



Uso de gema de ovo de galinhas hiperimunizadas para vacinação de suínos

Andréa Machado Leal Ribeiro¹, Cátia Chilanti Pinheiro² & Isabel Mello da Silva³

Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Av. Bento Gonçalves 7712, 91540-000 Porto Alegre, RS – aribeiro@ufrgs.br

1 – INTRODUÇÃO

A partir da década de 60 o sucesso dos programas de vacinação, combinados com a eficiência do uso de antibióticos, proporcionou o surgimento de previsões bastante otimistas sobre o combate às diferentes doenças infecciosas, tanto em humanos como animais. Entretanto, nas últimas duas décadas têm se observado o ressurgimento de algumas dessas enfermidades, o que tem sido atribuído a uma série de razões, entre elas a resistência dos microorganismos aos antibióticos existentes no mercado (BERGMAN *et al.*, 2005).

A importância econômica das diarreias infecciosas na suinocultura se deve não só à morte dos leitões, mas principalmente às conseqüências negativas sobre o desenvolvimento, como o surgimento de refugos (animais sobreviventes, porém menos vigorosos) e aos gastos com medicamentos para seu controle. Este tipo de patologia é mais comum em leitões na fase que vai do nascimento ao pós desmame, quando os animais estão mais suscetíveis aos desafios ambientais em função de sua baixa imunidade. A *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC) é o agente etiológico mais comum nesses casos. A taxa de mortalidade média de leitões em aleitamento nas criações confinadas da Região Sul do Brasil, é estimada entre 15 e 20%. As diarreias apresentam-se sob forma de fezes pastosas, às vezes líquidas e, geralmente, persistem por 4 a 8 dias, mesmo com o uso de antimicrobianos convencionais, os quais proporcionam resultados irregulares e temporariamente satisfatórios. (MORES *et al.*, 1991).

Por outro lado, Bellaver, (2000) aponta que para evitar a queda no desempenho dos animais, o setor de produção animal faz uso constante de antimicrobianos em doses subclínicas, sendo líder mundial de consumo de produtos desta natureza. De acordo com Rutz (2001), a utilização desse tipo de aditivos alimentares nas rações animais vem gerando preocupação em relação à qualidade dos alimentos que chegam ao consumidor. O temor de que a resistência aos medicamentos, desenvolvida pelas bactérias possa ter algum efeito nocivo à saúde do homem que consome a carne de animais tratados, é um fato pouco estudado, ainda não totalmente elucidado, mas mesmo assim, motivo de mudança nos atuais procedimentos de manejo, a fim de garantir mercado, sobretudo para exportação.

A utilização da imunidade passiva como terapia antimicrobiana patógeno-específica é uma prática antiga, que se desenvolveu a partir do início do século XX. Entretanto, sua utilização foi aos poucos deixada de lado devido a fatores como a manifestação de sinais clínicos nos indivíduos imunizados, o risco de transmissão da doença, a grande variedade de metodologias utilizadas para preparo das substâncias utilizadas para a imunização, e o mais importante de todos, que foi o surgimento e utilização dos antimicrobianos por volta dos anos 30 (CASADEVALL, 1996).

De acordo com Karlsson *et al.* (2004) a produção convencional de anticorpos requer normalmente o uso de laboratório animal e uma grande quantidade de animais como coelhos, ratos e suínos ou animais maiores como cavalos, ovelhas e cabras que são capazes de produzir maiores quantidades de anticorpos. Porém sempre envolve dois passos, ambos causando estresse nos animais envolvidos: a) a imunização do animal; e b) a coleta de sangue, que requer tempo e tem um alto custo.

O uso de gemas de ovos como fontes de anticorpos é uma outra possibilidade e possui várias vantagens: não é um método invasivo, a quantidade necessária de antígenos para uma eficiente imunização das aves é menor

¹ Professor Associado, Departamento de Zootecnia, UFRGS.

² Aluna do Curso e Pós Graduação em Zootecnia, UFRGS.

que para outros animais (GASSMAN *et al.*, 1990), é de fácil estocagem e possui um baixo custo de produção. De acordo com Sugita-konishi *et al.* (1996), existe a possibilidade de isolar a IgY de gemas de ovos de aves imunizadas para 26 tipos de bactérias. A IgY da gema de ovo de galinha pode ser absorvida e transferida tão eficientemente quanto os anticorpos colostrais para o sangue de leitões recém nascidos, essas imunoglobulinas são identificadas no soro de leitões recém-nascidos duas horas após sua administração e seu pico de concentração ocorre 24 horas após a ingestão, diminuindo gradualmente por um período de 21 dias (YOKOYAMA *et al.*, 1993).

Do ponto de vista econômico, mais do que as diarreias em neonatos, as formas de colibacilose que afetam leitões desmamados representam um prejuízo significativo ao produtor, uma vez que junto com os leitões mortos, são perdidas uma parte dos custos com a porca, o alimento consumido pelo próprio leitão, a perda de desempenho, sem mencionar o custo com medicamentos gastos na tentativa de recuperar os animais afetados. Assim, parece viável a elaboração de vacinas específicas para problemas sanitários encontrados em propriedades de suinocultores especializados em produzir leitões através do tratamento, caracterização e tipagem das amostras isoladas previamente, para aplicação em galinhas de postura criadas especialmente para a produção de ovos ricos em imunoglobulinas. A utilização deste tipo de imunização passiva como tratamento profilático e terapêutico aos problemas sanitários das propriedades suinícolas, cria uma alternativa barata ao uso indiscriminado de antibióticos e é o assunto apresentado neste trabalho.

2 – PRODUÇÃO DAS GEMAS E VIABILIDADE DE UTILIZAÇÃO

Os anticorpos são moléculas com alta especificidade de ligarem-se e inativarem substâncias estranhas, como moléculas tóxicas ou antigênicas, capazes de invadir o organismo (REILLY *et al.*, 1996), tanto por ação direta como por intermédio de outros componentes do sistema imune. Nas aves, a imunoglobulina correlata à IgG dos mamíferos, é a IgY, sendo que as aves de postura transferem todos os isotipos de anticorpos para o ovo, ou seja, IgY, IgM e IgA. De acordo com Lösch *et al.* (1986) existem duas possíveis rotas de transferência: na primeira o anticorpo presente no plasma circulante é secretado para dentro do folículo em amadurecimento (e posteriormente para a gema); e a segunda ocorre quando o anticorpo é incorporado à clara do ovo no oviduto, junto com o albúmen que é ali secretado.

Yokoyama *et al.* (1993) destacaram que o valor prático da imunização passiva de mamíferos, utilizando a IgY, reside na capacidade de ligação específica da IgY aos antígenos que penetram no organismo de um indivíduo imunodeficiente. Karlsson *et al.* (2004) cita que no passado a administração de anticorpos específicos como imunoterapia era realizada por via sistêmica ou intravenosa, pois em teoria as moléculas de imunoglobulinas administradas por via oral seriam inativadas pelas proteases presentes no estômago e intestino. Entretanto, de acordo com as pesquisas de Losch *et al.* (1986), a IgY pode resistir ao pH gástrico, sendo assim possível uma parte dos anticorpos de gema atingirem intactos o intestino delgado, pelo menos em animais jovens ou recém-nascidos, que têm o pH estomacal de valor próximo à neutralidade. Larsson *et al.* (1993) observaram que a concentração de IgY na gema é mais alta que no soro das aves e apenas grandes mamíferos como bovinos e eqüinos podem produzir mais anticorpos do que uma poedeira. Ainda de acordo com estes autores, a gema de ovo crua é fonte de anticorpos, no entanto os lipídios lá encontrados podem interferir na atividade dos mesmos e por isso para fins de utilização o ideal é que os anticorpos sejam purificados.

Além da consistência na resposta imune produzida por estes anticorpos já citada anteriormente, Karlsson *et al.* (2004) salientam entre as vantagens da utilização de IgY purificadas a partir de ovos de galinhas poedeiras, a diminuição de problemas de interferência em resultados de testes de detecção de antígenos. Quando, neste tipo de ensaio, ocorre a utilização de anticorpos provenientes de amostras de soro de mamíferos, pode haver uma reação falsamente positiva devido à presença de anticorpos anti IgG presentes no soro. Outras vantagens citadas por estes mesmos autores são a simplicidade do processo de isolamento e purificação dos anticorpos, a possibilidade de uma grande escala de produção (em torno de 280 ovos/ano contendo 100-150mg de IgY cada), a resistência deste material a variações de pH e temperatura e a facilidade de armazenamento.

A aplicação da IgY não está sendo pesquisada somente na área animal, mas também em muitas áreas médicas, tais como: aplicação clínica da IgY na inibição da rejeição em xenotransplantados, prevenção da placa dental e cáries pelo *Streptococcus mutans* em humanos (HATTA *et al.*, 1997), alternativa ao uso de antibióticos como forma terapêutica e profilática em leitões (CARLANDER *et al.*, 2000), e devido a simplicidade de técnicas e de criação de aves seria possível também sua aplicação em crianças com diarreia em países do terceiro mundo (UNICEF 1988, citados por WIEDEMANN *et al.*, 1991). Segundo Karlsson *et al.* (2004), a utilização deste recurso vem obtendo su-

cesso no tratamento de uma grande variedade de infecções gastrointestinais como a rotavirose humana que ocorre em crianças e é extremamente aguda e responsável por mais de um milhão de mortes por ano. Os autores ainda citam o uso da IgY como alternativa aos antibióticos em pacientes para controle de infecções respiratórias, maior causa de morbidade e mortalidade, em pacientes com fibrose cística.

As aves utilizadas como produtoras dos ovos, podem ser alojadas em galpões convencionais de produção de poedeiras. Uma vez adaptadas às instalações e produzindo ovos normalmente, as aves são imunizadas por via intramuscular. Pode ser usada uma "bacterina" comercial produzida com sorotipos de *Escherichia coli* relacionados à colibacilose suína ou uma vacina produzida com as cepas presentes na granja, através de fezes coletadas previamente dos leitões da mesma granja. As aves são vacinadas duas vezes, com um intervalo de uma semana, sendo que a coleta de ovos, se inicia a partir da segunda dose de vacina. Os ovos coletados podem ser armazenados em geladeira, posteriormente quando da realização da separação das gemas, que passam a ser armazenadas a uma temperatura de -5°C. Em seguida as gemas podem ser liofilizadas para a produção de um aditivo seco que pode ser adicionado às dietas de leitões nas fases após o nascimento e o desmame como forma de prevenção ao aparecimento de diarreias.

Segundo Yokoyama *et al.* (1993) a IgY da gema de ovo de galinha é absorvida e transferida tão eficientemente quanto os anticorpos colostrais para sangue de leitões recém nascidos, essas imunoglobulinas são identificadas no soro dos leitões duas horas após sua administração e seu pico de concentração ocorre 24 horas após a ingestão, diminuindo gradualmente por um período de 21 dias. Estes autores afirmam que esta imunoglobulina tem uma meia-vida de 1,85 dias no soro dos animais recém-nascidos e similarmente aos anticorpos colostrais, a absorção cessa por volta de 36 horas de vida. Rudnik *et al.* (2005), quantificaram por meio de ELISA o nível de IgY contra *E. coli* nos soros de leitões, aos 14 dias de idade, que receberam gemas de ovos de aves hiperimunizadas por via oral. Os autores não observaram diferença significativa no nível de IgY medido no soro dos animais que receberam somente duas doses de gemas (ao nascer e duas horas depois) em relação aos que receberam doses contínuas nos primeiros 12 dias de vida. No entanto, os leitões que receberam gemas de forma contínua tiveram menor necessidade do uso de medicamento para combater diarreias. Estes resultados mostram que além da ação profilática, há também uma ação terapêutica local. Com isso, o procedimento de administração das gemas aos animais pode ser realizado de forma contínua, com a inclusão no alimento fornecido aos leitões dependendo da fase escolhida para utilização deste recurso.

Jin *et al.* (1998) estudando *in vitro* a ação da gema de ovos liofilizados com altos títulos na inibição da adesão das fímbrias de *E. coli* tipo F4 K88ab, K88ac (UFC 109 ml⁻¹) concluíram que a resposta é influenciada por dois fatores: a dosagem de anticorpos e a concentração do patógeno no trato gastrintestinal do animal. Resultados semelhantes foram obtidos por Imberechts *et al.* (1997), que verificaram *in vitro* que anticorpos F18ab inibem a adesão da bactéria na parede intestinal, pela neutralização parcial ou completa do potencial de colonização, favorecendo a redução da excreção da bactéria. Zúñiga *et al.* (1997), desafiaram leitões desmamados de 23 a 30 dias com *E. coli* F18ab e F18ac e verificaram que o consumo de 5,5g de ovo liofilizado adicionado à ração foi suficiente para diminuir a quantidade de bactérias presente nas fezes. Yokoyama *et al.* (1992) avaliando o efeito terapêutico da IgY também desafiaram leitões quatro horas após o nascimento com 5mL de 10¹² UFC com fímbrias K88, K99 e 987P e os privaram do colostro. Após o surgimento de diarreia os autores forneceram 3 vezes ao dia 4mL de gemas purificadas e liofilizadas com três diferentes titulações, para os grupos que receberam as maiores titulações a diarreia cessou em 2 a 3 dias após o tratamento.

Em nosso laboratório, Rudnik *et al.* (2005) desenvolveu um trabalho com o objetivo de quantificar o nível de IgY no soro dos leitões recém-nascidos após a ingestão de gemas de ovos de aves hiperimunizadas e verificar seu efeito na incidência de diarreia e no ganho de peso. Os ovos foram obtidas do trabalho de Kindlein (2002), que vacinou galinhas de postura, via intramuscular, no músculo peitoral, com 0,5 mL de uma bacterina comercial contra *Escherichia coli* suína, contendo cerca de 10⁹ células bacterianas/mL. A bacterina administrada às aves foi produzida a partir de 6 sorotipos de *E. coli* relacionados à colibacilose suína (K12:K88ab, O157;K88ac, O8:K87:K88ad, 987P, O101:K30:F41, K99). Hidróxido de alumínio foi o adjuvante incluído na vacina. A segunda imunização, com o mesmo antígeno, foi feita 2 semanas após a primeira, na 53ª semana de idade das aves, período em que os ovos foram coletados para o experimento. As gemas utilizadas com títulos de anticorpos (IgY) de 100.000 foram armazenadas em alíquotas de 30 g a -5°C, in natura, sem a presença das claras e minutos antes do fornecimento aos leitões foram descongeladas e diluídas em 15 mL de solução tampão. Os seguintes tratamentos foram utilizados: Controle -2 mL de PBS em duas doses, ao nascer e duas horas após; Ao nascimento -2 mL de gema de ovo em ao nascer e duas horas após; Contínuo -2 mL de gema de ovo ao nascer e duas horas após e 2 mL de gema a cada três dias até os 12 dias de idade dos

leitões. Os animais foram acompanhados do nascimento até os 14 dias de idade. Foram avaliados peso inicial, aos 7 e aos 14 dias, a ocorrência de diarreia e a densidade óptica do soro medida através do teste de ELISA. Foram realizadas duas coletas de sangue em 1 leitão/tratamento/porca, a primeira 24 horas após a administração da segunda dose de gema e a segunda, aos 14 dias de idade. A ocorrência de diarreia foi observada individualmente por leitão, diariamente, no período da manhã. As mães, primíparas, não foram vacinada para *E. coli*.

Os leitões dos três tratamentos não apresentaram diferenças significativas no peso inicial e no peso aos 7 dias (Tabela 1). Para o peso inicial, a ausência de diferenças entre tratamentos era esperada, uma vez que foram escolhidos leitões irmãos com peso similar. No entanto, aos 14 dias, os leitões que receberam doses contínuas de gema alcançaram peso médio de 3,81 kg, diferindo significativa e positivamente dos leitões do grupo controle.

Tabela 1. Peso corporal de leitões que receberam ou não gemas de aves hiperimunizadas.

Tratamentos	Peso Inicial	Peso aos 7 dias	Peso aos 14 dias
Controle	1,39 ± 0,022	2,22 ± 0,064	3,39 ± 0,132 b
Ao nascimento	1,34 ± 0,022	2,24 ± 0,057	3,64 ± 0,118 ab
Contínuo	1,38 ± 0,023	2,30 ± 0,062	3,81 ± 0,127 a
CV	10,99	12,85	16,49
P	0,31	0,69	0,08

Médias nas colunas seguidas de letras diferentes diferem significativamente (P = 0,08).

Controle: sem recebimento de gema; Ao nascimento: 3 mL de gema ao nascer; Contínuo: 3 mL de 3 em 3 dias, até 12 dias de idade.

O peso corporal pode estar diretamente relacionado à menor porcentagem de dias sem diarreia nos leitões do que receberam as gemas de forma continuada (Tabela 1). Marquardt *et al.* (1999) demonstraram que leitões desafiados com *E. coli* K88 sofreram perda de peso de 106 a 182 g, 24 horas após o fornecimento, enquanto os não-desafiados apresentaram ganho de 191 g, fato atribuído à diarreia. Neste experimento, os leitões tratados com 0,5 g de gemas com título de anticorpos contra *E. coli* de 140.000, três vezes ao dia, por dois dias, se recuperaram e ganharam peso. Marquardt *et al.* (2000) desafiaram leitões de 21 dias de idade, por duas vezes, com 1012 UFC de K88 e trataram-nos com 50 mg de gemas (IgY) três vezes no dia do desafio e durante dois dias consecutivos antes do desafio e observaram que os animais controle perderam 36 g, ao passo que aqueles que receberam gemas tiveram ganho de peso de 91 g no período de três dias.

Considerando-se os resultados da quantificação de IgY contra *E. coli* nos soros por meio de ELISA no trabalho de Rudnik *et al.* (2005) (Tabela 2), observa-se que houve diferença estatística significativa da densidade óptica nos soros dos leitões 24h após a administração das gemas nos tratamentos que as receberam quando comparados ao controle. Aos 14 dias de idade, ainda foi verificada densidade óptica do ELISA maior nos dois tratamentos que receberam as gemas em relação ao controle, ainda que os valores fossem menores do que na primeira determinação. Este resultado confirma outros estudos que comprovaram que a máxima absorção de imunoglobulinas ocorreu de 4 a 12 h após o primeiro aleitamento (WESTROM *et al.*, 1985), quando foram absorvidas no epitélio do jejuno (HOLLAND, 1990). De 24 a 48 horas após o nascimento, as paredes intestinais já estão fechadas para a absorção de macromoléculas e o fornecimento contínuo das gemas agiria na imunidade local, sem absorção pelos vasos linfáticos, o que se confirmou com o fato de os leitões do tratamento que recebeu as gemas de forma continuada não apresentarem valores de densidade óptica diferente do tratamento que recebeu apenas duas doses das gemas após o nascimento.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão da densidade óptica do ELISA no 1º e 14º dias de vida dos leitões.

Tratamentos	DO (1 dia)	DO (14 dias)
Controle	0,1630 ± 0,061 b	0,2680 ± 0,005 b
Ao nascimento	1,2112 ± 0,063 a	0,2838 ± 0,005 a
Contínuo	1,1894 ± 0,062 a	0,2919 ± 0,005 a
CV	37,04	8,51
P	≤ 0,0001	≤ 0,01

Médias nas colunas seguidas de letras diferentes diferem significativamente (P ≤ 0,01).

Controle: sem recebimento de gema; Ao nascimento: 3 mL de gema ao nascer; Contínuo: 3 mL de 3 em 3 dias, até 12 dias de idade.

Resultados semelhantes foram encontrados por Yokoyama *et al.* (1993). Em leitões que receberam gemas de ovos 10 horas após o nascimento, as IgY puderam ser identificadas no soro 2 h após a administração oral, com pico de concentração 24 h após a administração. Quando as gemas foram administradas 34 horas após o nascimento, não houve detecção de IgY, indicando falta de permeabilidade do trato gastrointestinal para essas macromoléculas. Após o pico de IgY, sua concentração no soro foi diminuindo gradualmente até os 21 dias, uma vez que sua meia vida é de 1,85 dias, portanto menor que a meia-vida da IgG do colostro, que é de 12 a 14 dias (Curtis *et al.*, 1973). A IgY é menos rígida e mais instável em pH baixo que a IgG e a passagem da molécula pelo estômago pode afetar a sua estabilidade mais rapidamente que na IgG dos mamíferos (SCHMIDT *et al.*, 1989).

Quanto à diarreia, no trabalho de Rudnik *et al.* (2005) foram observadas diferenças significativas em função do tratamento fornecido aos leitões. Os leitões controle e os que receberam a gema apenas após o nascimento permaneceram 73 e 79% do tempo estudado sem diarreia, respectivamente. Já os leitões que receberam as gemas continuamente passaram menos dias sem diarreia (87% do período), o que indica que as imunoglobulinas não só agiram imunizando sistemicamente os animais como também localmente no trato digestivo dos animais (Tabela 3).

Tabela 3. Freqüência observada e esperada e percentagem de leitões com e sem diarreia durante o 14 dias do período experimental, classificados em função do recebimento ou não de medicação.

Tratamento	Observação diária de diarreia				Total
	Sem medicação		Com medicação		
	Leitões x dias	%	Leitões x dias	%	
Controle	308 (312,07)	96	13 (8,92)	4	321
Ao nascimento	351 (353,88)	96	13 (10,12)	4	364
Contínuo	320 (313,05)	99,4	2 (8,95)	0,6	322
P	≤ 0,015				

Controle: sem recebimento de gema; Ao nascimento: 3 mL de gema ao nascer; Contínuo: 3 mL de 3 em 3 dias, até 12 dias de idade.

A comparação do tratamento controle e o que recebeu gemas somente ao nascimento por análise de contrastes comprovou que os leitões do segundo grupo permaneceram significativamente menos dias sem diarreia ($P < 0,04$). A imunidade passiva dos leitões do grupo com gemas somente após o nascimento confirma os estudos de Zúñiga *et al.* (1997), que desafiaram leitões desmamados de 23 a 30 dias, com *E. coli* de fímbrias F18ab e F18ac e verificaram que o consumo de 5,5 g de ovo liofilizado adicionado à ração foi suficiente para diminuir a quantidade de bactérias presentes nas fezes. Resultados semelhantes foram obtidos por Imberechts *et al.* (1997), ao verificarem *in vitro* que anticorpos contra fímbrias F18ab inibiram a adesão da bactéria na parede intestinal. Assim como no trabalho de Rudnik *et al.* (2005), Yokoyama *et al.* (1992) validaram, além do efeito profilático, também o efeito terapêutico da IgY, ao desafiar leitões quatro horas após o nascimento com 1012 UFC de *E. coli* com fímbrias K88, K99 e 987P e, somente após a ocorrência da diarreia, forneceram 4 mL de gemas purificadas e liofilizadas três vezes ao dia. A diarreia cessou de dois a três dias após o tratamento, com os melhores resultados naqueles leitões que receberam gema com anticorpos específicos para as fímbrias acima citadas, com título de 2500. Wiedemann *et al.* (1991), trabalhando em granjas com alta incidência de diarreia, forneceram 4 g de gemas liofilizadas com título de anticorpos de 9840 contra K88ac, administradas oralmente por três a cinco dias e verificaram que 43% dos leitões foram curados após o primeiro dia, 41% no segundo e 6% no terceiro, enquanto o grupo controle permaneceu com diarreia.

3 – CONCLUSÕES

As IgY fornecidas oralmente por meio de gema de ovos de aves hiperimunizadas contra *E. coli* suína são absorvidas eficientemente nas primeiras horas após o nascimento de leitões.

Após esse período, o fornecimento de gemas exerce um efeito terapêutico no controle da diarreia, embora não haja mais absorção intestinal.

Os resultados permitem inferir que o fornecimento contínuo de gemas é mais vantajoso que o fornecimento somente ao nascer, tanto para prevenir diarreia quanto para se obter melhores ganhos de peso, diminuindo o uso de antimicrobianos em leitões recém-nascidos.

A utilização da imunidade passiva como terapia antimicrobiana patógeno-específica é uma prática antiga, porém pouco usada na atualidade. Diante dos novos paradigmas da produção animal ressurgem como uma tecnologia viável e que deve ter seu uso ampliado.

4 – REFERÊNCIAS

- Bellaver C.O. 2000.** Uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. In: *Encontros Técnicos Abraves-SC*, pp.56-76.
- Berghman L.R., Abi-Ghanem D., Waghela S.D. & Ricke S.C. 2005.** Antibodies: An Alternative for Antibiotics? *Poultry Science*. 84: 660-666.
- Carlander D., Kollberg H., Wejaker P. & Larson A. 2000.** Peroral immunotherapy with yolk antibodies for the prevention and treatment of enteric infections. *Immunologic Research*. Uppsala, 21: 1-6.
- Casadevall A. 1996.** Antibody-based therapies for emerging infectious diseases. *Emergent Infectious Diseases*. 2: 200-208.
- Curtis J. & Bourne F.J. 1973.** Half-lives of immunoglobulins IgG, IgA and IgM in the serum of new-born pigs. *Immunology*. 24: 147-155.
- Gassmann M. & et alii. 1990.** Efficient production of chicken egg yolk antibodies against a conserved mammalian protein. *The FASEB Journal*. Zurich, 4: 2528-2532.
- Hatta H., Tsuda K., Ozzeki M., Kim M., Yamamoto T., Otake S. Hirasawa M., Katz J., Childers & Michalek 1997.** Passive immunization against dental plaque formation in humans: effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) sepecific for Streptococcus mutans. *Caries Research*. YokKaichi, 31: 268-274.
- Holland R.E. 1990.** Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clinical Microbiology Reviews*. 3: 345-375.
- Imberecht & et alii 1997.** Chicken egg yolk antibodies against F18ab fimbriae of *Escherichia coli* inhibit shedding of F18 positive *E. coli* by experimentally infected pigs. *Veterinary Microbiology*. Brussels, 54: 329-341.
- Jin L.Z., Baidoo S.K., Marquardt R.R. & Frohlich A.A. 1998.** In Vitro inhibitos of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 to piglet intestinal mucus by egg-yolk antibodies. *FEMS immunology and medical microbiology*. Winnipeg, 21: 313-321.
- Karlsson M., Larsson A. & Kollberg H. 2004.** Chicken IgY: utilizing the evolutionary advantage. *World's Poultry Science Journal*. Champaign, 60: 341-348.
- Kindlein G. 2002.** A influência da alimentação com diferentes níveis de vitamina E sobre a produção de imunoglobulina Y (IgY) no soro de poedeiras leves. Porto Alegre, 2002. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Larsson A., Balow R., Lindhal T.L. & Forseberg P. 1993.** Chickens antibodies: talking advantages of evolution – a review. *Poultry Science*. 72: 1807-1812.
- Losch U., Schraner I., Wanke R. & Jurgens L. 1986.** The chicken egg, an antibody source. *Journal of Veterinary Medicine B*. Munich, 23: 609-619.
- Marquardt R.R. 2000.** Control of intestinal diseases in pigs by feeding specific chicken egg antibodies. In: *Egg nutrition and biotechnology*. Winnipeg: CAB International, 2000. pp.289-299.
- Marquardt R.R., Jin L.Z., Kin J. & et al. 1999.** Passive protectiveeffect of egg-yolk antibodies against enterotoxigenic *Escherichia coli* K88+ infection in neonatal and early-weaned piglets. *FEMS immunology and medical microbiology*. 23: 283-288.
- Mores N., Sobestiansky J., Ciacci J.R., Amaral L & Barioni W. 1991.** Fatores de risco na maternidade associados a diarreia, mortalidade e baixo desempenho dos leitões. *Embrapa /CNPSA – Comunicado Técnico*. Concórdia, CT 178, pp. 1-4.
- Rudnik L., Ribeiro A.M.L., Canal C.W., Kratz L.R. & Farias C. 2005.** Uso de gemas de ovos de aves hiperimunizadas contra *Escherichia coli* suína no controle da diarreia neonatal de leitões. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34: 1234-1239.
- Ruilly M.R., Domingo R. & Sandhu J.1997.** Oral delivery of antibodies:future pharmacokinetic trend. *Clinical Pharmacokinetics*. 32: 313-323.
- Rutz F. & Lima G.J.M.M. 2001.** O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento no Brasil. In: X CONGRESSO ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 2001, Porto Alegre. *Anais do X Congresso ABRAVES*. Porto Alegre: Embrapa Cnpa.
- Schmidt P., Wiedemann V., Kuhlmann R. & et al. 1989.** Chicken egg antibodies for prophylaxis and therapy of infectious intestinal diseases. II. In vivo studies on gastric and enteric digestion of egg yolk antibodies specific against pathogenic *Escherichia coli* strains. *Journal of Veterinary Medicine B*. 36: 619-628.
- Sugita-Konishi Y.S., Shibata K. & Yun S.S. 1996.** et al. Immune functions of immunoglobulin Y isolated from egg yolk of hens immunized with various infectious bacteria. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 60: 886-888.
- Westrom B.R., Ohlsson B.G., Svendsen J. & et al. 1985.** Intestinal transmission of macromolecules (BSA and FITCdextran) in the neonatal pig: enhancing effect of colostrum, proteins and proteinase inhibitors. *Biology of the Neonate*. 47: 349-366.
- Wiedemann V., Linckh E., Kuhlmann R., Schmidt P. & Losch U. 1991.** Chicken for prophylaxis and therapy of infectious intestinal diseases. In vivo studies on protective effects against *Escherichia coli* diarrhea in pigs. *Journal Veterinary Medicine B*. Munchen, 38: 283-291.

Yokoyama H., Peralta R.C., Diaz R., Sendo S., Ikemori Y. & Kodama Y. 1993. Detection of passage and absorption of chicken egg yolk immunoglobulins in the gastrointestinal tract of pigs by use of enzyme-linked immunosorbent assay and fluorescent antibody testing. *American Journal Veterinary Research*. Gifu, 54: 867-872.

Yokoyama H., Peralta R.C., Diaz R., Sendo S., Ikemori Y. & Kodama, Y. 1992. Passive protective of chicken egg yolk immunoglobulins against experimental enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in neonatal piglets. *Infectios and Immunity*. Gifu, 60: 998-1007.

Zúñiga A., Yokoyama H., Albicker-Rippinger P. & et al. 1997. Reduced intestinal colonization with F18-positive enterotoxigenic *Escherichia coli* in weaned pig fed chicken egg antibody against the fimbriae. *FEMS immunology and medical microbiology*. 18: 153-161.

