**Egypt. Poult. Sci. Vol. (41) (II): (429- 437)(2021)** **(2104-1159)**

**Egyptian Poultry Science Journal**

**http://www.epsj.journals.ekb.eg/**

**ISSN: 1110-5623 (Print) – 2090-0570 (Online)**

# التأثير المثبط للاجسام المضادة لصفار بيض الدجاج (IGY) على نمو بكتيريا الاشريشيا كولاى

**جميل عباس احمد المقطري*، محمد عبد الحميد عمر****

*كلية الزراعة جامعة صنعاء-** كلية الزراعة والطب البيطري جامعة ذمار – اليمن

**Corresponding author:** Gameel Abass Al-Maktari Email: Maktary63@gmail.com

Received: 19/04/2021 Accepted: 29/05/2021

**الملخص:**أجريت التجربة لدراسة تأثير الأجسام المضادة (الجلوبيولينات المناعية IgY) المتخصصة المنتجة في صفار البيض ضد بكتيريا الايشريشيا كولاى حيث تم حقن دجاج بياض عند الاعمار ٢٨ ، ٣٠ و٣٢ أسبوع بمستضدات بكتيريا القولون الايشريشيا كولاى الميتة لتحفيزها على أنتاج الأجسام المضادة المتخصصة. جمعت عينات دم من دجاج التجربة قبل وبعد عملية التحصين التجريبية. وجمع البيض المنتج لمدة أسبوعين قبل إجراء عملية التحصين وكذلك جمع البيض المنتج من دجاج التجربة بعد انتهاء عملية التحصين بالمستضدات لمدة ثلاثة أسابيع، وتم عزل الجلوبيولينات المناعية (IgY) المنتجة من صفار البيض المنتج من دجاج التجربة باستخدام طريقة تخفيف الماء. تم تقدير كمية الجلوبيولينات المناعية النقية المنتجة ودراسة تأثيرها ضد بكتيريا الايشريشيا كولاى من خلال تجربة منع النمو (Growth inhibition assay) في المختبر(In-vitro)، حيث استخدمت نفس بكتيريا الايشريشيا كولاى التي استعملت كمستضدات لتحصين دجاج التجربة. تبين من نتائج الدراسة حدوث تفاعل مناعي ايجابي بين الأجسام المضادة المنتجة الموجودة والمستضدات المحضرة من بكتيريا الايشريشيا كولاى عند إجراء اختبار التلازن (Slide Agglutination Test). وتبين أن كمية الأجسام المضادة النقية والتي تم عزلها من صفار البيض في هذه الدراسة تراوحت بين ٠.٠٤-٠.٠٦ جرام/ صفار، كما تبين عدم تأثير الأجسام المضادة المتخصصة المنتجة ضد بكتيريا الايشريشيا كولاى في بيئة الأوساط السائلة خلال الفترة ٠ - ٢ ساعة من التحضين، بينما لوحظ خلال الفترة ٢-٤ ساعات من التحضين اختلاف في معدل نمو بكتيريا الايشريشيا المحضنة مع الأجسام المضادة المتخصصة. ولوحظ بعد مرور ٦ ساعات من التحضين أن معدل نمو بكتيريا الايشريشيا كولاى المحضنة مع الأجسام المضادة المتخصصة قد انخفض وبشكل واضح مقارنة بمعدل نمو البكتريا المتزايد بأوساط المجموعة المقارنة، إذ بلغ لوغاريتم العدد الكلى للبكتيريا 0.2 cfu/ml و 1.2 في الأوساط السائلة المحضنة، وذلك على التوالي. وتناقص معدل نمو بكتيريا الايشريشيا كولاى المحضنة مع الأجسام المضادة المتخصصة بحوالي ٢٠% من معدل نمو البكتريا في المجموعة المقارنة. ولقد استنتج من الدراسة إمكانية انتاج الاجسام المضادة (IGY) المتخصصة ضد الاشريشيا كولاى من صفار بيض الدجاج المحقون في عضلة الصدر على عمر ٢٨ أسبوع ببكتيريا الاشريشيا كولاى، وقدرة وفعالية الاجسام المضادة المتخصصة المستخلصة من صفار البيض على تثبيط نمو الاشريشيا كولاى في الأوساط السائلة في المختبر، كما يمكن ان يكون لهذه الاجسام المضادة القدرة على تخفيض استعمار بكتيريا الاشريشيا كولاى المرضية للخلايا المعوية في الدجاج. إمكانية قطاع الدواجن الاستفادة من استخدام الاجسام المضادة المنتجة في صفار بيض الدجاج في مكافحة الجراثيم المرضية المعدية والتي لا تستجيب او تقاوم بعض المضادات الحيوية. وتوصي الدراسة بعمل المزيد من التجارب لإنتاج الاجسام المضادة المتخصصة لبكتيريا الاشريشيا كولاى ودراسة قدرتها على تثبيط نمو البكتيريا على اغشية أمعاء الدجاج ودراسة إمكانية استخدامها في نطاق تجاري.

**كلمات مفتاحية:** دجاج البيض، الجلوبيولين المناعي لصفار البيض، الاشريشيا كولاى.

## المقــدمة

تعتبر حالات الإصابة ببكتريا الايشريشيا كولاى (Colibacillosis) في الدجاج من أكثر الحالات المرضية المبلغ عنها، على سبيل المثال لاحظ Dinev (2007) إن نسبه 43% من الدجاج اللاحم النافق التي فحصت كانت تحتوي على علامات نتيجة معاناتها من تسمم الدم ببكتيريا القولون Coli-septicemia. تعتبر بكتيريا الايشريشيا كولاى من المسببات المرضية المسئولة عن حدوث خسائر مهمة في قطاع الدواجن Yogaratnam (1995) كما تعتبر من أهم المسببات المرضية المسئولة عن زيادة حدوث حالات الإصابة المرضية والنفوق في أفراخ الدواجن الصغيرة والكبيرة El-Sukhon et al. (2002) وتعد المضادات الحيوية دائماً إحدى الخيارات الأكثر فاعلية للسيطرة على حالات الإصابة ببكتريا الايشريشيا كولاى في الدواجن. كما لوحظ أن بكتريا الايشريشيا كولاى التي عزلت من حقول تربية الدواجن غالبا ما كانت مقاومة لنوع واحد أو أكثر من المضادات الحيوية الشائعة الاستخدام Vandemaede et al. (2002) ونظراً للمخاطر الصحية الناجمة عن شدة الإصاباتِ المرضية التي تسببها بكتريا الايشريشيا كولاى للدواجن والخسائر الاقتصادية المترتبة على ذلك ونتيجة للإفراط في استعمال المضادات الحيوية التي تؤدي إلى ظهور البكتيريا المقاومة، فالحاجة قائمة لإيجاد بدائل جديدة للسيطرة على الاصابة ببكتيريا الاشريشيا كولاى في الدجاج، لذلك استهدفت هذه الدراسة إنتاج الأجسام المضادة (الجلوبيولينات المناعية IgY) المتخصصة ضد بكتيريا الايشريشيا كولاى في صفار البيض من خلال تحصين دجاج بياض (Single comb white layers) بمستضدات بكتيريا الايشريشيا كولاى الميتة ومن ثم عزل وتنقية تلك الأجسام المضادة ودراسة تأثيرها على تثبيط نموء بكتيريا الايشريشيا كولاى في المختبر.

## مــواد وطرق البحث

استخدم في الدراسة ثلاثون دجاجه بياض عمر١٦ أسبوع (Sigle comb white layers) تم الحصول عليها من إحدى مزارع التربية لقطعان الدجاج البياض التابعة لشركه الطاهري للدواجن بمحافظه البيضاء - اليمن. تم ايوائها وتربيتها تربية ارضية قي غرف تابعة لوحده الدواجن ب كلية الطب البيطري، جامعة ذمار. وزودت بمصدر حر للمياه وعلف دجاج بياض تم الحصول عليه من مطاحن الأعلاف التابعة لشركة الفلاح للدواجن.

**تحضير مُستضدات التحصين:** حضرت مستضدات التحصين المتخصصة من بكتريا الايشريشيا كولاى *E.coli* المرضية المعزولة من احد مزارع تربية دجاج اللحم المحلية لتحفيز الدجاج على أنتاج الأجسام المضادة (IgY) ، حيث أخذت مسحات (Swabs) من منطقة الأكياس الهوائية من دجاج لاحم مشكوك في أصابته بحالة Colibacillosis، ومن ثم وضعت المسحات في أنابيب تحتوي على ١٠ مل من محلول ماء البيتون المعقم ورجت الأنابيب لتحرير الجراثيم الملتصقة من العينات وتم تحضينها بدرجة٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة بعد ذلك تم حفظها في الثلاجة عند درجة ٤ م° لحين الاستخدام. تم عزل وتشخيص بكتريا الايشريشيا كولاى وذلك عن طريق القيام بإجراء الزرع البكتيري على الأوساط الانتخابية بحسب (Harrigan, 1976; Swayne et al., 1998 ) واستخدم في عملية الزرع والعزل بيئة مرق الصويا (TSB) وأجار الماكونكي وكذلك الصبغ بصبغة الميثيلين الازق (EMB) لدراسة الخواص المورفولوجية المميزة لمستعمرات الاشريشيا. ثم استنبتت على وسط الاجار المغذي (Slant nutrient agar) وثم حفظة عند درجة ٤ م° كوسط ومصدر خزين لبكتيريا الاشريشيا كولاى لحين الاستخدام (Freeman, 1981) . بإتباع الطريقة التي وصفت من قبل Sunwoo et al. (1996) تم تحضير وإعداد مستضدات التحصين من بكتيريا الايشريشيا كولاى، حيث تم اختيار مستعمرة واحدة إلى ثلاث مستعمرات لبكتريا الايشريشيا كولاى من الوسط النامي المخزن في الثلاجة والمشار إلية أعلاه، وتم ونقلها بواسطة لوب معقم، وإعادة استنباتها في وسط مرق الصويا المجهز. بعد اجراء اختبار النقاوة (Purity) تم القيام بإضافة ٠.٣٦ مليلتر من الفورمالين لكل١٠٠ مل من بيئة الوسط النامي (TSB) لغرض تثبيط نمو خلايا الايشريشيا كولاى النامية، بعد ذلك تم تحضين الوسط الزرعي الذي تم معاملته بالفورمالين عند درجة ٣٧ مْ ولمدة ٢٤ ساعة، وبعد انتهاء فترة التحضين تم القيام بإجراء اختبار التعقيم (Sterility) للتأكد من عدم نمو خلايا جراثيم الايشريشيا كولاى الميتة. بعد ذلك تم إجراء عملية الطرد المركزي بغرض ترسيب خلايا بكتيريا الايشريشيا كولاى الميتة وتم إذابة الراسب المتكون في محلول الفوسفات الفسيولوجي المعقم، وضبط الكثافة البصرية لخلايا الايشيريشيا كولاى الميتة والذائبة في محلول التخفيف عند تركيز $10^9$cfu/ml باستخدام McFarland turbidity standard Method كما وصفت من قبل (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999) ثم خلط كمية من المعلق البكتيري مــع كميه متساوية من المستحلب الزيتي Freund's Incomplete

Adjuvant المجهز من شركة Fisher Scientific، Ontario بنسبه ١/١ (PBs:FIA) خلطا جيدا، وتم توزيعها في أنابيب زجاجية معقمة احكم غلقها وتم حفظها في الثلاجة عند درجة ٤ م° لحين الاستخدام.

**تحصين الدجاج:** تم حقن سبع دجاجات بياضه عند عمر ٢٨ أسبوع في منطقة عضلة الصدر بالمستضدات المحضرة من بكتيريا الايشريشيا كولاى المرضية بجرعة مل/ دجاجة ($10^9$cfu/ml of PBS emulsified with FIA at a ratio of 1:1v/v) موزعة في أربع مناطق مختلفة من عضلة الصدر وبمعدل ٠.٢٥ مل في كل منطقة (الجهة اليمنى واليسرى من عضلة الصدر)، وتم إعادة حقن الدجاج بعد ١٤ و ٢٨ يوم من الحقنة الأولى حسب ماذكره Sunwoo et al. (1996)

**جمع البيضِ :** تم جمع البيض الناتج من دجاج التجربة على فترتين ،الفترة الأولى قبل عملية الحقن بالمستضدات، عند عمر٢٦ و٢٧ أسبوع وأطلق علية بيض المجموعة المقارنة وتم حفظة في الثلاجة عند درجه٤ م°، الفترة الثانية تم فيها جمع البيض من الدجاج المحقون بعد انتهاء عملية الحقن التجريبي بالمستضدات، ولمدة ثلاثة اسابيع بداء من إنتاج اليوم السابع بعد آخر تحصين وتم تعليمة يوم بيوم وبشكل منفصل وحفظة في الثلاجة عند درجه ٤ م° لحين الاستخدام وكما هو موضح في الجدول (١).

**جمع عينات الدم :** جمعت عينات دم من دجاج التجربة قبل عملية الحقن وبعد الانتهاء من عملية الحقن بالمستضدات التجريبية من منطقة وريد الجناح، وتم فصل المصل منها وحفظة في الثلاجة لحين الحاجة كما تم القيام بتحضير المستضد O-antigen من بكتيريا الايشريشيا كولاى باستخدام الطريقة التي وصفت من قبل Harrigan (1976) وتم الكشف عن الاستجابة المناعية في عينات المصول بواسطة اختبار التلازن بالشريحة Slide Agglutination Test كما تم وصفه من قبل Health Protection Agency (2004).

**عزل وتنقية الاجسام المضادة:** تم القيام بعزل الأجسام المضادة (IgY) المنتجة من صفار البيض المنتج من مجاميع الدجاج التجريبي في هذه الدراسة باستخدام طريقة التخفيف بالماء (Akita & Nakai, 1993)، وتم تنقية الأجسام المضادة باستخدام طريقة الترسيب بكبريتات الأمونيوم كما تم وصفة من قبل Losso et al. (1998)، وقدرت كمية الأجسام المضادة النقية المنتجة من صفار البيض باستخدام الطريقة التي وصفت من قبل Roe (2001) كما هو موضح في جدول (١) وتمت القراءة باستخدام المطياف الضوئي (Spectrophotometer) عند طول موجي 280 nm.

**دراسة تأثير الأجسام المضادة IgY على نمو بكتيريا الايشيريشيا كولاى :** لتقييم تاثير الاجسام المضادة النقية والتي تم عزلها من صفار البيض المنتج من دجاج التجربة على تثبيط نمو جراثيم الاشريشيا كولاى المرضية تم اجراء تجربة منع النمو (Growth inhibition assay) في بيئة الأوسط السائلة (TSB) في المختبر حسب الطريقة التي وصفت من قبل (Lee et al. (2002).

## النتـائـــج والمناقشة

تبين النتائج الموضحة في الجدول (١) حدوث تفاعل مناعي ايجابي بين الأجسام المضادة المنتجة الموجودة في مصول مجموعة الدجاج المحصن بمستضدات الايشريشيا كولاى (Post-immune sera) والمستضدات المحضرة من بكتيريا الايشريشيا كولاى وبمستوى عالي85.7% مقارنة بالمستوى المنخفض عند الكشف عنها في عينات المصول المعدة من دجاج المجموعة قبل عملية التحصين (Pre-immunesera) مما يدل على نجاح الطريقة المتبعة في الحث على إنتاج الأجسام المضادة (IgY) المتخصصة ضد بكتيريا الايشريشيا كولاى المرضية للدجاج والتي عزلت محليا و استعملت على هيئة خلايا كاملة ميتة تم خلطها مع المستحلب الزيتي (Freund's Incomplete Adjuvant). وتتفق النتائج التي حصلنا عليها في هذا الدراسة مع ما أشير إليه من قبل الباحثون Larsson et al. (1993); Schade et al. (1997); Li et al. (1998) (Shin et al. (2003); Sim and Sunwoo 2004 and Chacana et al. (2004) حيث لاحظوا من خلال النتائج التي حصلوا عليها انه تم تحفيز الدجاج البياض التجريبي على إنتاج الأجسام المضادة المتخصصة ضد نفس المستضد الذي استخدم في عملية التحصين، كما أشاروا إلى انه يتطلب عند استخدام الدجاج البياض لغرض تحفيزه على إنتاج الأجسام المضادة (IgY) المتخصصة بان تكون الطريقة المتبعة في عملية تحصين الدجاج طريقة عملية وفعالة وان عدد 3 مرات من الحقن بالمستضدات هي المطلوبة وذلك للمحافظة على إنتاج الأجسام المضادة المتخصصة في صفار البيض بكميات وفعالية عالية ضد نفس ذلك المستضد الذي استخدم في تحصين الدجاج. أوضحت النتائج في جدول (٢) تراوح كمية الصفار التي تم الحصول عليها من البيض المنتج من دجاج التجربة بين ١٢.٢- ١٤.٢ مل/ بيضة. وكانت الأجسام المضادة

(IgY) النقية المتحصل عليها من صفار البيض بين 2.8 - 4.3 مليجرام / مل من الصفار الاشكال (١) و (٢)، وتراوح متوسط كمية الأجسام المضادة (IgY) النقية الحاصل عليها من صفار البيضة الواحدة بين 0.04 - 0.0٦ جرام/ صفار. تتوافق هذه النتائج إلى حد قريب مع ما أُشير إليه من قبل الباحثون Losch et al. (1986) and Sunwoo et al. (1996) في دراساتهم حيث وجدوا أن متوسط كمية الأجسام المضادة (IgY) التي حصلوا عليها من صفار البيض الواحدة تراوحت بين 0.05 -0.01جرام/ صفار، كما أنها متوافقة مع ما أشار إلية الباحثان Gazim and Irena (2003)، حيث وجدوا ضمن نتائج دراستهم أن متوسط كمية الأجسام المضادة (IgY) المنتجة من صفار البيض الواحدة تقدر بحوالي 0.06 جرام/ صفار. كما لوحظ أنها كانت مقاربة مع أشار إلية الباحثون Schade et al. (2005) ضمن نتائج دراستهم حيث لاحظوا أن متوسط كمية الأجسام المضادة (IgY) التي حصلوا عليها من صفار البيض تراوحت بين0.05-0.08 جرام/ صفار. وربما يرجع الاختلاف في معدل كمية الأجسام المضادة (IgY) التي تم الحصول عليها من صفار البيض في هذه الدراسة إلى اختلاف الطرق والتقنية التي استخدمت في عملية عزل وتنقية الأجسام المضادة (IgY) من صفار البيض، وكذلك الاختلاف في حجم صفار البيض (اختلاف أوزن البيض) المنتج من الدجاج وإلى اختلاف مستوى كمية الأجسام المضادة (IgY) الموجودة فعليا في صفار البيض المنتج من الدجاج. تبين النتائج الموضحة في الشكل (٣) عدم تأثير الأجسام المضادة المتخصصة وغير المتخصصة تجريبيا على معدل نمو بكتيريا الايشريشيا كولاى في الأوساط السائلة المحضنة خلال الفترة 0-2 ساعة من التحضين، لوحظ بعد ذلك خلال الفترة 2- 4 ساعات من التحضين اختلاف في معدل نمو بكتيريا الايشريشيا كولاى المحضنة مع الأجسام المضادة المتخصصة مقارنة بمعدل نمو البكتيريا المتزايد بأوساط مجموعة السيطرة ، إذ بلغ لوغاريتم العدد الكلى لبكتيريا الايشريشيا كولاى 0.6 cfu/ml و 1.0 في الأوساط السائلة المحضنة، على التوالي. لوحظ بعد مرور فترة 4 ساعات من التحضين أن معدل نمو بكتيريا الايشريشيا كولاى المحضنة مع الأجسام المضادة المتخصصة انخفض وبشكل واضح مقارنة بمعدل نمو البكتريا المحضنة بعينات مجموعة السيطرة، إذ بلغ لوغاريتم العدد الكلى للبكتيريا 0.2 cfu/ml و1.2 في الأوساط السائلة المحضنة وذلك على التوالي. وبمقارنة الاختلاف في معدل نمو بكتيريا الايشريشيا كولاى cfu/ml بين المجموعتين، وجد أن معدل نمو بكتيريا الايشريشيا كولاى المحضنة مع الأجسام المضادة المتخصصة ضد الايشريشيا كولاى كان ادني بمقدارcfu/mL 1.0 من معدل نمو البكتريا بأوساط مجموعة السيطرة وذلك بعد مرور فترة 6 ساعات من التحضين، ومن ذلك يتبين أن الأجسام المضادة النقية المنتجة من صفار البيض المنتج من الدجاج المحصن بمستضدات الايشريشيا كولاى لها القدرة على تثبيط نمو نفس عتره بكتيريا الايشريشيا كولاى المرضية في بيئة الأوساط السائلة وهذا يتوافق مع ما أُشير إليه من قبل الباحثون Lee et al. (2002) and Sunwoo et al. (2002) ضمن النتائج التي توصلوا اليها حيث وجدوا أن الأجسام المضادة المتخصصة المنتجة من صفار البيض المنتج من الدجاج البياض المحصن بالمستضدات المحضرة من بكتيريا الايشريشيا كولاى لها القدرة على تثبيط نمو نفس عتره البكتيريا المرضية في بيئة الأوساط السائلة (TSB) في المختبر.

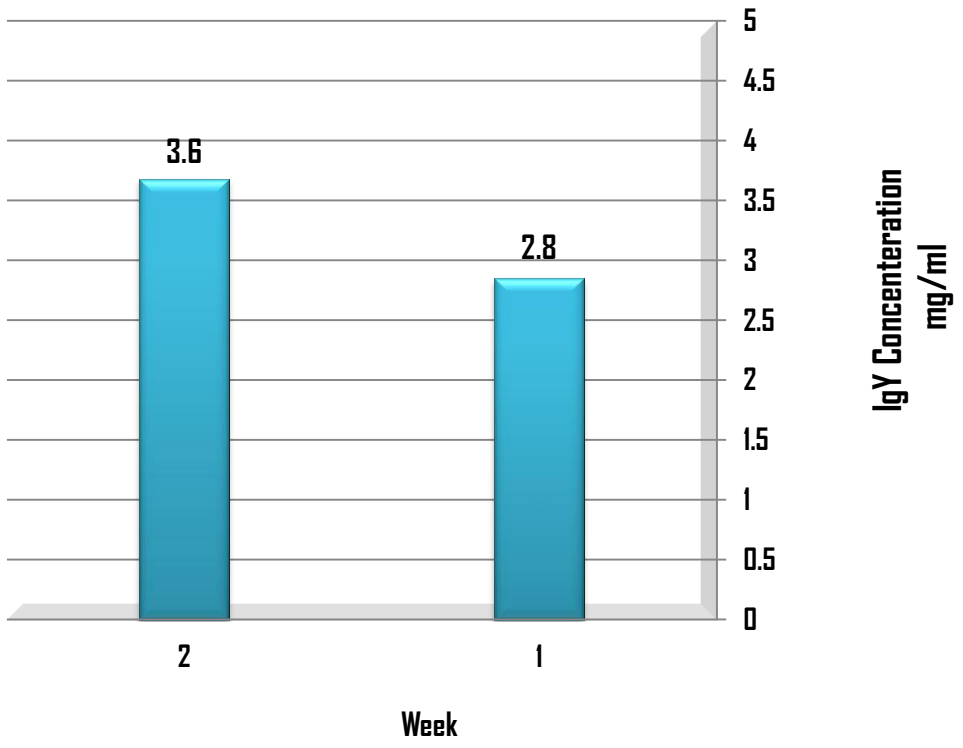
**جدول(١) :**الأجسام المضادة للايشريشيا كولاى في مصول الدجاج قبل وبعد عملية التحصين التجريبية.

| عينات المصول | مجموعة الايشريشيا كولاى/ مصول بعد التحصين (Post-immune sera) | مجموعة الايشريشيا كولاى/ مصول قبل التحصين (Pre-immune sera) |
|---|---|---|
| 1 | + | + |
| 2 | + | - |
| 3 | + | + |
| 4 | - | - |
| 5 | + | - |
| 6 | + | - |

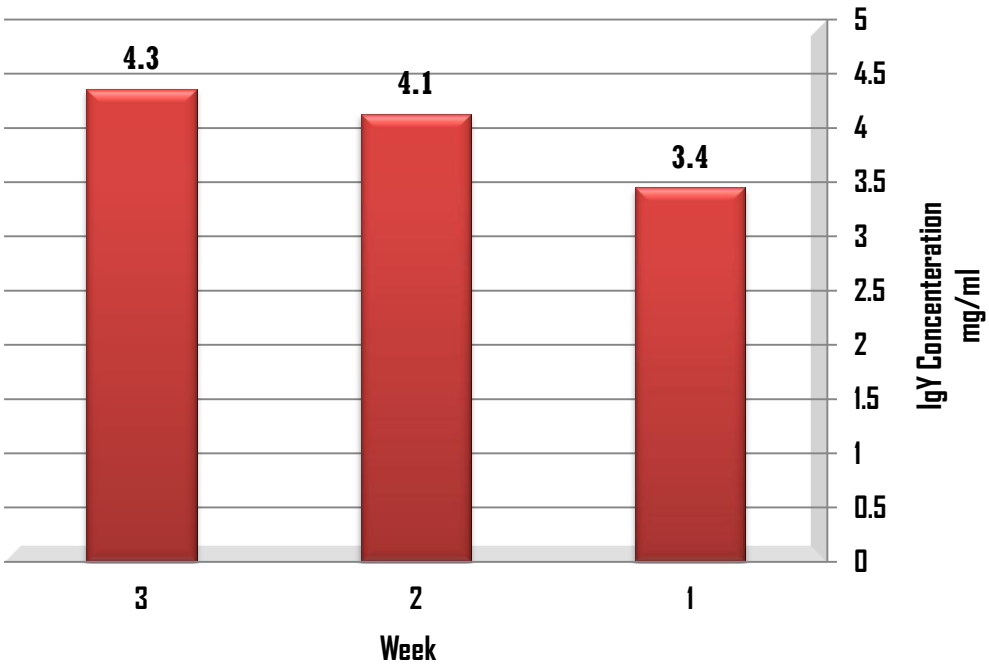
**جدول (٢):** الأجسام المضادة (IgY) النقية المتحصل عليها من صفار البيض

| المجموعة | صفار البيض | | عدد الصفار | كمية الصفار/بيضة (مل) | كمية صفارIgY/ (جرام) |
|---|---|---|---|---|---|
| | فترة الحصول عليه من دجاج التجربة | العمر عند الجمع/أسبوع | | | |
| المقارنة | قبل التحصين | 26 | 18 | 13.4 | 0.04 |
| | | 27 | 18 | 12.2 | 0.04 |
| الايشريشيا كولاى | بعد التحصين | 33 | 9 | 12.4 | 0.04 |
| | | 34 | 9 | 13.0 | 0.05 |
| | | 35 | 9 | 14.2 | 0.06 |

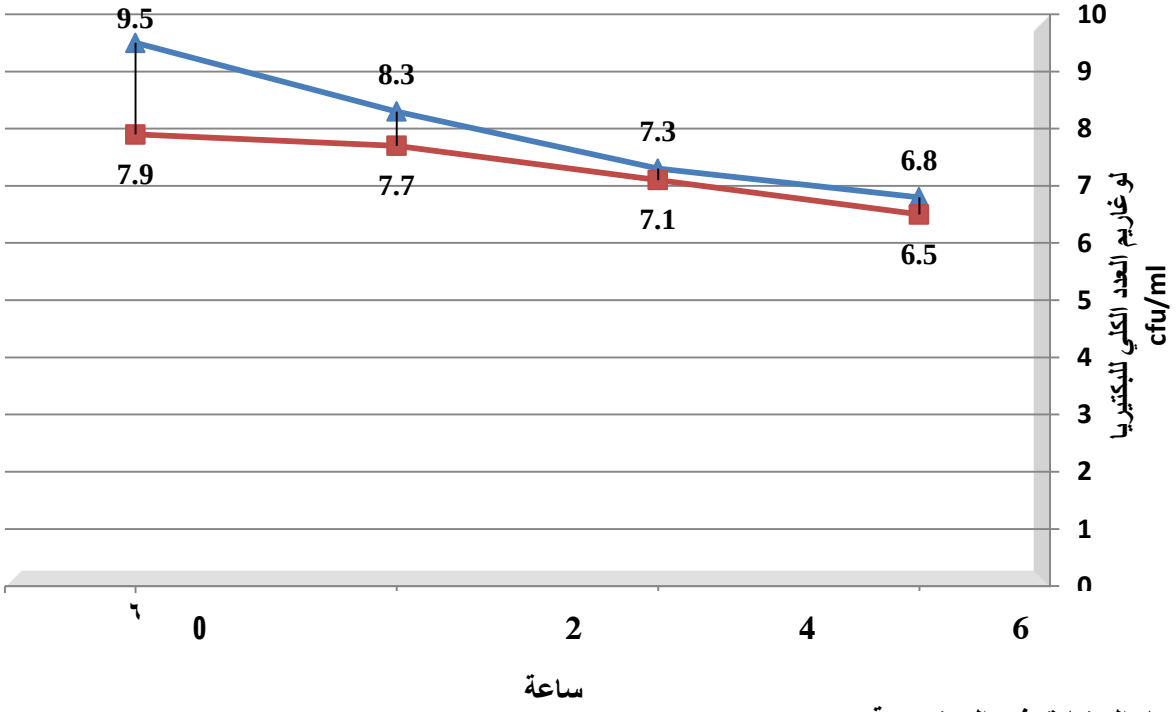
**شكل (١):** تركيز الأجسام المضادة (IgY) النقية المتحصل عليها من صفار البيض المنتج قبل عملية التحصين



**شكل (2):** تركيز الأجسام المضادة (IgY) النقية المتحصل عليها من صفار البيض المنتج بعد عملية التحصين




**شكل (٣) :**تأثير الأجسام المضادة (IgY) المتخصصة وغير المتخصصة على نمو بكتيريا الايشريشيا كولاى



## REFERENCES


**Akita, E.M. and S. Nakai, 1993.** Comparison of four purification methods for the production of immunoglobins from eggs laid by hens immunized with an enterotoxigenic *E. coli* strain, *Journal of Immunological Methods*, 160: 207-214.

**Chacana, P.A., H. R. Terzolo, R. Schade, A. J. Furowicz and J. Borkowski, 2004**. Utilization of egg yolk antibodies, *Advances in Agricultural Sciences*, 9:7-17.

**Dinev, I. 2007**. Diseases of poultry, 1st ed., Ceva Sante Animal. El- Sukhon, S. N., A. Musa and M. Al-Attar, 2002. Studies on the bacterial etiology of airsaculitis of broiler in northern and middle Jordan with special reference to Escherichia coli Ornithobacterium rhinotracheal and Bordetella avium. *Avian Diseases*, 46: 605 612.

**Freeman, W.H., 1981.** Microbes in action, a laboratory manual of microbiology, 3rd ed., published in the United States. New York and Oxford Rights, ISBN: 977-1475-32-0.

**Gazim, B. and J. Irena, 2003**. Production and purification of IgY from egg yolk after immunization of hens with pig IgG. Institute of immunology, Vilnius University, Lithuania, Bulletin Veterinary Institute, Puawy.47: 403-410.

**Harrigan, W.F. 1976,** Laboratory method in food microbiology department of food science, University of Reading, England. Textbook, ISBN;0 12 326040 X.

**Health Protection Agency, 2004.** Agglutination test, national standard method BSOP, TP3 Issue1, P.1-9.http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdf-sops.asp.

**Larsson, A., R. Balow, T.L. Lindahl and P. Forsberg. 1993.** Chicken antibodies: Taking advantage of evolution, A review, *Journal of Poultry Science*, 72:1807-1812.

**Lee, E.N., H.H. Sunwoo, K. Menninen and J.S. Sim, 2002.** In vitro studies of chicken egg yolk antibody (IgY) against *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. *Journal of Poultry Science*, 81:632–641.

**Li, X; T. Nakano, H. H. Sunwoo, B.H. Paek, H.S. Chae and J.S Sim, 1998.** Effects of egg and yolk weights on yolk antibody (IgY) production in laying chickens. *Poultry Scince*, 77:266-270.

**Losch, Y., I. Schranner, R. Wanke and L. Jurgens, 1986.** The chicken egg yolk antibody source. *Journal of Veterinary Medicine*, 33: 609-619.

**Losso, J.N., E. M. Akita, H. Kim and S. Nakai, 1998**. Immunoglobulin from egg yolk: property, isolation and application. *Journal of Food and Agricultural Immunology*, 10:47-56.

**National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, ninth informational supplement, Wayne, Pennsylvania: NCCLS; document M100-S9.

**Roe, S. 2001.** Protein purification techniques, a practical approach, 2nd ed. Oxford University Press, United States, ISBN 0 19 9636745(HbK). pp: 112 - 132.

**Schade, R; C. Staak, C. Hendriksen, M. Erhard, H. Hugl, G. Koch, A. Larsson, W. Pollmann, M. Regenmortel, B. Rike, H. Spielmann, H. Steinbusch and D. Straughan, 1997**. The production of avian egg yolk antibodies. The report and recommendations of european centre for the validation of alternative methods (ECVAM), ATLA, 24: 925-934.

**Schade, R; E.G. Calzado, R. Sarmiento,P.A. Chacana, J.P. Asplund and H.R. Terzolo. 2005.** Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): A review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine. *Altern laboratory animal*, 33: 129-154

**Shin, S.O., D.K. Kim, S.Y. Yang, T.Y. Ahn, and J.W. Kim. 2003**, Production and characterization of egg yolk antibodies (IgY) against flagella antigen of Salmonella sp. *Korean Journal of Poultry Science*, 30: 191-196.

**Sim, J.S. and H.H. Sunwoo, 2004.** Egg antibody farming and IgY technology for food and biomedical applications. *Korean Journal of Poultry Science*, 31: 37- 44.

**Sunwoo, H.H; T. Nakano, W.T. Dixon and J.S Sim, 1996.** Immune responses in chickens against lipopolysaccharide of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium. Journal of Poultry. Scince*, 75: 342-345.

**Sunwoo, H.H; E.N. Lee, K. Menninen, M.R. Suresh and J.S. Sim, 2002.** Growth inhibitory effect of chicken egg yolk antibody (IgY) on *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Science*, 67: 1486–1494.

**Swayne, D. E., J. R. Chairman, M.W. Glisson , E.P. Jackwood, M.R. Willie, 1998.** A laboratory manual for the isolation and identification of avian Pathogens, 4th ed., American association for avian pathologists, USA.

**Vandemaele, F., A. Assadzadeh, J. Derijcke, M. Goddeeris,2002.** Incidence and antibiotic resistance of pathogenic Escherichia coli among poultry in Belgium. *Veterinary Record*, 151:355-356

**Yogaratnam, V. 1995.** Analysis of the cases of high rates of cacase rejection at a poultry processing plant. *Veterinary Record*, 137:215-217

# INHIBITION EFFECT OF CHICKEN EGG YOLK ANTIBODIES (IGY) ON ESCHERICHIA COLI GROWTH

***Gameel Abass Al-Maktari - **Mohammad Adul Hamid Omar**
* Fac.of Agric., Sana'a Uni. - ** Fac.of Agric. and Vet.Med., Dhamar Uni. - Yemen

**ABSTRACT:**To investigate the growth inhibition effect of the specific egg yolk antibodies produced against *E. coli*. Laying hens were intramuscularly injected at the age of 28-30-32 weeks with inactivated *E. coli* antigen to activate them to produce IgY antibodies. Blood samples were collected pre and post immunization. The eggs produced were collected for two weeks pre immunization and for three weeks post immunization. IgY antibodies were isolated from egg yolks with water dilution method and produced IgY was purified with ammonium sulfate precipitation method. In order to evaluate the inhibition effect of the produced IgY on *E. coli* growth, the experiment of growth inhibition assay was carried out in–vitro using the same *E. coli* pathogens used to immunize experimental hens. A positive reaction detected between produced antibodies existed in the serum samples and O-antigens prepared from *E. coli* by Slid Agglutination Method. The total quantity of IgY isolated from egg yolk in this study ranged between 0.04 - 0.06 g/ egg yolk. No effect detected on the rate of bacterial growth through 0-2 hours of incubation period. The growth rate of *E. coli* incubated with the specific IgY inhibited through the period 2-4 hours of incubation comparing with that incubated with non-specific IgY in the liquid medium. The log of the total number of *E. coli* was 0.6 and 1.0 cfu/ml respectively. It has been noticed that after 6 hours of incubation the growth rate of *E. coli* incubated with specific IgY has been reduced remarkably in comparison with that incubated with non specific IgY. The log of the total number of bacteria incubated with specific and non specific IgY was 0.2 and 1.2 cfu/ml respectively. The growth of *E. coli* incubated with specific IgY was twenty present less than the bacterial growth rate of the control group. It is concluded that the possibility of producing specific antibodies (IGY) against *E.coli* from the egg yolk of laying hens injected into the chest muscle at the age of 28 weeks with *E. coli* and the ability and effectiveness of specific antibodies extracted from egg yolk to inhibit the growth of *E. coli* in liquid media. In addition, these specific antibodies may have the ability to reduce colonization of pathogenic *E. coli* into laying hens intestinal membranes. The possibility of taking advantage of the use of antibodies produced in the egg yolk of laying hens in controlling the diseases that do not respond or resist some antibiotics. The study recommends conducting more experiments to produce specific antibodies against *E. coli* and studying their effect in inhibiting the growth of *E. coli* on the intestinal membranes of chickens and studying the possibility of using them in commercial scale.

**Key words**: Chicken, Egg yolk antibody, Escherichia coli.