

## 난황면역제를 이용한 개 주요 소화기 및 호흡기질병 방제에 관한 연구

### II. 난황면역제의 실험동물 및 개에 있어서의 질병방제 효과

이희수\* · 김종만 · 우승룡 · 정병열 · 조운상 · 유한상<sup>1</sup> · 윤용덕<sup>2</sup> · 허 원<sup>3</sup> · 문영식<sup>3</sup> · 오진식<sup>2</sup>

국립수의과학검역원

<sup>1</sup>서울대학교 수의과대학 및 농생명공학부

<sup>2</sup>녹십자수의연구소

<sup>3</sup>대성미생물연구소

(게재승인: 2004년 5월 30일)

## Control of canine respiratory and diarrheal disease using egg yolk antibodies

### II. Immunoprophylactic effect of egg yolk antibodies in mice and dogs

Hee-soo Lee\*, Jong-man Kim, Seung-ryong Woo, Byeong-yeal Jung, Yun-Sang Cho,  
Han-sang Yoo<sup>1</sup>, Yong-dhuk Yoon<sup>2</sup>, Won Huh<sup>3</sup>, Young-sik Mun<sup>3</sup> and Jin-sik Oh<sup>2</sup>

National Veterinary Research and Quarantine Services, Anyang 430-016, Korea

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine and School of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

<sup>2</sup>Green Cross Veterinary Science Institute, Yongin 049-903, Korea

<sup>3</sup>Dae Sung Microbiology Laboratory, Euiwang 437-815, Korea

(Accepted: May 30, 2004)

**Abstract :** Immunoprophylactic effect of IgY against *B. bronchiseptica* was proven with 100% preventive rate in mice administrated with IgY with antibody titer 1:640~1:2,560. Intramuscular administration was more efficient than oral administration. This phenomenon was also observed in the therapeutic effects of IgY after challenge with *B. bronchiseptica* in mice. In the field trials with the egg yolk antibodies from hens immunized with combined antigens with *B. bronchiseptica* and *parvovirus*, curing rates in dogs with severe clinical signs such as bloody diarrhea were 81.6% and 86.7% by intramuscular or subcutaneous administration of IgY, respectively. Safety of the antibodies in dogs was proven without any side effects such as vomiting, edema, fever, etc. by administration of double doses for 7 days. These results indicated that the egg yolk antibodies could be used as effective prevention and treatment of alimentary and respiratory diseases in dogs.

**Key words :** egg yolk antibodies, *B. bronchiseptica*, *Parvovirus*, therapeutic effects

## 서 론

개 파보바이러스감염증은 심한 설사와 구토 및 높은 치사율이 특징이고, 개 기관지폐렴균인 *Bordetella*

*bronchiseptica*는 단독 또는 복합감염에 의해 tracheobronchitis와 kennel cough를 유발시킴으로서 개 사육농가에 큰 피해를 주고 있다 [1, 7, 13].

세균성 질병의 경우 항생제 등으로 어느정도 치료가

본 연구는 농림기술개발사업(관리번호 198010-3)에 의하여 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

\*Corresponding author: Hee-soo Lee

National Veterinary Research and Quarantine Services, Anyang 430-016, Korea  
[Tel: +82-31-467-1768, Fax: +82-31-467-1778, E-mail: leehsoo@nvrqs.go.kr]

가능하나 개 파보바이러스는 뚜렷한 치료약제가 없는 실정이며 더욱이 최근 기축질병의 치료 및 예방 목적으로 사용되는 항균물질에 대한 내성균 출현증가는 사회적인 문제로서 관심이 고조되고 있다 [15]. 이러한 상황에 난황항체는 아직까지 효과적인 치료제가 없는 주요 바이러스성 질병의 방제나 안전성이 확보된 항생물질의 대용으로서 여러 연구자들에 의해서 연구되어 왔다 [2-6, 8-12, 14, 16]. 항체를 이용한 수동면역은 질병의 예방은 물론 치료 목적으로 사용할 수 있으며, 백신과 같이 면역형성과는 무관하게 즉시효과를 나타내고 부작용이나 항생제투약에 의한 내성균출현 등과 같은 문제점에 대하여 상대적으로 안전한 장점이 있다 [3].

난황항체를 이용한 질병의 치료나 예방에 관한 연구로서 신생자돈 [5, 10, 16] 및 송아지 [9]에서의 대장균 설사증의 치료효과, 돼지호흡기질병 방제 [2, 3], 초유결핍된 자견에 난황항체의 개파보바이러스 예방효과 [4] 등에 대한 연구가 수행된 바 있다.

본 연구에서는 개의 주요 질병중 그 피해가 큰 것으로 알려진 세균성 호흡기 질병인 개기관지폐렴과 바이러스성 장염을 주증으로 하는 개 파보바이러스 감염증에 대한 복합 난황항체를 대량생산하여 실험동물에서의 방어능과 목적동물에 대한 질병 치료 효과를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

난황항체 생산을 위하여 20주령의 백색 산란계를 사용하였으며, 난황항체의 방어능 조사에는 실험동물로는 4-5주령의 ICR mouse를 사용하였고, 목적동물의 경우 동물병원에 의뢰되는 개를 대상으로 하였다.

### 난황항체의 대량생산

개 기관지폐렴균 균체 항원은 410 nm 파장에서 흡광도 1.3의 농도로 조절하고, cDNT(crude dermonecrotxin) 항원은 500 µg/ml의 농도를, 파보바이러스 항원은 HI역가  $2^{10}$ 의 농도를 각각 혼합하여 adjuvant로서 1차 접종에는 ISA25를, 2차 및 3차 접종에는 ISA70를 이용하여 시험백신을 제조하였으며, 닭에 접종한 후 신등 [3]의 방법에 따라 난황항체를 대량생산하였다. 즉, 난황내의 항체가 일정 수준이상 유지하는란을 대량수거하여 난황만을 분리한 다음 동량의 멸균증류수를 가하여 30초간 homogenization 시킨 후 다시 0.1% carrageenan lamda solution(Gum solution, Sigma Co.)을 난황무게의 4배 만큼 첨가하여 혼합하고 혼합액을 30분간 실온에 방치한 다음 원심분리하여(6,000 rpm, 20 min) 상층액을 취하여 Whaman No.1 filter로 여과한 후 pour size 0.45 µm 여

과지를 통과시킨 여과액을 동결건조하여 냉장보관하면서 사용하였다.

### 마우스를 이용한 개 기관지폐렴 난황항체의 방어능 조사

질병예방효과 시험을 위하여 난황항체를 단계별로 희석하여 근육 및 복강 등 다양한 경로를 통하여 접종하였으며 항체접종 후 6시간이 경과된 후 개 기관지폐렴균을 10LD<sub>50</sub> 농도인  $1 \times 10^9/0.2 \text{ ml}$ 를 복강내로 공격접종하여 난황항체역가에 따른 방어여부를 관찰하였다. 질병치료효과 시험은 질병예방효과 시험과 동일한 방법으로 균을 접종한 후 6, 18 및 24시간 경과후 질병예방효과가 충분히 인정되는 응집역가(1:1,280~2,560)의 난황항체를 0.2 ml 씩 1일 2회 투여하여 투여경로에 따른 치료효과를 조사하였다.

### 목적동물에 대한 방제효과

난황으로부터 추출한 개기관지폐렴 및 파보바이러스 혼합 난황항체 건조분말을 병당 1g 또는 0.5g 씩 분주하여 증류수 10~20 ml에 녹일 경우 실험동물에 대한 질병치료 및 예방을 위한 항체역가를 감안하여 기관지폐렴의 경우 응집역가 1:1000 이상 및 개 파보바이러스는 HI 역가 1:200 이상이 되게 한 후 각 동물병원에 사용 설명서 및 시험성적서 양식을 제공하여 시험의뢰하거나 질병발생능가를 직접 방문하여 적용시험하였다. 즉 기관지폐렴의 경우 큰 개는 두당 3~4 ml를, 애완용 개는 2~3 ml를 1일 2회 3일간 적용하였으며, 개 파보바이러스의 경우는 기관지폐렴에서의 사용법에 준하여 경구투여를 원칙으로 하고 구토 등으로 경구투여가 곤란한 경우는 근육 및 피하로 주사접종하였다.

### 난황항체분말의 목적동물에 대한 안전성시험

목적동물인 개에 대한 안전성시험을 위하여 동결건조분말 1g 당 증류수 10 ml에 녹인 후 권장 투여량 및 투여기간의 2배인 6~8 ml를, 1일 2회, 6~7일간 접종경로인 경구, 근육 및 피하에 의해 각각 3두씩 계속 접종한 후 난황항체 투여에 대한 부작용을 관찰하였다.

## 결 과

### 마우스에서의 난황항체의 질병예방효과

마우스를 이용하여 난황항체 역가에 따른 개 기관지 폐렴균에 대한 질병예방효과시험에서 응집역가 1:320~2,560의 난황항체 0.2 ml를 근육 및 경구접종 6시간 후 기관지 폐렴균( $1 \times 10^9 \text{ cfu/ml}$ ) 0.2 ml를 공격접종한 결과 근육접종시 항체역가 1:640~2,560의

**Table 1.** Protective effects of egg yolk antibodies against *B. bronchiseptica* in mice

Antibody titers*	Routes	No. of mouse	No. of mouse died at day**					Survival rate (%)
			after challenge					
			1	2	3	4	Total	
1 : 320	Oral	5	3	1	-	-	4	20
	I.M	5	1	2	-	-	3	40
1 : 640	Oral	6	-	3	-	-	5	50
	I.M	5	-	-	-	-	0	100
1 : 1,280	Oral	5	-	2	1	-	3	40
	I.M	5	-	-	-	-	0	100
1 : 2,560	Oral	6	-	2	1	-	3	50
	IM	6	-	-	-	-	0	100
Control		5	4	6	-	-	10	0

\*Antibody titer by microagglutination test.

\*\*Intraperitoneally challenged with 0.2 ml of  $1 \times 10^9$  cfu/ml of *B. bronchiseptica* on 6 hours after inoculation with 0.2 ml of egg yolk antibody solution per animal.

경우 100%의 생존율을 나타내어 같은 항체역가의 경구 접종에서의 40~50% 보다 높은 질병예방효과를 나타내었다. 반면 항체 무투여 대조군에서는 100%의 폐사율을 나타내었다(Table 1).

난황항체의 투여경로에 따른 질병예방 효과를 알아보기 위하여 응집역가 1,280의 난황용액을 마우스 마리당 0.2 ml를 접종한 후 복강내로 균 공격접종한 결과 난황항체의 근육 및 복강내로 접종한 경우 100%의 마우스 생존율을 나타내었으며, 반면 경구접종한 경우는 40%의 생존율을 나타내어 투여경로에 따른 큰 차이를 보였다. 반면, 무투여 대조군에서는 100%의 폐사율을 나타내었다(Table 2). 한편으로 기관지 폐렴균의 감염경로인 비강을 통한 항체투여 및 비강공격접종 시험에서는 모든 시험군에서 폐사가 발생되지 않아 난황항체에 대한 예방효과를 확인할 수 없었다.

**난황항체의 마우스에서의 질병치료효과**

마우스에 대한 난황항체의 질병치료효과를 알아보기 위하여 기관지 폐렴균 공격접종 6시간 후 난황항체(응집역가 1,280)를 투여한 결과 근육 및 복강투여의 경우 83.3%의 생존율을 나타내어 경구투여에 의한 66.7%보다 높은 방어효과를 나타내었다. 반면 무투여 대조군에서는 28.6%의 생존율을 나타내어 전술한 난황항체의 질병예방효과와 시험성적 100%의 생존율보다 상대적으로 낮게 나타내었다(Table 3).

**목적동물에서의 질병치료효과**

시험용 난황면역제인 개 기관지폐렴균 및 파보바이러스 혼합 난황항체분말을 제조하여 목적 동물인 개에 대한 임상시험을 위하여 2001. 7월부터 10월까지 서울시 충무로, 경기도 안양시, 경북 안동시 및 영천시 등의 동

**Table 2.** Protective effect of egg yolk antibody against in mice

Routes*	No. of mouse	No. of mouse died on day after**					Survival rates (%)
		challenge					
		1	2	3	4	Total	
Intramuscular	5	-	-	-	-	0	100
Intraperitoneal	5	-	-	-	-	0	100
Oral	5	-	2	1	-	3	40
Control	5	2	3	-	-	5	0

\*Inoculated with 0.2 ml of egg yolk antibody titers of 1: 1,280 per animal.

\*\*Intraperitoneally challenged with 0.2 ml of  $1 \times 10^9$  cfu/ml of *B. bronchiseptica* on 6 hours after inoculation with 0.2 ml of egg yolk antibody solution per animal.

**Table 3.** Therapeutic effect of egg yolk antibody against *B. bronchiseptica* in mice

Routes*	No. of mouse	No. of mouse died on day after**					Survival rates (%)
		treatment					
		1	2	3	4	Total	
Oral	6	1	1	-	-	2	66.7
Intraperitoneal	6	-	1	-	-	1	83.3
Intramuscular	6	-	-	1	-	1	83.3
Control	14	10	12	-	-	10	28.6

\*Egg yolk antibodies were injected with 0.2 ml of titers of 1:1,280 at 6 hours after challenge.

\*\*Intraperitoneally challenged with 0.2 ml of  $1 \times 10^9$  cfu/ml of *B. bronchiseptica* per animal.

**Table 4.** Therapeutic effects of egg yolk antibodies on hemorrhagic diarrheal dogs infected with *pavovirus* or suspected with *pavovirus* infection

Administration routes	<i>Pavovirus</i>	No. of dogs treated	Results						No. of dead dogs
			No. of dogs recovered on day after treatment						
			Total(%)	2	3	4	5	6	
Intarmuscular	Positive	14	12(85.7)	2	2	6	1	1	2
	NT*	8	6(75.0)	5	1				2
	Subtotal	22	18(81.8)	7	3	6	1	1	4(18.2)
Subcutaneous	NT	15	13(86.7)		2	4	7		2(13.3)
Oral	Positive	5	0						5
	NT	19	5(26.3)				5		14
	Subtotal	24	5(20.8)						19(79.2)
Total(%)		61	36(59.0)						25(41.0)

\*NT: not test

**Table 5.** Therapeutic effects of egg yolk antibodies on dogs with respiratory disease complex

Administration routes	<i>B. bronchiseptica</i>	No. of dogs treated	Results				No. of** dead dogs
			No. of dogs recovered on day after treatment				
			Total(%)	2	3	7	
Intarmuscular	Positive	5	5(100)		5		0
	NT*	11	3(27.3)	2		1	8(72.7)
	Subtotal	16	8(50.0)				8(50.0)
Oral	NT	4	0				4(100)
Total(%)		20	8(40.0)				12(60.0)

\*NT: not test.

\*\*Most of dead dogs showed vomiting and purulent dermatitis.

물병원에 시험의뢰한 임상성적과 임상 case가 있는 경우 연구자들이 직접 적용하여 얻은 임상성적을 Table 4, 5에 나타내었다. 혈변성 설사 등 임상증상으로 파보바이러스 감염이 의심되는 환축에 난황면역체를 투여한 결과 근육투여의 경우 22두 중 18두가 회복되어 81.6%의 치료율을, 피하투여시 15두 중 13두가 회복되어 86.7%의 높은 치료율을 나타내었으며, 회복기간은 근육이 2~4일

로 피하접종의 3~5일보다 다소 빠른 것으로 나타내었다. 반면, 경구투여는 24두 중 5두(20.8%)가 회복되고 25두(79.2%)가 폐사되어 상대적으로 낮은 치료율을 나타내었다(Table 4).

난황항체의 개 기관지폐렴에 대한 임상시험결과에서도 파보바이러스 감염증에서와 같이 경구투여보다는 근육투여에서 치료효율이 높게 나타났으며, 특히 원인균

**Table 6.** Safety of egg yolk antibody against *B. bronchiseptica* and Canine *pavovirus* in dogs

No. of dogs treated	Routes	Dosage	Results*			
			Fever	Edema	Shock	Vomiting
3	Oral	8 ml	None	None	None	None
3	Subcutaneous	6 ml	None	None	None	None
3	Intramuscular	6 ml	None	None	None	None

\*Observed for 7days after inoculation.

이 분리되어 기관지폐렴으로 진단된 경우에는 100%의 치료효율을 나타내었다. 반면, 단지 본병으로 의심되는 경우에는 치료효율이 50%으로서 낮게 나타났는데, 이는 개 호흡기질병의 경우 원인체가 다양하고 특히, 화농성 피부염이나 신경증상을 동반하는 개 디스토퍼가 의심되는 사례에서 치료효율이 낮게 나타내었다 (Table 5).

**목적동물에 대한 안전성**

목적동물인 개에 대한 안전성시험을 위하여 동결건조 분말을 증류수에 녹인후 권장 투여량의 2배의 량을 각 경로별로 3두씩 7일간 접종한 결과 접종후 2시간 이내의 과민반응이나 구토, 부종 또는 열발생 등의 이상증상이 전혀 관찰되지 않아 난황항체의 개에 대한 안전성을 확인할 수 있었다.

**고 찰**

개기관지폐렴균 및 개파보바이러스 항원에 대한 복합 난황항체를 생산하였으며 실험동물인 마우스에서의 질병예방 및 치료효과와 목적동물인 개에 대해서 임상적용하여 그 효과를 시험하였다. 난황항체 역가에 따른 개 기관지폐렴균에 대한 질병예방효과에서 응집역가 1:320~2,560의 난황항체 0.2 ml를 근육 및 경구접종 6시간 후 기관지 폐렴균( $1 \times 10^9$  cfu/ml) 0.2 ml를 복강내 공격접종한 결과 근육접종의 경우 항체역가 640~2,560의 경우 100%의 생존율을 나타내었고, 같은 항체역가의 경구접종에서는 40~50%로 상대적으로 낮은 질병예방효과를 나타내었다. 난황항체의 투여경로에 따른 질병예방효과시험에서는 응집역가 1:1,280의 난황용액을 마우스 마리당 0.2 ml를 접종한 후 복강내로 균 공격접종한 결과 난황항체의 근육 및 복강내로 접종한 경우 100%의 마우스 생존율을 나타내었으며, 경구접종한 경우는 40%의 생존율을 나타내어 투여경로에 따라 큰 차이를 보였다. 난황항체의 근육 및 복강내 접종의 경우 우 등 [5]의 마우스에서 병원성대장균 난황항체를 복강으로 투여한 후 24시간에 복강내 균공격 접종한 결과 균종에 따

라 85.0~95.0%의 방어효과를 보인 성적과 유사한 결과이나 난황항체의 경구접종시의 낮은 방어율은 공시균이 소화기계 병원체가 아니고 공격접종 또한 경구가 아닌 복강내 접종한 것이 그 원인으로 사료될 수 있으며, 또한 난황항체의 경구투여는 투여량, 장관내 흡수까지의 소화여부 또는 흡수율 등에 따라 체내 항체역가가 좌우되기 때문에 근육이나 복강에 의한 투여보다 상대적으로 방어효과가 떨어지는 것으로 사료되었다 [6, 9, 11, 16]. 한편으로 기관지 폐렴균의 주 감염경로인 비강을 통한 항체투여 및 비강공격접종 시험에서는 모든 시험군에서 폐사가 발생되지 않아 난황항체에 대한 예방효과를 확인할 수 없었던 것은 아쉬운 점이었다. 신 등 [3]은 돼지호흡기질병 원인균에 대한 특이난황항체의 마우스에서의 방어시험에서 난황항체농도 100 mg/ml 이상 접종(복강)시 방어효과를 나타내기 시작하여 농도에 비례하여 방어효과도 증가하는 것으로 보고한 바 있다. 본 연구의 마우스에서의 기관지폐렴균 공격접종에 대한 난황항체의 방어효과시험에서 100%의 질병예방효과를 보인 난황항체 응집역가 1:1,280(0.2 ml)를 근육 및 복강투여의 경우 83.3%의 생존율을 나타내어 경구의 66.7%보다 상대적으로 높은 방어효과를 확인할 수 있었다.

난황항체의 목적동물인 개에 대한 임상시험에서 혈변성 설사 등 임상증상으로 파보바이러스감염이 의심되는 환축에 근육 및 피하접종시 81.6%~86.7%의 높은 치료율을 보여 경구투여의 20.8%보다 상대적으로 높게 나타내었다. 경구투여의 이와같은 낮은 치료율은 오 등 [4]의 초유결핍 신생자견에 난황항체의 경구투여후 파보바이러스접종에 대한 질병예방효과시험에서 무투여 대조군의 7두 중 6두 폐사에 비해 난황항체투여군은 폐사발생 없이 소수에서의 임상증상만을 나타낸 성적과는 다른 양상으로서 본 실험에 적용한 환경의 경우 이미 발병이 진행된 상태로서 구토 및 손상된 장상피 등으로 인하여 경구투여에 의한 치료효과가 낮게 나타난 것으로 판단되었다. 즉, 실시중에 효율적으로 대체하려면 장점막국소부위에서 병원체와 적절히 작용할 수 있는 충분한 양의 항체공급의 필요성을 제기한 선인들 [6, 16]의 보고가 이를 잘 설명해 주고 있다. 그러나 본 연구에서

의 난황향체 근육 및 피하접종에 의한 기대이상의 치료 효과 발현은 앞으로 높은 폐사율로 개 사육농가에 막대한 손실을 주고 있는 개 파보바이러스감염증에 별다른 백신이나 치료약제가 없는 현실에서 본 질병에 의한 피해를 줄이는 데 크게 기여할 것으로 기대되었다. 난황향체의 개 기관지폐렴에 대한 임상시험결과에서도 파보바이러스감염증에서와 같이 경구투여보다는 근육투여에서 치료효율이 높게 나타났으며, 특히 원인균이 분리되어 기관지폐렴으로 진단된 경우에는 100%의 치료효율을 나타내었다. 반면, 단지 본병으로 의심되는 경우에는 치료효율이 50%으로서 낮게 나타났는데, 이는 개 호흡기질환의 경우 원인이 다양하다는 오의 결과로 보이며 특히, 화농성 피부염이나 신경증상을 동반하는 개 디스토펜퍼가 의심되는 사례에서 치료효율이 낮은 것이 이를 설명해 주고 있다. 목적동물인 개에 대한 안전성시험에서 투여량의 2배의 량을 각 경로별로 접종한 결과 과민반응이나 구토, 부종 또는 열발생 등의 이상증상이 전혀 관찰되지 않아 난황향체분말의 개에 대한 안전성을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 질병의 예방목적으로 사용되는 대부분의 백신들이 피하 또는 근육접종시 발열이나 부종 등 약간의 부작용의 발생이 일반적이고, 항균물질 등 치료약제 또한 약제내성유발이나 약제에 따라서는 과민반응 등이 알려지고 있어, 난황향체는 이들 백신이나 타 치료약제보다 적용에 있어서 안전한 것으로 사료되었다.

### 참고문헌

- 수의전염병학교수협의회. 수의전염병학, p 307-349, 1994.
- 신나리, 김종만, 유한상. 난황향체를 이용한 돼지 호흡기 질병 방제에 관한 연구. I. *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida* 및 *Actinobacillus pleuropneumoniae*의 주요 면역원 분석 및 IgY의 생산. Korean J. Vet. Res. 2000, **40**, 551-561.
- 신나리, 김종만, 유한상. 난황향체를 이용한 돼지 호흡기 질병 방제에 관한 연구. III. 마우스에서의 방어 효과. 대한수의학회지 2001, **41**, 351-356.
- 오태호, 한홍율. Protective effect of chicken egg yolk antibody in colostrum deprived neonatal puppies. 대한수의학회지 1996, **36**, 903-913.
- 우승룡, 김종만, 권창희, 김종엽, 허원. 난황향체를 이용한 돼지 대장균 설사증 방제기법 개발. II. 난황향체의 돼지 대장균증에 대한 치료효과. 대한수의학회지 1998, **38**, 837-842.
- 홍종욱, 김인호, 김정우, 권오석, 이상환, 홍의철. 조기유자돈에 있어서 난황향체를 이용한 장독성 대장균 987P(F6) 설사증 방어효과. 대한수의학회지 2001, **41**, 29-35.
- Bemis, D. A., Greisen, H. A. and Appel, M. J. Pathogenesis of canine bordetellosis. J. Infect. Dis. 1977, **135**, 753-762.
- Farrelly, C. O., Branton, D. and Wanke, C. A. Oral ingestion of egg yolk immunoglobulin from hens immunized with an enterotoxigenic *Escherichia coli* strain prevents diarrhea in rabbits challenged with the same strain. Infection and Immunity 1992, **60**, 2593-2597.
- Ikemori, Y., Kuroki, M., Peralta, R. C., Yokoyama, H. and Kodama, Y. Protection of neonatal calves against fetal enteric colibacillosis by administration of egg yolk powder from hens immunized with k99-piliated enterotoxigenic *Escherichia coli*. Am. J. Vet. Res. 1992, **53**, 2005-2008.
- Johansen, M., Andresen, L. O., Jorsal, S. E., Thomsen, L. K., Waddell, T. E. and Gyles, C. L. Prevention of edema disease in pigs by vaccination with verotoxin 2e toxoid. Can. J. Vet. Res. 1997, **61**, 280-285.
- Jungling, A., Wiedemann, V., Kuhlmann, R., Erhard, M., Schmidt, P. and Losch, U. Chicken egg antibodies for prophylaxis and therapy of infectious intestinal diseases. J. Vet. Med. 1991, **B38**, 373-381.
- Kweon, C. H., Kwon, B. J., Woo, S. R., Kim, J. M., Woo, G. H., Son, D. H., Hur, W. and Lee, Y. S. Immunoprophylactic effect of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against *porcine epidemic diarrhea virus*(PEDV) in piglets. J. Vet. Med. Sci. 2000, **62**, 961-964.
- McCaddish, I. A., Thompson, H., Cornwell, H. J. and Wright, N. G. A studies of dogs with kennel cough. Vet. Rec. 1978, **102**, 293-301.
- Nagy, L. K., Bhogal, B. S. and Mackenzie, T. The effect of colostrum or past colibacillosis on the adhesion of *Escherichia coli* to the small intestine of the pig. Research in Veterinary Science 1976, **21**, 303-308.
- Wierup, M. The control diseases in animals: alternatives to the use of antibiotics. Int. J. Antimicrob Agents. 2000, **14**, 315-319.
- Yokoyama, H., Peralta, R. C., Diaz, R., Sendo, S., Ikemori, Y. and Kodama, Y. Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. Infection and Immunity 1992, **60**, 998-1006.