

소 면역혈청을 이용한 초유 이행 부전 송아지의 치료 효과

이정선, 강문일, 정용운, 이채용, 한동운¹, 위성환², 윤소라², 조재진², 강주원*

전남대학교 수의과대학, 천안연암대학¹, 국립수의과학검역원²
(접수 2008. 9. 10, 게재승인 2008. 10. 27)

Studies on immunotherapy to calves with failure of colostrum passive transfer using bovine immune sera

Jung-Sun Lee, Mun-Il Kang, Yong-Un Chung, Chai-Yong Lee, Dong-Un Han¹,
Sung-Hwan Wee², So-Rah Yoon², Jae-Jin Cho², Ju-Won Kang*

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju, 500-757, Korea,
¹Cheonan Yonam College, Chungnam, 330-709, Korea, ²National Veterinary and Quarantine
Office, MAF, Anyang, 430-856, Korea

(Received 10 September 2008, accepted in revised form 27 October 2008)

Abstract

The efficacy of bovine immune sera to correct the calves with failure of passive transfer (FPT) was evaluated. Immune sera were produced from 14 one-year-old Holstein cattle which were inoculated commercial combined viral vaccine, administered by the challenge of some main enteric or respiratory viruses, aseptically filtered and stored at 4°C before used. After the treatment of bovine immune sera, Mean transfer factor (mg/dℓ of IgG administered/kg of body weight) was 5.46±2.74, 11.17±1.27, 1.40±0.21 in K-IP, H-IP and K-IV group, respectively. The corrective effect of bovine immune sera to FPT calf without any clinical signs showed that intravenous route was more effective than intraperitoneal administration ($P<0.01$). FPT calves with severe signs were not effective response to the immunotherapy used and consequently died within 10 days after the treatment. Ten percentage of controls appeared the clinical signs including diarrhea. On the contrary, there were not any clinical signs in K-IP and H-IV group. There was significant increase of the neutralizing titer against

*Corresponding author.

Phone : +82-62-530-2853, Fax : +82-62-530-2852

E-mail : juwondr@empas.com

bovine viral diarrhea virus and bovine coronavirus as well as of cell population including CD2, CD4, and monocyte in K-IP and H-IV group after the immunotherapy ($P<0.05$). Also, K-IP and H-IV group showed the successful correction to FPT within one week after the immunotherapy, but controls had kept the FPT two-four weeks even after the same treatment. Consequently, the results were suggesting that the bovine immune sera could be used the corrective tool to young calves with FPT.

Key words : Failure of passive transfer(FPT), Bovine immune sera, Immunoglobulin(IgG), Immunotherapy

서 론

반추류는 모체의 면역글로불린(Ig)이 태반을 통해서 태아로 전달되지 못하기 때문에 질병 피해를 극소화하기 위해서는 초유 섭취를 통한 수동면역¹⁾이 매우 중요하며, 송아지 모체이행항체의 수준은 생후 5주령에 급격히 떨어져 8~9주령에는 거의 소실되는 것으로 알려져 있다²⁾.

초유이행부전 (failure of passive transfer; FPT)은 혈청내 Ig 수준이 정상보다 낮은 상태를 의미하며³⁾, 원인으로서는 충분치 못한 초유량, 초유섭취의 지연, 초유 흡수능력의 조기상실 등으로 알려져 있다⁴⁾. 미국의 경우 10~30%에 달하는 신생 송아지가 저감마글로불린혈증을 나타내고 있으며⁵⁾, 혈청내 Ig수준은 대장균증 등 신생 송아지 질환 발생의 중요한 인자로 인식되어 왔다⁶⁾. 혈청내 Ig가 낮으면 대장균성 설사와 대장균성 패혈증⁷⁾, 로타바이러스(RV)에 의한 설사⁸⁾와 일반적인 질병의 이환률⁹⁾ 및 질병폐사율이¹⁰⁾ 정상 송아지보다 높아질 뿐만 아니라 호흡기질환의 경우에는 치료기간도 지연된다¹¹⁾. 또한 총단백질 (total protein)과 Ig수치가 낮으면 이로 인한 성장장애 요인이 생후 12주까지 지속된다고 보고하였다¹²⁾. FPT 보정을 위한 방법으로는 전혈수혈¹³⁾, 냉동 건조 초유와 냉동 건조 처리한 IgG 투여^{14,15)}, 면역혈청 혹은 혈장의 정맥주사 그리고 소 혈청에서 Ig를 추출하여 송아지에게 정맥 혹은 피하로 투여하는 방법도 제

시되고 있다¹⁶⁾. 모체이행항체의 상승 뿐 아니라 감염원인체에 대한 특이항체의 존재 및 임상증상 발현을 완회시키기 위하여 *E. coli* 0111:B4(J5)백신을 한 모우에서 얻은 고도면역혈장을 2일령의 송아지에게 피하로 투여¹⁷⁾하거나 *E. coli* F17+, F5+ fimbria에 대한 항체가 포함된 소의 혈장 분말을 제조하여 경구 투여하였다¹⁵⁾. 그리고 분만 전에 로타바이러스 항체를 높인 후 얻은 초유로부터 만든 Ig분말이나 로타바이러스 항체를 포함한 인공초유를 경구투여하는 등 다양한 치료방법들이 보고¹⁸⁾ 되고 있다.

따라서 이 연구는 국내 송아지의 소화기와 호흡기 질환을 일으키는 bovine viral diarrhea virus (BVDV), bovine corona virus (BCV), infectious bovine rhinotracheitis virus (IBRV), parainfluenza-3 virus (PI-3), bovine respiratory syncytial virus (BRSV) 바이러스¹⁹⁾ 등에 대한 면역혈청을 8일령 이하의 FPT 이환 송아지에게 복강 또는 정맥내 투여하여 TP와 Ig에 의한 FPT 보정효과와 바이러스 중화항체가 변화 추이 및 면역세포에 미치는 효과 등을 조사하였다.

재료 및 방법

면역혈청 야외효과 실험

가. 실험동물

실험에 이용한 송아지는 두 개의 농장 (A, B)에서 집단 사육중인 23두를 이용하였다. 송

아지는 1999년 6월에서 8월 사이 여름에 분만 한 것으로 분만 전 청소하고 소독한 개별 분만실에서 출생하였다. 태어난 송아지들은 자연 포유시켰고 생후 1주일 동안 어미와 함께 분만실에서 사육한 다음 개체 관리를 하였다. 이유 후에는 전지분유를 80℃~100℃에서 1~2분 동안 소독한 후 1일 3회씩 급여하였다.

나. 실험군 설정

Table 1. Experimental design

Breed	Route	No. tested	BW(kg) at start	Mean dose(g) of IgG/kg of BW
Korean indigenous cattle	Control	5	25 ± 4	-
	IP	7	21 ± 3	0.28 ± 0.17
	I-IV	2	25 ± 3	0.23 ± 0.05
Holstein	Control	3	36 ± 5	-
	IV	6	39 ± 3	0.16 ± 0.06

IP; Intraperitoneous, I-IV; Group with clinical signs like recumbency, IV; Intravenous
BW; Body weight.

다. 채혈 및 혈청 분리

송아지의 정정맥에서 접종 전(-1), 접종 1일 후(1), 접종 7일 후(7), 접종 14일 후(14), 접종 30일 후(30)에 채혈하였다. 채취한 혈액은 실온에서 응고시킨 후에 4℃ 냉장고에 24시간 보관한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 다음 검사에 이용할 때까지 3개의 동결 보존용기에 각각 분주한 후 -70℃에 보관하였다.

라. 임상학적 및 혈액학적 검사

실험우들은 매일 아침 관찰하였고, 배변, 호흡, 피부, 행동 등의 이상 유무를 확인하였다. 임상증상 발현이 확인된 송아지는 발병일 확인 및 회복될 때까지 치료를 실시하였고, 포유기간 중 질병발생 횟수도 조사하였다. 경정맥에서 채혈한 혈액을 EDTA가 들어있는 채혈병에 넣어 자동혈액분석기(Medonic CA 530, Oden, Sweden)로 적혈구수(RBC), 백혈구수(WBC), 혈색소치(Hb), 적혈구용적(Hct), 평균적혈구용적(MCV), 평균 적혈구혈색소량(MCH), 평균적혈구혈색소농도(MCHC) 등을 측정하였다.

FPT 선정과 면역혈청의 임상효과를 조사하기 위해 1-7일령 송아지 23두를 실험에 사용하였다. 한우(7두)는 복강투여군(IP)으로, 홀스타인(6두)은 정맥투여군(IV) 각각 사용하였고, 각 실험군별로 대조군(IP 5두, IV 3두)을 이용하였다. 면역혈청 투여는 체중 kg당 한우는 0.28g을 복강으로, 홀스타인은 0.16g을 정맥으로 각각 생후 1회씩 실시하였다(Table 1).

마. 혈청내 총단백질, 알부민, 면역글로블린 및 중화항체가 측정

1) 황산나트륨침전검사

황산나트륨침전검사(sodium sulfate precipitation test; SSPT)는 McBeath 등²⁰⁾의 방법에 따라 실시하였다. 요약하면 먼저 14g, 16g, 18g씩의 anhydrous Na₂SO₃를 전체 양이 100 ml가 되도록 증류수와 혼합하여 마린한 다음, 진단용 평판에 황산나트륨 1.9ml와 검사혈청 0.1ml를 잘 섞은 후 상온(22℃)에서 1시간 경과 후 침전도를 관찰하였다. 침전물이 형성되지 않을 경우에는 음성, 관찰되면 양성으로 판정하였다(Table 2).

Table 2. Estimation of serum immunoglobulin concentration by sodium sulfate precipitation test

Sodium sulfate Concentration of Ig (mg/ml)	Sodium sulfate		
	14%	16%	18%
< 5	-	-	+
5 to 15	-	+	+
> 15	+	+	+

-; No precipitation 1 hour after the reaction.

+; Flocculent precipitation 1 hour after the reaction.

2) 젖소 백혈구 아군 검사용 단클론 항체

미국 워싱턴 주립대학교 수의과대학 단크론항체 센터로부터 분양받은 MHC class I 및 II, T cell, BoCD2 cell, BoCD4 cell, BoCD8 cell, N cell, sIgM, monocyte 등 모두 8종을 실험에 사용하였다.

3) 형광세포유출장치 분석

Griebel 등²¹⁾의 방법을 활용하여 원추형 바닥의 마이크로플레이트의 한 구멍 당 단클론 항체 50 μ l(15 μ g/ml)에 1 \times 10⁷/ml의 림프구를 첨가한 후 4 $^{\circ}$ C에서 30분 감각시킨 다음, 4 $^{\circ}$ C의 first washing buffer(PBS 450ml, ACD 50 ml, 20% Na₂N₃ 5ml, gamma globulin free horse serum 10ml, 250mM EDTA 20ml, 0.5% phenol red 1ml)로 3회 원심(2,000 rpm, 3분, 4 $^{\circ}$ C) 세척한 후 상층액을 버리고 백혈구의 펠렛을 플레이트나 vortex 교반기를 이용하여 부유시켰다. 부유된 백혈구에 200배 희석한 2차항체(FITC-conjugated goat anti-mouse IgG + IgM antibody, Caltag Lab, INC, USA)를 각 구멍에 100 μ l씩 첨가하였다. 이를 다시 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨 다음 4 $^{\circ}$ C의 2차 세척액(1차 세척액 중 말혈청만 제거한 것)으로 3회 원심세척하고 2% PBS-formalin(38% formalin 20ml, PBS 980ml)용액을 200 μ l/well로 고정시킨 후 염색이 끝난 세포들은 검사 때까지 모두 냉암소(4 $^{\circ}$ C)에 보관하였다.

염색이 완료된 재료는 flowcytometry를 이용하여 총 2,000개 이상의 세포를 검사하여 양성반응 세포수를 측정하였다. 측정과 자료 분석은 Becton Dickinson사(USA)의 Conson 32컴퓨터 및 Lysys 프로그램을 이용하였다.

아. 통계학적 분석

$$\frac{\Delta \text{IgG}}{\Sigma \text{IgG} / \text{BW}} = \text{Transfer factor (TF)}$$

ΔIgG = final serum IgG (mg/ml) - initial serum IgG (mg/ml).

ΣIgG = total administered IgG(mg).

BW = initial body weight(kg). $P < 0.05$.

실험에 따라 평균치와 표준편차를 구하고 필요에 따라 Student t'검정과 SAS에서 상관분석(correlation analysis)을 실시하였다. 투여한 면역혈청효과분석은 Wilkins 등²²⁾의 분석을 따랐다.

결 과

면역혈청의 FPT개선 및 면역증강 효과시험

가. FPT 실험우의 선정과 총단백질, 알부민, 글로불린 농도

FPT 선정의 기준값으로 TP는 <4.5g/dl, IgG는 <0.8g/dl, SSPT <1+로 할 때 한 가지 이상의 진단법에서 FPT로 진단된 평균 3일령의 신생 송아지 23두를 실험에 사용하였다. 한가지의 진단법으로는 13두(57%), 2가지 4두(17%), 3가지는 6두(26%)이 진단되었다. 각 실험군별 FPT 발생두수는 Table 3과 같다.

한편, 실험 대상우 23두에 대한 TP, Alb, Glob, IgG농도를 조사한 결과 개체별로 큰 차이가 인정되었다. 홀스타인과 한우의 TP가 각각 4.0-4.4g/dl과 3.1-3.6g/dl로, Alb은 1.9-2.1g/dl와 1.6-1.7g/dl, Glob는 2.0-2.1g/dl과 1.5-2.0g/dl으로 조사되어 홀스타인 송아지가 한우에 비하여 전반적으로 높았으며, 글로불린 종류별 농도도 이와 비슷한 결과를 나타냈다(Table 4).

나. 임상적 변화

FPT로 판정되었으나 침울, 식욕부진, 발열, 설사, 원기소침 등의 임상증상이 발현되지 않았던 7일령 이내 송아지 13두는 면역혈청 투여 후 30일까지도 투여경로나 품종에 상관없이 특이한 임상증상은 관찰되지 않았다. 그러나 대조군(2두)에서는 10~12일령 사이에 수양성 설사를 보였다. 1일령에 기립불능 등 심한 임상증상을 보였던 한우 송아지 중 2두가 혈청제 투여 후 3일과 15일후 폐사(<IgG 770mg/dl)하였으나, 이들의 폐사원인이 세균성 패혈증과 제대염으로 판명되었다.

Table 3. Criteria of failure of passive transfer for calves to be used

Breed	Route	Criteria to be applied (n)					
		TP+IgG	TP+SSPT	TP+IgG+SSPT	IgG	TP	SSPT
Korean indigenous cattle	Con (n=5)	1	1	1	1	1	-
	IP (n=7)	2	-	1	-	4	-
	I-IV(n=2)	-	-	2	-	-	-
Holstein	Con (n=3)	-	-	-	2	1	-
	IV (n=6)	-	-	2	2	2	-

Cutoff Point: TP <4.5 g/dl, IgG < 800 mg/dl, SSPT <1+. TP; Serum total protein, IgG; Serum immunoglobulin G, SSPT; Sodium sulfate precipitation test. IP; Intraperitoneous, I-IV; Group with clinical signs like recumbency, Con; No treatment. IV; Intravenous.

Table 4. Total protein, globulin, albumin and immunoglobulin levels of neonatal calves with failure of passive transfer before administration of bovine immune sera

Breed	Route	Age (days)	TP (g/dl)	Alb (g/dl)	Glob (g/dl)	IgG (g/dl)	IgM (mg/dl)	IgA (mg/dl)
Korean indigenous cattle	Con (n=5)	3 ± 1	3.5 ± 0.8	1.7 ± 0.4	1.7 ± 0.9	0.8 ± 0.4	89.4 ± 27.6	17.0 ± 10.1
	IP (n=7)	3 ± 1	3.1 ± 0.9	1.6 ± 0.4	1.5 ± 0.6	1.3 ± 0.9	62.8 ± 8.4	17.8 ± 15.8
	I-IV (n=2)	2 ± 1	3.6 ± 0.8	1.7 ± 0.4	2.0 ± 0.4	0.6 ± 0.1	104.6 ± 1.7	10.0 ± 5.0
Holstein	Con (n=6)	3 ± 1	4.3 ± 1.9	2.1 ± 0.5	2.1 ± 1.8	1.2 ± 1.0	84.3 ± 35.4	27.1 ± 17.2
	IV (n=3)	3 ± 2	4.0 ± 0.9	1.9 ± 0.4	2.0 ± 0.7	1.0 ± 0.8	88.0 ± 30.2	27.1 ± 17.2

TP; Total protein, Alb; Albumin, Glob; Globulin.

IP; Intraperitoneous, I-IV; Group with clinical signs like recumbency, Con; No treatment.

IV; Intravenous, Values are Mean ± standard deviation.

다. 혈액학치 변화

투여 전 1일, 투여 후 1일, 8일, 14일, 30일째의 RBC, Hct, WBC, Hb, MCV, MCH, MCHC를 측정하였다(Fig 1).

모든 면역혈청 투여군에서는 혈액학적 수치가 전 실험기간동안 정상범위에서 유의하게 변화하지는 않았다 ($P>0.05$). 다만, 투여 후 30일째 한우 IP 대조군의 Hct ($36.8 \pm 2.26\%$)가 상승하였고 홀스타인 IV 대조군은 투여 후 14일 째에 급격히 감소하였다.

라. 면역혈청의 FPT 보정효과

면역혈청 투여 전후 FPT 보정 효과를 조사한

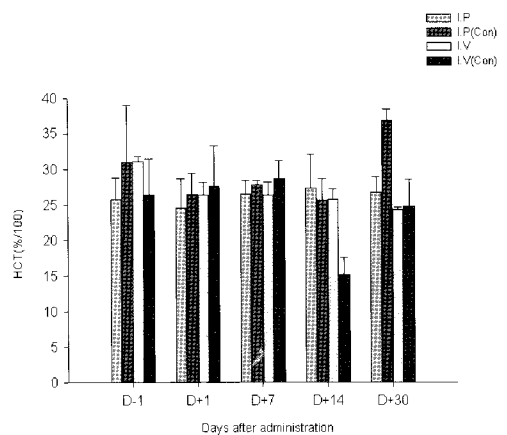


Fig 1. Changes of haematocrit neonatal calves with failure of passive transfer administration with bovine immune sera.

K- IP; Intraperitoneously, H-IV; Intravenously, Con; No treatment

결과는 Table 5와 같다. 한우와 홀스타인 송아지의 대조군에서는 투여전의 FPT 선정우 5두와 3두가 투여 후 14일부터 점차적으로 FPT가 개선되었으며, 일부 송아지는 투여 후 30일째에도 보정 효과가 인정되지 않았다. 이와는

반대로 복강 투여군에 있어서는 투여 전 2-3두로 진단되었던 FPT 판정이 점차적으로 1두의 진단으로 판정되는 등 점차적으로 개선되었으며, 투여 후 14일째는 모든 송아지에서 FPT 보정 효과가 인정되었다.

Table 5. Corrective effect of calves with failure of passive transfer after administration of bovine immune sera

Breed	Route	Day(s)	Criteria to be applied (n)					
			TP+IgG	TP+SSPT	TP+IgG+SSPT	IgG	TP	NFPT
Korean indigenous cattle	Con (n=5)	-1	1	1	1	1	1	-
		1	-	1	1	1	2	-
		7	-	1	1	1	2	-
		14	1	-	-	-	3	1
		30	-	-	-	-	-	5
	IP (n=7)	-1	2	-	1	-	4	-
		1	-	-	-	5	-	2
		7	-	-	-	4	1	2
		14	-	-	-	-	-	7
		30	-	-	-	-	-	7
Holstein	Con (n=3)	-1	-	-	-	2	1	-
		1	1	-	-	1	1	-
		7	-	-	-	-	2	1
		14	-	-	-	-	1	2
		30	-	-	-	-	1	2
	IV (n=6)	-1	-	-	2	2	2	-
		1	2	-	2	-	-	2
		7	2	-	-	1	1	2
		14	-	-	-	-	-	6
		30	-	-	-	-	-	6

Cutoff Point; TP <4.5 g/dl, IgG < 800 mg/dl, SSPT <1+. TP; Total protein, SSPT; Sodium sulfate precipitation test. NFPT; No. of corrected cases from failure of passive transfer. -1; one day before inoculation, 1; one day after inoculation. IP; Intraperitoneous, IV; Intravenous, Con; No treatment.

마. FPT 송아지의 Ig 수준 변화

투여전 후 송아지의 체내 Ig의 변화에서 체중당 투여한 면역글로블린을 나눈 평균 전이 상수(TF; mg/dl/IgG administered/kg BW)는 IV군이 가장 높았고, 그 다음이 IP와 I-IV접종군이였다. IP접종군과 I-IV접종군에서 체중당 투여한 IgG값은 IV보다 각각 1.75배와 1.38배 많았지만 임상증상 유무($P<0.05$)와 투여경로의 차이($P<0.01$)가 인정되었다(Table 6). 투여 전

1일과 투여 후 1, 7, 14 및 30일에 측정된 TP, Alb, Glob, IgG의 변화는 Table 7과 같다.

한우의 경우 TP 값은 대조군의 경우 7일째에 높게 증가하였으며, 복강 투여군은 투여 전 (3.1 ± 0.8 g/dl)에 비해 투여 후 1일째부터 점차적으로 증가하기 시작하였다. 홀스타인 송아지 대조군은 투여전 후 큰 변화가 없었으나, 정맥투여군은 복강투여군에 비해서 1일째부터 급격하게 증가하였다. 또한 면역혈청 투여전 후 Alb과 Glob의 농도를 비교해 본 결과, 한우와 홀스타인 송

아지가 Alb의 경우 투여 전에 비하여 7일째
는 큰 차이가 없었으나, Glob는 1일째부터 시
작하여 30일까지도 지속적으로 증가하는 양

상이었다. 면역혈청의 투여는 혈청중 TP의
증가를 가져오며 그 중 Alb보다는 Glob은 뚜
렷하게 증가하였다.

Table 6. Transfer factor of immune sera in calves with failure of passive transfer

Breed	Route	Clinical signs	Total administered IgG (g/kg)	Transfer factor (mg/dℓ/G administered/kgBW)
Korean	IP	No	0.28 ± 0.17	5.46 ± 2.74
Holstein	IV	No	0.16 ± 0.06	11.17 ± 1.27
Korean	I-IV	Recumbency	0.23 ± 0.05	1.31 ± 0.36

Korean; Korean indigenous cattle. IP; Intraperitoneous, IV; Intravenous.
Values were Mean ± standard deviation. ($P < 0.05$).

Table 7. Total protein, globulin and immunoglobulin G levels in calves with failure of passive transfer before and after the administration of bovine immune sera

Breed	Route	Day(s)	TP (g/dℓ)	Alb (g/dℓ)	Glob (g/dℓ)	IgG (g/dℓ)
Korean indigenous	Con (n=5)	-1	3.5 ± 0.8	1.7 ± 0.4	1.7 ± 0.9	1.2 ± 1.0
		1	3.8 ± 1.0	1.9 ± 0.5	2.0 ± 0.5	1.0 ± 0.4
		7	4.8 ± 0.2	2.1 ± 0.1	2.6 ± 0.1	1.5 ± 0.2
		14	2.5 ± 3.3	1.1 ± 1.5	1.4 ± 1.8	1.3 ± 0.4
		30	5.8 ± 1.0	2.3 ± 0.3	3.5 ± 0.7	1.0 ± 0.4
	IP (n=7)	-1	3.1 ± 0.8	1.6 ± 0.4	1.5 ± 0.6	1.3 ± 0.9
		1	3.6 ± 1.5	1.7 ± 0.6	1.8 ± 0.9	1.7 ± 0.6
		7	3.9 ± 1.4	1.9 ± 0.5	2.0 ± 1.0	1.7 ± 0.8
		14	4.8 ± 0.7	2.2 ± 0.5	2.6 ± 0.5	1.7 ± 0.1
		30	4.9 ± 0.9	2.1 ± 0.5	2.8 ± 1.3	1.8 ± 0.8
Holstein	Con (n=3)	-1	4.8 ± 1.9	2.2 ± 0.4	2.6 ± 1.8	0.8 ± 0.4
		1	4.3 ± 2.3	2.0 ± 0.3	2.2 ± 2.0	1.8 ± 0.8
		7	4.3 ± 1.4	1.6 ± 0.5	2.7 ± 1.0	1.8 ± 0.4
		14	3.8 ± 1.3	2.4 ± 0.2	1.5 ± 1.5	1.7 ± 0.5
		30	4.8 ± 0.5	2.0 ± 0.1	2.8 ± 0.6	1.4 ± 0.4
	IV (n=6)	-1	3.8 ± 0.8	1.9 ± 0.4	1.9 ± 0.7	0.9 ± 0.7
		1	4.4 ± 1.1	2.0 ± 0.3	2.4 ± 0.8	1.5 ± 0.9
		7	4.6 ± 0.9	2.0 ± 0.3	2.5 ± 0.7	1.2 ± 0.5
		14	4.4 ± 0.8	2.1 ± 0.2	2.6 ± 2.5	1.1 ± 0.3
		30	4.5 ± 0.9	2.2 ± 0.3	2.3 ± 0.6	1.1 ± 0.2

TP; Total protein, Alb; Albumin, Glob; Globulin. IP; Intraperitoneous, Con; No treatment.
IV; Intravenous. -1; one day before inoculation, 1; one day after inoculation.
Values were Mean ± standard deviation.

바. 바이러스 혈청 중화항체가

면역혈청 투여전 후 BVDV, BCV에 대한 혈청 중화항체의 변화를 측정하였다. BVDV는 홀스타인 송아지 정맥 투여군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 상승하였으나($P<0.05$), 대조군은 투여 1일째부터 점차적으로 감소하였다. 한우 복강투여군은 항체가 30일까지 지속적으로 유지되었으나, 대조군은 1일후 상승하다가 점차적으로 항체가 감소되었다(Fig 2). 또한 BCV는 홀스타인 정맥투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 상승하였으나($P<0.01$) 대조군은 증감변화가 거의 없었다. 한우 복강투

여군도 정맥투여군과 유사하게 거의 일정한 항체역가를 유지한 반면에 대조군은 14일경부터 급속히 감소하였다(Fig 3).

사. 백혈구 아군별 분포율

말초혈액을 채취한 후 백혈구 특이 단크론항체를 이용하여 림프구 아군별 분포율을 조사하였다(Table 8). 면역혈청 복강 접종된 송아지의 면역세포 분포율이 개체별로 큰 차이를 보였으며, 전체적으로 체내에서 면역반응의 주요 역할을 하는 T, B, N 세포의 양성율이 각각 33.0-47.0%, 7.6-9.7%, 42.7-53.4%로 나타났다. T 세포중 면역반응

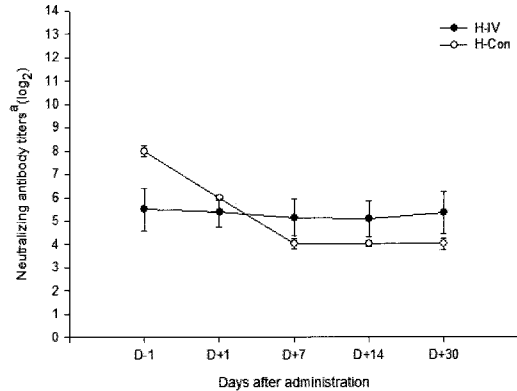
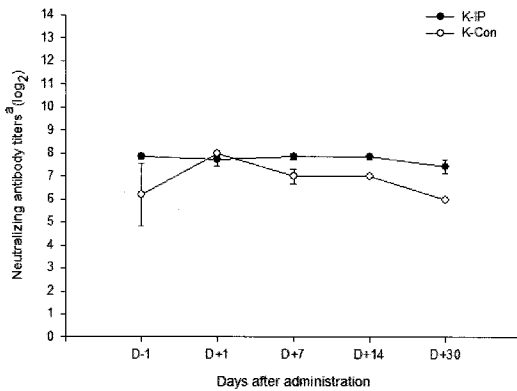


Fig 2. Changes of antibody titers against bovine viral diarrhea virus of neonatal calves with failure of passive transfer which were administered the bovine immune sera. a; reciprocal of final dilution inhibiting viral cytopathic effects. IP; Intraperitoneous, Con; No treatment, IV; Intravenous

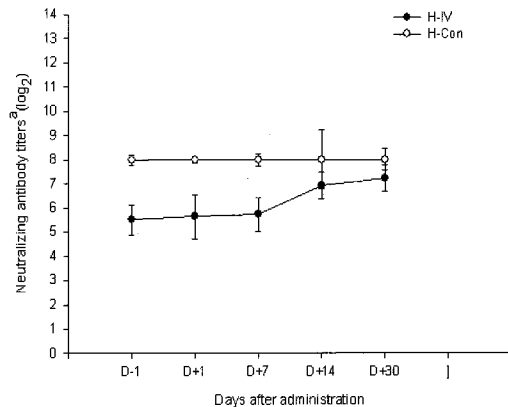
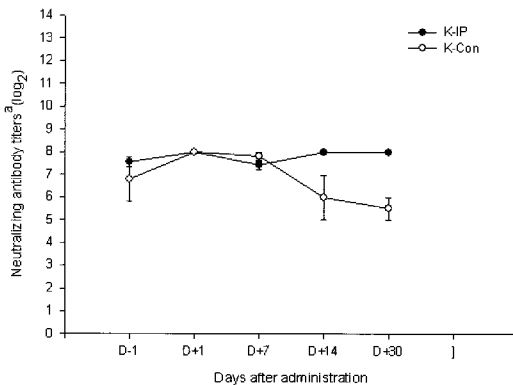


Fig 3. Changes of antibody titers against bovine corona virus of neonatal calves with failure of passive transfer which were administered the bovine immune sera. a; reciprocal of final dilution inhibiting viral cytopathic effects. IP; Intraperitoneous, Con; No treatment, IV; Intravenous

의 지표로 널리 이용되고 있는 CD4/CD8 비율은 1.1-1.4로 나타났으며, 항원 전달세포가 보유하고 있는 MHC class II와 monocyte의 양성율은 각각 12.2-16.1%, 9.3-11.8%로 조사되었다. 또한 체액성 반응에 매우 중요한 역할을 하는 sIgM 양성세포인 B세포의 분포율에서는 그룹간 큰 차이가 인정되지 않았다. 탐식세포와 monocyte는 대조군에서는 시간이 경과할수록 양성율이 감소되었지만, 정맥투여군은 개체별 차이는

인정되지만 7일째부터는 증가하였다. 면역혈청 투여전 후의 림프구 아군 분포율 변화에서는 면역세포와 그룹별로 차이가 있었으며, 복강투여군에서는 CD2, CD4, CD8의 양성율이 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다($P<0.05$). 정맥투여군은 CD2 양성율이 투여 전(33.0%)에 비하여 점차적으로 증가하여 투여 21일째에는 44.6%로 증가하였으며, 이러한 결과는 CD4 양성세포에서도 유사하게 관찰할 수 있었다.

Table 8. Percentage of lymphocyte subsets in calves with failure of passive transfer after the administration of bovine immune sera

Breed	Route	Day(s)	Monoclonal antibodies(%)				
			ClassI	ClassII	sIgM	N cell	M
Korean indigenous cattle	Con (n=5)	-1	86.3±7.4	12.3±5.3	9.7±2.6	53.4±18.9	11.5±0.5
		7	97.1±0.5	25.3±2.2	9.1±1.0	45.3±12.3	8.5±2.7
		14	96.2±3.7	20.5±11.3	7.8±3.0	38.1±18.1	8.7±3.6
		21	97.0±3.7	21.5±12.0	7.6±2.9	35.0±16.0	8.7±3.6
	IP (n=7)	-1	91.3±2.1	14.6±3.8	9.0±3.5	42.7±11.5	11.8±6.9
		7	93.4±4.3	21.3±5.5	12.4±2.7	43.3±5.4	9.8±2.7
		14	94.0±3.6	16.5±4.6	8.1±3.5	43.9±8.1	14.2±6.8
		21	94.0±3.7	16.5±4.6	8.9±3.5	43.0±9.0	14.3±6.9
Hostein	Con (n=3)	-1	96.3±3.5	12.2±5.9	7.6±3.1	48.3±8.6	10.5±2.1
		7	91.3±2.8	21.6±0.8	5.0±1.4	46.0±1.1	11.1±1.6
		14	91.3±0.1	21.6±0.4	10.6±0.9	40.6±0.8	11.1±3.7
		21	95.6±4.4	25.1±0.6	9.1±0.1	45.9±2.1	7.6±0.6
	IV (n=6)	-1	91.9±6.7	16.1±8.8	8.9±5.6	46.9±10.2	9.3±4.1
		7	93.5±6.7	15.9±6.7	9.4±4.3	44.7±12.2	13.7±8.8
		14	94.6±6.4	15.5±4.7	11.0±4.6	44.1±10.2	15.7±6.0
		21	91.0±8.9	17.5±6.3	12.0±4.8	50.2±10.8	13.1±6.4

-1; one day before inoculation, 7; 7 day after inoculation. IP; Intraperitoneous, Con; No treatment, IV; Intravenous. Values are Mean ± standard deviation.

그리고 CD4/CD8 비율은 홀스타인 송아지가 설사를 보인(2두) 대조군에서 투여 14일째 (0.9±0.2)를 제외한 모든 그룹의 전 기간 동안 큰 변동 없이 1.0 이상을 나타냈다(Table 9).

한편 수양성 설사의 임상증상을 보인 생후 10-20일령 사이의 송아지의 면역세포의 양성율은 투여전에 비하여 CD4 감소, CD8 양성 증가, sIgM 증가, 그리고 N세포 감소와 같은 특이한 양상이 관찰되었다.

고 찰

초유이행부전 (failure of passive transfer; FPT) 치료는 초유를 직접 먹이거나 IgG를 경구투여 하는 방법이 야외상황에서 많이 이용되고 있지만, IgG의 경구투여는 장관 내 흡수능력 때문에 생후 12시간 이내에 이루어져야 한다. 하지만 현실적으로 FPT는 생후 12시간 이후에 관찰이 가능하기 때문에 IgG를 다른 경로로 투여 하는 방법이 필요하다²³⁾. FPT 보정을 위한 전혈 사용법은 1-2L의 용량을 투여²⁴⁾ 야 하고, 채취한 후 신속하게 공급을 해야만 하는 보관상의 문제점이 있다.

Table 9. Percentage of lymphocyte subsets in calves with failure of passive transfer after the administration of bovine immune sera

Breed	Route	Day(s)*	Monoclonal antibodies(%)			
			CD2	CD4	CD8	CD4/CD8
Korean indigenous cattle	Con (n=5)	-1	41.3 ± 12.4	21.3 ± 8.7	17.1 ± 2.6	1.2 ± 0.3
		7	37.4 ± 21.2	21.8 ± 4.1	14.9 ± 5.0	1.5 ± 0.2
		14	37.1 ± 12.4	23.0 ± 0.2	17.9 ± 0.3	1.3 ± 0.1
		21	36.0 ± 12.1	21.9 ± 0.2	17.0 ± 0.3	1.2 ± 0.1
	IP (n=7)	-1	47.1 ± 13.8	13.5 ± 2.2	11.1 ± 3.9	1.4 ± 0.6
		7	50.8 ± 14.8	18.2 ± 3.5	12.7 ± 2.0	1.5 ± 0.5
		14	48.0 ± 16.1	19.7 ± 6.8	13.1 ± 4.0	1.5 ± 0.4
		21	48.0 ± 14.0	19.8 ± 4.0	13.1 ± 3.1	1.5 ± 0.4
Hostein	Con (n=3)	-1	33.1 ± 5.3	17.5 ± 7.8	15.7 ± 3.5	1.1 ± 0.3
		7	41.5 ± 0.7	18.2 ± 0.6	12.3 ± 0.4	1.4 ± 0.2
		14	41.5 ± 7.1	10.1 ± 0.1	16.5 ± 3.0	0.9 ± 0.2
		21	46.5 ± 2.1	18.0 ± 1.1	9.6 ± 0.6	1.5 ± 0.6
	IV (n=6)	-1	33.0 ± 8.9	16.8 ± 8.2	14.4 ± 4.8	1.2 ± 0.4
		7	37.4 ± 17.4	18.6 ± 7.2	13.8 ± 6.0	1.5 ± 0.7
		14	39.5 ± 10.4	18.1 ± 4.6	15.3 ± 4.9	1.3 ± 0.7
		21	44.6 ± 5.4	24.5 ± 11.3	16.7 ± 8.7	1.5 ± 0.6

*: -1; one day before inoculation, 7; 7 day after inoculation. IP; Intraperitoneous, Con; No treatment, IV; Intravenous. Values are Mean ± standard deviation.

이에 비해서 혈청은 냉동하면 1년 정도 보관이 가능하고²⁵⁾ 필요한 시기에 생산 및 사용이 가능하다. FPT 보정을 위한 면역 혈청의 이용은 모체이행항체 수준 뿐만아니라 감염 원인에 대한 특이항체가 존재가 중요하다. 따라서 국내·외에서 발생하는 송아지 바이러스성 질병의 주요 병원체로 보고한²⁶⁻²⁸⁾ IBRV, BRSV, PI-3V, BVDV, BVDV, BVDV, BVDV 등의 바이러스에 대한 고역가 면역혈청을 제조하였다. 면역혈청 투여된 한우와 홀스타인의 총단백질, 알부민과 글로불린 농도수준을 비교하여 보면 홀스타인 송아지가 전반적으로 높았는데, 이는 홀스타인 사육농가의 경우 어미소에게 백신을 투여하는 등의 사양관리에 의한 차이로 생각된다. 백신과 바이러스 접종은 바이러스 항체를 상승시킬 수 있으나, 접종시기와 바이러스 특성에 따라 차이가 있을 수도 있다. FPT 판정우의 기준은 Perino 등²⁹⁾의 방법에 준하여 실시하였고, TP와 Alb은 Mirtuka 등³⁰⁾이 조사한 결과에 비해서는 낮은 수준이었

는데, 본 연구에서는 생후 1년이 안된 송아지를 사용하였기 때문이며, 향후 연령이 많은 경산우를 이용한다면 보다 높은 TP를 가진 면역혈청을 생산할 수 있으리라고 생각한다. 면역혈청을 투여한 13두에서는 임상증상이 관찰되지 않았으며, 대조군에서는 각각 1두씩 10~12일령에 수양성 설사를 하였다. 기립불능 등의 심한 임상증상을 나타낸 개체는 폐사하였는데 이와 같은 결과는 면역혈청투여로 Ig의 수준을 높이기 전에 병인적 요인에 노출되어 이를 방어하지 못했기 때문이다^{23,31)}. 또한 면역혈청 투여 후에 혈액학적 변화를 조사한 결과 모든 군에서 정상범위를 크게 벗어나지는 않았지만, 투여 후 30일에 한우 대조군은 투여군에 비하여 Hct가 상승하였고, 홀스타인 대조군은 14일째 투여군에 비하여 Hct가 낮았다($P < 0.05$). Hct 수치 증가의 송아지의 다양한 질병 발생³²⁾요인을 판단하는 요소 중의 하나라고 생각한다. FPT 이환우에게 복강 또는 정맥으로 투여 후 FPT 개선

효과를 조사한 결과 투여군은 7일경에 보정되었으나 (Table 5), 대조군은 실험기간동안 계속 이환되어 있었다. 정맥투여는 건강한 개체의 복강투여 1.75배, 임상증상우의 정맥투여보다 각각 1.38배 많은 양을 투여했으나 전이상수가 4-10배정도의 차이가 났다. 이는 임상증상이 발현될 때보다 건강할 때가 더욱 효과적이었던 결과²²⁾와 유사하였으며, 투여경로는 복강투여보다는 정맥투여가 더 효과적이었다 ($P<0.01$). TP와 Ig수치가 낮거나, Alb의 Glob에 대한 비율이 높으면 송아지질병이환률에 영향을 미친다고 알려져 있다^{8,33)}. 본 연구에서 투여전 후의 TP, Alb, Glob, IgG의 변화를 측정된 결과 TP와 Glob의 변화는 연관성있게 생후 14일령 (투여 후 7일)에 가장 높다가 생후 21일에 낮아진 후에 생후 40일경에 다시 상승하였으며, 복강 ($r=0.47$)과 정맥 ($r=0.53$)투여에서는 투여후 30일까지 일정한 양상을 유지하였다. 그러나 Alb의 변화는 미약했다. 이와같은 결과는 IgG의 반감기가 생후 21.0일이며, 출생 4주후에는 최저치에 이르며³⁴⁾, 한우에서는 IgG의 반감기가 21.1일이며 출생 10주에 최저치에 이른다고 보고³⁵⁾한 선행 연구자들의 보고와 비슷한 결과를 나타냈다.

바이러스 질병의 방어효과를 확인하기 위하여 혈청 중화항체를 측정된 결과 한우 대조군은 BVDV와 BCV에 대한 항체가 감소하는 반면에, 투여군에서는 항체가 유지되거나 지속적으로 상승하는 것으로 미루어 보아 면역혈청을 투여하였을 경우 이들 바이러스에 대한 방어효과가 있음을 알 수 있었다. 백혈구 아세포집단 분포를 조사는 숙주의 면역기능을 파악하기 위해서 이들 세포의 기능에 대한 연구가 많이 진행되어 왔다. Sordillo 등³⁶⁾은 Major histo-compatibility complex (MHC) Class I은 세포독성 T림프구, Class II는 (antigen presenting cell; APC)나 B 림프구, 활성화된 T 림프구에 발현되며, B 림프구는 면역글로블린을 생성하여 체액성 면역에 중요한 역할을 한다. CD2는 모든 T 림프구발현에

관여하고, CD4 (helper T세포)는 cytokine 등의 분비와 B림프구와 대식세포의 APC-MHC complex를 인식하여 세포성 면역 반응의 중추적 역할을 한다고 보고하였다. Wyatt 등³⁷⁾은 신생 송아지에서 각 백혈구의 백분율은 N cell (15-30%), CD2 (51.8-45.7%), CD4 (29.8-21.7%), CD8 (16-17%), MHC class I (약 90-95%), MHC class II (16-9%수준), G+M (16-8%)이며 sIgM이 매우 낮았으며, Wilson 등³⁸⁾은 신생송아지 10두의 생후 4일령제와 30일제의 각 세포의 양성율이 CD2는 34%와 30%, CD4는 20%와 16%, CD8는 9%와 8%, N cell은 35%와 25%로 각각 보고하였다. 또한 Menge 등³⁹⁾은 3-9주령의 송아지 10두의 면역세포 양성율이 각각 CD2 ($42.8 \pm 5.9\%$), CD4 ($20.2 \pm 4.0\%$), CD8 ($20.8 \pm 3.8\%$), N cell ($20.2 \pm 7.6\%$), Bcell ($10.0 \pm 3.9\%$), MHC class II ($33.6 \pm 5.5\%$), monocyte ($18.9 \pm 6.8\%$)으로 보고하였다. 본 연구에서는 생후 3일령 전후의 송아지 면역세포 분포율이 T, B, N 세포의 경우는 각각 33.0-47.0%, 7.6-9.7%, 42.7-53.4%로, CD4/CD8 비율은 각각 1.1-1.4로, MHC class II 12.2-16.1%, monocyte는 9.3-11.8%로 나타났다. 이러한 결과는 선행연구자들의 연구결과와 면역세포별로 약간의 차이는 있었으나, 주요 세포들의 구성 양상은 전반적으로 비슷한 결과였다. 이러한 차이는 송아지 품종, 연령, 개체의 건강사태와 실험방법에 의한 것으로 생각된다. 면역혈청 투여후의 림프구 아군 분포율에서는 면역세포별 그리고 군별 차이는 있었으며, 복강 투여군에서 CD2, CD4, CD8의 양성율이 대조군에 비하여 유의성있게 증가하였고 ($P<0.05$), 정맥주사군도 CD2 양성율이 투여전 (33.0%)에 비하여 점차적으로 증가하여 투여 21일째에는 44.6%로 증가되었다. 이러한 결과는 CD4 양성세포에서도 유사하게 관찰할 수 있었다. 또한 탐식세포와 항원전달 세포의 전구체인 monocyte의 양성율이 대조군의 경우 시간이 경과할수록 감소되지만, 정맥 투여군의 경우 개체별 차이는 인정되지만 투여전 ($9.3 \pm 4.1\%$)에 비하여 투여후 7일과 14일째

에 각각 $13.7 \pm 8.8\%$ 와 $15.7 \pm 6.0\%$ 로 증가되어 면역혈청이 체내 T 면역세포와 monocyte에 영향을 주는 것으로 나타났다. 또한 BVDV, BCV에 대한 혈청중화 항체가의 상승과 면역반응에 주요한 역할을 하는 CD2, CD4 세포와 monocyte의 증가를 확인할 수 있었다

이와 같은 결과를 종합하여 보면 본 연구에서 제조한 면역혈청을 FPT 이환우에게 정맥 또는 복강으로 투여하였을 경우 FPT 보정 효과와 Ig의 상승효과를 확인할 수 있었으며, 정맥투여가 더 효과적이었다. 면역세포에 미치는 영향은 송아지 연령과 면역력 수준 등 송아지의 생리적인 요인과 건강상태, 초유의 질 및 투여방법과 용량 그리고 투여 시기 등 여러 가지 요인이 서로 복합적으로 작용하는 것으로 생각된다. 따라서 면역혈청을 이용하여 치료효과를 개선하기 위해서는 향후 이와 같은 요인들의 상관관계 및 FPT 보정을 위한 체중 당 최소 필요량과 아울러 Ig투여 후 생체에서의 반감기 등에 대한 다각적인 연구가 병행되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

초유 흡수상태의 진단을 통한 1주령 이하의 FPT 송아지를 대상으로 소 면역 혈청을 투여하여 FPT 보정효과를 확인하였다. FPT 송아지 23두중 한우 (7두)는 복강투여군으로, 홀스타인 (6두)은 정맥투여군으로 사용하였고 대조군으로 복강투여군에 5두를 그리고 정맥투여군에 3두를 이용하였다. 면역혈청은 생후 1-7일령 사이에 체중 kg당 한우는 0.28g을 복강으로, 홀스타인은 0.16g을 정맥으로 각각 1회씩 투여하였다. 그 결과 실험집중군 13두 모두에서 특이한 임상증상은 관찰되지 않았으나, 대조군에서는 2두 (25%)가 10~12일령에 수양성 설사를 보였고, 중증의 임상증상을 보인 한우 송아지 정맥접종군 2두는 면역혈청 투여 후 3일과 15일째에 각각 폐사하였다. 면역혈청 투여 후 FPT 송아지들의 평균 transfer factor [TF; mg/dl(투여한 혈청

내 IgG량)/체중 kg]는 홀스타인 정맥투여군은 11.17 ± 1.27 , 한우 복강투여군은 5.46 ± 2.74 , 그리고 한우 정맥투여군은 1.40 ± 0.21 이었다. 임상증상이 없는 FPT 송아지의 경우 면역혈청 투여는 복강보다 정맥이 더 효과적이었다 ($P < 0.01$). 면역혈청 투여 후 혈청내 Ig수준은 24시간 이내에 상승하였으며, CD2, CD4 및 단핵구의 증가를 확인할 수 있었다 ($P < 0.05$). 그리고 BVDV, BCV 바이러스 혈청 중화 항체가는 대조군에 비하여 유의성있게 상승하였다 ($P < 0.05$). 또한 면역혈청 투여 전 FPT로 확인된 송아지들을 복강 또는 정맥으로 투여한 후 7일이 경과하면 FPT가 모두 교정되었으나, 대조군 송아지들은 14일과 30일까지도 FPT가 보정되지 않았다.

결론적으로 면역혈청을 이용하여 초유이행부전 송아지의 치료 대체요법으로 활용이 가능할 것으로 보인다.

사 사 : 본 연구는 농림기술개발사업 (196001-3)의 연구결과 중 일부임을 밝힙니다.

참고문헌

- Ivanoff MR, Renshaw HW. 1975. Weak calf syndrome: serum immunoglobulin concentrations in precolostral calves. *Am J Vet Res* 36: 1129-1131.
- 김 두, 한홍률. 1989. 한우 송아지의 초유 섭취에 의한 수동면역 획득 상태. 대한 수의학회지 29: 155-162.
- McGuire TC, Pfeiffer NE, Weikel JM, et al. 1976. Failure of colostral immunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease. *JAVMA* 169: 713-718.
- Tizzard IR: Veterinary immunology. 1996. 5th ed. WB Saunders Company: 244-247.
- Logan EF, Penhale WJ, Jones RA. 1972. Changes in the serum immunoglobulin levels of colostrumfed calves during the

- first 12 weeks postpartum. *Res Vet Sci* 14:394-397.
6. Gay CC, Fisher EW, McEwan AD. 1965. Seasonal variations in gamma globulin levels in neonatal market calves. *Vet Rec* 21:994-997.
 7. McEwan AD, Fisher EW, Selaman IE. 1970. Observations on the immune globulin levels of neonatal calves and their relationship to disease. *J Comp Path* 80:259-265.
 8. Klingenberg K, Vagsholm I, Alenius S. 1999. Incidence of diarrhea among calves after strict closure and eradication of bovine viral diarrhea virus infection in a dairy herd. *JAVMA* 15:1824-1828.
 9. Boyd JW, Baker JR. 1972. The Relationship between serum immune globulin deficiency and disease in calves a farm survey. *Vet Rec* 90:645-649.
 10. Rea DE, Tyler JW, Hancock DD, et al. 1996. Prediction of calf mortality by use of tests for passive transfer of colostral immunoglobulin. *JAVMA* 15:2047-2049.
 11. Williams MR, Spooner RL, Thomas LH. 1975. Quantitative studies on bovine immunoglobulins. *Vet Rec* 96:81-84.
 12. Wittum TE, Perino LJ. 1995. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. *Am J Vet Res* 56:1149-1154.
 13. Reburn WC. 1995. Diseases of dairy cattle. Lea & Fediger Book Company: 157-158.
 14. Nollet H, Laevens H, Deprez P, et al. 1999. The use of non-immune plasma powder in the prophylaxis of neonatal *Escherichia coli* diarrhoea in calves. *Zentralbl Veterinarmed A* 46:185-196.
 15. Fernandez FM, Conner ME, Hodgins DC, et al. 1998. Passive immunity to bovine rotavirus in newborn calves fed colostrum supplements from cows immunized with recombinant SA11 rotavirus core-like particle (CLP) or virus-like particle (VLP) vaccines. *Vaccine* 16:507-516.
 16. Quigley III, Welborn MG. 1996. Influence of injectable immunoglobulin on serum immunoglobulin concentrations in dairy calves. *J Dairy Sci* 79:2032-2037.
 17. Selim SA, Holmberg CA, Cullor JS. 1995. Passive immunotherapy in neonatal calves. II. The efficacy of a J5 *E. coli* hyperimmune plasma as immunotherapy in neonatal calves. *Vaccine* 13:1454-1459.
 18. Kirk TE, Gay CC, Mcguire TC, et al. 1988. Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into intestinal lumen. *J Virol* 62:2238-2242.
 19. Baker JC, Ames TR, Markham RJ. 1985. Serologic studies of bovine respiratory syncytial virus in Minnesota cattle. *Am J Vet Res* 46(4):891-892.
 20. McBeath DG, Penhale WJ, Logan EF. 1971. An examination of the influence of husbandry on the plasma immunoglobulin level of the newborn calf, using a rapid refractometer test for assessing immunoglobulin content. *Vet Rec* 88:266-270.
 21. Griebel PJ, Qualtiere L, Davis WC, et al. 1987. Bovine peripheral blood leukocyte subpopulation dynamics following a primary bovine herpesvirus-1 infection. *Viral Immunol.* 88(4):267-86.
 22. Wilkins PA, Dewan S. 1994. Efficacy of intravenous plasma to transfer passive immunity in clinically healthy and clinically ill equine neonates with failure of passive transfer. *Cornell Vet* 84:7-14.
 23. Scott GH, Fellah A. 1979. Colostral immunoglobulin transfer in calves. I.

- Period of absorptin. *J Dairy Sci* 62: 1632-1638.
24. Kirk TE, Gay CC, Pritchett LV. 1991. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. *JAVMA* 1; 419-422.
 25. Jeffcott LB. 1974. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. *Equine Vet J* 6: 109-115.
 26. Pare J, Thurmond MC, Garder IA, et al. 1996. Effect of birthweigh, total protein, serum IgG and packed cell volume on risk of neonatal diarrhea in calves on two califonia dairies. *Can J Vet Rec* 57: 241-246.
 27. 이채용, 이정길, 남선문. 1995. 광주·전남 지역내 소의 바이러스성 질병에 관한 혈청학적 연구. *대한수의학회지* 35: 615-623.
 28. 김 두, 한홍률. 1989. 초유를 섭취한 한우 송아지의 출생 후 12주 동안 혈청 면역 글로불린과 각종 바이러스 항체가의 변화. *대한수의학회지* 29: 163-170.
 29. Perino LJ, Wittum TE, Ross GS. 1995. Effects of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calves at postpartum hours 10 and 24. *Am J Vet Res* 56: 1144-1148.
 30. Mitruka BM, Rawnsley HM. 1981. Clinical biochemical and haematological reference values in normal experimental animals and normal humans. 2th ed: 235-238.
 31. Clement JC, King ME, Salman MD, et al. 1995. Use of epidemiologic principles to identify risk factors associated with the development of diarrhea in calves in five beef herds. *JAVMA* 207(10): 1334- 1338.
 32. Fisher EW, De la Fuente GH. 1972. Water and electrolyte studies in newborn calves with particular reference to the effects of diarrhoea. *Res Vet Sci* 13: 315-322.
 33. Tennant B, Harrold D, Reina-Guerra M. 1972. Physiologic and metabolic factors in the pathogenesis of neonatal enteric infections in calves. *JAVMA* 161: 993-1007.
 34. Logan EF, Gibson T. 1975. Serum immunoglobulin levels in suckled beef calves. *Vet Rec* 97: 229-230.
 35. 김 두, 한홍률. 1989. 한우 송아지의 초유 섭취에 의한 수동 면역이 포유 기간 중의 질병 발생에 미치는 영향. *대한수의학회지* 29: 171-178.
 36. Sordillo LM, Weaver KS, Derosa D. 1997. Immunobiology of the mammary gland. *J Dairy Sci* 80: 1851-1865.
 37. Wyatt CR, Madruge C, Cluff C, et al. 1994. Differential distribution of $\gamma\delta$ T-cell receptor lymphocyte subpopulations in blood and spleen of young and adult cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 40: 187- 199.
 38. Wilson RA, Zolnai A, Rudas P. 1996. T-cell subsets in blood and lymphoid tissues obtained from fetal calves, matureing calves, and adult bovine. *Vet Immunol Immunopathol* 53: 49-60.
 39. Menge CM, Neufeld B, Hirt W. 1998. Compensation of preliminary blood phagocyte immaturity in the newborn calf. *Vet Immunol Immunopathol* 62: 309-321.