

Praca oryginalna

Original paper

Zastosowanie immunoglobuliny żółtka jaja w profilaktyce biegunek u prosiąt ssących^{*)}

TADEUSZ STEFANIAK, WIESŁAW KOPEĆ*, AGNIESZKA GĄSOWSKA, JACEK BORKOWSKI**, EWA GIERZYŃSKA***, MAREK POPŁAWSKI****

Katedra Rozrodu, Chorób Przeżuwaczy i Ochrony Zdrowia Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

*Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Wydziału Technologii Żywności AR, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław

**Katedra Biomedycznych Podstaw Kultury Fizycznej AWF, Al. Paderewskiego 35, 51-612 Wrocław

***Przedsiębiorstwo Rolne Długie Stare, ul. Wiosenna 5, 64-100 Leszno

****Pol-Lean sp. z o.o. Ferma Trzody Chlewnej Łosice, 55-090 Długoleka

Stefaniak T., Kopeć W., Gąsowska A., Borkowski J., Gierzyńska E., Popławski M.

Application of yolk immunoglobulin (IgY) in prophylaxis of neonatal diarrhea in piglets

Summary

The aim of the study was to evaluate the protection of piglets against neonatal diarrhea gained from yolk immunoglobulin (IgY) used as a food additive. Yolk immunoglobulin contents and its biological activity were estimated in industrial-scale-yielded yolk gammaglobulin preparations. IgY was added to the fodder (0.5 g, 1 g and 2 g IgY/kg) for 927 piglets from two swine farms ("L"- better and "DS"- worse management and environmental conditions). The control group consisted of 217 piglets and was kept under the same conditions. On farm "L" the percentage of diarrhea cases and total pathology incidence in the observed piglets decreased at all the used IgY doses. The addition of IgY reduced piglet mortality in the course of diarrhea. On the other hand, no improvement was found on the "DS" farm. The obtained results encourage further study concerning IgY-enriched antibodies against the most important swine digestive tract pathogens harvested from eggs of immunized laying hens.

Keywords: yolk immunoglobulin (IgY), prophylaxis of diarrhea, newborn piglets

Od wielu lat dominującym problemem w chowie wielkostatnym świń są straty w okresie wychowu, w tym choroby przewodu pokarmowego. Najbardziej dotkliwe straty ponoszone są w pierwszych tygodniach życia, a szczególnie w dwóch okresach: u noworodków, a następnie po odsadzeniu od lochy (4, 11, 19). U podłoża wysokiej podatności prosiąt na zachorowania leży w tym wieku niedostateczna skuteczność mechanizmów czynnej, swoistej odporności błon śluzowych. Prosięta korzystają w tym okresie z odporności matczynej przekazywanej drogą siary (6). W warunkach wielkostatnych to zabezpieczenie bierne może nie wystarczać dla uniknięcia zachorowań.

Dodatek antybiotyków do karmy, który jest obecnie najpowszechniej stosowanym sposobem ograniczania zagrożenia ze strony bakterii wywołujących biegunki (3, 5), spowodował narastanie ich antybiotykooporności. W konsekwencji, ten sposób substytucji niedoboru odporności prosiąt coraz częściej zawodzi. Jednocześnie wzrasta świadomość konsumentów domagających się żywności uzyskanej od zwierząt zdrowych, które nie były leczone antybiotykami.

Trwają poszukiwania metod alternatywnych dla antybiotyków, których celem jest stworzenie warunków produkcji żywności zdrowej i bezpiecznej. Do takich

metod ochrony można zaliczyć doustne podawanie immunoglobuliny jaja (yolk immunoglobulin, IgY) wzmacniających stan ochrony błony śluzowej przewodu pokarmowego (1, 5, 13). W ochronie prosiąt ssących oraz odsadzonych zastosowano przeciwciała kur immunizowanych antygenami enterotoksycznych szczepów *Escherichia coli*, koronawirusami i rotawirusami (2, 5, 10, 11, 14, 17-19). Zdaniem Marquard i wsp. (11), skuteczna ochrona przed biegunką występuje, gdy przeciwciała zapobiegające kontaktowi receptorów *E. coli* z błoną śluzową są stale obecne w świetle przewodu pokarmowego. Podawanie noworodkom 1,5 g dziennie preparatu IgY zawierającego przeciwciała homologiczne wystarczyło do ich ochrony przed zakażeniem dawką 10^{10} komórek zjadliwego enterotoksycznego szczepu *E. coli* (ETEC). Poszukiwane są metody uzyskania preparatu IgY chroniącego przed różnymi patogenami jednocześnie (16).

Opracowano procedurę pozyskiwania immunoglobuliny żółtka jaja na skalę przemysłową (8). Badania laboratoryjne aktywności otrzymanych preparatów wykazały obecność w nich przeciwciał swoistych oraz reagujących krzyżowo z bakteriami Gram-ujemnymi (13).

Celem badań było ustalenie, czy podawany z paszą preparat IgY uzyskany na skalę przemysłową od kur nieimmunizowanych chroni prosięta ssące przed zachorowaniami.

^{*)} Praca finansowana przez grant KBN nr 5 P06K 033 17.

Material i metody

Preparat IgY. Preparat IgY pozyskiwano z żółtka jaj handlowych. Z jaj wydzielano żółtko, mieszano w proporcji 1 : 5 z wodą i zakwaszono kwasem cytrynowym do pH około 5,0. Po sedymentacji frakcji granularnej, uzyskiwano frakcję wodną (plazma żółtka) zawierającą IgY (8). IgY wydzielano i oczyszczano z rozcieńczonej plazmy przez wysolenie NaCl o stężeniu 10-20% (7, 9, 12). Preparat odsalano na systemie membranowym i suszono rozpyłowo.

W preparacie oznaczano zawartość białka metodą biuretową oraz IgY metodą immunodyfuzji radialnej (13). Następnie testem ELISA określano aktywność przeciwciał danego preparatu badanych w stężeniu 0,1 g IgY/dm³ wobec czterech szczepów bakterii Gram-ujemnych: *E. coli* O157, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* (13). Przy przyjęciu za kontrolę dodatnią (100% aktywności przeciwciał) puli surowic kur niosek z czterech stad, badanych w teście ELISA w stężeniu 0,1 g IgG/dm³ stwierdzono, że aktywność otrzymanych preparatów przeciwciał żółtkowych wahała się od 20-45%. Następnie utworzono pulę z 13 preparatów z uwzględnieniem indywidualnych różnic aktywności przeciwciał, w celu uzyskania średniej intensywności reakcji z antygenami wymienionych bakterii. Wszystkie preparaty IgY badano bakteriologicznie w celu wykluczenia zakażenia *Salmonella* sp. i *Staphylococcus aureus*. Aktywność IgY uzyskanej z puli 13 preparatów badanych w stężeniu 0,1 g IgY/dm³ wobec wymienionych czterech szczepów wahała się od 32-37% w porównaniu do puli surowic kur-niosek.

Charakterystyka ferm. Badania przeprowadzono na dwóch fermach różniących się warunkami wychowu i częstością zachorowań prosiąt.

W fermie Ł o rocznej produkcji 12,5 tys. szt., stado podstawowe liczyło 650 macior, doświadczenie przeprowadzono na przełomie sierpnia i września. Porodówka bezściółowa, posiadała indywidualne kojce porodowe, zautomatyzowaną wentylację. Prosięta korzystały z budek z promiennikami do 2 tygodnia życia. Poidła smoczkowe były dostępne bez ograniczeń. Lochy żywiono paszą granulowaną dla macior L. Zachowany był system „all in-all out”. Główny problem zdrowotny u prosiąt-noworodków stanowiła streptokokoza (zapalenia stawów, meningitis, a nawet posocznice). Biegunki występowały przeciętnie u mniej niż 10% prosiąt.

W fermie DS o rocznej produkcji 6,5 tys. szt. stado podstawowe liczyło 300 loch. Doświadczenie przeprowadzono w październiku/listopadzie. Porodówka w budynku tradycyjnym była ściółkowa, wyposażona w centralne ogrzewanie i promieniki dla prosiąt oraz wentylację grawitacyjną. Prosięta miały stały dostęp do wody w poidłkach odstojnikowych. Nie stosowano zasady „all in all out”. Głównym problemem były biegunki prosiąt.

Prosięta. Badania przeprowadzono na nowo narodzonych prosiętach (w stadzie Ł mieszańce wielkiej białej × landrace, w obiekcie DS mieszańce wielkiej białej × polska biała zwisłoucha z pietrain i duroc) w okresie ich wychowu przy lochach. Prosięta pobierały paszę do woli od 7 dnia życia do momentu odsadzenia, który na fermie DS następował w 44-45 dniu, a na fermie Ł w 26 dniu życia. Prosięta doświadczałne otrzymały paszę typu Prestarter

z odpowiednim dodatkiem preparatu IgY na fermie Ł od 7 dnia, natomiast na fermie DS od 14 dnia, wcześniej były żywione paszą Bebito bez dodatku IgY.

Stworzono następujące grupy doświadczalne:

- otrzymującą dodatek 0,5 g IgY/kg zadawanej paszy, obejmującą mioty 22 loch, od których uzyskano 240 żywo urodzonych prosiąt, wszystkie na fermie Ł,

- otrzymującą dodatek 1 g IgY/kg zadawanej paszy (348 żywo urodzonych prosiąt od 33 loch) w tym 113 prosiąt od 11 loch w gospodarstwie DS i 235 prosiąt od 22 loch w obiekcie Ł,

- otrzymującą dodatek 2 g IgY/kg zadawanej paszy (339 żywo urodzonych prosiąt od 33 loch), w tym 102 prosięta od 11 loch w obiekcie DS i 237 prosiąt od 22 loch w obiekcie Ł.

Grupę kontrolną – stanowiło 217 żywo urodzonych prosiąt od 20 loch otrzymujących paszę bez dodatku IgY, z tego 54 prosięta od 5 loch w gospodarstwie DS i 163 prosięta od 15 loch w gospodarstwie Ł.

Standaryzacja preparatów IgY. Próbkę 500 mg preparatu IgY zawieszano w 4 ml PBS, oznaczano koncentrację białka całkowitego i doprowadzano ją do 10 g/dm³. Zawartość IgY oznaczano metodą immunodyfuzji radialnej (Mancini) przy użyciu uzyskanej we własnym zakresie koziej surowicy odpornościowej anty IgG kury. Krzywą standardową wykreślano na podstawie standardu IgG kury (Sigma). Do kontroli aktywności przeciwciał obecnych w preparatach doprowadzano je do stężenia 0,1 g IgY/dm³. Aktywność preparatów IgY kontrolowano w teście ELISA wobec wywołujących biegunkę szczepów *E. coli* O157, *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium* i *Klebsiella pneumoniae* (13).

Ankiety oceny miotów. Do analizy efektów ochronnych dodatku IgY opracowano ankiety wypełniane indywidualnie dla poszczególnych miotów. Ankiety obejmowały następujące dane: numer identyfikacyjny lochy, datę porodu, liczbę żywo urodzonych prosiąt pozostawionych przy losze, dawkę preparatu, masę miotu w momencie odsadzenia, spożycie paszy podczas odchowu przy maciorze w przeeliczeniu na prosię, dane dotyczące zdrowotności miotu.

W ankietach ujęto:

- zachorowania na biegunki, w tym: liczbę prosiąt chorujących, czasu trwania choroby (1-2 oraz 3 i więcej dni), liczby przypadków zakończonych śmiercią, wyniki badania kału biegunkowego (w 7 przypadkach);

- inne zachorowania, a w tym: liczby prosiąt chorujących, czasu trwania choroby (1-2 oraz 3 i więcej dni), liczbę przypadków zakończonych śmiercią;

- liczbę sztuk o wyraźnie zahamowanym tempie wzrostu w momencie odsadzania (charłaków).

Szczepy bakteryjne wyizolowane z kału biegunkowego identyfikowano przy użyciu kitów API 20E (bioMerieux).

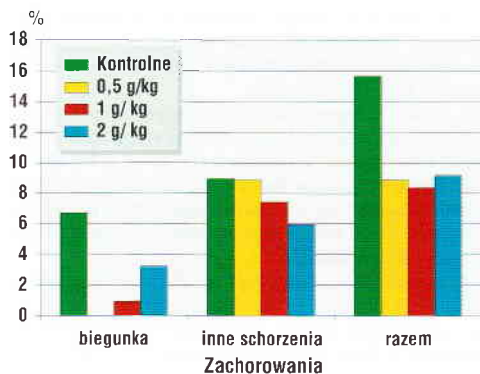
W ocenie statystycznej wyników zastosowano test t-Studenta dla dwóch grup o równej wariancji.

Wyniki i omówienie

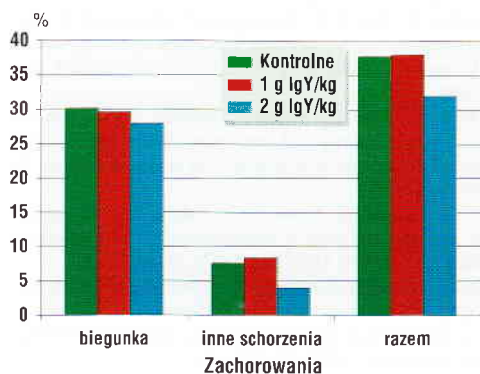
W fermie Ł średnia liczba prosiąt żywo urodzonych w miocie była zbliżona w poszczególnych grupach prosiąt (od 10,91 w grupie chronionej dodatkiem 0,5 IgY/kg, do 10,59 w grupie otrzymującej 1 g IgY/kg

paszy). Stwierdzono znacznie niższy odsetek zachorowań na biegunki u prosiąt chronionych dodatkiem IgY do paszy niż u prosiąt kontrolnych (ryc. 1). W okresie ssania biegunki wystąpiły u 6,72% prosiąt kontrolnych, natomiast nie odnotowano zachorowań w grupie chronionej dodatkiem 0,5 g IgY/kg paszy ($p < 0,001$), u prosiąt otrzymujących 1 g IgY/kg odsetek zachorowań wyniósł 0,93% ($p < 0,01$), a u prosiąt otrzymujących 2 g IgY/kg paszy 3,21% (różnica wobec grupy kontrolnej nie była statystycznie istotna). Z 4 posiewów z kału biegunkowego wyizolowano *Escherichia coli* w 3 próbkach, w 1 przypadku nie wyizolowano bakterii, które można by wiązać przyczynowo z biegunką. Mimo, że tego nie oczekiwano, prosięta chronione dawkami 1 g IgY i 2 g IgY/kg paszy nieco rzadziej zapadały na inne schorzenia (7,41% i 5,95% odpowiednio, wobec 8,96% w grupie kontrolnej). Różnice nie były istotne statystycznie. Gdy porównano występowanie sumy zachorowań prosiąt, była ona istotnie wyższa ($p < 0,05$) w grupie kontrolnej (15,68%), niż we wszystkich grupach chronionych IgY (8,34-9,17%).

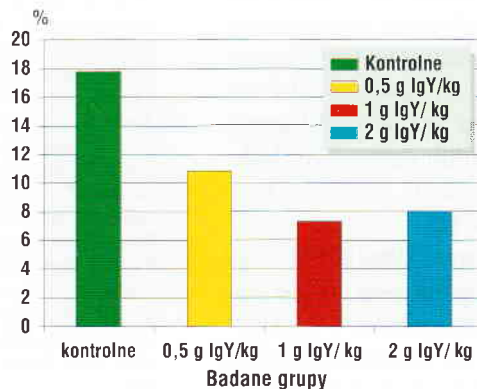
W fermie DS średnia liczba prosiąt żywo urodzonych w miocie była wyraźnie wyższa w grupie kontrolnej (10,6 szt.), niż w grupach doświadczalnych (9,82 i 9,09 szt. odpowiednio w grupach chronionych dodatkiem 1 g i 2 g IgY/kg paszy). Znacznie częściej niż w fermie Ł obserwowano występowanie biegunki, która w grupie kontrolnej objęła 30,19% prosiąt ssących (ryc. 2). Obie grupy doświadczalne cechowały



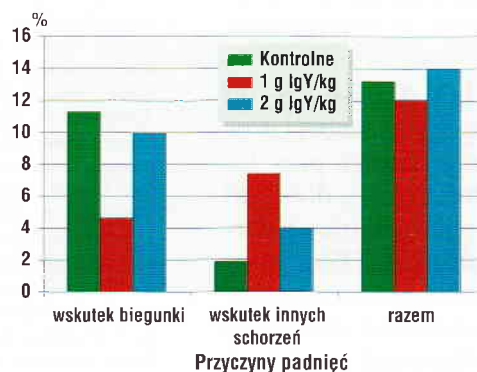
Ryc. 1. Zachorowania prosiąt na fermie Ł



Ryc. 2. Zachorowania prosiąt na fermie DS



Ryc. 3. Odsetek upadków/brakowania prosiąt na fermie Ł



Ryc. 4. Odsetek upadków prosiąt na fermie DS

się tylko nieznacznie niższym odsetkiem zachorowań na biegunki, niż grupa kontrolna (29,63% w grupie chronionej dodatkiem 1 g IgY/kg paszy i 28% w grupie chronionej 2 g IgY/kg paszy, brak statystycznie istotnych różnic). W posiewie bakteriologicznym z 3 próbek kału biegunkowego wyizolowano *Escherichia coli*. Znacznie mniejszy problem stanowiły w fermie DS inne zachorowania prosiąt, dotyczące głównie narządu oddechowego i jedynie w grupie otrzymującej dodatek 2 g IgY/kg paszy stwierdzono niższy wskaźnik zachorowań w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio 4% wobec 7,55%). Odsetek prosiąt chorujących przez 1-2 dni był w tej grupie istotnie niższy niż w grupie kontrolnej ($p < 0,05$). Łączny wskaźnik zachorowań prosiąt był nieznacznie niższy tylko w grupie chronionej dodatkiem 2 g IgY/kg paszy, w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio 32% i 37,74%, brak statystycznie istotnych różnic).

Odsetek padnięć prosiąt z powodu biegunki był w fermie DS niższy w obu grupach doświadczalnych niż w grupie kontrolnej (ryc. 4). Różnice nie były jednak statystycznie istotne. Więcej prosiąt padło jednak z powodu innych schorzeń w grupach doświadczalnych, niż w grupie kontrolnej, wskutek czego różnice w śmiertelności całkowitej były niewielkie (w grupie otrzymującej 2 g IgY/kg paszy suma upadków była nawet nieco wyższa, niż w grupie kontrolnej).

W fermie Ł zebrano jedynie informacje o całkowitej liczbie padnięć/brakowania prosiąt, bez podania przyczyn (ryc. 3). We wszystkich grupach doświadczalnych stwierdzono znacznie niższy odsetek śmiertelności niż w grupie kontrolnej. Różnica na korzyść prosiąt chronionych IgY sięgała od 6,94% w grupie otrzymującej 0,5 g IgY/kg paszy ($p < 0,05$), 9,77% w grupie 2 g IgY/kg ($p < 0,01$), do 10,49% w grupie chronionej dodatkiem 1 g IgY/kg ($p < 0,01$).

W fermie DS odsetek prosiąt wykazujących zahamowanie wzrostu (charłaków) był wyraźnie najniższy w grupie chronionej dodatkiem 2 g IgY/kg paszy (1,16%), w grupie kontrolnej było ich 3,77%, ale wśród prosiąt otrzymujących paszę z dodatkiem 1 g IgY/kg było ich najwięcej (4,63%). Obserwowane różnice nie były jednak statystycznie istotne.

Ze względu na stosowany w fermie Ł system eliminacji zwierząt ciężko chorych i nie rokujących poprawy w krótkim czasie, nie stwierdzono charłaków na tym etapie produkcji.

Nie obserwowano istotnych różnic w tempie przyrostów masy ciała oraz zużyciu paszy między grupami badanych prosiąt.

Dodatek do paszy prosiąt ssących preparatu IgY, pozyskanego na skalę technologiczną od kur nieimmunizowanych, zastosowano w celu sprawdzenia jego ochronnego wpływu na zdrowie osesków. Przesłanką do takiego założenia była stwierdzona wcześniej (13), wyraźna aktywność przeciwciał żółtkowych wobec typowych bakterii Gram-ujemnych wywołujących biegunki. Suszenie rozpyłowe powodowało obniżenie aktywności preparatów IgY w porównaniu do puli surowic kur-niosek o około 65%, czego nie obserwowano przy liofilizacji próbek (13). Za wyborem preparatów suszonych rozpyłowo przemawiają zdecydowanie niższe koszty oraz możliwość produkcji na skalę komercyjną oraz większe bezpieczeństwo bakteriologiczne.

Okazało się, że obecne w preparatach przeciwciała IgY wykazują aktywność biologiczną w przewodzie prosiąt ssących, zwiększając ich ochronę przed zachorowaniami. Zmniejszenie częstości występowania biegunek, jakie stwierdzono w fermie Ł wynikało, jak się wydaje, z wiązania obecnych w przewodzie pokarmowym IgY z bakteriami wywołującymi biegunki i ograniczanie możliwości ich wiązania z receptorami błony śluzowej (11, 15).

Nie stwierdzono jednak poprawy na fermie DS. Można przypuszczać, że przyczyny tego mogą być następujące: 1) do 2 tygodnia życia prosięta nie otrzymywały paszy z dodatkiem IgY (jakkolwiek w tym okresie spożycie paszy jest niewielkie, to brakowało w niej przeciwciał mogących zapobiegać kolonizacji przewodu pokarmowego przez drobnoustroje patogenne; 2) dłużej przebywały z lochą, co zwiększało zagrożenie zakażenia; 3) nie można także wykluczyć różnic w patogenności stacjonarnych szczepów bakteryjnych/wirusowych (w tym obiekcie problem biegunek był znacznie większy niż w Ł).

Można sądzić, że kilkuprocentowe obniżenie częstości zachorowań innych niż biegunkowe, jakie obserwowano u prosiąt otrzymujących dodatek 1-2 g IgY/kg paszy na fermie Ł i 2 g IgY/kg na fermie DS wynikało być może z lepszej stabilności przewodu pokarmowego, która pozwalała prosiątom chronionym na unikanie zaburzeń homeostazy, które mogą być czynnikiem predysponującym do rozwoju chorób narządu oddechowego.

Stosunkowo niewielki dodatek IgY (0,05-0,2%) do paszy pozwolił na istotną poprawę zdrowotności prosiąt i zmniejszenie strat w okresie wychowu przy łosze na fermie Ł, cechującej się stosunkowo dobrymi parametrami wychowu, okazał się jednak niewystarczający w obiekcie bardziej zagrożonym (DS).

Uzyskane wyniki wskazują na konieczność opracowania metody immunizacji stad kur-niosek zwiększającej koncentrację przeciwciał żółtkowych swoistych dla najważniejszych patogenów przewodu pokarmowego trzody chlewnej.

Wniosek

Dodatek uzyskanej na skalę przemysłową IgY do paszy podawanej prosiątom w okresie ssania na fermie Ł zwiększył ochronę przewodu pokarmowego przed infekcjami.

Piśmiennictwo

1. *Anton M.*: Functional properties of hen egg yolk constituents. Proc. VIII Europ. Symp. Quality Eggs, Egg Products, WPSA. Bologna, Italy, II 1999, s.375-380.
2. *Erhardt M. H., Bergmann J., Renner M., Hofmann A., Heinritzi K.*: Prophylaktische Wirkung von spezifischen Dotterantikörpern bei Escherichia coli K88 (F4)-bedingten Durchfallerkrankungen von Absatzerkeln. J. Vet. Med. A 1996, 43, 217-223.
3. *Gomez G. G.*: The colostrum-deprived, artificially-reared, neonatal pig as a model animal for studying rotavirus gastroenteritis. Front. Biosci. 1997, 2, 471-481.
4. *Hampson D. J.*: Postweaning Escherichia coli diarrhoea in pigs. W: Escherichia coli in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford UK 1994, s.171-191.
5. *Kellner J., Erhard M. H., Renner M., Losch U.*: Therapeutischer Einsatz von spezifischen Eiantikörpern bei Saugferkeldurchfall – ein Feldversuch. Tierarztl. Umsch. 1994, 49, 31-34.
6. *Klobasa F., Habe F., Werhahn E.*: Untersuchungen über die Absorption der koloniale Immunglobuline bei neugeborenen Ferkeln. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1990, 103, 335-340.
7. *Kopeć W.*: Rozdział treści jaja na składniki oraz wytwarzanie produktów izolowanych z treścią jaj o wysokiej wartości biologicznej lub funkcjonalnej. W: Jajczarstwo. Red. T. Trziszka. AWR Wrocław 2000, s.409-436.
8. *Kopeć W., Karkoszka K., Lorenc J., Stefaniak T.*: Sposób otrzymywania preparatu gamma globuliny z plazmy żółtka – Zgł. Pat. Urz. Pat. RP P 332756 Akademia Rolnicza we Wrocławiu – Zakładu Jajczarskie Owopol Nowa Sól 1999.
9. *Kwan L., Li-Chan E., Helbig N., Nakai S.*: Fractionation of water-soluble and insoluble components from egg yolk with minimum use of organic solvents. J. Food Sci. 1991, 56, 1537-1541.
10. *Kweon K., Kwon B., Woo S., Kim J., Woo G., Son D., Hur W., Lee Y.*: Immunoprophylactic effect of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) in piglets. J. Vet. Med. Sci. 2000, 62, 961-964.
11. *Marquardt R. R., Jin L. Z., Kim J. W., Fang L., Frohlich A. A., Baidoo S. K.*: Passive protective effect of egg-yolk antibodies against enterotoxigenic Escherichia coli K88+ infection in neonatal and early weaned piglets. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1999, 23, 283-288.
12. *Nakai S., Li-Chan E., Lo K. V.*: Separation of immunoglobulin from egg yolk. W: Egg uses and processing technologies. New developments. Wyd. Sim J. S., Nakai S. CAB International, Wallingford UK 1994, s. 94-105.
13. *Stefaniak T., Kopeć W.*: The activity of the hen's egg gamma globulin preparations as the food additives against the human alimentary tract pathogens. Proc. VII European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products. Poznań, September 21-26, 1997, s.248-254.
14. *Stefaniak T., Kopeć W., Gąsowska A., Popławski M., Pycio Z.*: Application of yolk immunoglobulin in prophylaxis of diarrhea in piglets. Proc. 4th International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella and other Food Borne Pathogens in Pork. Leipzig, September 2-5, 2001, s. 99-102.
15. *Stefaniak T., Wieliczko A., Kopeć W., Jamroz D.*: Wpływ dodatku immunoglobuliny żółtka jaj kurzego do paszy na eliminację zakażenia Salmonella Enteritidis oraz wyniki odchowu kurcząt rzeźnych (przyg. do druku).
16. *Sugita-Konishi Z., Shibata K., Zun S. S., Hara-Kudo Z., Zamaguchi K., Kumagi S.*: Immune functions of immunoglobulin Y isolated from egg yolk of hens immunized with various infectious bacteria. Biosci. Biotechnol. Biochem. 1996, 60, 886-888.
17. *Yokoyama H., Peralta R. C., Diaz R., Sando S., Ikemori Y., Kodama Y.*: Passive protective effect of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic Escherichia coli infection in neonatal piglets. Infect. Immun. 1992, 60, 998-1007.
18. *Yokoyama H., Hashi T., Umeda K., Icatlo F. C., Kuroki M., Ikemori Y., Kodama Y.*: Effect of oral egg antibody in experimental F18+ Escherichia coli infection in weaned pigs. J. Vet. Med. Sci. 1997, 59, 917-921.
19. *Zuniga A., Yokoyama H., Albicker-Rippinger P., Eggenberg E., Bertschinger H. U.*: Reduced intestinal colonisation with F18-positive enterotoxigenic Escherichia coli in weaned pigs fed egg antibody against the fmbriae. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1997, 18, 153-161.