

전염성 F낭병에 대한 혈청학적 연구

정영미, 서석열, 도홍기, 조정곤*, 노수일

전라북도축산진흥연구소, 전북대학교 생체안전성연구소*

The serological studies on infectious bursal disease

Young-Mee Jung, Surk-Yul Seo, Hong-Ki Do,
Jeong-Gon Cho*, Soo-Il Roh

*Chonbuk Livestock Development and Research Institute,
Bio-safety Research Institute, Chonbuk National University**

Abstract

This study was carried out to provide the fundamental information for development of proper vaccination program against infectious bursal disease(IBM) to the local chicken farms. The antigen detection was performed from 8 samples of bursa of Fabricius with agar gel precipitation(AGP) and indirect immunofluorescent assay(IFA), And also, the antibodies in serum samples were detected by the various serological methods such as commercial ELISA assay, AGP and virus neutralization(VN) test.

1. The antigen detection rates were 25% for AGP which is 2 out of 8 farms and 10 out of 40 bursas, and 25% which is 2 out of 8 farms and 20% 8 out of 40 bursas for IFA, respectively.
2. The mean titer of maternal antibody (>3,000) existed until 10 days of the age with ELISA-GMT.
3. The antibody positive rates which are over 80% showed until 5 days of the age with ELISA and at 10 days of the age with AGP except one, but none of them showed from 1 day of the age.

This report came to conclusions that both the protective maternal antibody titers and the antigen positive rates were significant until at the 10 days of the age.

Key words : IBM, AGP, ELISA, IFA, VN test.

서 론

전염성 F낭병(infectious bursal disease)은 감보로병(Gumboro disease)이라 하며, 3주령 전후 육계의 바이러스성 급성 전염병으로, 1962년 Cosgrove에 의해 발견된 이래¹⁾ 어린 병아리 및 육계에서 높은 폐사율과 면역억제를 나타냄으로써 2차적인 질병을 유발하여 생산성을 저하시키는 질병이다. 원인체는 RNA 바이러스계열의 bimaviridae의 IBDV이며²⁾, 이 바이러스는 열과 산에 매우 강하고 또한 감염된 농가는 감염계가 제거된다하더라도 일반적인 소독제로는 사멸시키기 어렵기 때문에³⁾ 감염된 계사내의 물, 사료, 깃털 등이 오랫동안 상존하면서 전염되어 지속적으로 발병하는 것으로 알려져 있다⁴⁾.

또한 이 질병이 양계농가에 끼치는 주된 경제적 손실은 주로 1~2주령의 육계에서 유발되므로 모체이행항체를 통한 초기감염방지막이 매우 중요하며, 또한 현대화된 양계시설, 체계적인 사양관리 및 상업화된 백신프로그램에도 불구하고 지속적으로 발생하는 것은 각 농장에 대한 자체백신프로그램개발과 철저한 차단방역에 대한 중요성을 간과할 수 없다. 따라서 본 실험은 본소 관내 4개 종계장을 대상으로 종계 및 그 후대병아리를 대상으로 백신에 대한 항체보유수준과 그 후대병아리의 모체이행항체 수준을 측정함으로써 적절한 백신 프로그램을 확립하는데 기초적인 자료를 제시

하고자 하였다.

재료 및 방법

닭

농장별 백신프로그램에 따라 백신을 실시한 본소 관내 4개 종계장 48~50주령의 종계 각각 50수씩 200수와 이들 계군이 생산한 400개의 종란을 부화시켜 육성용 케이지에 사육하면서 채혈하여 실험에 사용하였다. 한편, 후대 병아리는 백신을 실시하지 않았다.

SPF embryonated eggs

부화기에서 발생시킨 8~11일령의 SPF란을 chicken embryo fibroblast(CEF)를 회수하는데 사용하였다.

F낭 세포

의뢰된 병성감정 가검물 중 IBD로 의심된 닭의 F낭을 취해 10× antibiotic-antimycotic PBS로 3회 세척하고 세척 후 동량의 sea sand를 넣어 마쇄한 후 10× antibiotic- antimycotic 함유한 PBS로 20% 부유액을 제조하고 멸균된 거즈에 걸러 사용전 까지 -20℃에서 보관하였다.

혈청

모계는 4개 농장의 48~50주령 각 50수씩 200

Table 1. The vaccination and bleeding history of both breeder flocks and their progeny broilers

Birds	Age	Number	Farm	Vaccination	Bleeding
Breeder flocks	48-50 weeks old	200	4	<ul style="list-style-type: none"> · Drinking water at 10 days(live) · Drinking water at 80day (live) · Sc at 20 weeks(oil) 	<ul style="list-style-type: none"> · 48-50 weeks old from the wing vein
Their progeny broilers	1-30 days old	200	4	Not done	<ul style="list-style-type: none"> · From 1-30 days old at every 5 days from the herat puncture

수의 익하정맥에서, 후대병아리는 1~30일까지 각 100수씩 매 5일마다 심장에서 채혈하고 실온에서 응고시킨 후 원심분리(2,000 rpm, 15분)하여 혈청을 분리한 후 56°C, 30분간 비동화하고 사용전까지 -20°C에서 보관하였다.

IBDV 표준주

IBDV lukert 백신주를 서울대학교 수의과대학으로부터 분양 받아 항원으로 사용하였다.

표준 항혈청

표준양성혈청으로 사용된 항혈청은 서울대학교 수의과대학 및 국립수의과학검역원에서 분양 받아 사용하였다.

배지

Medium 199(M199) 및 tryptose phosphate broth(TPB)를 기본배지로 하고 사용목적에 따라 fetal bovine serum(FBS)를 첨가하여 증식배지(10% FBS M199), 유지배지(5% FBS M199), 희석배지 및 흡착배지(M199 : TPB, v/v)를 제조하여 사용하였다.

Chicken embryo fibroblast(CEF)

SPF 종란을 부화기에서 발생시킨 후 8~11일령의 발생란을 검란하고 iodine tincture로 침지 소독하였다. 기실 경계부분을 가위 및 핀셋을 이용하여 자르고 embryo를 꺼낸 후 트립신처리를 할 수 있는 비이커에 옮기고 세절한 후 PBS로 세척하였다. 37°C로 예열된 tris-versene을 첨가하고 교반하면서 37°C에서 1시간 트립신을 처리한 후 5% FBS M199에 세포를 회수하였다. 그 후 trypan blue dye exclusion 법으로 생존율을 확인하고 용도에 맞게 세포수를 조정하여 사용하였다.

ELISA

KPL commercial ELISA kit(Pro-Flock ELISA Kit, Kirkegaard & Perry Laboratories Inc. Gaithersburg, MD)를 이용하여 kit의 방법^{5,6)}에 준하여 검사하였다. 요약하면 희석용

plate에 가검혈청 6 μ l를 희석용액 300 μ l에 희석하였다. 그 후, 항원이 코팅된 ELISA plate의 각 well에 희석한 가검혈청 50 μ l를 첨가하여 30분간 상온에서 반응시켰다. 이어서 각 well의 반응액을 제거하고 세척용액으로 3회 세척한 후, peroxidase conjugated anti-chicken IgG(H+L) (1:100 dilution) 100 μ l를 각 well에 첨가하여 상온에 30분간 반응시켰다. 다시 3회 세척후 ABTS-hydrogen peroxidase substrate solution 100 μ l를 첨가하여 15분간 발색시킨 후 중지시켰다. 발색도는 405 nm에서 ELISA reader(Spectra MaxPro, Molecular Device, Sunnyvale, CA)를 이용하여 측정하였다.

한천침강법(agar gel precipitation, AGP)

Barium chloride와 sodium barbital이 함유된 0.5% gel을 만들어 사용하였다. 사용시 완전히 용해된 상태에서 유리판에 부어 실온에서 굳히고 항원 및 항체간의 간격을 맞추어 gel punch를 이용 구멍을 만든 후, 항원 및 항체검사용에 따라 표준항원 및 표준항혈청의 위치를 바꾸고 미세관을 이용 가검재료를 주입 후 3일 후에 띠를 판독하였다.

간접형광항체법(indirect immunofluorescence assay, IFA)

병성감정시 회수한 20% bursal sample 50 μ l를 dilution buffer에 희석하고 그것을 80% CEF cell-confluent 된 멸균된 round cover glass를 넣은 6 well plate에 가하고, 37°C에서 1시간 rotate shaking 하면서 흡착시킨 후 반응액을 제거하고 PBS로 2회 깨끗이 제거하고 10% FBS를 함유한 M199 1ml씩을 가하고 37°C에서 3~5일간 배양하였다. 그 후, methanol과 acetone을 동량(v/v) 섞어 만든 액으로 10분간 고정하고 1차항체를 150 μ l를 가하여 30분간 반응시키고 PBS로 2회 세척한 후 antirabbit FITC conjugate 100 μ l를 가하여 37°C 30분간 반응시켜 검경하였다.

바이러스중화시험법(virus neutralization, VN, test)

통상적인 방법으로 constant virus-diluting serum method를 이용하였다. 요약하면 96 well plate에 가검 혈청을 2배 계열희석하고 1,000 TCID₅₀ 50 μ l을 가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 중화시키고 이 중화된 virus 25 μ l를 well 당 10% FBS M199에 조정되어있는 5 \times 10⁵ CEF cells/ml의 100 μ l을 가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 최소 3일간 배양하면서 CPE가 나타날 때 판독하였다.

결 과

AGP 및 IFA를 이용한 감염된 F낭에서 항원 검색

IBD로 의심된 병성가검물의 F낭에 대한 항원검사를 AGP 및 IFA를 이용하여 비교하였다. 검사대상농가 8농가 중 IFA 및 AGP 공히 2농가에서 25%의 양성반응을 보였으며, 40개의 F낭중 AGP에서 10개(25%)이며, IFA에서는 8개(20%)의 양성반응을 보였다(Table 2).

ELISA를 이용한 후대병아리의 IBD에 대한 일령별 모체이행항체가의 변화

48~50주령의 모계의 익하정맥에서, 후대 병아리는 생후 1일령부터 매 5일 간격으로 30일까지 심장에서 채혈하여 후대병아리의 IBD에 대한 일령별 모체이행항체가를 ELISA방법으로 조사한 결과는 다음과 같다. 즉 모계의 경우 11,000-12,000이상이 IBD에 대한 방어항체가

(\gt titer 3,000) 보다 매우 높은 항체수준을 보였으며 후대병아리는 생후 5일령까지 4농가 모두 방어항체수준이상의 항체가를 유지하였으며, 10일 이후에는 3농가에서, 15일 이후에는 전체 농가에서 모체이행항체 수준이 급격히 소실되었다(Fig 1).

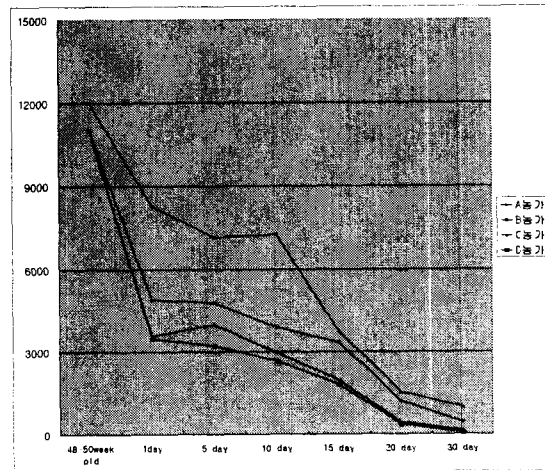


Fig 1. The changes of maternal antibody of progeny broiler against infectious bursal disease using commercial ELISA kit (Titer > 3,000, positive)

ELISA를 이용한 후대병아리의 모체이행항체의 일령별 항체양성률의 변화

IBD에 대한 후대병아리의 모체이행항체수준의 항체양성률의 변화를 ELISA이용하여 확인하였다. 모계의 혈중항체는 200수 4농가 전농가에서 100% 항체양성률을 보였으며 그 후대병아리는 생후 5일령까지 1농가를 제외한 3

Table 2. The comparison of the AGP and IFA in a antigen detection of infected bursa of Fabricius

Samples	Farms		Bursa of Fabricius	
	Tested	Positive (%)	Tested	Positive (%)
AGP*	8	2 (25)	40	10 (25)
IFA	8	2 (25)	40	8 (20)

* : AGP : Agar gel precipitaion, IFA : Indirect immunofluorescence assay

농가에서 80% 이상의 항체양성률을 보였고 10일까지는 1농가만, 15일 이후에는 전농가에서 0~72%의 낮은 항체양성률을 보였다. 또한 D농가는 그 후대병아리의 항체양성률이 생후 1일령부터 50%를 나타내며 15일령부터는 0%의 매우 저조한 양성률을 나타내었다 (Table 3).

AGP를 이용한 후대병아리의 모체이행항체의 일령별 항체양성률의 변화

통상적으로 사용하고 있는 AGP법으로 실험하였으며 IBD에 대한 후대모체이행항체양성률의 변화를 확인하였다. 즉 모체의 혈중항체는 전 농가에서 100%의 양성률을 나타냈으며 후

대병아리의 모체이행항체는 생후 10일까지 3농가에서 80%~100%의 항체양성률을 보인 반면, 15일 이후에는 1농가에서만 80% 이상을 나타내고, 생후 20일에는 0~70%을 나타냄으로써 급격히 항체양성률이 감소하였다(Table 4).

VN test를 이용한 후대병아리의 모체이행항체의 일령별 항체양성률

통상적인 방법을 이용 constant-virus-diluting serum test method으로 실시하였다. 즉, IBD에 대한 일령별 후대병아리의 모체이행항체 양성률의 변화를 살펴본 바, 모체혈중항체는 전농가에서 100%의 양성률을 보인 반면 후대병아리는 생후 1일령부터 전농가에서 매우 낮은

Table 3. The changes of positive rate(%) of protective maternal antibody by commercial ELISA kit(titer >3,000)

	Bleeding days	No of positive/No of tested(positive rate)			
		A	B	C	D
Chickens	48-50 weeks	50/50 (100)	50/50 (100)	50/50 (100)	50/50 (100)
	1 day	6/7 (85)	9/11 (81)	11/12 (92)	5/10 (50)
	5 days	6/7 (85)	8/10 (80)	10/11 (90)	5/10 (50)
	10 days	5/10 (71)	5/10 (50)	10/11 (90)	4/12 (33)
	15 days	2/7 (28)	5/10 (50)	8/11 (72)	0/12 (0)
	20 days	0/7 (0)	2/11 (18)	5/15 (20)	0/15 (0)
Their progeny broilers	30 days	0/7 (0)	0/14 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)

Table 4. The changes of positive rate(%) of protective maternal antibody both farms and bleeding days by AGP

	Bleeding days	No of positive/No of tested(positive rate)			
		A	B	C	D
Chickens	48-50weeks	50/50 (100)	50/50 (100)	50/50 (100)	50/50 (100)
	1 day	10/10 (100)	10/11 (91)	13/13 (100)	8/12 (66)
	5 days	10/10 (100)	8/10 (80)	12/12 (100)	5/12 (41)
Their progeny broilers	10 days	10/10 (100)	4/12 (33)	12/12 (100)	5/12 (41)
	15 days	10/10 (100)	4/13 (30)	10/10 (100)	4/11 (36)
	20 days	7/10 (70)	0/10 (0)	8/15 (53)	0/15 (0)
	30 days	0/10 (0)	0/10 (0)	5/15 (33)	0/15 (0)

항체양성률을 보이고 15일부터는 0~23%의 저조한 양성률을 나타내었다(Table 5).

ELISA, IFA, 및 VN test를 이용한 방법별, 농가별, 일령별에 따른 모체이행항체 양성률 (> 80%)의 비교

생후 1일령부터 5일령까지 AGP 및 ELISA에서 1개 농가를 제외한 3농가에서 80%이상의 항체양성률을 보이고 또한 생후 10일에는 AGP에서 3농가 80% 이상 항체양성률을 보인 반면, ELISA에서는 1농가에서 90% 이상의 양성률을 보였다. 한편 1개 농가에서는 1일령부

터 AGP 및 ELISA에서 매우 낮은 수준을 나타내고 전농가에서 VN test의 결과는 일령별 농가별에 따라 매우 저조하였다(Table 6).

고 찰

전염성 F낭병은 전염성이 강하고 면역능력 억제 주 특징으로 하는 닭에서의 대표적인 질병이며⁷⁾ 현대화된 시설, 조직적인 관리, 상업화된 백신프로그램 등 이 질병을 근절하기 위한 다양한 예방대책을 세우고 있지만 현재까지 근근절되지 않고 지속적으로 발생하여 양계농

Table 5. The changes of positive rate(%) of protective maternal antibody by VN test (Titer>7)

	Bleeding days	No of positive/No of tested(positive rate)			
		A	B	C	D
Chickens Their progeny broilers	48~50weeks	50/50 (100)	50/50 (100)	50/50 (100)	50/50 (100)
	1 day	2/7 (28)	4/11 (36)	9/12 (75)	3/10 (30)
	5 days	2/7 (28)	4/11 (36)	7/11 (63)	3/12 (25)
	10 days	1/7 (14)	3/11 (27)	7/11 (63)	3/12 (25)
	15 days	0/7 (0)	3/13 (23)	6/10 (36)	2/15 (13)
	20 days	0/7 (0)	1/14 (7)	3/15 (20)	0/15 (0)
	30 days	0/7 (0)	0/14 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)

Table 6. The comparisons in the changes of the positive rate (> 80%) among farms

	Bleeding days	Methods	The positive rate(> 80%)			
			A	B	C	D
Their progeny broilers	1	AGP*	100	91	100	-
		ELISA*	85	81	92	-
		VN*	-	-	-	-
	5	AGP	90	80	100	-
		ELISA	85	80	90	-
		VN	-	-	-	-
	10	AGP	80	83	100	-
		ELISA	-	-	90	-
		VN	-	-	-	-

* : AGP : agar gel precipitaion, IFA : indirect immunofluorescence assay,
VN : virus neutralization test

가에 막대한 경제적인 피해를 끼치고 있다. 이 원인체는 초반의 육계에서 주로 식육감퇴, 설사 등 1차적인 그 피해도 중요하지만, 주로 F낭을 침해하여 면역기능을 교란시키기 때문에 그 후유증에서 오는 다른 질병의 감수성의 증가가 더 심각하다 할 수 있다⁸⁾.

본 실험은 본소 관내 4개 농장을 대상으로 IBD 예방백신에 대한 모계의 혈중 항체 및 그 후대병아리의 모체이행항체 보유수준을 다양한 혈청학적 진단방법 즉, AGP, IFA, VN test을 이용하여 측정하였으며 또한 IBD의 원인체를 진단하는데 있어서 좀더 용이한 방법을 찾고자 하였다.

모계로부터 후대병아리에 이행되는 항체는 주로 IgG, IgM 및 IgA인데 이는 IgG가 부화전 15일경부터 난황내에 존재하고 혈류를 통하여 계태아에 흡수되기 시작하여 부화후 2~3일에 완전히 흡수되며, 부화란 알부민내의 IgM과 IgA는 양막액으로 확산되어 계태아가 이를 섭취하여 장관내로 이행된다. 이와 같이 이행된 병아리의 체내에 분산되어 장관내로 이행된 IgM과 IgA는 항체로서의 역할을 하지 못하고 IgG는 병아리의 체내로 분산되어 혈중항체로서의 역할을 수행하여 일령에 따라 항체역가가 소실되고 3주 정도면 거의 소실된다고 한다^{9,10)}. Commercial ELISA kit를 이용하여 실시한 모계의 혈중항체수준은 농가에 관계없이 균일하였으나 후대병아리의 모체이행항체의 변화는 5일령까지 4농가 모두 방어항체수준(> 3,000) 이상을 보였으나 생후 10일 후에는 3농가, 15일에는 전농가에서 모체이행항체수준이 급격히 소실되는 양상을 띄어 농가에 따라 큰 차이가 있었다. 또한 ELISA 및 AGP등을 이용한 모체이행항체 양성률의 변화는 방법에 따라 약간 차이는 있으나 한 농가를 제외한 3농가에서, 5일 전후까지는 80%이상의 항체양성률을 보인 반면, 생후 15일 후에는 급격히 양성률이 감소하는 등 모계의 혈중항체양성률이 높는데 반하여 농가에 따라 후대병아리의 모체이행항체 양성률의 큰 차이를 볼 수 있었다. 또한 VN test에 의한 모계 혈중항체의 양성률은 전농가, 전수에서 100%의 항체양성률을 보인 반면 생후

1일령부터 28~75% 등 낮은 수준을 보였고 15일부터 0~23%로 현저하게 저하되었다. 즉, 후대병아리의 방어항체가 및 그의 항체양성률은 방법적으로는 AGP가 가장 유용한 방법이고, 일령별로는 생후10일까지 그 항체수준을 보유함을 알 수 있었다. 위의 결과는 IBD의 모체이행항체의 반감기는 6~7일정도, 또는 3~5일이라는 보고^{11~13)}와는 일치하는 반면 본 실험에 사용된 모계의 백신프로그램에 의하면, 1차로 생독백신만을 실시한 후대병아리의 모체이행항체는 생후 10일 정도까지만 보호면역이 유지되고 오일백신을 실시할 경우 4~5주까지 유지된다는 보고와는 일치하지 않음을 알 수 있었다^{14~17)}. 또한 병성감정시 IBD로 의심된 가검물중, 항원을 AGP 및 IFA로 검사한 결과 AGP가 좀더 신속, 간편하였다.

이는 IBD 예방 및 근절을 위해서는 보다 효과적인 백신프로그램 수립 및 신속한 항원검사가 우선되어야 하겠고 이를 위해서는 다양한 혈청검사방법을 이용하고, 또한 IBD는 모체이행항체를 통한 육계면역체계의 형성이 매우 중요¹⁸⁾하므로 좀더 검사대상을 확대한 폭넓은 실험이 요구된다.

결 론

병성감정 및 혈청검사시 신속한 항원진단방법을 확립하기 위하여 AGP 및 IFA를 이용하여 IBD로 의심 추정되는 8농가 및 40개의 F낭으로부터 항원진단을 비교하였다. 한편 종계의 혈중항체수준 및 모체이행항체수준을 측정하기 위하여 종계는 10일, 20일 그리고 17~20주에 백신을 실시한 4농가, 200수, 48~50주령의 닭을 대상으로 하였고, 후대병아리는 동일 4농가 400수를 대상으로 백신을 실시하지 않고 1일령부터 30일령까지 5일마다 10~15수를 채혈하여 AGP, ELISA 및 VN test로 항체검사를 실시한 결과는 다음과 같다.

1. 항원검사결과는 AGP의 경우, 8농가 중 2농가(25%), 40개의 F낭 중 10개(25%)에서, IFA 경우 8농가 중 2농가(25%) 40개

의 F낭 중 8개(20%)에서 항원을 검색하였다.

- 항체검사결과는 AGP, ELISA, VN test 공히 각 농가의 종계 항체수준은 비슷하였으나 모체이행항체수준 및 항체양성률은 다소 차이가 있었다. 즉, 5일령까지는 1농가를 제외하고는 80%이상의 모체이행항체 양성률을 보였으나 10일령 이후에는 양성률이 급격히 감소하여 20일령 이후에는 모체이행항체가 0~20% 대로 급격히 소실되는 경향을 보였다.

참고문헌

- Cosgrove AS, 1962. An apparently new disease of chickens avian nephrosis. *Avian Dis* 6 : 385~329.
- Brown F. 1986. *The Classification and nomenclature of viruses* : Summary of results of meetings of the international committee on taxonomy of viruses in Sendai. 25 : 14~144.
- Snedeker C, Wills FK, Moulthrop IM. 1967. Some studies on the infectious bursal agent. *Avian Dis* 11 : 519~525.
- Benton WJ, Cover Ms, Rosenburger Jk, et al. 1967. Physicochemical properties of the infectious bursal agent(IBA). *Avian Dis* 11 : 438~445.
- Keck LD, Skeeles JK, Mcnew RW. 1993. Antibody detection in matched chicken sera and egg-yolk samples by commercial enzyme-linked immunosorbent assay kits for Newcastle disease virus, infectious bronchitis virus, infectious bursal disease virus and avian reovirus. *Avian Dis* 37 : 825~828.
- Brown J. Resurreccion RS, Dickenson TG. 1990. The relationship between the hemagglutination-inhibition test and the enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody to newcastle disease. *Avian Dis* 34 : 585~587.
- Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, et al : 1991. *Diseases of poultry*. 9 ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa : 648~663.
- Timoney JF, Gillepsie JH, Scott FW, et al. 1988. *Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals*, 8 ed. Cornell University Press, Itacha, New York : 725~727.
- Tizard IR. 1996. *Veterinary Immunology : An introduction*. WB Saunders Co. Philadelphia, Pennsylvania : 249~250.
- Ainsworth AJ, Brown JE. 1991. Detection of *in ovo* derived idiotypic antibodies. I. A model for maternal-neonatal idiotypic network studies. *J Immunol* 147 : 910~914.
- Fahey KJ, Crooks JK, Fraser RA. 1987. Assessment by ELISA of passively acquired protection against infectious bursal disease virus in chickens. *Aust Vet J* 64 : 203~207.
- Skeeles JK, Lukert PD, Fletcher OJ, et al. 1979. Immunization studies with a cell cultured adapted infectious bursal disease virus. *Avian Dis* 23 : 456~465.
- Baxendale W, Lutticken D. 1981. The results of fields trials with an inactivated Gumboro vaccine. *Dev Biol Stand* 51 : 211~219.
- Lucio B, Hitchner SB. 1979. Infectious bursal disease emulsified vaccine : Effect upon neutralizing-antibody levels in the dam and subsequent protection of the progeny. *Avian Dis* 23 : 466~478.
- 김순재, 강문일, 권혁무 등. 1997. 조류질병학. 선진문화사. 서울 : 19~25.
- Giambrone J, Ronald PC. 1986. Vaccination of day old broiler chicks against Newcastle disease and infectious bursal

- disease using commercial live and/or inactivated vaccine. *Avian Dis* 3 : 557~561.
17. Sharma JM. 1986. Embryo vaccination of specific-pathogen-free chickens with infectious bursal disease : Tissue distribution of the vaccine virus and protection of hatched chickens against disease. *Avian Dis* 4 : 776~780.
18. 나동균. 1999. 강독감보로병. 중간독 플러스 백신, IBDL의 효능. 양계연구 99 : 72~75.