심분리하여 수확한 후 처음배양액의 1/10양의 PBS(pH 7.2)로 재부유시킨 후에 polymixin B(0.2g/L)를 첨가한 후 37℃에서 2시간동안 처리하였다. 처리된 액을 4℃에서 12,000g 20분동안 원심분리한 후에 상층액을 취하여 ammonium sulfate를 포화되게 가한 후 4℃에서 하룻밤동안 두었다. 포화된 액을 원심분리하여 침전물을 처음배양액의 1/100양의 PBS(pH 7.2)로 부유시킨 후에 4℃ 48시간동안 투석하였다. 투석한 액을 0.22µm filter로 여과후 이열성 독소의 불활화를 위해서 60℃ 2시간동안 처리한 후 formalin을 0.5% 되게 가하였다. 이후 toxoid화된 이열성 독소의 단백질 농도를 (BCA reagent, pierce company) 측정하여 백신제조에 사용하였으며, 참고적으로 생산한 LT toxoid의 역가는 VET-RPLA(Seiken Co.) kit를 사용하여 측정하였다.

산란계 백신접종 : 산란을 시작한 20주령 이상의 백색 산란계를 구입하여 접종군과 대조군으로 나누었다. 접종군은 각각 6마리씩, 1군은 K88, 2군은 K99, 3군은 987p, 4군은 K88, K99, 987p 혼합, 5군은 K88, K99, 987p, LT혼합한 백신을 제조하여 제조한 백신을 각각 1ml씩

Table 1. Classification of experimental groups

Groups	No. of chickens	Antigens	Concentration of antigens( $\mu$ g)		
			1st	2nd	3rd
1	6	K88	170	200	18
2	6	K99	80	150	359
3	6	987p	210	230	112
4	6	K88+K99+987p	25, 10, 40	140, 100, 200	6, 120, 37
5	6	K88+K99+987p+LT	25, 10, 40, 10	125, 70, 140, 40	6, 120, 37, 29
Control	4	-	-	-	-

근육으로 접종하였다. 1차 접종은 각각의 항원 70%에 aluminium gel 30%를 혼합하여 흡착시킨 후 접종하였으며, 2차 접종은 각각의 항원 30%에 oil adjuvant ISA 70(Seppic com.)을 70% 혼합하여 충분히 섞은 후에 1차 접종 4주후에 접종하였다. 3차 접종은 2차 접종과 동일한 항원을 2차 접종후 16주후에 접종하였다. 대조군은 접종군과 동일한 조건에서 사육하였으며, 아무런 처치도 하지 않았다(Table 1).

혈청분리 및 난황항체의 추출 : 백신접종전 및 접종후 2주후에 각각 닭의 익하정맥에서 혈액을 채취하여 4℃에서 하룻밤 보관후에 원심분리하여 혈청을 수집한 후 56℃ 30분 동안 비동화한 후에 항체가의 측정에 사용하였다. 수집한 달걀의 난황항체는 수집한 달걀의 노른자만을 분리하여 50ml 원심튜브에 넣은 후에 동량의 PBS(pH 7.2)를 가하여 혼합하였다. 혼합한 액에 동량의 chloroform을 가하고 실온에서 2시간동안 정치시킨 후에 일부를 취하여 eppendorf 튜브에 옮겨 12,000rpm, 2분간 원심분리한 후에 상층액을 취하여 항체가의 측정에 사용하였다.

ELISA 방법에 의한 항체가의 측정 : K88, K99, 987p, LT toxoid 항원을 coating buffer에 부유시켜 ELISA용 plate에 100 $\mu$ 씩 각각의 well에 분주한 후 4℃ 하룻밤동안 방치하였다. Plate를 꺼내어 tween-PBS(0.05% tween 20 in PBS)로 5-6회 세척한 후 blocking buffer (1% gelatin)를 200 $\mu$ 를 가한 후에 실온에서 30분동안 정치시켰다. Tween-PBS로 5-6회 세척한 후 혈청은 1:200으로, 난황 추출액은 1:100으로 각각 희석하여 100 $\mu$ 씩 가한 후 37℃, 30분동안 반응시켰다. 이후 tween-PBS로 5-6회 다

시 세척한 후 conjugate(goatanti-chicken IgG-HRP)를 1:1, 000으로 희석한 후 100 $\mu$ 씩 분주하여 37℃, 30분동안 반응시킨 후에 substrate(ABTS solution)를 100 $\mu$ 씩 가한 후 실온에서 30분동안 반응시키고, stop solution (0.5M HCl)을 50 $\mu$ 씩을 넣은 후에 405nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 결 과

생산한 pilus 항원의 MRHA 역가 : 백신제조에 사용하기 위하여 제조한 K88, K99 항원의 역가를 MRHA법을 이용하여 측정한 결과 K88은 512배, K99는 64배의 역가를 보였다.

생산한 이열성 독소의 역가 : 백신제조에 사용하기 위하여 제조한 이열성 독소(LT)의 역가를 VET-RPLA(Seiken Co.) kit를 이용하여 측정한 결과 32배의 역가를 나타내었다.

면역된 닭의 혈중항체가의 변화 : 각각의 항원을 접종한 닭의 혈청중 항체가는 접종전, 1차 접종 2주후, 2차 접종전, 2차 접종 2주후, 3차 접종전, 3차 접종 2주후에 각각의 군별로 6마리의 닭에서 채혈하여 측정하여 평균치를 구하였으며, 항체가는 각각의 처치군의 흡광도에서 대조군의 흡광도를 감한 값으로 나타내었다. K88, K99, 987p 항원을 각각 단독으로 접종한 군의 혈중항체가는 1차 접종 2주후와 2차 접종 2주후에 대조군에 비하여 크게 증가함을 알 수 있었다. 2차 접종 2주후 혈청중 난황항체는 접종전에 비하여 K88은 1.11, K99는 0.65, 987p는 1.48의 흡광도의 증가를 나타내었다. 항체가의 증가수준은 987p, K88, K99의 순으로 증가하였는데 이러한

결과는 2차 접종시 항원의 농도와 관련이 있는 것으로 생각된다. 3차 접종 2주후에는 K88만이 높은 항체가의 증가를 보였으며 K99, 987p 항원은 약간의 항체가의 상승을 볼 수 있었다. 3차 접종시 K88 항체가는 낮은 항원의 농도에도 불구하고 이미 형성된 면역체계를 자극할 수 있음을 보여주며, K99와 987p 항원은 거의 항체가가 최고의 수준에 도달하여 높은 항원농도에도 불구하고, 높은 항체가의 상승은 관찰되지 않았다(Fig 1). K88, K99, 987p를 혼합하여 제조한 시험백신을 접종한 군에서는 2차 접종 2주후 K88은 0.25, K99는 0.84, 987p는 1.51의 항체가의 증가를 보였다. 이는 K88을 제외하고 단독접종군과 비슷한 항체가의 증가이며, K88은 혼합접종시 충분한 초기면역이 이루어지지 않았음을 의미한다(Fig 2). K88, K99, 987p의 세가지 pili 항원과 LT toxoid를 첨가하여 접종한 군에서는 2차 접종 2주후 K88은 0.08, K99는 0.54, 987p는 1.03, LT는 0.28의 항체가의 증가를

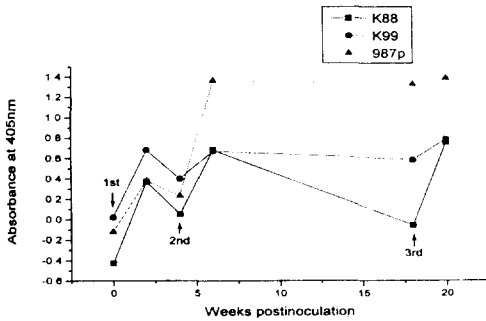


Fig 1. Antibody titers in sera of hens immunized with antigens of K88, K99 and 987p pill, respectively.

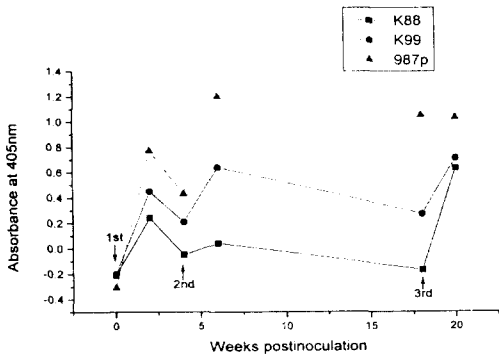


Fig 2. Antibody titers in sera of hens immunized with combined K88, K99 and 987p pili antigens.

보였으나 3차 접종 2주후에는 K88은 0.84, K99는 0.83, 987p는 1.29, LT는 0.76의 항체가의 증가를 보였다. 이러한 결과는 3가지 pili를 혼합하여 접종한 군과는 2차 접종시 항원의 농도에 따라서 항체가의 증가에 차이가 나타났으며 3차 접종후에는 거의 비슷한 항체가를 나타내었다(Fig 3).

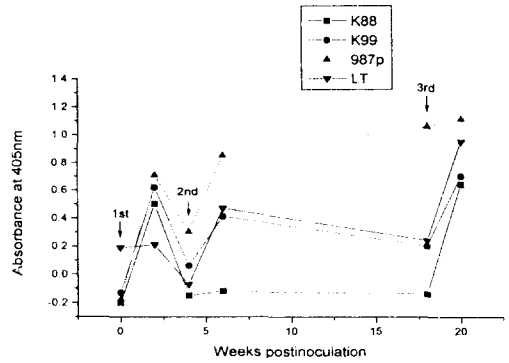


Fig 3. Antibody titers in sera of hens immunized with combined K88, K99, 987p pili antigens and LT toxoid.

면역된 닭의 난황중 항체가의 변화 : 각각의 항원을 접종한 닭의 난황중 항체가는 혈청중 항체가와 같은 방법으로 주별로 수집된 달걀의 난황중 항체가를 측정하여 대조군의 항체가를 감한 후에 평균값을 취하여 나타내었다. K88, K99, 987p 항원을 단독으로 접종한 군의 난황중 항체가는 접종전과 비교하여 2차 접종 2주후 K88은 0.74, K99는 0.61, 987p는 1.21의 증가를 보였으며, 3차 접종 2주후에는 각각 K88은 1.02, K99는 0.73, 987p는 1.41의 증가를 보였다. 이는 혈청중 항체가의 증가수

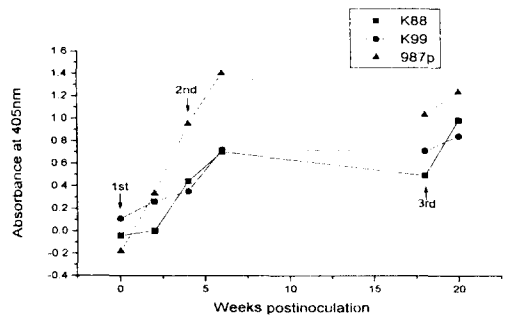


Fig 4. Antibody titers of egg yolks from hens immunized with antigens of K88, K99 and 987p pili, respectively.

치와 거의 비슷한 수치였다(Fig 4). K88, K99, 987p pilus를 혼합하여 접종한 군은 접종전에 비하여 2차 접종 2주 후 K88은 0.04, K99는 0.47, 987p는 -0.07의 증가를, 3차 접종 2주후에는 K88은 0.55, K99는 0.44, 987p는 1.24의 증가를 보였다. 이러한 증가치의 변화는 전반적으로 단독접종군에 비하여 모두 낮은 수치였지만 혈중항체의 증가치의 변화를 고려할 때 혈중항체의 난황내 이전시간에 따른 차이와 면역한 닭의 개체별 항체이전능력과 산란율에 따른 차이로 생각된다(Fig 5). 세가지 pilus 항원에 LT toxoid를 첨가하여 접종한 군의 난황중 항체가의 변화는 접종전과 비교하여 2차 접종 2주후에는 K88은 -0.05, K99는 0.74, 987p는 1.11, LT는 1.51의 증가를 3차 접종 2주후에는 K88은 0.07, K99는 0.38, 987p는 1.20, LT는 1.52의 증가를 보였다. LT를 포함하지 않은

pilus 혼합접종군과 비교하여 혈중항체가의 변화와 같은 변화양상을 보였지만 K88 항원의 경우는 상대적으로 낮은 항체가를 보였다(Fig 6).

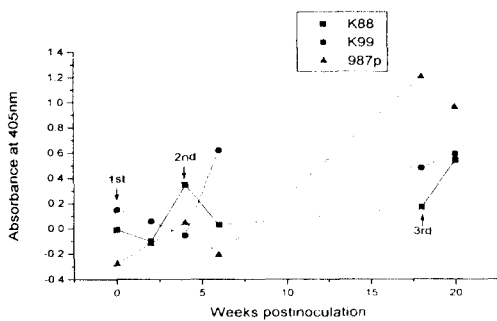


Fig 5. Antibody titers of egg yolks from hens immunized with combined K88, K99, and 987p pili antigens.

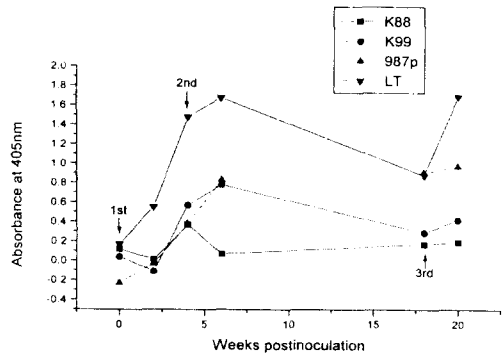


Fig 6. Antibody titers of egg yolks from hens immunized with combined K88, K99, 987p pili antigens and LT toxoid.

면역된 닭의 혈중 및 난황항체가의 비교 : 세가지 pilus 항원과 LT toxoid를 함유한 백신을 닭에 접종한 군에서 주기별 혈중 및 난황항체가의 상관관계를 비교하였다. 혈중항체가는 세가지 pilus 모두 1차 접종후 2주후에는 증가하고, 2주후부터 4주후까지는 감소하는 경향을 나타내었으나 난황중항체가는 백신접종후 2주까지는 약간 감소하는 경향을 보이며 오히려 1차 접종후 2주부터 4주 사이에 증가하는 경향을 보였다. 이는 혈중에 형성된 항체들이 난황내로 이전되는데 약 2주간의 시간

Table 2. Comparison of specific antibody titers of serum and egg yolks from hens immunized with combined K88, K99, 987p pili antigens and LT toxoid

Antigens	Antibody titers in egg yolk and serum*											
	Egg yolk						Serum					
	0**	2	4	6***	18****	20	0	2	4	6	18****	20
K88	0.12	0.01	0.37	0.07	0.17	0.19	-0.21	0.50	-0.15	-0.12	-0.14	0.64
K99	0.04	-0.11	0.57	0.78	0.29	0.42	-0.13	0.62	0.06	0.41	0.20	0.70
987p	-0.23	-0.03	0.38	0.83	0.91	0.97	-0.18	0.71	0.30	0.85	1.06	1.11
LT	0.17	0.55	1.48	1.68	0.88	1.69	0.19	0.21	-0.07	0.47	0.24	0.95

\* Absorbance at 405nm(O.D. of vaccine group - O.D. of control group).

\*\* First inoculations.

\*\*\* Second inoculations.

\*\*\*\* Third inoculations.

간격이 있음을 의미한다. 한편 LT toxoid 항원의 경우에는 세가지 pilus 항원과는 다르게 혈중항체가의 변화와 난황내 항체가의 변화양상이 거의 유사하였다. 이러한 결과는 LT toxoid에 대한 항체의 형성과 이전이 다른 pilus 항원과 비교하여 좀더 신속하게 이루어지는 것으로 생각된다(Table 2).

## 고 찰

독소원성 대장균의 병원성 인자인 pilus과 장독소 LT에 대한 닭에서의 면역형성능을 조사하기 위하여 시험백신을 제조하였다. 독소원성 대장균의 병원성 인자에 대한 면역형성능은 대장균의 부착인자인 pilus와 면역능이 있다고 알려진 이열성장독소를 포함한 백신이 가장 우수한 방어능을 보이는 것으로 알려져 있으며, 특히 각각의 pilus를 발현하는 대장균의 whole cell 보다 각각의 pilus를 분리정제한 subunit 백신이 더 우수한 방어능을 보이는 것으로 보고되어 있다<sup>17</sup>.

제조한 시험백신으로 면역시킨 닭의 K88, K99, 987p, LT에 대한 혈중항체가는 단독접종군과 혼합접종군 모두에서 1차 접종 2주후와 2차 접종 2주후에 급격한 항체가의 상승을 관찰하였다. 이는 다른 세균들이나 BSA (Bovine Serum Albumin)으로 면역한 후 나타나는 항체가의 변화와 일치한 결과이며, 이러한 결과로 닭에서의 세가지 pilus와 LT가 모두 면역원성이 있음을 확인할 수 있었다. 또한 단독접종군과 비교하여 혼합접종군은 약 2.5배 이상의 낮은 항원농도에도 불구하고 3차 접종 2주후에 단독접종군과 비슷한 항체가의 증가를 보였다. 이는 세가지 pilus 항원이 닭에서의 면역형성시 서로 간섭하지 않으며, 낮은 항원농도로 충분한 면역을 일으킨 결과로서 생각되며, LT toxoid를 첨가하여도 각각의 항원에 대한 항체형성능에는 영향을 주지 않는 것으로 판명되었다. 2차 접종후 세가지 pilus 항원과 LT toxoid에 대한 항체가는 서서히 감소하는 경향을 보였으나 약 3개월까지 높은 수준을 유지하였다. 이러한 결과는 이전의 보고와 일치하며<sup>18</sup>, 대장균의 세가지 pilus 항원과 LT toxoid에 대한 면역지속능이 오래 유지되는 것으로 생각된다. 항원별 닭에서의 면역형성능은 3차 접종 2주후의 각각의 pilus 항원에 대한 항체가의 증가를 볼 때 LT를 첨가한 혼합군에서 K88은 0.84, K99는 0.83, 987p는 1.29의 증가를 보였는데 3차 접종시 K88 항원의 농도가 6 $\mu$ g이었

지만 접종전과 비교하여 0.74의 항체가의 상승을 보인 결과를 고려할 때 항원의 성질에 따른 면역형성능의 차이보다는 면역시킨 항원의 농도에 따른 차이라고 생각된다. 세가지 pilus 혼합군과 세가지 pilus에 LT toxoid를 첨가한 군의 항체가는 3차 접종 2주후에 각각의 pilus에 대하여 비슷한 항체가를 보였다. 이러한 결과는 세가지 pilus 항원에 LT toxoid를 첨가하여 면역을 시켰을 때 닭에서의 면역원성에 영향을 주지 않으며, LT에 대한 항체가도 0.76의 증가를 나타내었다. 또한 이전의 보고에서 LT에 대한 항체가 대장균에 대한 방어력을 높인다는 결과를 볼 때<sup>19</sup> 예방 및 치료목적의 난황항체의 생산시 세가지 pilus에 LT를 첨가하여 제조한 항원이 매우 유용할 것으로 생각된다.

각각의 항원을 접종한 닭의 난황내 항체가의 변화는 대부분의 접종군에서 1차 접종 2주후에 항체가의 증가를 보였으며, 3차 접종후 2주후에 혈중항체가는 혼합접종군에서 큰 증가를 보인 반면 난황내항체가는 낮은 항체가의 상승을 보였다. 이러한 변화는 혈중내 특이항체가 난황내로 이전되는 시기에 약 2주간의 시간격이 있음을 보여주었으며, 이전의 보고에서 혈중항체의 난황내 이전시간이 약 1주간의 시간차를 보이는 것과 비슷하며<sup>20</sup> LT 항원에 대한 난황내 항체가는 다른 세가지 pilus 항원과 비교하여 1차 접종후부터 2차 접종전까지 지속적인 상승을 보였다. 이는 각각의 항원의 성질에 따른 닭에서의 면역형성능과 닭의 개체별 차이에 의한 결과라 생각된다. 3차 접종 2주후 접종전에 대한 혈중항체가와 난황내 항체가의 증가치를 비교할 때 단독접종군에서는 K88, 98%, K99 119%, 987p 94%의 상관성을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 세가지 pilus 항원별 혈중항체의 난황내 이동은 차이가 없음을 보였다. 또한 세가지 pilus 항원을 접종한 군의 혈중항체와 난황내 항체가의 비는 K88 65%, K99, 48%, 987p 93%의 상관성을 보였으며, LT를 포함한 혼합접종군의 비율은 K88 11%, K99 46%, 987p 93%, LT 133%의 상관성을 보였다. K99, 987p 항원의 경우는 두군에서 거의 일치하는 결과를 보였고, LT에 대한 항체의 난황내 이전이 우수함을 관찰하였다. K88의 난황내 이전율이 LT를 첨가한 군이 상대적으로 낮았지만 이는 두가지 혼합군에서 혈중항체가의 증가치가 거의 일치함을 고려할 때 LT의 첨가가 K88 항체의 이전에 영향을 미칠 것 보다는 두 접종군의 닭의 개체별 항체 이전능력의 차이<sup>29</sup>와 산란율의 차이로 인한 결과로 생각된다.

## 결 론

산란계에 독소원성 대장균의 병원성 인자인 K88, K99, 987p 세가지 pilus와 LT toxoid의 면역원성을 조사하고 면역형성의 지속능을 알아보기 위하여 본 시험을 실시하였다.

독소원성 대장균의 세가지 pilus인 K88, K99, 987p 항원에 대한 닭에서의 혈중 특이항체는 단독접종군과 혼합접종군 모두에서 1차 접종후 2주후에 크게 증가하였으며, 2차접종후 3개월까지 높은 항체가를 유지하였다. 단독접종군과 혼합접종군의 각각의 pilus 항원에 대한 면역원성은 항원의 농도를 고려할 때 혼합접종군이 더 우수한 항체형성능력을 나타내었으며, LT를 포함한 혼합접종군은 세가지 pilus 혼합접종군과 거의 같은 항체가의 증가를 보였고, LT에 대한 항체의 높은 증가도 관찰하였다. 면역된 닭의 혈중 및 난황내 항체가의 비교 시 세가지 pilus 항원은 모든 접종군에서 난황 및 혈중내 항체가가 약 2주간의 시간간격을 두고 변화하는 양상을 보였으며, LT 항원의 경우에는 이보다 빠른 약 1주간의 시간간격이 있는 것으로 관찰되었다. 혈중항체의 난황내 이전율은 세가지 pilus 항원별 차이는 없었으며, LT 항원은 세가지 pilus 항원과 비교하여 매우 높은 난황내 항체 이전율을 보였다. 이와같은 결과는 이후 병원성 대장균에 의한 설사증의 예방 및 치료목적으로의 난황항체의 개발시에 면역원으로서 K88, K99, 987p 세가지 pilus 항원과 LT를 포함한 항원이 매우 유용하게 이용되리라 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. Moon HW, Whipp SC, Skartvedt SM. Etiologic diagnosis of diarrheal diseases of calves : frequency and methods for detecting enterotoxin and K99 antigen production by *Escherichia coli*. *Am J Vet RES*, 37: 1025-1029, 1976.
2. Myers LL, Guinee PAM. Occurrence and characteristics of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea. *Infect Immun*, 13:1117-1119, 1976.
3. Myers LL. Characterization of *Escherichia coli* obtained from newborn calves with diarrhea. *Infect Im-*

*mun*, 11:493-496, 1975.

4. Moon HW. Mechanisms in the pathogenesis of diarrhea : a review. *J Am Vet Med Assoc*, 172:443-448, 1978.
5. Parry SH, Rooke DM. Adhesins and colonization factors of *Escherichia coli*. In : Sussman M, ed. *The virulence of Escherichia coli*. London : Academic Press Inc, 79-156, 1985.
6. Holmgren J. Toxins affecting intestinal transport processes. In : Sussman M, ed. *The virulence of Escherichia coli*. London : Academic Press Inc, 177-192, 1985.
7. Saeed AMK, Sriranganathan N, Cosand W, et al. Purification and characterization of heat stable enterotoxin from bovine enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 40:781-787, 1983.
8. Nagy B, Moon HW, Isaacson RE. Immunization of suckling pigs against enteric enterotoxigenic *Escherichia coli* infection by vaccinating dams with purified pili. *Infect Immun*, 21:269, 1978.
9. Brown J, Resurreccion RS, Dickson TG, et al. The relationship of egg yolk and serum antibody. I. Infectious bursal disease virus. *Avian Disease*, 33:654-656, 1989.
10. Silim A, Vene D. Comparison of egg yolk and serum antibody titers to avian viruses by ELISA using pried field samples. *Avian Disease*, 33:643-648, 1989.
11. Erhard MH, Bergmann J, Renner M, et al. Prophylactic effect of specific egg yolk antibodies in diarrhea caused by *Escherichia coli* K88(F4) in weaned piglets. *Zentralbl Veterinarmed A*, 43(4):217-223, 1996.
12. Wiedemann, V, Linckh E, Kuhlmann R, et al. Chicken egg antibodies for prophylaxis and therapy of infectious intestinal diseases. V. *In vivo* studies on protective effects against *Escherichia coli* diarrhea in pigs. *Zentralbl Veterinarmed B*, 38(4):283-291, 1991.
13. Yokoyama H, Peralta RC, Diaz R, et al. Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. *Infect Immun*, 60(3):998-1007, 1992.
14. Ikemori Y, Kuroki M, Peralta RC, et al. Protection of

- neonatal calves against fatal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with K99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Am J Vet Res* , 53(11):2005-2008, 1992.
15. O'Farrelly C, Branton D, Wanke CA. Oral ingestion of egg yolk immunoglobulin from hens immunized with and enterotoxigenic *Escherichia coli* strain prevents diarrhea in rabbits challenged with the same strain. *Infect Immun* , 60(7):2593-2597, 1992.
  16. de Graff FK, Roorda I. Production, purification, and characterization of the fimbrial adhesive antigen F41 isolated from calf enteropathogenic *Escherichia coli* strain B41M. *Infect Immun* , 36(2):751-758, 1982.
  17. Jacek O, Marian T, Kazimierz T, *et al* . Evaluation of different vaccines to control of pig colibacillosis under large-scale farm conditions. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* , 13(1):1-8, 1995.
  18. de Graff FK, Wientjes FB, Klaasen-Boor P. Production of K99 antigen by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains of antigen groups O8, O9, O20 and O101 grown at different conditions. *Infect Immun* , 27:216-221, 1980.
  19. Ahren CM, Svennerholm AL. Synergistic protective effect of antibodies against *Escherichia coli* enterotoxin and colonization factor antigens. *Infect Immun* , 38(1):74-79, 1982.
  20. Heller ED. The immune response of hens to multiple *Escherichia coli* injections and transfer of immunoglobulins to the egg and hatched chick. *Research in Veterinary Science* , 18:117-120, 1975.
-