تولیدات دامی
دوره ۲۲ ■ شماره ٤ ■ زمستان ۱۳۹۹
صفحه‌های ٦٨٨-٦٥٩
DOI: 10.22059/jap.2020.291504.623461

مقاله پژوهشی

اثر تغذیه آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ اختصاصی ساخته‌شده علیه باکتری *اشریشیاکلی* انتروتوکسیژنیک K99 بر عملکرد رشد و سلامت گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

امیر کرم‌زاده دهاقانی[۱]، آرمین توحیدی[۲*]، مهدی ژندی[۳]، ناهید مژگانی[۴]
۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۲. استاد، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۳. دانشیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۴. دانشیار، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران.
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۸/۲۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۸/۱۰/۰۱

چکیده
به‌منظور بررسی اثر تغذیه آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ اختصاصی (IgY) علیه باکتری *اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک* K99 بر عملکرد رشد، سلامت و شیوع اسهال گوساله‌های شیرخوار، آزمایشی با استفاده از ٦٠ راس گوساله تازه متولدشده در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار انجام شد. گوساله‌ها در جایگاه‌های انفرادی با شرایط کاملاً مشابه قرار داده شدند. گوساله‌های گروه کنترل به‌مدت ۳۰ روز تنها شیر یا آغوز دریافت کردند و گوساله‌های گروه تیمار شیر یا آغوز به‌همراه IgY علیه باکتری K99 غیرفعال‌شده دریافت کردند. در طول انجام آزمایش فراسنجه‌های سلامتی و شیوع اسهال به‌صورت روزانه ثبت شد و عملکرد رشد به‌صورت هفتگی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش وزن روزانه، مقدار ماده خشک مصرفی خوراک آغازین و بازده خوراک و شیر مصرفی در گروه IgY بالاتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). امتیاز وضعیت سلامت در گروه IgY بالاتر از گروه کنترل بود و امتیاز مدفوع و امتیاز گوش در این گروه به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). شمار کلی‌فرم‌های مدفوع در گروه IgY نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه IgY علیه اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک K99 اثرات مفیدی بر سلامت و افزایش وزن روزانه گوساله شیرخوار هلشتاین دارد و می‌تواند راه‌کار مناسبی جهت جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها باشد.

کلیدواژه‌ها: اسهال گوساله، امتیاز مدفوع، *ای‌کلای*، ایمنوگلوبین زرده تخم‌مرغ، عملکرد.

Effect of oral administration of prepared egg yolk antibodies against enterotoxigenic *E. coli* K99 on growth and health performance of Holstein suckling calves

Amir Karamzadeh Dehaghani[1], Armin Towhidi[2*], Mahdi Zhandi[3], Naheed Mojgani[4]
1. Ph.D. Student, Department of Animal science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2. Professor, Department of Animal science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
3. Associate Professor, Department of Animal science, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
4. Associate Professor, Department of Biotechnology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
Accepted: December 22, 2019 Received: November 18, 2019

Abstract
To investigate the effect of oral administration of prepared specific egg yolk antibody (IgY) against enterotoxigenic *Escherichia coli* K99 on growth performance, health, the prevalence of diarrhea of neonatal calves, an experiment was conducted using 60 newborn calves in a completely randomized design with two treatments. Calves were kept individually. Calves in the control group received only milk or colostrum for 30 days and calves in the treatment group received milk or colostrum with IgY against inactivated K99. During the experiment, health parameters and the prevalence of diarrhea were recorded daily, and growth performance was evaluated weekly. The results showed that average daily gain, starter dry matter intake and feed and milk efficiency were higher in the IgY group than the control group (P<0.05). The general health score in the IgY group was higher than control group and fecal and ear scores in this group were significantly lower than the control group (P<0.05). The count of fecal coliforms in the IgY group was decreased by approximately one log compared to the control group (P<0.05). The results of the present study showed that oral administration of IgY against enterotoxigenic *Escherichia coli* K99 has beneficial effects on health and average daily gain of suckling Holstein calves and It can be a good way to replace antibiotics.

Keywords: Calves' diarrhea, *E. coli*, Egg yolk immunoglobulin, Fecal score, Performance.

* نویسنده مسئول Email: atowhidi@ut.ac.ir

مقدمه

اشریشیاکلی انتروتوکسیژنیک دارای فیمبریای K99 با تولید انتروتوکسین نوع یک مقاوم در برابر حرارت (STa یا heat-stable type I enterotoxin)، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای مرتبط با اسهال گوساله‌های نوزاد شناخته می‌شود [۳]. *اشریشیاکلی* K99 از طریق پیلی به گیرنده‌های موجود در سطح اپیتلیوم روده کوچک می‌چسبد و با ساکن‌شدن، انتروتوکسین تولیدی توسط باکتری، موجب آسیب به سلول‌های اپی‌تلیال روده شده و درنتیجه موجب از هم‌گسیختگی در ترشح و جذب مایعات و الکترولیت‌ها می‌شود. این رخداد موجب اسهال آبکی، دهیدراتاسیون و اسیدوز در گوساله‌های شیرخوار می‌شود [۱]. اسهال عفونی، بیش‌ترین سهم را در ایجاد تلفات در دامداری‌ها داراست و معمولاً بیش‌ترین شیوع را در بین بیماری‌های مرتبط با گوساله‌ها دارد. این امر موجب شده است که، اسهال عفونی، ضررهای اقتصادی گسترده‌ای را به صنعت گاو شیری در سطح جهان وارد کند [۷]. در پژوهش‌های گذشته نشان داده شده است که، شیوع سویه‌هایی از *اشریشیاکلی* که در ایران موجب اسهال در گوساله‌های شیرخوار می‌شوند، حدود ۷۶/۴۵ درصد است و هم‌چنین این سویه‌های *اشریشیاکلی*، بیش‌ترین مقاومت را در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها دارند [۱۷].

درمان آنتی‌بیوتیکی، متداول‌ترین روش درمان اسهال گوساله‌ها می‌باشد. با این‌حال، با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها، خطر درمان ناکارآمد بیماری‌های عفونی به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است و باعث ایجاد وضعیت هشداردهنده‌ای در سراسر جهان شده است. در نتیجه، قوانین ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در دام، به‌خصوص در کشورهای توسعه‌یافته، تنظیم شده است. در این زمینه، نیاز فوری برای ایجاد گزینه‌های ایمن و مؤثر برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها برای پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی، احساس می‌شود [۱].

ایمنوگلوبین زرده تخم‌مرغ (IgY)، شناخته‌شده‌ترین ایمنوگلوبین تخم‌مرغ است و از نظر عملکرد و ساختمان، بسیار شبیه IgG می‌باشد و به‌عنوان یک گزینه در دسترس برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان و پیشگیری بسیاری از بیماری‌های باکتریایی و ویروسی شناخته می‌شود [۲۲]. تولید IgY به‌وسیله پرندگان دارای مزیت‌های بسیاری نسبت به تولید IgG پستانداران نظیر مؤثربودن، امنیت بالا و راندمان بالای تولید است. علاوه براین، تغذیه خوراکی آنتی‌بادی اختصاصی IgY، با سیستم ایمنی پستانداران، تداخل ایجاد نمی‌کند. این مزایا، موجب شده است که IgY به‌عنوان راه‌کاری کاربردی در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها مطرح شود [۲]. علاوه بر این، استفاده از این ترکیب از نظر زیست‌محیطی فاقد اثرات خطرناک، مقاومت دارویی و سمیت است [۱۹]. استفاده خوراکی از IgY موجب محافظت در مقابل بسیاری از عوامل بیماری‌زا نظیر سالمونلا، *اشریشیاکلی* و ویروس‌های بیماری‌زای گوارشی مانند روتاویروس‌ها که در روده ایجاد بیماری و اسهال می‌کنند، می‌شوند [۱۹]. با وجود پژوهش‌های انجام‌شده روی ایمنوگلوبین زرده تخم‌مرغ، تاکنون گزارشی از اثر خوراکی IgY اختصاصی در گوساله‌های شیرخوار و پیشگیری از اسهال در ایران، در دسترس نیست. لذا هدف این پژوهش، ارزیابی اثر تغذیه آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ اختصاصی علیه باکتری *اشریشیاکلی انتروتوکسیینیک* K99 بر عملکرد رشد، سلامت و شیوع اسهال در گوساله‌های شیرخوار هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

سویه باکتری *اشریشیاکلی* انتروتوکسیژنیک K99، از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران؛ تهیه شد. باکتری‌ها در محیط TSB (Tryptic soy broth)

و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت، کشت داده شدند. پس از انکوباسیون، سلول‌های باکتری به‌دست‌آمده از سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ ×g به‌مدت ۱۵ دقیقه، با پنج درصد فرمالدئید مخلوط شده و در دمای ۳۷ درجه به‌مدت ۲٤ ساعت نگهداری شدند. سپس *اشریشیاکلی* غیرفعال‌شده با فرمالین، با بافر فسفات شست‌وشو داده شد و با مقیاس مکفارلند یک تنظیم شد. محلول به‌دست‌آمده تا زمان تزریقات در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شد.

سی قطعه مرغان لگهورن تخم‌گذار با سن متوسط ۲۲ هفته، در دو گروه ۱۵ قطعه‌ای در قفس‌های انفرادی و براساس توصیه‌های رفاه دام، نگهداری شدند [۵]. مرغ‌ها با تزریق باکتری ای‌کلای K99 غیرفعال‌شده، در عضله سینه ایمن شدند. در تزریق نخست، از ادجوانت کامل فروند (مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران) به‌همراه باکتری غیرفعال‌شده استفاده شد. در تزریقات یادآور بعدی (دو تزریق به فاصله دو هفته) از ادجوانت ناقص فروند (مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران) استفاده شد. در گروه شاهد، ادجوانت فروند، بدون آنتی‌ژن و با سرم‌فیزیولوژیک به مرغان تزریق شد [١٤]. به‌منظور تعیین تیتر آنتی‌بادی، از مرغان تخم‌گذار در روز صفر، هفته‌های دو، چهار، شش، هشت و ۱۰ نمونه خون گرفته شد. هم‌چنین تخم‌مرغ‌ها، از زمان اولین ایمن‌سازی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

جهت استخراج آنتی‌بادی، ابتدا زرده تخم‌مرغ از سفیده جدا شد، مقدار ۳/۵ درصد وزنی- حجمی پلی‌اتیلن‌گلایکول (PEG 6000)، به زرده تخم‌مرغ اضافه شد و حجم مخلوط حاصل به‌وسیله بافر فسفات افزایش یافت و پس از مخلوط‌کردن، به‌مدت ۲۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۵۰۰۰ ×g سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی جدا و رسوب حاصل دور ریخته شد. مقدار ۱۲ درصد وزنی حجمی پلی‌اتیلن‌گلایکول، به نمونه‌ها افزوده و محلول به‌طور کامل مخلوط شد و به‌مدت ۲۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۵۰۰۰ ×g سانتریفیوژ گردید. پس از اتمام سانتریفیوژ، مایع رویی دور ریخته شد. سپس به رسوب حاصل مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات و مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول اضافه گردید. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۵۰۰۰ ×g سانتریفیوژ شدند. مایع رویی دور ریخته شد و به رسوب حاصل مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر پلی‌اتیلن‌گلایکول، اضافه گردید. در انتها محلول‌های موجود در کیسه دیالیز نگهداری شد. کیسه دیالیز حاوی محلول پس از ۲٤ ساعت جهت تغلیظ، در پلی‌اتیلن‌گلایکول، به‌مدت ٤۸ ساعت قرار داده شد. در نهایت آن‌چه در نمونه‌ها باقی‌مانده است، IgY با ۸۰ درصد خلوص می‌باشد. سپس از محلول حاصل، پودر زرده تخم‌مرغ حاوی آنتی‌بادی اختصاصی، به‌روش خشک‌کن پاششی تهیه شد [۹].

٦۰ راس گوساله هلشتاین تازه متولدشده (با میانگین وزن ۳۵/۷ کیلوگرم) از میان دام‌های شرکت شیر و گوشت مهدشت ساری، انتخاب شدند. گوساله‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه ۳۰ رأسی تقسیم و به یکی از دو تیمار؛ دریافت‌کننده شیر یا آغوز بدون آنتی‌بادی (شاهد) و دریافت‌کننده شیر یا آغوز به‌همراه مکمل حاوی آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ اختصاصی علیه ای‌کلای K99 (آنتی‌بادی)، به‌مدت ۳۰ روز اختصاص یافتند. در این مطالعه، شیر یا آغوز با یک گرم پودر زرده تخم‌مرغ اختصاصی علیه *اشریشیاکلی* K99 غنی شد. گوساله‌ها به آب و خوراک آغازین آزادانه دسترسی داشتند. حیوانات در جایگاه انفرادی و براساس پروتوکل‌های توصیه شده نگهداری شدند [۸]. ترکیبات و مشخصات شیمیایی خوراک آغازین مصرفی گوساله‌ها در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی خوراک آغازین گوساله‌ها

ماده خوراکی	کیلوگرم
دانه جو	۲۰۰
دانه ذرت	۳۵۰
کنجاله سویا	۳۵۰
کنجاله کلزا	۱۳
نمک	۱۰
جوش‌شیرین	۱۰
سبوس گندم	۳۶
کربنات کلسیم	۱۵
منیزیوم اکسید	۵
پرمیکس ویتامینه- معدنی[1]	۱۱
کل	۱۰۰۰
ترکیبات شیمیایی محاسبه شده[2]	
ماده خشک (گرم/ کیلوگرم)	۹۰۲/۷
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری/ کیلوگرم)	۱/۸۳
پروتئین خام (گرم/ کیلوگرم از ماده خشک)	۲۱۷/۶
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (گرم/ کیلوگرم از ماده خشک)	۳۴۸
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (گرم/ کیلوگرم از ماده خشک)	۸۵
خاکستر (گرم/ کیلوگرم از ماده خشک)	۶۶

۱. پرمیکس در هر کیلوگرم از خوراک: ویتامین A: IU ۱۵۰۰۰؛ ویتامین D: IU ۵۰۰۰؛ ویتامین E: ۵۰ میلی‌گرم؛ آهن: ۹۰ میلی‌گرم؛ مس: ۳۰ میلی‌گرم؛ منگنز: ۳۰ میلی‌گرم؛ روی: ۹۰ میلی‌گرم؛ سلنیوم ۰/۳ میلی‌گرم؛ ید: ۱ میلی‌گرم.

۲. محاسبه‌شده براساس NRC (2001).

مقدار خوراک آغازین مصرفی، روزانه و از تفاضل بین خوراک آغازین ارائه‌شده در ابتدای هر روز و مقدار خوراک آغازین باقی‌مانده در صبح روز بعد به‌دست آمد. وزن بدن گوساله‌ها در زمان تولد و پس از آن به‌صورت هفتگی در صبح و قبل از غذادهی، اندازه‌گیری شد و مقدار افزایش وزن روزانه در دو بازه زمانی دو هفته اول و دو هفته دوم محاسبه شد. هم‌چنین مقدار رشد و ابعاد بدن شامل ارتفاع جدوگاه، ارتفاع هیپ، عرض هیپ و دور سینه به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری شد و افزایش رشد روزانه در دو بازه زمانی دو هفته اول و دو هفته دوم محاسبه گردید. گوساله‌ها از نظر سلامت به‌صورت روزانه مورد معاینه قرار گرفتند و امتیاز مدفوع، گوش، چشم و پوزه قبل از نوبت شیر صبحگاهی و در زمان یکسان و براساس روش ارائه‌شده توسط دانشگاه ویسکانسین داده شد و امتیاز سه به‌عنوان بیماری درنظر گرفته شد [۶]. نمره سلامت عمومی گوساله‌ها از طریق رابطه (۱) محاسبه شد [۱۸].

رابطه (۱) = نمره سلامت عمومی

تعداد روزهای ابتلا به ×۱) – تعداد روزهای آزمایش – (تعداد درمان‌ها برای بیماری گوارش ×۲) – (اسهال تعداد ×۲) – (تعداد درمان‌ها برای بیماری تنفسی×۳) درمان‌ها برای هر رأس برای سایر عفونت‌های گوارشی و (تعداد درمان آنتی‌بیوتیک ×۲) – (تنفسی

از مدفوع در روز شروع پژوهش و در روز ۳۰ پس از زایش در ظروف استریل نمونه‌برداری و به آزمایشگاه ارسال شد. در آزمایشگاه، شمار باکتری‌های ای‌کلای، کلی‌فرم‌ها و لاکتوباسیل‌ها در نمونه‌های مدفوع اندازه‌گیری شد. شمارش باکتریایی، با استفاده از محیط‌های کشت و شرایط رشد انتخابی انجام گرفت. پس از اطمینان از انجماد محیط‌های کشت، پتری‌دیش‌ها به‌طور وارونه، در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. برای شمارش لاکتوباسیل‌ها، از محیط کشت MRS agar، کلی‌فرم‌ها از محیط کشت EMB (Esoin methylene blue agar) و برای کشت و شمارش باکتری *اشریشیاکلی* از محیط مک‌کانکی (MacConkey Agar) و سوربیتول مک‌کانکی (Sorbitol Mac Conkey Agar) استفاده شد و پس از رشد باکتری در ۲۴ ساعت، کلنی‌های حاصل روی محیط TSI (Triple Sugar Iron Agar) کشت داده شدند.

پس از گذشت مدت زمان فوق، پرگنه‌های حاصل به‌وسیله پرگنه شمار مجهز به عدسی و شمارنده دیجیتایی، شمارش شده و تعداد میکروارگانیسم‌های زنده به‌صورت CFU/g محاسبه شد [۱۰].

داده‌های پیوسته حاصل، با رویه MIXED و داده‌های گسسته، با رویه Genmod نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) با استفاده از رابطه (۲) آنالیز شد. حیوانات آزمایشی در هر آزمایش، داخل تیمار به‌عنوان اثر تصادفی در معرض ساختارهای ماتریس واریانس-کوواریانس قرار گرفتند. میانگین‌ها به‌صورت LSMeans و سطح معنی‌داری در (P<۰/۰۵)گزارش شد.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB_{ij}) + e_{ij} \quad (۲)$$ رابطه

در این مدل، Y_{ijkl}، مشاهده مربوط به تیمارiام در زمان jام؛ μ، میانگین؛ A_i، اثر تیمار، B_j، اثر زمان؛ (AB_{ij})، اثر برهمکنش تیمار و زمان و e_{ij}، خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

وزن بدن در کل دوره آزمایش و طی هفته‌های آزمایش تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۲)، درحالی‌که افزایش وزن روزانه در دو بازه زمانی روز تولد تا ١٤ روزگی و روز تولد تا یک‌ماهگی در تیمار مصرف‌کننده آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). افزایش وزن روزانه در بازه زمانی ١٤-٢٨ روزگی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. میانگین حداقل مربعات بین سایر صفات رشد در ابتدا و انتهای دوره آزمایش تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

اثر تیمارهای آزمایشی بر مصرف خوراک و بازده استفاده از خوراک در جدول۳ آورده شده است. در سه دوره رشد روز تولد تا دوهفتگی، ٢-٤ هفتگی و از روز تولد تا یک‌ماهگی، مقدار ماده خشک مصرفی در گروه مصرف‌کننده آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ بیش‌تر از تیمار شاهد بود (P<۰/۰۱). میانگین بازده خوراک و شیر مصرفی در بازه روز تولد تا دوهفتگی در گروهی که آنتی‌بادی زرده تخم-مرغ دریافت کردند بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). بازده خوراک و شیر مصرفی بین تیمارهای آزمایشی در بازه‌های زمانی ١٤-٢٨ روزگی و از روز تولد تا یک‌ماهگی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

پژوهش‌های انجام‌شده در برخی از حیوانات نشان داده است که، پودر زرده تخم‌مرغ موجب بهبود کارایی استفاده از خوراک، تعدیل اکوسیستم میکروبی دستگاه گوارش، تحریک سیستم ایمنی و محافظت از میزبان در برابر بیماری‌های دستگاه گوارش می‌شود [۲۰]. نشان داده شده است که زرده تخم‌مرغ باتوجه به این‌که دارای مواد مغذی باکیفیت از جمله پروتئین‌ها، مواد معدنی مانند آهن و فسفر و ویتامین‌ها است، می‌تواند به‌عنوان یک افزودنی خوراکی در جیره حیوانات استفاده شود [۲۰]. پژوهش‌های گذشته نشان داده‌اند که استفاده از زرده تخم-مرغ تا ۱۰ درصد از جیره غذایی گوساله‌ها، موجب بهبود عملکرد رشد در آن‌ها می‌شود [۲۰].

با توجه به عدم شناسایی سازوکار اصلی عملکرد آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ اختصاصی در دستگاه گوارش گوساله‌ها، به‌نظر می‌رسد در گوساله‌ها نیز سازوکار مشابهی سبب بهبود هضم و جذب شده است و موجب بهبود عملکرد رشد شده است. سازوکار احتمالی دیگری که می‌تواند موجب بهبود عملکرد رشد و هم‌چنین بهبود مصرف و راندمان خوراک شود، خاصیت ضدمیکروبی آنتی‌بادی اختصاصی زرده تخم‌مرغ است. گزارش شده است که پودر IgY اختصاصی با غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر موجب کاهش باکتری *اشریشیاکلی* O78:K80 تا ۱/۱۸ log CFU/ml در مقایسه با IgY غیر اختصاصی در شرایط آزمایشگاهی می‌شود [۱۳].

جدول ۲. اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد در گوساله‌های هلشتاین

صفت	تیمار		SEM	P value		
	کنترل	آنتی‌بادی		تیمار	زمان	تیمار×زمان
وزن بدن (کیلوگرم)						
روز صفر	۳۵/٦۵	۳۵/۷۰	۱/۲۹	۰/۸۲	۰/۰۰۰۱	۰/٦۹
روز ۱٤	۳۷/٦۵	۳۸/۰۵	۱/۲۷	۰/۷۲	۰/۰۰۰۱	۰/٦۹
روز ۲۱	٤۲/۳۰	٤۳/۱۵	۱/۲٦	۰/٦٦	۰/۰۰۰۱	۰/٦۹
روز ۲۸	٤٦/۱۵	٤۷//۲۵	۱/۲٤	۰/٦٤	۰/۰۰۰۱	۰/٦۹
روز ۰ تا ۳۰	٤۰/۳٤	٤۰/۹۸	۱/۰۵	۰/٦۳	۰/۰۰۰۱	۰/٦۹
افزایش وزن روزانه (کیلوگرم در روز)						
روز ۰ تا ۱٤	۰/۳۰^{b}	۰/۳٦^{a}	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۳۲
روز ۱٤ تا ۲۸	۰/٤٤	۰/٤٦	۰/٤۳	۰/٤۵	۰/۰۱	۰/۳۲
روز ۰ تا ۳۰	۰/۳۷^{b}	۰/٤۱^{a}	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۳۲
ارتفاع جدوگاه (سانتی‌متر)						
ابتدایی	۷٦/۰۰	۷۵/٦۰	۰/۵۸	۰/۳۸	۰/۰۱	۰/٤٤
انتهایی	۸۰/۷۰	۸۰/۳۰	۰/٦۳	۰/۵۲	۰/۰۱	۰/٤٤
تغییرات روزانه (سانتی‌متر در روز)	۰/۱٦۷	۰/۱٦۷	۰/۸۹	۰/٤۳	۰/۰۱	۰/٤٤
ارتفاع هیپ (سانتی‌متر)						
ابتدایی	۸۰/۹۰	۸۱/۰۵	۰/۸۲	۰/٤۲	۰/۰۱	۰/۵۸
انتهایی	۸۵/۷۵	۸۵/۹۵	۰/۷٤	۰/۵۸	۰/۰۱	۰/۵۸
تغییرات روزانه (سانتی‌متر در روز)	۰/۱۷۳	۰/۱۷۵	۰/۸۱	۰/۳۳	۰/۰۱	۰/۵۸
عرض هیپ (سانتی‌متر)						
ابتدایی	۱۷/۰۵	۱۷/۱۰	۱/۰۰	۰/۷٤	۰/۲۵	۰/٦۲
انتهایی	۱۹/۳۵	۱۹/٤۷	۰/٦۸	۰/۷۲	۰/۲۵	۰/٦۲
تغییرات روزانه (سانتی‌متر در روز)	۰/۰۸۲	۰/۰۸٤	۰/٤۵	۰/٦۵	۰/۲۵	۰/٦۲
دور سینه (سانتی‌متر)						
ابتدایی	۷٦/۹۵	۷٦/۷۷	۰/۹۰	۰/۸۷	۰/۰۰۰۱	۰/۵۳
انتهایی	۸٤/۵۰	۸٤/۳۰	۰/۹۵	۰/۸۵	۰/۰۰۰۱	۰/۵۳
تغییرات روزانه (سانتی‌متر در روز)	۰/۲٦۹	۰/۲٦۸	۰/۹۰	۰/۹٦	۰/۰۰۰۱	۰/۵۳

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).
SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۳. اثر تیمارهای آزمایشی بر خوراک آغازین مصرفی و بازده خوراک مصرفی در گوساله‌های هلشتاین

دوره (روز)	تیمار		SEM	P value		
	کنترل	آنتی‌بادی		تیمار	زمان	تیمار×زمان
خوراک آغازین مصرفی (کیلوگرم در روز)						
روز ۰ تا ۱٤	۰/۰۹^{b}	۰/۱۰^{a}	۰/۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۸۱
روز ۱٤ تا ۲۸	۰/۳٤^{b}	۰/٤۰^{a}	۰/۰۱	۰/۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۷۱
روز ۰ تا ۳۰	۰/۲۱^{b}	۰/۲٦^{a}	۰/۰۰۵	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/٦۹
بازده خوراک و شیر مصرفی						
روز ۰ تا ۱٤	۰/۳۷^{b}	۰/٤۳^{a}	۰/۰۱	۰/۰٤	۰/۰۱	۰/۳۵
روز ۱٤ تا ۲۸	۰/۳۹	۰/٤۱	۰/۰۱	۰/٤۱	۰/۰۱	۰/۵۱
روز ۰ تا ۳۰	۰/٤۱	۰/٤۱	۰/۰۲	۰/٦۹	۰/۰۱	۰/۹٤

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).
SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

پودر زرده تخم‌مرغ حاوی IgY در این آزمایش یک آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه *اشریشیاکلی K99* غیرفعال شده است، این آنتی‌بادی می‌تواند علیه چندین اپی‌توپ سطحی باکتری عمل کند. بنابراین، بهبود شاخص‌های رشد و مصرف خوراک می‌تواند به‌دلیل فعالیت مهاری رشد باکتری، به‌دلیل اتصال و فعالیت باندکنندگی IgY علیه اجزای سطحی باکتری شامل فیمبریا (پیلی)، پروتئین‌های غشای خارجی و لیپوپلی‌ساکاریدها باشد [۱۳]. نتایج مطالعه حاضر هم‌چنین نشان می‌دهد که در دو هفته اول زندگی گوساله‌ها که بیماری‌های گوارشی در اوج قرار دارد، گوساله‌های گروه کنترل عملکرد رشد مناسبی نداشته‌اند و جذب مواد غذایی در آن‌ها به‌خوبی صورت نگرفته است، سپس با پشت سر گذاشتن دوره اسهال در گوساله‌ها، در دو هفته دوم زندگی که عوامل بیماری‌زا در روده کاهش یافته‌اند، عملکرد رشد نیز در گروه‌های آزمایشی تقریباً مشابه شده است.

امتیاز وضعیت سلامت در بازه زمانی روز تولد تا دوهفتگی و روز تولد تا یک‌ماهگی در گروه مصرف‌کننده آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ بالاتر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). ولی در بازه ۲-٤ هفتگی میانگین امتیاز وضعیت سلامت بین گروه‌های آزمایشی تفاوتی نداشت (جدول ٤). میانگین حداقل مربعات امتیاز مدفوع و امتیاز گوش در گروه مصرف‌کننده آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ کم‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). میانگین حداقل مربعات امتیاز چشم، پوزه و دمای بدن بین تیمارهای آزمایشی در کل دوره آزمایش تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

درصد شیوع اسهال و مداخلات دامپزشکی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۵). با این‌حال، در گروه مصرف‌کننده آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ شیوع اسهال پایین‌تر از گروه شاهد بود (P=۰/۰٦). میانگین تعداد روزهای ابتلا به اسهال در گوساله‌های گروه مصرف‌کننده آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ نسبت به گروه شاهد به‌طور عددی، تقریباً یک روز کاهش یافت. میانگین تعداد روزهای درمان اسهال در کل دوره آزمایش در گوساله‌های گروه آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ نسبت به گروه شاهد به‌طور غیرمعنی‌دار کاهش یافت. شمار کلی‌فرم‌های مدفوع در گروه مصرف‌کننده آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ کم‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵).

هم‌چنین شمار باکتری ای‌کلای در مدفوع گوساله‌های گروه مصرف‌کننده آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ به‌طور غیرمعنی‌داری کاهش یافت. شمار باکتری‌های لاکتوباسیل بین تیمارهای آزمایشی تفاوتی نداشت (جدول ٦).

جدول ٤. اثر تیمارهای آزمایشی برروی شاخص‌های سلامتی در گوساله‌های هلشتاین

صفت	تیمار		SEM	P value		
	کنترل	آنتی‌بادی		تیمار	زمان	تیمار×زمان
امتیاز کلی سلامت[1]*						
روز ۰ تا ١٤	۸/٦٥[b]	۱۰/۲۰[a]	۰/٤٥	۰/۰٤	۰/۰۳	۰/۱٦
روز ١٤ تا ۲۸	۱۳/۳۷	۱۳/۵۵	۰/۲٤	۰/۳۲	۰/۰۳	۰/۲۷
روز ۰ تا ۳۰	۲۳/۹۰[b]	۲۵/۷۵[a]	۰/۵۱	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۱۸
اسکور بینی	۱/۰۸	۱/۰۵	۰/۱٤	۰/۱۹	۰/۱۵	۰/۲۳
اسکور چشم	۱/۲٤	۱/۲۱	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۲٤	۰/۱۰
اسکور گوش	۱/۲۲[a]	۱/۰۹[b]	۰/۱۱	۰/۰٤	۰/۰۵	۰/۱۲
اسکور مدفوع	۱/٦٤[a]	۱/٤۲[b]	۰/۱٦	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۱٤
دمای بدن	۳۸/۷۹	۳۸/٦۰	۰/۸٦	۰/۸۵	۰/۳٦	۰/۷۸

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۵. اثر تیمارهای آزمایشی بر شیوع اسهال، میانگین تعداد روز اسهال و میانگین تعداد روزهای درمان برای اسهال در گوساله‌های هلشتاین

صفت	تیمار		SEM	P value		
	کنترل	آنتی‌بادی		تیمار	زمان	تیمار× زمان
درصد شیوع اسهال	۶۳/۳۳	۵۰/۰۰	–	۰/۰۶	۰/۰۵	۰/۲۹
(تعداد کل: تعداد موارد بروز اسهال)	(۳۰:۱۹)	(۳۰:۱۵)				
میانگین تعداد روزهای اسهال	۳/۵۰	۲/۷۵	۰/۶۴	۰/۳۴	۰/۰۹	۰/۱۰
میانگین تعداد روزهای درمان برای اسهال	۱/۳۵	۱/۰۵	۰/۲۵	۰/۸۸	۰/۲۵	۰/۱۸

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ٦. اثر تیمارهای آزمایشی بر شمار باکتری‌های مدفوع در گوساله‌های هلشتاین

صفت	تیمار		SE	P value		
	کنترل	آنتی‌بادی		تیمار	زمان	تیمار× زمان
شمار باکتری (لگاریتم)						
ای‌کلای (کلنی بر گرم)	۸/۶۷	۸/۵۷	۰/۱۲	۰/۰۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۵۶
کلی‌فرم (کلنی برگرم)	^{a}۹/۱۹	^{b}۸/۷۵	۰/۱۲	۰/۰۳	۰/۰۰۰۶	۰/۸۱
لاکتوباسیلوس (کلنی بر گرم)	۷/۵۱	۷/۵۸	۰/۱۴	۰/۷۲	۰/۰۰۱	۰/۹۰

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیرمشابه معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

مطالعات بسیاری تاکنون در حیوانات نشان داده است که استفاده از IgY، راه‌حل بسیار مفیدی برای درمان و پیشگیری از عفونت‌ها است. نشان داده شده است که شمار باکتری‌های بیماری‌زا در حضور آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ کاهش می‌یابد و آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ دارای اثر ضدباکتریایی بر روی باکتری ای‌کلای است [۱۲]. تاکنون درمان خوراکی با IgY در برابر بیماری‌های گوارشی، بیش‌ترین مطالعات انجام‌شده در این زمینه بوده است. به‌عنوان مثال، IgY تولیدشده علیه روتاویروس، موش‌ها و گوساله‌ها را در مقابل روتاویروس گاوی محافظت کرد [۲٤]. علاوه بر این، نشان داده شده است که این روش، راه‌کار مناسبی برای درمان و پیشگیری از سالمونلوز در گوساله‌های شیرخوار است [۱۳]، در آن آزمایش نشان داده شد که گوساله‌های آلوده‌شده با بالاترین دوز سالمونلا که تحت درمان با IgY بوده‌اند همگی زنده ماندند، این در حالی بود که گوساله‌های گروه شاهد همگی تلف شدند [۱۳].

کلی‌باسیلوز روده‌ای مسبب اسهال، بزرگ‌ترین مشکل در گوساله‌ها و خوک‌های تازه متولد شده است. بنابراین در برخی از کشورها از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان پروفیلاکسیس (پیشگیری دارویی) در جیره غذایی آن‌ها استفاده می‌شود. IgY تولیدشده علیه پروتئین‌های مختلف فیمبریای باکتری اشریشیاکلی دارای اثربخشی قابل‌ملاحظه‌ای در پیشگیری و درمان بیماری‌های روده‌ای خوک و کاهش تلفات را در آن‌ها به‌همراه داشت [۱۵]. در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شد که استفاده از ایمونوگلوبین‌های زرده تخم‌مرغ تهیه‌شده علیه *اشریشیاکلی* K99، موجب کاهش مدت و شیوع اسهال در

گوساله‌های تازه متولدشده و هم‌چنین افزایش وزن بیش‌تر آن‌ها در مقایسه با گروه شاهد شده است [٤]. نشان داده شده است که، درمان خوراکی گوساله‌ها با IgY تولیدشده علیه روتاویروس به‌مدت هفت روز باعث افزایش معنی‌دار پاسخ ایمنی سلولی در این گوساله‌ها نسبت به گروه شاهد شد [٢١]. نشان داده شده است که تیمار خوک‌های تازه متولدشده با آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ علیه باکتری *اشریشیاکلی* K88، باعث کاهش اتصال این باکتری به روده کوچک و در نتیجه کاهش اسهال در این حیوان می‌شود [١١]. سازوکار دقیق چگونگی عمل ایمنوگلوبین زرده تخم‌مرغ جهت جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم‌ها هنوز مشخص نشده است. با این حال، چندین سازوکار پیشنهاد شده است که از این سازوکارها می‌توان به آگلوتیناسیون باکتری، مهار چسبندگی باکتری *اشریشیاکلی* به سلول اپیتلیال روده و هم‌چنین خوشمزه‌سازی (Opsonization) باکتری جهت فاگوسیتوز و خنثی‌سازی سموم اشاره کرد [٢٣].

در مطالعات پیشین گزارش شده است که، اثر ضد باکتریایی ایجادشده توسط آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ یا پودر زرده تخم‌مرغ حاصل از مرغان تخم‌گذار ایمن‌شده در برابر *اشریشیاکلی* K99، می‌تواند به‌دلیل اتصال آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ به باکتری *اشریشیاکلی* K99 و در نتیجه غیرفعال‌شدن این باکتری و در نهایت ازبین‌رفتن آن باشد [١٦]. به‌طور خلاصه، آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ تولیدشده علیه میکروارگانیسم‌های ایجادکننده بیماری گوارشی در روده، می‌تواند با جلوگیری از اتصال عامل بیماری‌زا به روده بیماری را کنترل کند. این ممانعت از اتصال از طریق مسدودکردن گیرنده مخاطی، دخالت در اتصال به موسین‌ها و خنثی‌سازی عامل کلونیزاسیون (پروتئین‌های غشای خارجی، لیپوپلی‌ساکاریدها، فیمبریه یا پیلی و فلاژیلا یا فلاجیلا) صورت می‌گیرد [١١]. در نتیجه موجب کاهش شیوع اسهال و بهبود سلامتی دام می‌شود.

نتایج کلی مطالعه حاضر نشان داد که تغذیه آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ اختصاصی علیه *اشریشیاکلی* K99 به‌همراه شیر، اثرات مفیدی بر سلامت، کاهش شیوع اسهال و عملکرد رشد گوساله‌های شیرخوار هلشتاین دارد. بنابراین استفاده از آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ اختصاصی می‌تواند گزینه مناسبی برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت پرورش گاو شیری باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی شرکت فناوری زیستی طبیعت‌گرا (بیوران) و دانشگاه تهران (شماره گرنت ٧١٠٨٠١٧/٦/٤٠) انجام شد. لذا نویسندگان بر خود لازم می‌دانند، مراتب تشکر خود را از این مجموعه‌ها اعلام نمایند.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مورد استفاده

1. Bi Y, Yang C, Diao Q and Tu Y (2017) Effects of dietary supplementation with two alternatives to antibiotics on intestinal microbiota of preweaned calves challenged with *Escherichia coli* K99. Nature Research, 7(1): 5439.
2. Cho Y and Yoon KJ (2014) An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis ,and intervention. Journal of Veterinary Science, 15(1): 1-17.
3. Croxen MA and Brett BF (2010) Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. Nature Reviews Microbiology, 8; 26-38.
4. Diraviyam T, Zhao B,Wang Y, SchadeR, Michael A and Zhang X (2014) Effect of Chicken Egg Yolk Antibodies (IgY) against Diarrhea in Domesticated Animals: A Systematic Review and Meta-Analysis. Plos One, 10: 1346-1367.
5. El-Seedy FR, Abed AH, Yanni HA and El-Rahman SAA (2016) Prevalence of Salmonella and E. coli in neonatal diarrheic calves. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 5(1): 45-51.

6. Foster DM, Geof W and Smith D (2009) Pathophysiology of diarrhea in calves. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 25 (1): 13-36.
7. Hashish EA, El Damaty HM, Tartor YH and Abdelaal AM (2016) Epidemiological study of diarrheagenic *Escherichia coli* virulence genes in newborn calves. Pakistan Veterinary Journal, 36: 1.
8. Hossein-Abadi M, Dehghan-Banadaki M and Zali A (2013) Effect of adding probiotic bacteria in milk or initial feed on growth performance, health condition, blood and stomatal parameters of Holstein calves. Animal Production Research. forth year, 8: 69-57.
9. Ilan Y, Lalazar G, Adar T, Mizrahi M and Ben-Ya'acov A (2011) Anti-LPS enriched immunoglobulin preparations for the treatment and/or prophylaxis of a pathologic disorder. Google Patents, US10117930B2.
10. Izzo MM, Kirkland PD, Mohler VL Perkins NR Gunn AA and House JK (2011) Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. Australian Veterinary Journal, 89(5): 167-173.
11. Kovacs-Nolan J and Mine Y (2012) Egg yolk antibodies for passive immunity. Annual Review of Food Science and Technology, 3: 163-182.
12. Li X, Wang L, Zhen Y, Li S and Xu Y (2016) Chicken egg yolk antibodies (IgY) as non-antibiotic production enhancers for use in swine production: a review. Journal of Animal Science and Biotechnology, 6(1): 40.
13. Mahdavi AH, Rahmani HR, Nili N, Samie AH and Soleimanianzad S (2010) Chicken egg yolk antibody (IgY) powder against *Escherichia coli* O78: K80. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9: 366-373.
14. Malik S, Verma AK, Kumar A, Gupta MK and Sharma SD (2012) Incidence of Calf Diarrhea in Cattle and Buffalo Calves in Uttar Pradesh, India. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 7 (10): 1049-1054.
15. Opressnig T, Xiao C, Priscilla F, Zhang J and Halber PG (2014) Porcine Epidemic Diarrhea Virus RNA Present in Commercial Spray-Dried Porcine Plasma Is Not Infectious to Naïve Pigs. Plos One, 10: 1371-1389.
16. Pauly D, Chacana PA, Calzado EG, Brembs B and Schade R (2011) IgY technology: extraction of chicken antibodies from egg yolk by polyethylene glycol (PEG) precipitation. Journal of Visualized Experiments, (51): 3084.
17. Shahrani M, Dehkordi FS and Momtaz HJBR (2014) Characterization of *Escherichia coli* virulence genes, pathotypes and antibiotic resistance properties in diarrheic calves in Iran. Biological Research, 47(1): 28.
18. Timmerman H, Mulder L, Evert H, Van Espen DC, Van der Wal E, Klaassen G, Rouwers SMG, Hartemink R, Rombouts FM and Beynen AC (2005) Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics. Journal of Dairy Science, 88(6): p. 2154-2165.
19. USDA A Dairy (2007) Part II: changes in the US dairy cattle industry, 1991–2007. Report Veterinary Services Centers for Epidemiology and Animal Health, 1-100.
20. Vega C, Bok M, Chacana P, Saif L, Fernandez F and Parreno V (2011) Egg yolk IgY: protection against rotavirus induced diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in newborn calves. Veterinary Immunology and Immunopathology, 142(3-4): 156-169.
21. Vega C, Bok M, Saif L, Fernandez F and Parreno V (2015) Egg yolk IgY antibodies: A therapeutic intervention against group A rotavirus in calves. Research in Veterinary Science, 103: 1-10.
22. Walker WL, Epperson WB, Wittum TE, Lord LK, Rajala-Schultz PJ and Lakritz J (2012) Characteristics of dairy calf ranches: morbidity, mortality, antibiotic use practices, and biosecurity and biocontainment practices. Journal of Dairy Science, 95(4): 2204-2214.
23. Xu Y, Li X, Jin L, Zhen Y, Lu Y, Li S, You J and Wang L (2011) Application of chicken egg yolk immunoglobulins in the control of terrestrial and aquatic animal diseases: a review. Biotechnology Advances, 29(6): 860-868.
24. Yegani M and Korver DR (2010) Application of egg yolk antibodies as replacement for antibiotics in poultry. World's Poultry Science Journal, 66(1): 27-38.