



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

Nicholas Mendes de Paula

**UMA REVISÃO NARRATIVA SOBRE CARACTERÍSTICAS, MÉTODOS DE  
PRODUÇÃO, APLICABILIDADES MÉDICAS E USO EXPERIMENTAL DA  
IMUNOGLOBULINA Y**

Florianópolis

2021

Nicholas Mendes de Paula

**UMA REVISÃO NARRATIVA SOBRE CARACTERÍSTICAS, MÉTODOS DE  
PRODUÇÃO, APLICABILIDADES MÉDICAS E USO EXPERIMENTAL DA  
IMUNOGLOBULINA Y**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação  
em Farmacologia da Universidade Federal de Santa  
Catarina para a obtenção do título de mestre em  
Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Spiller  
Coorientador: Prof. Dr. Caio Cotta Natale

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração automática da Biblioteca Universitária da UFSC

Paula, Nicholas Mendes de  
UMA REVISÃO NARRATIVA SOBRE CARACTERÍSTICAS, MÉTODOS DE PRODUÇÃO, APLICABILIDADES MÉDICAS E USO EXPERIMENTAL DA MUNOGLOBULINA Y / Nicholas Mendes de Paula ; orientador, Fernando Spiller, coorientador, Caio Cotta Natale, 2021.  
89 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. Imunofarmacologia. 3. Imunologia. 4. IgY. 5. Anticorpo Aviário. I. Spiller, Fernando . II. Natale, Caio Cotta. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. IV. Título.

Nicholas Mendes de Paula

**Uma revisão narrativa sobre características, métodos de produção, aplicabilidades  
médicas e uso experimental da imunoglobulina Y**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora  
composta pelos seguintes membros:

Dr. Daniel de Oliveira Patrício

Fiocruz – Paraná

Prof. Dr. Juliano Ferreira

Departamento de Farmacologia – UFSC

Dra. Adara Áurea dos Santos

CIEnP

Dr. Edroaldo Lummertz da Rocha

Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia – UFSC

Certificamos que esta é **a versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado  
adequado para obtenção do título de mestre em Farmacologia.

---

Prof. Dr. Rui Daniel Schröder Prediger

Coordenação do Programa de Pós- Graduação

---

Prof. Dr. Fernando Spiller

Orientador

Florianópolis, 2021

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais Marcio e Glaucia pelo carinho, atenção e por sempre me apoiarem minhas escolhas. Esta dissertação é a prova de que os esforços deles pela minha educação não foram em vão e valeram a pena.

Sou grato ao meu orientador Dr. Fernando Spiller pelo apoio técnico prestado durante todo o desenvolvimento do projeto.

Aos amigos do laboratório Rodrigo, Priscila, Lucas e Cris que me receberam maravilhosamente bem e ao meu Coorientador Caio Natale.

Aos membros do Laboratório Lidi pela amizade e todo aprendizado proporcionado.

A toda minha família. Em especial as minhas tias Natiélia e Alciléa e as minhas primas Bárbara, Andressa e Cíntia pela amizade, companheirismo e por sempre estenderem as mãos quando eu precisei.

Aos meus velhos amigos Arthur, Magno, Lucas, Mauricio, Vitória e Keren que me apoiaram a seguir no mestrado e aqueles que o departamento me proporcionou: Weilher, Marick, Leticia, Thander, Karolina e Juliana. A amiga Dra. Adara que me auxiliou durante a escrita e no desenvolvimento deste projeto. Aos colegas de profissão, médicos-veterinárias Thaisa, Laura, Ana Paula, Gisele e Loren.

Ao Departamento de Farmacologia e a Universidade Federal de Santa Catarina bem como os professores que em aula contribuíram com o crescimento da turma e seus servidores que de forma fundamental matem o funcionamento da instituição.

Aos meus professores da Graduação Dra. Yolanda Loyola, Msc. Esp. Daniele Rankel pelo estímulo, apoio e amizade.

Aos professores que compõem a banca, do qual aceitaram contribuir para a melhora deste trabalho bem como avaliar a dissertação desenvolvida.

As instituições de fomento à pesquisa que tem lutado pela sobrevivência mediante tanta perseguição, sucateamento e desmoralização promovida pelo negacionismo do então desgoverno Bolsonaro.

A todos os outros que diretamente ou indiretamente contribuíram na minha formação acadêmica, desde a graduação até a conclusão do mestrado.

Obrigado!

*It's not about how many times you get  
rejected or you fall down or you're beaten up.  
It's about how many times you stand up and  
are brave and you keep on going.*

Lady GaGa

## RESUMO

A IgY é um anticorpo presente em aves, reptéis e peixes pulmonados. Devido a sua estrutura e função, a IgY é análoga à IgG em mamíferos. A IgY possui um papel importante na resposta imunológica humoral frente a antígenos, imunizações e doenças infecciosas ou inerente a corpos estranhos. Diferente da IgG de mamíferos que é encontrado no sangue dos animais, o IgY está na gema de ovos facilitando sua extração e minimizando o sofrimento de animais de experimentação. Desde a sua descoberta, pesquisadores vem desenvolvendo trabalhos a fim de que essa proteína possa ser administrada como método de imunidade passiva para tratar doenças em animais e seres humanos. Sua introdução como ferramenta terapêutica minimizaria efeitos adversos, como descrito nas drogas convencionais, além de diminuir o surgimento de populações de microrganismos resistentes aos antimicrobianos. A IgY pode ser utilizada em ensaios imunológicos como ELISA, Western Blot, imunoprecipitação e imuno-histoquímica. Em comparação com a IgG, a IgY apresenta-se como uma melhor opção, já que a porção Fc da IgY não interage com os receptores da porção Fc de células de mamíferos, resultando em maior qualidade nos exames e experimentos. A IgY pode ser empegada para imunidade passiva, como ocorre na produção de soro para tratar acidentes ofídicos. A IgY, também tem provado seu potencial no combate a infecções causadas por vírus, bactérias e fungos, assim como para diagnóstico dessas infecções. Além disso, a IgY tem demonstrado sua efetividade como conservante. O objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão narrativa sobre os estudos envolvendo a IgY aviária, com foco na sua estrutura, funcionalidade e aplicabilidades. Mediante aos achados concluímos que a IgY é uma ferramenta com efeitos terapêuticos importante e capaz de combater enfermidades, ser utilizada como diagnóstico, em imunoenaios com segurança.

**Palavras-chave:** IgY. Imunoglobulina aviária. Anticorpo monoclonal. Imunidade passiva. Ensaio imunológicos.

## ABSTRACT

IgY is an antibody present in birds, reptiles and lungfish. In birds, this antibody is analogous to IgG in mammals. The IgY has an important humoral immunologic role in response to antigens, immunizations and diseases. Unlike mammalian IgG, which is extracted from the blood of these animals, IgY is found mainly in egg yolks, from where we can extract, thus minimizing the suffering of experimental animals. Since it was discovered, scientists has been developing research in this area to use as a method of passive immunity to treat diseases in animals and humans. The introduction of IgY as a therapeutic tool would minimize adverse effects that occurs in conventional drugs, in addition, it can reduce the emergence of microorganisms resistant to antimicrobials. The IgY can be used in immunological assays such as ELISA, Western Blot, immunoprecipitation and immunohistochemistry. Compared to IgG, IgY is a better option, because the Fc portion of IgY does not interact with the receptors of the Fc portion of mammalian cells, resulting in higher quality in tests and experiments. IgY can be used for passive immunity, as it happens in serum production to treat snakebite accidents. IgY has also proven its potential in treatment of infections caused by virus, bacteria and fungi as well as for diagnostic purpose in these infections. The aim of this work was to carry out a literature review on studies involving avian IgY, focusing on its structure, functionality and applicability. Based on the findings, we concluded that IgY is an important and safe technology and can be used as therapeutic tool to fight diseases, diagnosis and immunoassays.

**Keywords:** IgY. Avian immunoglobulin. Monoclonal antibody. Passive immunity. Immunologic assays.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Distribuição dos órgãos linfoides no corpo humano .....	16
Figura 2 –	Processo de maturação e ativação do LT para imunidade adaptativa celular .....	17
Figura 3 –	Processo de maturação e ativação do LB para imunidade adaptativa humoral .....	18
Figura 4 –	Diferença entre Imunidade ativa e imunidade passiva pelo uso da IgY	20
Figura 5 –	Peça anatômica da Bursa de Fabricius .....	26
Figura 6 –	Distribuição de órgãos linfoides de galinhas .....	26
Figura 7 –	Representação gráfica em ordem cronológica sobre a IgY .....	28
Figura 8 –	Representação gráfica de publicações relacionadas a IgY entre 1956 e 2021 .....	29
Figura 9 –	Transferência de imunoglobulinas para os ovos por via transovariana	30
Figura 10 –	Características estruturais da IgY e IgG .....	31
Figura 11 –	Aplicação de injetáveis em frango .....	40
Figura 12 –	Componentes presentes na gema .....	42
Figura 13 –	Ilustração da utilização da IgY na saúde humana e veterinária .....	44
Figura 14 –	Ilustração do SARS-CoV-2 .....	48
Figura 15 –	Bloqueio da ligação entre SARS CoV-2 e ACE2 .....	49
Figura 16 –	Visualização de IgY agindo sobre bactérias que causam periodontites em microscopia eletrônica de transmissão .....	51
Figura 17 –	Inibição do crescimento fúngico na presença da IgY anti-Candida albicans e IgY anti-Candida glabrata em material de prótese dentária	53
Figura 18 –	Configuração tridimensional da proteína de Fel d 1 .....	56
Figura 19 –	Configuração tridimensional da proteína de Fel d 1 neutralizada por duas IgY .....	57
Figura 20 –	Gel de eletroforese para detecção da imunoglobulina por peso molecular .....	60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Características do Trato Gastrointestinal relacionada a degradação de Imunoglobulinas .....	34
Tabela 2 –	Características e diferenciais entre IgY e IgG .....	35
Tabela 3 –	Grupos de métodos de purificação de IgY .....	43
Tabela 4 –	Experimentos com atividade antibacteriana da IgY .....	50
Tabela 5 –	IgY para diagnóstico .....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AC – Anticorpo(s)
- APC – Célula apresentadora de antígeno
- BCA – Aminoácidos de cadeia ramificada (branched chain amino acids)
- BRV – Rotavírus Bovino
- BVDV – Vírus da diarreia viral bovina
- CPV-2 – Parvo vírus canino
- DC – Doença celíaca
- EFB – Proteína de ligação no fibrinogênio (do inglês fibrinogen binding protein)
- ELISA – Ensaio imunoenzimático
- FCA – Adjuvante completo de Freund
- H1N1 – Variação da espécie de vírus causador da influenza A, causador da gripe suína
- H5N1 – Variação da espécie de vírus causador da Influenza aviária A
- H5N2 – Variação da espécie de vírus causador da influenza aviária A
- HA ou H - Hemaglutinina
- HAV – Vírus da Hepatite A
- HLD – Lipoproteína de alta densidade
- IFA – Adjuvante incompleto de Freund
- Ig – Anticorpo / Imunoglobulina
- IgA – Anticorpo ou imunoglobulina do isotipo A
- IgD – Anticorpo ou imunoglobulina do isotipo D
- IgE – Anticorpo ou imunoglobulina do isotipo E
- IgG – Anticorpo ou imunoglobulina do isotipo G
- IgM – Anticorpo ou imunoglobulina do isotipo M
- IgY – Anticorpo ou imunoglobulina do isotipo Y
- IL-1 $\beta$  – Interleucina 1 beta
- IM – Intramuscular
- kDa – Kilo Dalton
- LB – Linfócito B
- LT – Linfócito T
- LDL – Lipoproteína de baixa densidade
- MAB – Anticorpo monoclonal

mg – miligrama (s)  
Min – minuto  
ml – mililitro (s)  
NA ou N - neuraminidase  
NaCL – Cloreto de Sódio  
°C – Grau(s) célsius  
OLP – Órgão linfoide primário  
OLS – Órgão linfoide secundário  
PBS – Tampão fosfato salino  
PEG - Polietilenoglicol  
pH – Potencial de Hidrogênio  
RNA – Ácido Ribonucleico  
RPM – Rotação por minuto  
SARA – Síndrome da angustia respiratória sistêmica  
SC – Subcutâneo  
SDS-PAGE – Sódio Dodecil Sulfato – Eletroforesse em Gel de Poliacrilamida  
SEB – Enterotoxina estafilocócica B (do inglês “Staphylococcal enterotoxin B”)  
TNF – Fator de necrose tumoral  
UFC – Unidade formadora de colônia  
WB – Western Blot  
µg – Micrograma (s)  
µL- Microlitro (s)

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. OBJETIVOS.....	21
2.1 Objetivo Geral.....	21
2.2 Objetivos Específicos.....	21
3. METODOLOGIA.....	22
3.1 METODOLOGIA DA REVISÃO .....	22
3.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL .....	23
4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	25
4.1 SISTEMA IMUNE DAS AVES.....	25
4.2 HISTÓRIA DA IMUNOGLOBULINA Y E ATUAL INTERESSE CIENTÍFICO .....	27
4.3 TRANSFERÊNCIA DA IgY PARA OS OVOS .....	29
4.4 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS.....	31
4.4.1 pH e ponto isoelétrico .....	32
4.4.3 Administração de anticorpos oralmente em mamíferos .....	33
4.5 VANTAGENS DA IGY RELACIONADA A IGG DE MAMÍFEROS.....	35
4.5.1 Vantagens da IgY em imunoenaios.....	36
4.5.2 Vantagens econômicas.....	37
4.5.3 Vantagens ética de bem-estar animal.....	37
4.6 PRODUÇÃO DE IGY POLICLONAL EM GALINHAS .....	38
4.6.1 Criação de galinhas para produção de IgY .....	38
4.6.2 Tipos de antígeno e associações com adjuvantes na imunização .....	39
4.6.3 Aplicação do antígeno.....	39
4.6.4 Rota de imunização e titulação de anticorpos.....	40
4.6.5 Conteúdo e composição das gemas.....	41
4.6.6 Isolamento da proteína.....	42
4.7 APLICABILIDADES MÉDICAS DA IGY.....	43
4.7.1 Atividade antiviral .....	44
4.7.1.1 – SARS-CoV-2 .....	47
4.7.2 Atividade antibacteriana .....	49
4.7.3 Atividade antifúngica.....	52
4.7.4 Acidentes com cobras e escorpiões.....	53
4.7.5 Utilização para controle de obesidade .....	54
4.7.6 Atividade antitumoral .....	54

4.7.7 Rinite alérgica .....	55
4.7.8 Aplicabilidade da IgY para diagnóstico.....	58
4.7.9 IgY em doenças celíacas .....	59
5 RESULTADO EXPERIMENTAL.....	60
6 DISCUSSÃO .....	61
7 CONCLUSÃO.....	64
8 PERSPECTIVAS E ABORDAGENS FUTURAS .....	65
9 REFERÊNCIAS .....	66

## 1. INTRODUÇÃO

O sistema imunológico tem a função de defender o organismo através de mecanismos moleculares e celulares quando está ameaçado por algum agente infeccioso ou estruturas estranhas ao organismo mesmo que não infecciosa. Em seres humanos, mamíferos e aves, o sistema imunológico é didaticamente dividido em duas partes, o sistema imunológico inato e o sistema imunológico adaptativo (KELLIE; AL-MANSOUR, 2017; TIZARD, 2014).

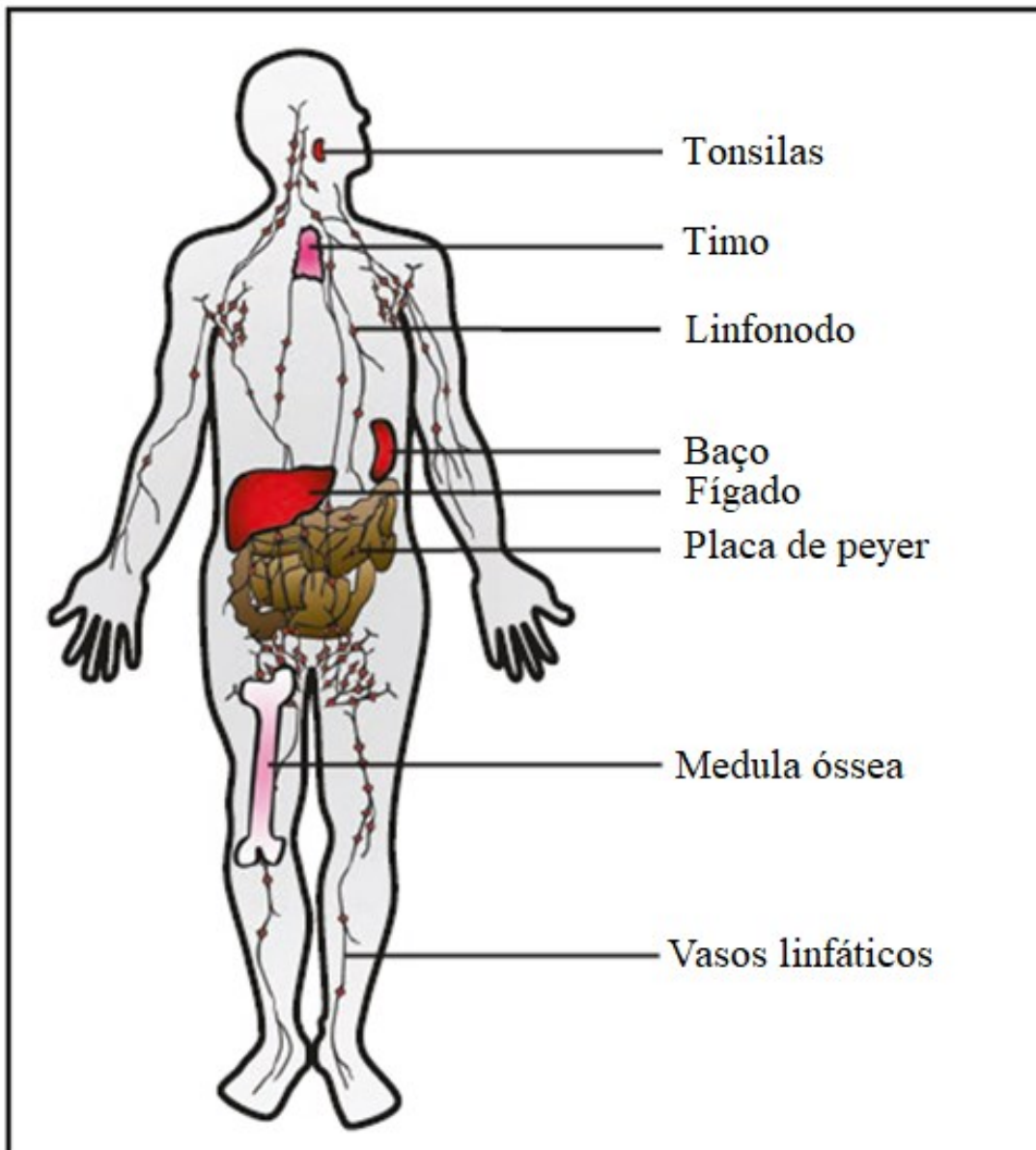
O sistema imune inato é geralmente o primeiro mecanismo de defesa do organismo que ocorre em resposta a entrada de patógenos, entendendo-se desde a pele e pelagem que são as barreiras físicas até as respostas rápidas efetuadas pelas células que compõem este tipo de imunidade. Algumas das células presentes no sistema imunológico inato são: *Natural Killer* (NK), neutrófilos, macrófagos e células dendríticas. Essas células tem como seus principais mecanismos a fagocitose, liberação de mediadores inflamatórios, ativação de proteínas do complemento, bem como síntese de proteínas de fase aguda como citocinas e quimiocinas (CRUVINEL et al., 2010; KELLIE; AL-MANSOUR, 2017; MCCOMB et al., 2019; TIZARD, 2014). Assim, em todas as vezes que um patógeno é capaz de superar a barreira física do organismo, encontrará uma série de eventos que correspondem aos mecanismos imunológicos que caracterizam a resposta inata (TIZARD, 2014).

A imunidade inata é caracterizada por não apresentar memória, não possuir especificidade direcionada ao patógeno em questão, porém é de grande importância por se tratar do primeiro mecanismo de defesa do organismo. Por outro lado, a imunidade adaptativa é capaz de identificar o patógeno, processá-lo e formar uma resposta de memória sendo capaz de combater o mesmo patógeno em casos de reinfecções de forma mais rápida e direcionada ao mesmo. (KELLIE; AL-MANSOUR, 2017; MCCOMB et al., 2019; TIZARD, 2014).

O sistema imune adaptativo ocorre por intermédio das células denominadas linfócitos, que embora encontradas em todo o corpo, estão presentes majoritariamente no interior de órgãos linfoides. A imunidade adaptativa depende de órgãos especializados para o surgimento e desenvolvimento dessas células para que posteriormente possam detectar patógenos e iniciar a resposta adaptativa (Figura 1) (MCCOMB et al., 2019). Os linfócitos são originados na medula óssea e em seguida são maturados nos órgãos linfoides primários (OLP) e depois encaminhados aos órgãos linfoides secundários (OLS). A medula óssea e o timo compõem os OLP, pois é através deles que ocorrem a maturação dessas células. O saco vitelínico e o fígado compõem os OLP apenas durante a fase neonatal. As tonsilas, linfonodos, placa de peyer e o

baço conferem os OLS, pois são neles que as células maduras ficam armazenados até que sejam diferenciados em células efectoras. Os vasos linfáticos e os vasos sanguíneos correspondem ao percurso dessas células para passagem em diferentes parte do corpo (KELLIE; AL-MANSOUR, 2017; MCCOMB et al., 2019; TIZARD, 2014).

Figura 1 – Distribuição dos órgãos linfoides no corpo humano.



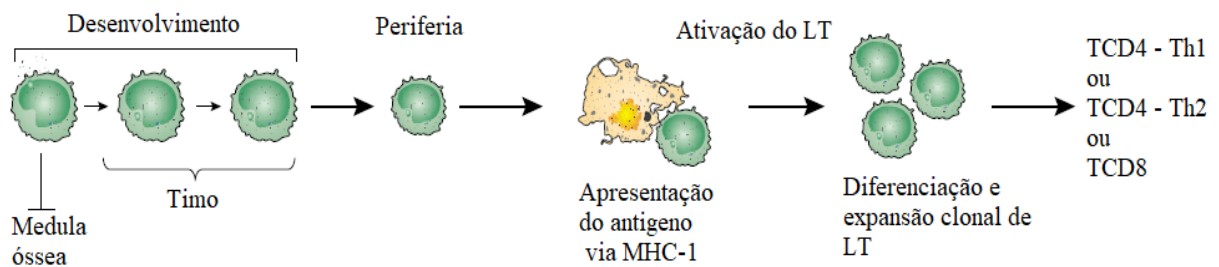
Legenda: Distribuição dos órgãos linfoides no corpo humano. O timo e a medula óssea correspondem aos órgãos linfoides primários. O baço, tonsilas, linfonodos, placa da peyer correspondem aos órgãos linfoides secundários. Adaptada de McComb et al., (2019).

A imunidade adaptativa é dividida em duas partes, imunidade celular e imunidade humoral (Figura 2). A imunidade celular é mediada pelos linfócitos T (LT). Os LT surgem na



medula óssea e direcionam-se ao seu respectivo órgão linfoide primário, o timo, onde essas células passam pelo processo de maturação. Quando maturados e antes de obter especificidade, essas células são chamadas de Linfócitos T virgens e estarão presentes nos OLS. Na presença de um antígeno, as células apresentadoras de antígeno (APC), seja uma célula dendrítica ou macrófago, irão fagocitar o antígeno e dirigir-se aos OLS para apresentá-los aos LT via molécula de histocompatibilidade do tipo 1 (MHC-1), que então passará por expansão clonal e diferenciação de células virgens para algum tipo de célula T efetora. As células T efetoras podem ser TCD4–Th1, que atuará na ativação de macrófagos, ou TCD4–Th2 que atuará na estimulação de linfócitos B (LB) para síntese de anticorpos (AC) pela sua liberação de citocinas, ou TCD8 que também chamada de célula citotóxica por realizar a execução da célula do hospedeiro que foi infectada. A linhagem TCD4 também é chamada de T auxiliadora ou T – *Helper*. (KELLIE; AL-MANSOUR, 2017; MCCOMB et al., 2019; TIZARD, 2014) Todo este processo está representado da figura 2.

Figura 2 – Processo de maturação e ativação do LT para imunidade adaptativa celular.



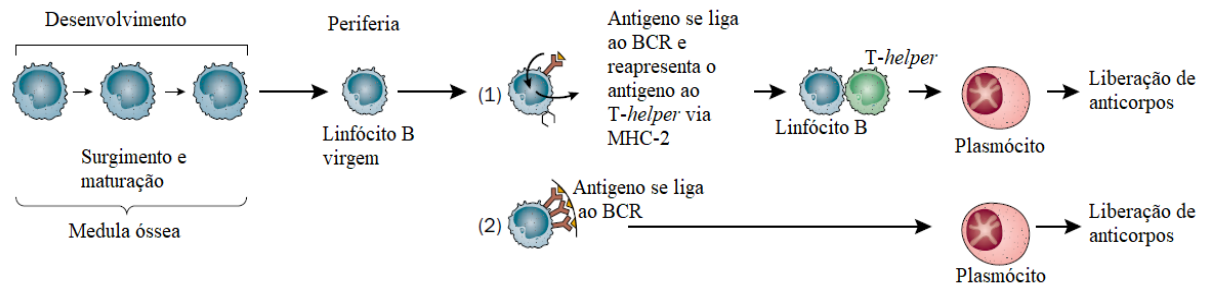
Legenda: Desenvolvimento do linfócito T atua sua ativação e diferenciação em célula efetora. Adaptado de Kellie e Al-Mansour (2017).

A segunda parte da imunidade adaptativa, a imunidade humoral é mediada pelos LB. Os LB também surgem na medula óssea, mas diferente do LT, são maturados na medula óssea, o seu respectivo órgão linfoide primário. Tanto LB quando LT, após o seu processo de maturação, são direcionados aos órgãos linfoides secundários (Figura 3) (TIZARD, 2014).

Os LB antes de serem efetores, são chamados de linfócitos B virgens e quando ativados são diferenciados em plasmócitos. Para ocorrer sua ativação é necessário que o antígeno se ligue ao receptor da célula B (BCR) que estão presentes na superfície da célula. Outro meio de ativação é através da reapresentação do antígeno ao T-*helper* via MHC-II pela própria LB. Neste caso o T-*helper* iniciará a liberação de citocinas que levará a diferenciação de células B

virgens em plasmócitos culminando na liberação de anticorpos. (KELLIE; AL-MANSOUR, 2017; TIZARD, 2014). Este processo está apresentado na figura 3.

Figura 3 – Processo de maturação e ativação do LB para imunidade adaptativa humoral.



Legenda: Desenvolvimento do linfócito B até a sua diferenciação em plasmócito e liberação de anticorpos. É apresentado os dois meios precursores dessa diferenciação, tanto pela ligação do antígeno ao BCR, quanto pela liberação de citocinas pelo T-helper quando reapresentados pelo LB via MHC-2. Adaptado de Kellie e Al-Mansour (2017).

Os linfócitos B participam da resposta imune humoral ao produzir imunoglobulinas (Ig), sendo estas encontradas na superfície das células que a produzem, superfície de mastócitos ou de forma livre no sangue e tecidos após serem produzidas. As Ig encontradas na superfície dos linfócitos B são chamadas de BCR (Receptor de célula B). As Ig de superfície, podem dar início a uma cascata de eventos de sinalizações que podem levar a ativação das células B, expansão clonal e diferenciação em plasmócitos. Os anticorpos que estão livres percorrem líquidos teciduais em busca dos antígenos específicos, ao qual se ligam, a fim de neutralizá-los (BLATTNER; TUCKER, 1984; KLEIN, 2014).

As imunoglobulinas geralmente são produzidas em respostas contra antígenos não próprios, ou estranhos ao organismo, que estão presentes em patógenos ou em outras estruturas como pólen de plantas, insetos, alimentos, medicamentos e pelagem de animais ou em casos de doenças autoimune (CASALI; SCHETTINO, 1996; EISEN; PEARCE, 1962; KLEIN, 2014).

As atividades biológicas das Ig ocorrem a partir da união entre o antígeno e o anticorpo (CASALI; SCHETTINO, 1996; EISEN; PEARCE, 1962). Essa união é denominada imunocomplexos, que a partir da sua formação, vão sinalizar para as células do sistema imunológico, como macrófagos e neutrófilos, realizarem sua fagocitose em um processo chamado opsonização e conseqüentemente o seu processamento (KELLIE; AL-MANSOUR, 2017; MCCOMB et al., 2019; TIZARD, 2014).

Outra via de atuação das Ig é a mediada pelo sistema do complemento na via clássica.

As proteínas deste sistema quando ativadas promovem a lise celular do patógeno ao se ligarem a ele desencadeando o complexo de ataque a membrana. Esses eventos impedem que a porção deletéria do patógeno possa infectar células, possibilitando a eliminação e neutralização de suas toxinas, evitando o seu poder antigênico (METZGER, 1970; MURPHY et al., 2010).

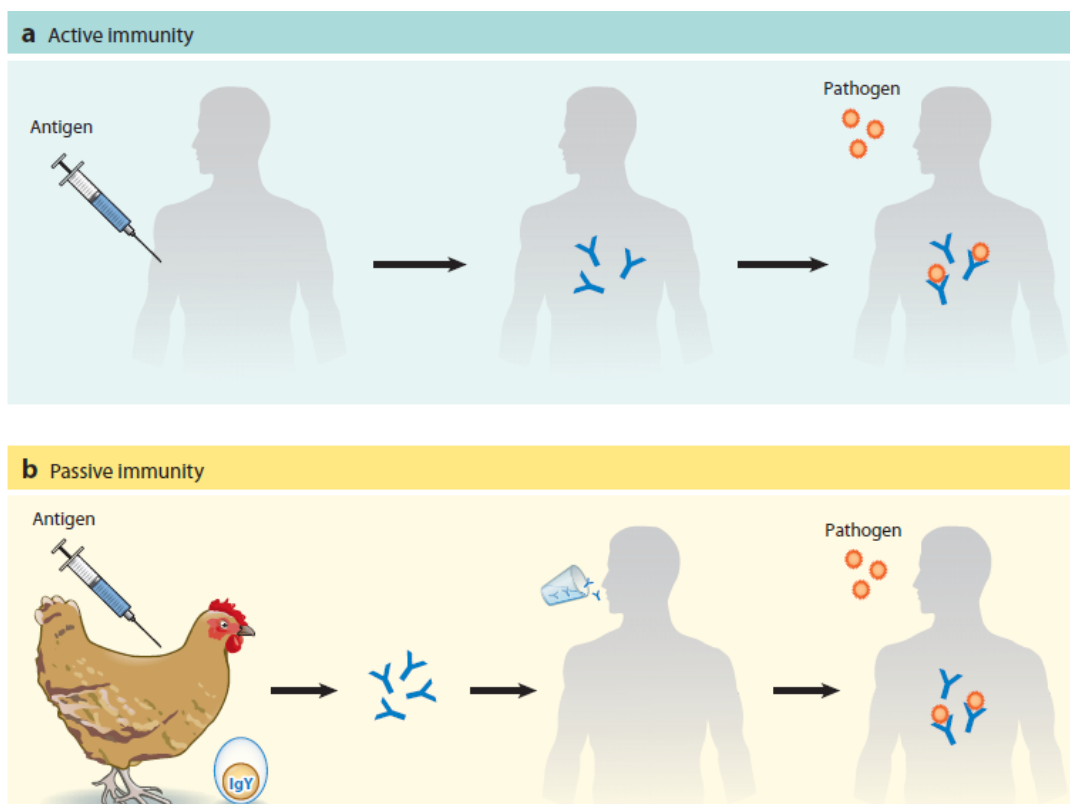
As Ig são divididas em classes ou isotipos, de acordo com suas características estruturais podendo apresentar diferenças expressivas entre espécies de animais. Em mamíferos por exemplo, possuem 5 isotipos de anticorpos: IgM, IgG, IgA, IgE e IgD (KLEIN, 2014; SUGITA-KONISHI et al., 1996), das quais estão diretamente envolvidas nos processos de imunidade ativa e passiva. Diferentemente dos mamíferos, as aves possuem IgA, IgM e IgY (TIZARD, 2014). Embora a imunidade e alguns de seus mecanismos entre mamíferos e aves sejam parecidas, as aves apresentam características singulares que garante a suas diferentes atribuições quando comparadas a imunidade de mamíferos.

Os anticorpos tem uma grande importância laboratorial quando em experimentos e diagnóstico e também clínico quando utilizado para tratamento de doenças. Essa empregabilidade é chamada de imunidade passiva. Existem dois tipos de imunização, a imunização ativa que é quando o indivíduo é exposto à um antígeno, gerando uma resposta imune adaptativa. Essa resposta leva dias para se desenvolver, podendo ser duradoura. Já a imunização passiva se dá pela administração de anticorpos já produzidos, para proteção contra infecção já existente, que ao ser fornecidos, podem gerar proteção imediata de curta duração (BAXTER, 2007).

Um exemplo de imunização passiva é a resposta imunológica que é desenvolvida a partir da amamentação. Nesse caso ocorre a transferência de anticorpos maternos para o recém-nascido. Nos mamíferos os anticorpos IgG e IgA são transferidos da mãe para o feto durante a gestação, e ao nascer por meio do leite materno. Tanto seres humanos quanto animais em geral, obtém anticorpos maternos por meio do colostro, dos quais são transportados para a circulação através do epitélio intestinal (CHUCRI et al., 2010; LILIUS; MARNILA, 2001; VAN DE PERRE, 2003).

Soros específicos para tratar enfermidades, como no caso de acidentes ofídicos, são tradicionalmente produzidos em cavalos, ovelhas e cabras. Em uso experimental também é empregado soro de roedores, como ratos e camundongos. A IgY tem sido uma alternativa importante para produção anticorpos específicos que possam ser empregados como imunização passiva (ARAÚJO et al., 2010; LIU; DONG; KONG, 2010; MEENATCHISUNDARAM et al., 2008a, b; PAUL et al., 2007). Na figura 4, é apresentado a diferença entre imunização ativa e passiva pela administração oral da IgY específicas.

Figura 4 – Diferença entre Imunidade ativa e imunidade passiva pelo uso da IgY.



Legenda: Demonstração da diferença entre a imunidade ativa e passiva. O indivíduo pré exposto ao patógeno através da vacinação para obtenção de anticorpos através da imunidade adaptativa (ilustração A). Imunização passiva, os anticorpos são administrados sem que o indivíduo seja exposto a doença ou patógeno (ilustração B). Fonte: kovacs-nolan e Mine (2012).

Mediante a importância de imunoterapias, em especial aquelas que promovem imunidade passiva, foi realizado uma revisão de literatura a respeito da IgY a fim de descrever suas particularidades estruturais e físico-químicas. Em adição, foi descrito como as IgY são produzidas e obtidas diretamente da gema, até as suas aplicações biomédicas, laboratoriais e profiláticas.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Revisar sistematicamente sobre a IgY, desde sua descoberta e características até estudos *in vivo* e *in vitro* que apresentem características e aplicabilidades médicas e experimentais da IgY.

### 2.2 Objetivos Específicos

- a) Conhecer a história da IgY desde sua descoberta aos dias atuais na pesquisa;
- b) Identificar características físico-química da imunoglobulina Y;
- c) Apresentar as aplicabilidades biomédicas e laboratoriais da IgY;
- d) Encontrar métodos para obtenção da IgY;
- e) Isolar experimentalmente IgY em ovos comerciais.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 METODOLOGIA DA REVISÃO

Estudos literais, experimentais e revisões a respeito das particularidades estruturais e físico-químicas da IgY foram identificados. Incluímos estudos que investigaram aplicabilidades médicas no tratamento de enfermidades, profilaxia e técnicas de imunoensaios com imunoglobulinas. Além disso, foram identificados e tabulados os diferentes tipos de métodos para produção de IgY específica, bem como seus métodos para purificação. As bases de dados foram: Pubmed, Scielo, Google Scholar.

1. Os critérios de inclusão listados abaixo foram utilizados para selecionar os estudos:

- a) Tipo do estudo: Estudos literais, experimentais e revisões com investigações *in vivo* e *in vitro* sobre a IgY;
- b) Data de publicação: Sem restrições;
- c) Idioma: Sem restrições;
- d) Espécie: Sem restrições.

2. Os critérios de exclusão listados abaixo foram utilizados para selecionar os estudos:

- a) Tipo do estudo: Recomendações, opiniões e relatos de caso;
- b) Trabalhos incompletos ou com citações ausentes.

A elegibilidade dos estudos ocorreu pela leitura de títulos e resumos. Foram excluídos trabalhos compactados, incompletos ou que não apresentavam os interesses desta pesquisa. Os estudos incluídos foram importados para um gerenciador de referência (Mendeley, <https://www.mendeley.com/download-reference-manager/>) citados, pelo DOI e/ou PMID e/ou ISSN. Alguns artigos de revisão também foram utilizados para encontrar novas fontes de pesquisas e autores relevantes, bem como, a seguridade das informações.

3. Palavras-chave utilizadas para a busca:

- a) IgY ou Imunoglobulina Y (*Immunoglobulin Y*);
- b) Sistema Imune das aves (*Immune system of birds*);
- c) Estrutura da IgY (*IgY structure*);

- d) Características físico-química da IgY (*IgY's physicochemical characteristics*);
- e) Uso da IgY na medicina (*use of IgY in medicine*);
- f) Uso da IgY em diagnóstico (*Use of IgY in diagnosis*);
- g) Uso clínico da IgY (*Clinical use of IgY*);
- h) Produção da IgY (*IgY production*).

### 3.2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Na primeira parte experimental, foi realizada precipitação das IgY. Para a precipitação proteica, foi utilizado o polietilenoglicol 6.000 (PEG 6.000) apresentada por SCHADE e colaboradores (2005), da qual está baseada na metodologia proposta por Polson e colaboradores (1980), com modificações (PAULY et al., 2011).

A fase inicial consistiu na remoção lipídica, e em seguida, foi realizada a precipitação da IgY presente no sobrenadante resultante. Foram utilizados ovos comuns comercializados em mercados, de galinhas não imunizadas para um antígeno específico. A metodologia consistiu na diluição da gema em tampão em PBS (Tampão fosfato salino), e adição de PEG em três concentrações diferentes: 3,5 %, 8,5 % e 12 %.

As cascas dos ovos foram cuidadosamente quebradas para evitar a ruptura da gema, que em seguida era transferida para um separador afim de extrair a clara e todos os seus resíduos. A gema foi transferida para um papel de filtro, que por deslizamento causada por movimentações circulares e manual, a clara residual era absorvida para o papel filtro. A membrana vitelínica, da qual limita a gema da clara foi perfurada com uma ponteira, sendo a gema escorrida para um tubo Falcon de 50 mL. A gema foi homogeneizada com tampão, onde para cada parte de gema foram adicionadas duas partes em volume de PBS. Do volume total, gema mais PBS, foram adicionados 3,5 % de PEG 6000 em relação ao total desse volume. Em seguida o tubo foi agitado em vórtex, seguido por 10 min de rolamento em um misturador rotativo.

Essa etapa do procedimento de extração separa a suspensão em duas fases, “sólidos de gema” que contém substâncias gordurosas, e a fase aquosa, contendo IgY e demais proteínas da gema (POLSON et al., 1980). Os tubos foram centrifugados a 4.000 rpm em rotor de ângulo fixo, por 50 min a 4 ° C. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo enquanto o *pellet* foi descartado. Novamente o PEG 6000 foi adicionado, na concentração de 8,5 % do novo volume. O tubo foi novamente agitado em Vortex e levado ao misturador de rolamento por

mais 10 min. As amostras foram levadas novamente a centrifuga a 4.000 rpm em rotor de ângulo fixo, por 50 min a 4 ° C.

Diferente do que ocorre na primeira filtração, o *pellet* foi utilizado e sobrenadante descartado. O *pellet* foi cuidadosamente dissolvido em 1 ml de PBS com ajuda de um bastão de vidro e vortex. Mais PBS foi adicionado até completar um volume final de 10 ml. A solução foi misturada com PEG 6000 a 12 % (p/v, 1,2 g) e levado ao vórtex e misturador de rolamento. O sobrenadante foi novamente descartado e o *pellet* foi cuidadosamente dissolvido em 1500 µl de PBS. Em seguida o conteúdo foi separado por peso molecular quando transferido para um *Amicon® Pro Purification System* (Merck, cidade de Darmstadt, estado de Hesse, Alemanha) de 100 kDa e centrifugado a 4.000 rpm em rotor de ângulo fixo por 15 min a 4 °C. Foi adicionado 1 ml de tampão PBS e centrifugado novamente como método de “lavagem”. Este processo foi repetido por 3x. As amostras foram aliqüotadas e armazenadas a -20 °C até a sua utilização.

A concentração de IgY foi quantificada pelo método de Lowry modificado pelo kit comercial BCA Protein Assay (Thermo Scientific Pierce, New York, NY, EUA). Para identificar a presença da IgY na extração, amostras foram aplicadas em um gel de poliacrilamida 10 % em conjunto ao marcador de peso, *ladder prestained* Bio-rad (Bio-rad laboratories, Hercules, Califórnia, EUA), visando a identificação das cadeias leves e pesadas separadas no gel pelo peso molecular apresentado em experimento. Esse método de separação é comparado com o teste de concentração por dialise na discussão e resultados.



## 4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 4.1 SISTEMA IMUNE DAS AVES

Para conhecer o sistema imune das aves, maior parte dos estudos foram utilizado galinhas (*Gallus Gallus domestiscus*) e por isso nem todas as afirmações podem corresponder às demais 10.000 espécies de aves. As aves e os mamíferos se divergiram do mesmo ancestral comum a mais de 300 milhões de anos, quando diferentes características evoluíram e se diferenciaram, entre elas, grande parte do sistema imune. A análise do genoma completo de galinhas proporcionou achados sobre a evolução em comum da imunidade entre as espécies, por exemplo, diferentes genes ortólogos associados ao sistema imune que antes eram considerados apenas aos mamífero (TIZARD, 2014).

Assim como em mamíferos, o sistema imune das aves consiste em órgãos primários e secundários. Os órgãos primários das aves são Timo, onde ocorre a maturação dos LT, e a Bursa de Fabricius (BF), onde ocorre a maturação dos LB, divergindo-se dos mamíferos que tem os LB maturados na medula óssea (TIZARD, 2014). A BF é um órgão linfóide epitelial, arredondado como uma bolsa, localizado e conectada acima da cloaca por meio de um ducto encontrado na parte distal da cloaca, denominado *proctodeum* (MONTASIER, 2009). A BF está presente apenas em aves e está associada a hematopoiese, diferenciação e maturação de linfócitos B. Esta estrutura atinge seu maior tamanho entre a primeira e segunda semana após a eclosão de ovo e diminui conforme o animal envelhece (REYNAUD et al., 1989; TIZARD, 2014).

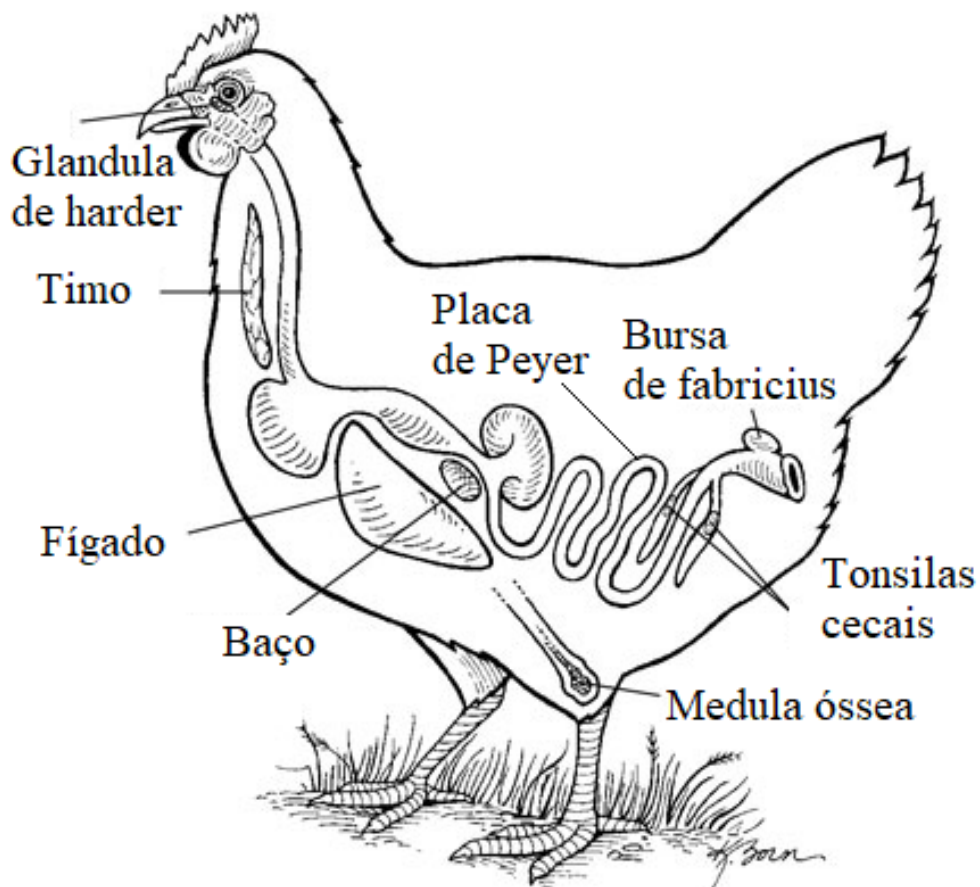
Como a BF sofre redução do tamanho ao amadurecimento sexualmente, a atrofia pode ser induzida pela administração de testosterona. Quando retiradas, mesmo que apresentem LB circulantes, as aves bursectomizadas podem possuir baixos níveis de Ig (TIZARD, 2014). As aves não possuem linfonodos, sendo o baço, o tecido linfóide do sistema gastrointestinal e as glândulas de *harder* os órgãos linfóides secundários (REYNAUD et al., 1989). A esquematização dos órgãos linfóides das aves, estão apresentadas na figura 6.

Figura 5 – Peça anatômica da Bursa de Fabricius.



Legenda: Peça anatômica da Bursa de Fabricius, de um pinto com uma semana de vida, que foi submetido ao procedimento de bursectomia. O órgão se encontra aberto para demonstração das dobras. Fonte: Tizard (2014).

Figura 6 – Distribuição de órgãos linfoides de galinhas.



Legenda: Distribuição dos órgãos linfoides em aves. É apresentado: Glândula de harder, timo, fígado, baço, placa de peyer, bursa de Fabricius, tonsilas cecais e medula óssea. Imagem adaptada, disponível em <https://www.dummies.com/home-garden/hobby-farming/raising-chickens/the-organs-of-a-chickens-immune-system/>. Acesso dia 08 de setembro de 2021.

Enquanto após o nascimento os mamíferos transferem imunidade passiva para progênie via amamentação, as aves garantem a imunidade passiva durante a formação embrionária via folículo ovariano, onde ocorre a transferência de anticorpos. Diferente dos mamíferos que possuem cinco isotipos de anticorpos, as aves possuem apenas IgM, IgA e a IgY que é análoga a IgG dos mamíferos (CHEN; LEHMEYER; COOPER, 1982). Ainda inda não foi identificado nenhum gene para IgD (TIZARD, 2014).

No início, a IgY foi descrita como a IgG de aves. Assim como a IgG, a IgY também está presente no soro e envolvida com a resposta imune secundária. Porém, a nomenclatura se tornou inapropriada, principalmente devido a suas diferenças estruturais fundamentais entre IgY e IgG.

A sequência de DNA dos genes codificadores para IgY são mais parecidos com os genes codificadores da IgE, do que com os genes codificadores da IgG de mamíferos. Portanto, supõem que a IgY seja um progenitor filogenético da IgE, IgA e IgG dos mamíferos. Essa teoria leva em consideração de que em contraste com a IgG a IgY, pode mediar reações anafiláticas (SCHADE et al., 2005). A IgY também é encontrada em peixes pulmonados, reptéis e anfíbios (TIZARD, 2014).

## 4.2 HISTÓRIA DA IMUNOGLOBULINA Y E ATUAL INTERESSE CIENTÍFICO

Em 1898, Klemperer descreveu a transferência de IgY em ovos de galinhas pela primeira vez. Para isso o pesquisador imunizou aves contra *Clostridium tetani*, o agente causador do tétano. As IgY foram administradas via intraperitoneal em ratos, que posteriormente foram desafiados. Assim, Klemperer observou que a IgY possuía atividade protetora contra posteriores infecções causadas por *Clostridium tetani*, diferente do grupo que não recebeu IgY, e não sobreviveram ao experimento. Tais evidências sugeriram a presença de anticorpos Anti-*Clostridium tetani* (KLEMPERER, 1893, LEIVA et al., 2020).

Os estudos voltados para IgYs tiveram uma longa pausa, até quando o bem-estar animal começou a ser uma preocupação na comunidade científica. Russel e Burch (1959), apresentaram o trabalho “Princípios da Técnica Experimental Humana”, onde evidenciaram a importância do bem-estar animal. Os autores abordaram sobre como a IgY poderia ajudar, já que não era necessário realizar sangria nos animais para obtenção de anticorpos, como ocorre em mamíferos (equinos e roedores), visto que os anticorpos estão presentes em grande quantidade na gema. (LEIVA et al., 2020; SCHADE et al., 2005).

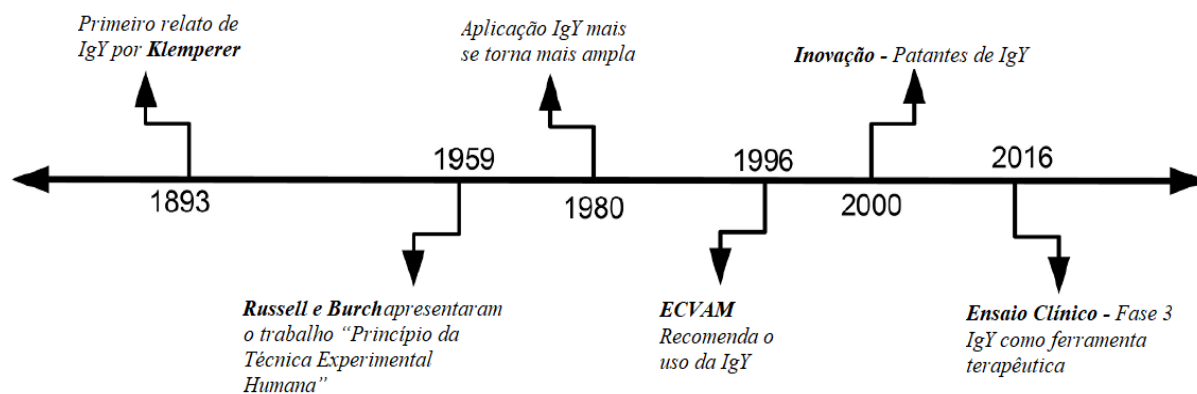
Até 1969, as imunoglobulinas aviárias eram chamadas de IgG de aves, principalmente por ter semelhanças com a imunoglobulina G, comumente encontrada em mamíferos. Neste

mesmo período, Leslie e Clem (1969) puderam evidenciar as diferenças entre ambas, onde surgiu a nova denominação, chamando-as de “IgY” (LESLIE; CLEM, 1969).

A partir de 1980, o uso da tecnologia IgY ganhou mais espaço e aplicabilidade. Desde então, é possível encontrar IgY comercialmente, conjugado com a fluoresceína, fosfatase alcalina ou peroxidase, aumentando sua utilização em pesquisa. Em 1989, foi descrito o primeiro ensaio imuno-histoquímico com IgY (SCHMIDT; HAFNER; et al., 1989; SCHMIDT; WIEDEMANN et al., 1989).

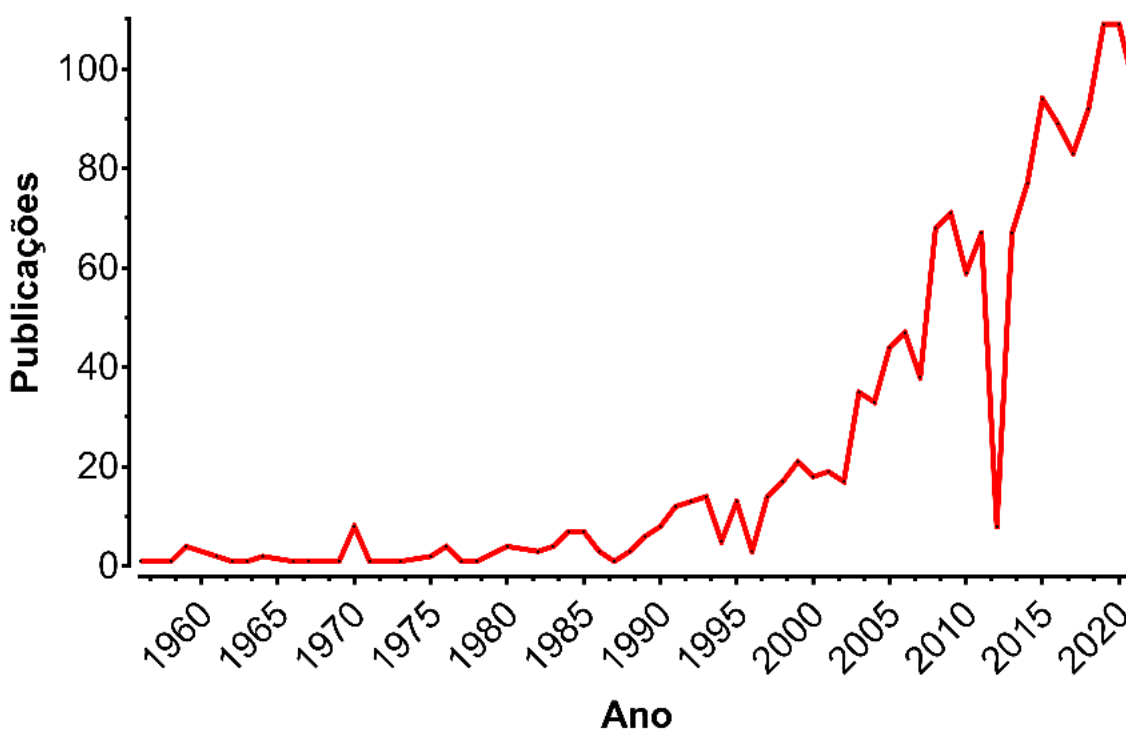
Em 1996, a nomenclatura de *IgY-Technology* foi atribuída para designar a produção e a aplicação de anticorpos provenientes da gema (SCHADE et al., 2005). Ainda em 1996, o Centro Europeu para Validação de Metodologias Alternativas (ECVAM) recomendou o uso de IgY, ao invés de IgG de mamíferos, minimizando dores e estresse causados durante a coleta invasiva para obtenção de anticorpos (SCHADE et al., 2005). A cronologia da IgY está apresentada na figura 7. Muitos grupos de pesquisa vêm apresentando resultados promissores com a IgY e por isso vem ganhando interesse da comunidade científica nos últimos anos (figura 8).

Figura 7 – Representação gráfica em ordem cronológica sobre a IgY.



Legenda: Representação cronológica do uso e aplicabilidade da IgY, desde seu primeiro relato até os dias atuais. Adaptado de Leiva e colaboradores (2020).

Figura 8 – Representação gráfica de publicações relacionadas a IgY entre 1956 e 2021.



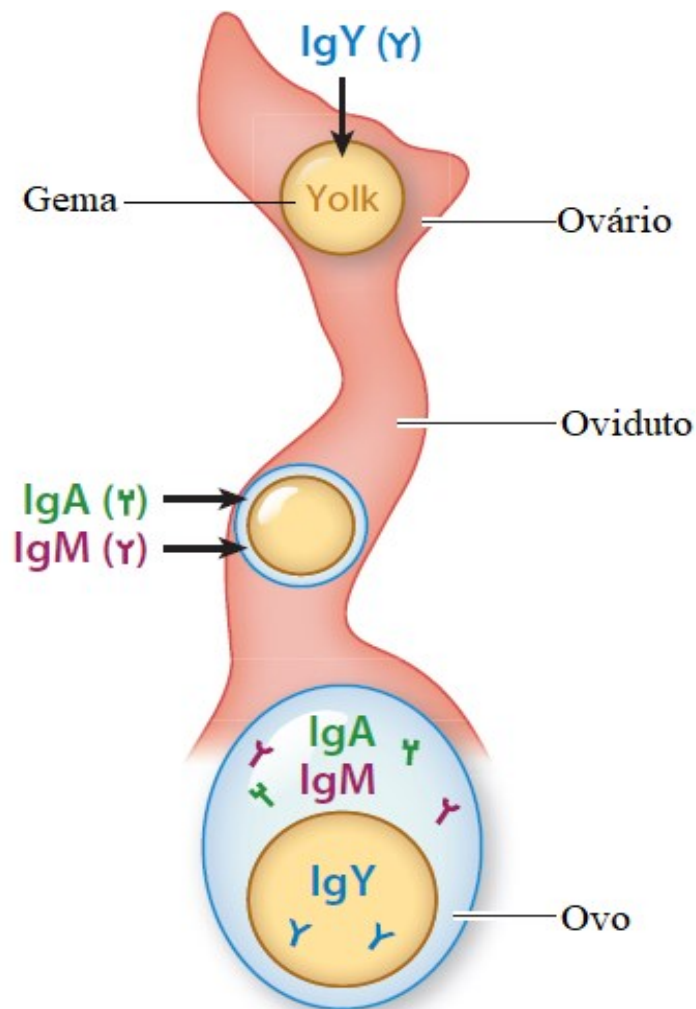
Legenda: Crescimento de publicações científicas sobre a IgY nos últimos anos, de acordo com a base indexadora Pubmed. Acessado dia 26/08/2021.

No último século, o Office Vétérinaire Federal (Suíça) aprovou a IgY como método alternativo ao uso de animais em pesquisas. Nos tempos atuais, a tecnologia tem sido amplamente investigada por pesquisadores da saúde, na tentativa de utilizar a IgY em imunoterapias e imunoprofilaxia na medicina veterinária e humana.

### 4.3 TRANSFERÊNCIA DA IgY PARA OS OVOS

A IgY é encontrada no sangue, tecidos e, no caso das fêmeas, é transferida também para gemas dos ovos via folículos ovarianos, conferindo imunidade passiva para a sua progênie. Essa transferência é seletiva, dá-se pelos receptores de superfície da membrada da gema, que são específicos para esta translocação da IgY. Os demais isotipos de imunoglobulinas, como a IgM e a IgA, ficam depositado na clara do ovo em baixas concentrações (Figura 9) (DAVIES et al., 1995; DAVISON; MAGOR; KASPERS, 2008; DIAS DA SILVA; TAMBOURGI, 2010; DIRAVIYAM et al., 2014; TESAR; CHEUNG; BJORKMAN, 2008).

Figura 9 – Transferência de imunoglobulinas para os ovos por via transovarariana.



Legenda: Enquanto o ovo é formado, a IgY (azul) é transferida do sangue para a gema de ovos através de receptores específicos para translocação. A IgA (verde) e IgM (Roxo) são depositadas posteriormente para a clara, dentro do oviduto. Adaptado de Kovacs-Nolan e Mine (2012).

De acordo com Rose (1974), poucas quantidades de IgA e IgM são transferidas do plasma do oviduto para a clara do ovo. A quantidade de IgY transferida para a gema é dependente da concentração sérica (MORRISON et al., 2002). De acordo com Mohammed e colaboradores (1998), a transferência de IgY para gema de ovos leva aproximadamente 5 dias. A meia-vida do anticorpo nas aves fica entre 36 a 65 horas (PATTERSON et al., 1962), sendo muito mais curto que a de IgG de ovinos, com aproximadamente 15 dias (WOOLLEY; LANDON, 1995).

A produção de IgY nas aves inicia-se dias após a eclosão dos ovos, em que o anticorpo é produzido pelas células B maduras e liberado direto na circulação do animal. Durante a vida

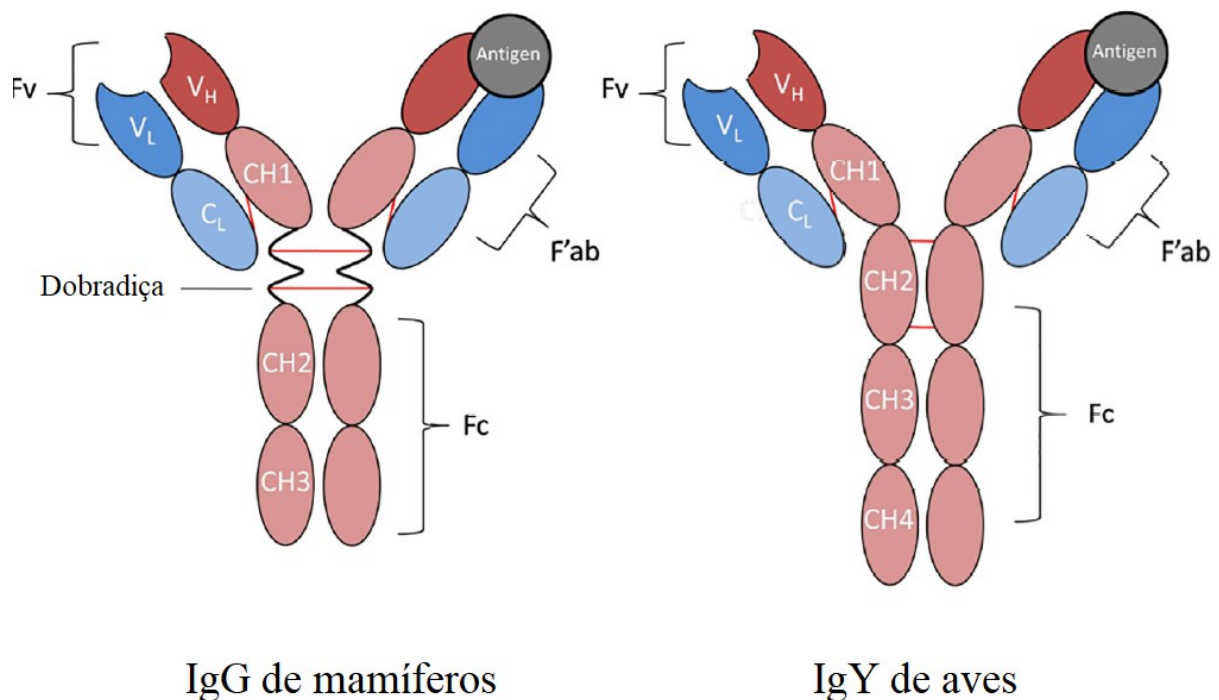
produtiva, a concentração de IgY no soro é mantida, devido ao equilíbrio resultante do contínuo processo de síntese e transferência desse anticorpo (DAVIES et al., 1995).

#### 4.4 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E FÍSICO-QUÍMICAS

A IgY possui uma estrutura molecular básica das imunoglobulinas, bem similar a IgG, com isso sua estabilidade, manutenção e absorção quando administrada por via oral apresentam também similaridades. Embora, exista diferenças em imunoreatividade e estrutural.

A IgY é uma macromolécula proteica e está representada na figura 10. É formada por duas cadeias polipeptídicas *Heavy* ou pesadas (H) e duas *low* ou leves (L) unidas entre si por pontes dissulfeto, ambas possuindo uma parte constante (C) e outra variável (v) (KOVACS-NOLAN; MINE, 2012; WARR; MAGOR; HIGGINS, 1995). A cadeia L contém um região variável (VL) e um Domínio Constante (CL), enquanto a cadeia H possui uma variável (VH) e quatro constantes (CH1, CH2, CH3, e CH4) (WARR; MAGOR; HIGGINS, 1995). Os anticorpos IgG e IgY possuem duas porções, a porção Fc que é responsável pela sua interação celular enquanto a porção Fab é responsável pela interação com os antígenos (LEE, Warren et al., 2017). A estrutura é demonstrada na figura 10 (LEE et al., 2017).

Figura 10 – Características estruturais da IgY e IgG.



Legenda: Porção **Fc** que possui interação celular, porção **Fab** que possui interação com o antígeno, **dobradiça** que garante maior flexibilidade a IgG. A união entre os dois domínios variáveis entre cadeia pesada e leve garante a porção Fv que é onde ocorre a ligação ao antígeno. Ilustração adaptada de Warren Lee (2017).

O peso molecular da IgY é de 180 KDa, e possui a região de dobradiça mais curta, justificando a menor flexibilidade da molécula ao ser comparada a IgG, que possui 160 KDa e região de dobradiça mais longa. Na IgY existe uma característica única na região da dobradiça, havendo a presença dos aminoácidos prolina e glicina próximo a essa região, o que a torna menos flexível (KOVACS-NOLAN; MINE, 2012; WARR; MAGOR; HIGGINS, 1995).

A região N-terminal das cadeias leves e pesadas são chamadas de porção Fab, e são as responsáveis pelo reconhecimento e ligação do antígeno. Enquanto a região C-terminal da cadeia pesada é chamada de porção Fc, responsável pela atividade biológica funcional, como atividade do complemento, opsonização e sensibilização de mastócitos para reações anafiláticas (DIAS DA SILVA; TAMBOURGI, 2010; KOVACS-NOLAN; MINE, 2012). Tanto na IgG, quanto na IgY, a porção Fc é o sítio de maior atividade biológica da estrutura, contendo duas cadeias de carboidratos laterais. A IgG, por sua vez, possui somente uma cadeia (GILGUNN et al., 2016; MÜLLER et al., 2015; SUDJARWO et al., 2017).

#### **4.4.1 pH e ponto isoelétrico**

A IgY é relativamente estável entre pH 4 e pH 11, com redução na sua atividade quando acima de pH 12 ou abaixo de pH 3,5. Em pH 3, ocorrerá mudanças em sua conformação, podendo diminuir completamente sua atividade (HATTA; TSUDA; AKACHI; KIM; YAMAMOTO, 1993; LEE et al., 2002; SHIMIZU; FITZSIMMONS; NAKAI, 1988). O ponto isoelétrico das IgY varia entre 5,7 a 7,6, e acredita-se que a IgY seja mais hidrofóbica que a IgG, devido ao ambiente extremamente lipídico onde está inserida. Além disso, a estabilidade da imunoglobulina de galinhas em vários processos e condições fisiológicas são características importantes para justificar o seu uso em imunoterapia (KOVACS-NOLAN; MINE, 2012).

#### **4.4.2 Temperatura de estabilidade**

Em relação a temperatura, de acordo com Hatta e colaboradores (1993), a IgY é estável em temperaturas entre 60 °C e 70 °C (HATTA et al., 1993; JARADAT, 2000). A estabilidade pode ser mantida em temperaturas acima de 60 °C podendo aumentá-la para 70 °C. Outro ponto digno de nota é que a concentração de IgY não sofre declínio em ovos cozidos por até 6 min a 100 °C (LÖSCH et al., 1986).



Em relação ao seu armazenamento, a IgY pode permanecer por até dez anos quando alíquotadas e estocadas em salina contendo 0,02 % de  $\text{NaN}_3$  a 4 °C sem que haja perda significativa na titulação (OLOVSSON; LARSSON, 1993).

É recomendado, também, a adição timerosal ou 50 µg/ml gentamicina para inibir o crescimento bacteriano. Entre 10 % a 50 % de Glicerol (V/V) pode ser adicionado para diminuir a deterioração das IgY pelo descongelamento e congelamento (SCHADE et al., 2005).

Quando Staak e colaboradores (2000) estudaram a estabilidade da IgY em diferentes temperaturas, foi informado que o anticorpo perde 50 % da sua atividade quando armazenados a -70 °C. Eles ainda afirmam que quando armazenada a -20 °C ocorre perda mínima dessa atividade. Goldring e Coetzer (2002) recomendam que a IgY quando isolada, não deva ser congelada e que ao ser estocada a 4°C, permanece viável por diversos anos.

No entanto, pode-se melhorar a estabilidade ao adicionar estabilizantes como carboidratos complexos e polióis, em destaque para o sorbitol, sacarose, monitol. A adição de açúcares pode aumentar a resistência da inativação térmica (LEE et al., 2002; SHIMIZU et al., 1994; PAULY et al., 2011). Sabendo disto, é possível projetar formulações especiais de IgY, afim de evitar a perda em virtude de alterações do pH (SHIMIZU et al., 1993).

#### **4.4.3 Administração de anticorpos oralmente em mamíferos**

Como citado anteriormente, fatores como pH e a temperatura são causas determinante para a estabilidade dos anticorpos. Sabendo disso, ao pensarmos na administração oral como ferramenta terapêutica, é importante ressaltar que são esperadas modificações estruturais oriundas da passagem pelo trato gastrointestinal, onde os anticorpos serão submetidos a ação enzimática e do ácido clorídrico. Fatores como a idade e o estado de saúde são capazes de interferir no pH gástrico, assim como nos níveis de enzimas e o tempo da passagem pelo estomago. Tais fatores podem então acarretar de forma negativa na viabilidade da IgY durante o processo digestivo, tornando-se uma preocupação para a imunoterapia oral das imunoglobulinas. Ao formular as preparações, faz-se necessário considerar a estabilidade do anticorpo e a sua apresentação final, como por exemplo, se o anticorpo deverá ser administrado purificado ou juntamente com gema de ovo inteira (COOK; TROTT, 2010; JARADAT; MARQUARDT, 2000).

#### 4.4.4 Digestibilidade pelas enzimas Proteolíticas

É fisiológico que no estomago e intestino delgado ocorra degradação de proteínas a peptídeos e aminoácidos por intermédio das proteases, para que em seguida sejam absorvidas. As enzimas proteolíticas envolvidas na degradação dos anticorpos administrados por via oral são a pepsina, tripsina, quimotripsina, carboxipeptidase e elastase (REILLY; DOMINGO; SANDHU, 1997). Na tabela 1, apresentamos as características fisiológicas do trato gastrointestinal relacionado a degradação de anticorpos e peptídeos.

Tabela 1 – Características do Trato Gastrointestinal relacionada a degradação de Imunoglobulinas.

	pH	Atividade proteolítica	Tempo de trânsito gastrointestinal (h)
<b>Estomago</b>	1-3.5	Pepsina	0.5 – 4.5
<b>Intestino Delgado</b>	6.3-7.5	Enterocinase, tripsinogênio, tripsina, quimotripsina, elastase, carboxipeptidase A e B, Peptidases Intracelular, Hidrolases lisossomais	1 – 4
<b>Colón</b>	7.5-8	Insulinase, Protease bacteriana	8 – 16

Legenda: Características do TGI relacionada a degradação de anticorpos. Adaptada de Reilly, Domingo e Sandhu, (1997).

A IgY resiste a inativação pelas enzimas tripsina e criptosina, mas é degradada por completo pela pepsina quando em pH 4,5 (HATTA; TSUDA; AKACHI; KIM; YAMAMOTO et al., 1993; SHIMIZU; FITZSIMMONS; NAKAI, 1988). A imunoglobulinas quando digeridas pela papaína, deixa um fragmento de Fc e dois fragmentos monovalentes de Fab. Por outro lado, a IgG ao ser processada pela papaína forma um fragmento bivalente de Fab, quando clivado pela pepsina (AKITA; NAKAI, 1993b).

Com métodos similares, foi descoberto que 63 % da atividade da IgY foi mantida mesmo após quatro horas de digestão pela pepsina numa concentração de 1:200, no entanto essa a atividade foi totalmente perdida ao usar a mesma proporção em pH 2 (HATTA; TSUDA; AKACHI; KIM; YAMAMOTO et al., 1993). Já na digestão com tripsina e quimotripsina, a IgY manteve entre 39 % e 41 % da sua atividade, respectivamente, depois de oito horas de digestão, mesmo mediante a produção de peptídeos (SHIMIZU; FITZSIMMONS; NAKAI, 1988).

#### 4.5 VANTAGENS DA IGY RELACIONADA A IGG DE MAMÍFEROS

A distância filogenética entre aves e mamíferos confere a IgY diferentes especificidades como anticorpo, em relação a IgG (SCHADE et al., 2005). Sabendo disso, é possível obter IgY contra proteínas de mamíferos altamente conservadas ou contra proteínas evadidas do sistema imunológico de mamíferos (NILSSON; LARSSON, 2005). Segundo Schade (2005), o antígeno quando conservado não é capaz de gerar resposta em mamíferos pois permanecem mascarados ou são reconhecidos como próprios. Isso causa uma resposta imune ausente ou muito fraca. O sistema imune das aves reconhece com mais facilidades os epítomos presentes em proteínas de mamíferos, que além disso são capazes de detectar diferentes tipos de epítomos que não são detectados por AC de mamíferos pois não o reconhecem como próprios podendo o reconhecer mais facilmente como antígeno (NARAT, M., 2003). Além disso, às IgY são mais efetivas nos reconhecimentos de epítomos, podendo não gerar reação cruzadas entre antígeno-anticorpos, como é ocorre nas imunoglobulinas de mamíferos (DIAS DA SILVA; TAMBOURGI, 2010; KUMMER; LI-CHAN, 1998). Diferença entre IgY e IgG estão apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 – Características e diferenças entre IgY e IgG.

	<b>IgY</b>	<b>IgG</b>
<b>Espécie</b>	Aves, répteis e peixes pulmonados	Mamíferos
<b>Peso Molecular KDa</b>	180KDa	150KDa
<b>Número de domínios constantes</b>	5 (4 pesadas e 1 leve)	4 (3 pesados e 1 leve)
<b>Concentração</b>	10-15 mg/mL em gema	5 mg/ml no soro
<b>Dobradilha</b>	Não	Sim
<b>pH de estabilidade</b>	4 – 11 pH	2 – 11 pH
<b>Temperatura estável</b>	Até 70°	Até 75° - 80°
<b>Degradação proteolítica</b>	Pepsina e Papaína	Pepsina, Papaína, Tripsina e quimotripsina
<b>Ligação a Proteína A e G</b>	Não	Sim
<b>Ligação em receptor FC de mamíferos/ humanos</b>	Não	Sim
<b>Mediação Anafilática</b>	Sim	Não
<b>Ligação de Fatores Reumatoides</b>	Não	Sim

Legenda: Diferenças estruturais, funcionais, físico-químicas e genéticas entre as imunoglobulinas. Adaptado de Gilgunn e colaboradores (2016) e Pereira e colaboradores (2019).

A IgY confere grandes vantagens em relação a IgG de mamíferos. Ao imunizar galinhas, geramos uma ótima alternativa para produzir anticorpos policlonais.

#### 4.5.1 Vantagens da IgY em imunoenaios

Existem fatores reumatoides que são autoanticorpos e que podem interagir com a porção Fc das IgG, podendo gerar reações imunológicas responsáveis por resultados falso-positivo. A IgY não é capaz de gerar resultados falso-positivo nessas situações pois em mamíferos não existem receptores Fc, não haverá interação levando a resultados mais fidedignos (LARSSON, A; KARLSSON-PARRA; SJÖQUIST, 1991).

A IgY é capaz de ativar o complemento de aves, mas não de mamíferos. Resultados de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) podem ser influenciados quando a IgG se liga ao sistema complemento. Quando a cascata está ativada pode levar a C4 a se ligar com a porção Fab da IgG de mamíferos, e isso interfere na ligação ao antígeno. A IgY é uma ferramenta que não apresenta falsos positivos em virtude das proteínas do complemento (CARLANDER et al., 2000; LARSSON et al., 1993).

A proteína G de estreptococos e a proteína A de estafilococos são capazes de se ligar na porção Fc da IgG de mamíferos. Sendo assim, são utilizadas como imunoabsorventes em ensaios imunológicos, podendo ser encontradas como contaminantes em exames que contenham amostras bacterianas, e causarem resultados falso-positivo por se ligarem a anticorpos detectores específicos. Essa é outra vantagem da IgY, pois ela não se liga na proteína A e G, portanto não interfere nos resultados de testes imunológicos (AKITA; NAKAI, 1993; HANSEN et al., 1998; HOFFMAN; RUGGLES; TABARYA, 1996).

A IgG de mamíferos é capaz de interagir com receptores Fc. Essa interação é capaz de causar ativação celular e mudanças das proteínas de superfície e, caso isso aconteça, pode gerar problemas de interpretação dos resultados de ensaios (CALZADO et al., 2007). Isso ocorre quando IgG conjugados aumenta a ligação nos receptores Fc gerando aumento na cor de fundo destes testes (CARLANDER et al., 2000). É possível evitar este problema através da substituição da IgG pela IgY, pois a imunoglobulina de aves não interage com receptores Fc.

Por fim, as IgY têm obtido sucesso quando empregados em imunoenaios convencionais como ELISA, WB (*western Blot*), imunoprecipitação, imuno-histoquímica, imunoquímica e marcação de células e tecidos. Os ensaios com IgY apresentam resultados com qualidade superior aos comparados com IgG de mamíferos (SCHADE; HLINAK, 1996).

#### 4.5.2 Vantagens econômicas

Uma das principais vantagens econômicas da IgY está na sua produção. É contínua, abundante e transferida para a gema durante todo o período de postura (BALLS, 2010). A extração de IgY da gema rendem cerca de 70-150 mg por ovo, sendo que entre 2-10 % do seu rendimento são específicos ao antígeno utilizado na imunização (LEE et al., 2017; SUDJARWO et al., 2017). Uma galinha típica pode produzir aproximadamente 325 ovos por ano, resultando em um rendimento potencial de cerca de 20-40 g de IgY (PAULY, D et al., 2009).

A partir do 6º dia após a imunização, já é possível detectar IgY específica na gema, no entanto, é a partir do 28º dia que a titulação de anticorpos está mais elevada. Caso precise manter as titulações elevadas, recomenda-se administrar doses de reforços à cada 3 meses (DE ANDRADE et al., 2013; GUIMARAES, 2008; MUNHOZ et al., 2014; SUDJARWO et al., 2017). Devido ao baixo peso corporal desses animais, é necessário baixas doses de antígeno na imunização, reduzindo ainda mais os custos de produção (LARSSON; CARLANDER; WILHELMSSON, 1998).

Outros destaques na utilização de galinhas é a facilidade de manejo e mão de obra. Além de manutenção mais barata quando comparadas a mamíferos normalmente utilizados, como os equinos na produção de soro antiofídicos por exemplo (SCHADE et al., 2000).

#### 4.5.3 Vantagens ética de bem-estar animal

O uso de animais na pesquisa muitas vezes é indispensável. Entretanto é de grande importância minimizar o uso destes animais devido ao stress, dor e eutanásia a que são submetidos.

O objetivo de empregar a IgY é para tentar atender ao máximo o bem-estar animal. Para a produção e obtenção de imunoglobulinas de aves, não exige sangria e ocorre o mínimo de estresse pela manipulação. Em termos quantitativos, a produção de anticorpos em aves corresponde o mesmo que animais maiores, como a cabra e ovelha. Isso também pode contribuir em relação ao excesso de estímulos para produzir (LEIVA et al., 2020b)

Quando substituímos a produção de anticorpos de mamíferos pela IgY de galinhas, apresentamos vantagens ética que se enquadram nos princípios dos 3Rs (RUSSELL; BURCH, 1959). A substituição (*replacemant*), ao trocamos mamíferos por aves. A redução (*reduction*), pois uma única ave pode produzir quantidades suficientes de anticorpos. O refinamento

(*refinement*), quando introduzimos as gemas como fonte de anticorpos diminuindo assim a invasão de procedimentos normalmente aplicados. Outro fator importante, é que se evita eutanásia de mamíferos como é de rotina na produção de anticorpos a partir destes animais (SCHADE; HLINAK, 1996; SCHADE, 2000).

#### **4.6 PRODUÇÃO DE IGY POLICLONAL EM GALINHAS**

A produção da IgY em grandes quantidades e de maneira econômica, é a chave para seu uso bem-sucedido no emprego da imunização passiva. Vários aspectos da imunização das aves precisam ser conhecidos afim de aprimorar a produção de IgY e sua deposição de gema (SCHADE, Rüdiger et al., 1996). Existem fatores que podem ser influenciados, como a rota de imunização, os intervalos e as quantidades de doses. A resposta produzida pelo organismo da ave, a rentabilidade e a titulação dos anticorpos são influenciados pelas condições de idade, espécie, tipo de antígeno, adjuvantes, rota de imunização e via de administração (COOK; TROTT, 2010; LÉVESQUE; MARTINEZ; FAIRBROTHER, 2007; PAULY, D et al., 2009; SCHADE; HLINAK, 1996). A criação destes animais, seja o manejo ou o ambiente, também podem influenciarem na postura e rentabilidade de IgY, já que isso esta indiretamente ligada a resposta imune das aves.

##### **4.6.1 Criação de galinhas para produção de IgY**

Existem vários métodos de criação de galinhas (MUNHOZ et al., 2014). A escolha do método de criação e manejo das galinhas podem variar de acordo com o objetivo. Independente se para fins laboratoriais ou comerciais, é necessário respeitar o comportamento e particularidades da espécie. Requisitos como espaço e dinheiro também interferem na forma que será criado esses animais, sejam livres ou em gaiolas. Ambos possuem vantagens e desvantagens, tais como a higiene, identificação, desordens típicas e cuidados com as aves (MUNHOZ et al., 2014).

Para uso laboratorial, é recomendado que as gaiolas sejam desenhadas e produzidas exclusivamente para a criação das galinhas. Na Europa, cada unidade deve possuir quatro gaiolas e cada unidade deve possuir poleiro, bebedouro com água a vontade, comedouro e bandeja individual para postura (ERHARD et al., 2000)

Não há estudos que apresentem vantagens entre os métodos de criação. Entretanto, Erhard e colaboradores (2000) identificaram grande quantidade de IgY em seus experimentos

nos animais independente do modo de criação. Por outro lado, Hommel e Behn (2000) mediante as vantagens e desvantagens em comparação entre o método de criação convencional e animais livre de patógenos específicos (SPF), mostraram que galinhas em ambos métodos de criação tiveram a mesma quantidade de IgY sendo submetidas a mesma rota de imunização.

#### **4.6.2 Tipos de antígeno e associações com adjuvantes na imunização**

Diferentes tipos de antígenos têm sido empregados para produção de IgY específica em aves, podendo ser antígenos complexos, como vírus, bactérias ou parasitas, e antígenos únicos como proteínas, polissacarídeos, peptídeos ou ácidos nucleicos (CHALGHOUMI et al., 2009).

Para produzir uma melhor resposta do organismo e melhorar a síntese de anticorpos, o antígeno inoculado é associado a um adjuvante. A aplicação dos adjuvantes visa o aumento ou direcionamento da resposta imune. Deste modo, a síntese de anticorpos ou as reações imunes mediadas por células são mais vigorosas do que aquelas em que o antígeno é inoculado sem a presença dos adjuvantes (HERBERT, WILKINSON, 1977). Os adjuvantes podem possuir um efeito de depósito levando a uma lenta liberação do antígeno, demandando um tempo maior para sofrer absorção e destruição, que resultará no aumento no tempo do estímulo imunológico. Além disso, aprimoram a apresentação dos antígenos pelas células apresentadoras de antígeno, no que induz a ativação de células T (PLOTKIN, ORENSTEIN, 2004).

O adjuvante de maior referência e capaz de desencadear uma resposta imune específica elevada é o adjuvante de Freund completo (CFA), que contem micobactérias liofilizadas e mortas pelo calor. Por outro lado, nos últimos tempos o CFA não tem sido utilizado com tanta frequência por ser capaz de gerar inflamação grave e causar necrose e ulceração do tecido (WANKE et al., 1996). Até então o adjuvante substituto mais eficaz é o adjuvante incompleto de Freund (IFA), que no momento é o mais utilizado para produzir imunoglobulinas específicas. No entanto, em IFA, os componentes micobacterianos foram removidos para eliminar a necrose do tecido, resultando em uma perda concomitante do efeito imunoestimulante (LÉVESQUE; MARTINEZ; FAIRBROTHER, 2007).

#### **4.6.3 Aplicação do antígeno**

Embora a imunização possa ser realizada via subcutânea, a via intramuscular é a mais comum (Figura 11). A inoculação deve ocorrer no músculo peitoral (*Intraperitoneales*), pois no

musculo da perna pode causar claudicação (CHANG et al., 1999; MUNHOZ et al., 2014; SCHADE et al., 1996).

Figura 11 – Aplicação de injetáveis em frango.



Legenda: Aplicação injetável por via intramuscular em frangos no musculo intraperitoneal. Fonte: Ferreira (2021).

Segundo Chang e colaboradores (1999), a imunização via intramuscular resultou em titulação de IgY específica mais elevada, ao ser comparada com a via subcutânea (CHANG et al., 1999). Como método menos invasivo a administração oral também pode ser realizada (THIBODEAU et al., 2017).

#### 4.6.4 Rota de imunização e titulação de anticorpos

Independente da via de inoculação, a quantidade de aplicações e intervalo entre a primeira e as demais subsequentes, são fatores importantes para o sucesso da produção de IgY. Existem diferentes tipos de protocolos de imunizações sugerindo aplicações nos dias 0, 14 e 28 (TINI et al., 2002), ou aplicação semanal durante 7 semanas consecutivas (GUTIÉRREZ CALZADO et al., 2003). Também pode se esperar ao menos 4 semanas entre a primeira e a segunda aplicação, devido ao desenvolvimento da memória imunológica.

Para atingir a melhor rota de imunização é valido traçar bem o objetivo de acordo com o desenvolvimento da pesquisa, como o manejo destes animais até o tipo de antígeno e quantidade de IgY que se busca.



Elevação no título de anticorpos presente na gema de ovo pode ser observado a partir da segunda semana ou, eventualmente, a partir da quinta semana após a inoculação do antígeno (SUI; CAO; LIN, 2011; WEN et al., 2012; GRZYWA et al., 2014). Após um aumento constante, a titulação da IgY é estabilizada, atingindo um platô e decaindo progressivamente (WEN et al., 2012). Por meio de imunizações para reforço, é possível manter altos títulos de anticorpos de gema de ovo por mais de 150 dias (MEENATCHISUNDARAM; SHANMUGAM; ANJALI, 2011).

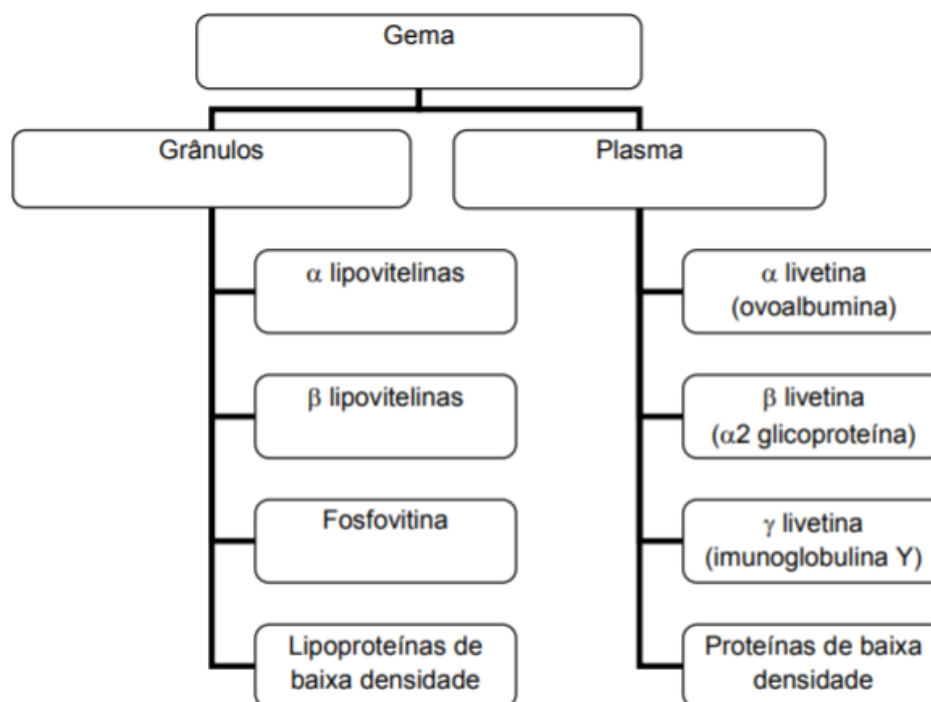
Nos estudos de Sudjarwo e colaboradores (2017), a concentração de anticorpos na gema de ovo aumentou durante as imunizações até a sexta semana. A elevação foi significativamente aumentada na segunda semana (após a primeira imunização), atingindo um platô na quarta semana, e diminuindo gradativamente após a sexta semana (SUDJARWO et al., 2017). A titulação deve ser avaliada 14 dias após a última imunização. Se a titulação de IgY decair, imunizações adicionais devem ser feitas durante todo o período de postura para aumentar os títulos de anticorpos durante todo o ano (SCHADE et al., 1996).

#### **4.6.5 Conteúdo e composição das gemas**

Os principais componentes da gema são a água, lipídios e proteínas. A quantidade de água é em média 50 % dos constituintes da gema. O colesterol, triglicerídeos e fosfolipídios representa cerca de um terço da gema, compondo a parte de lipídeos. As proteínas compõem em média 15 % e através da centrifugação podem ser divididas em duas partes. O sobrenadante chamado de plasma e precipitado chamado de grânulos (KOVACS-NOLAN; PHILLIPS; MINE, 2005). Polson e colaboradores (1980) chamou a parte granular de “sólidos da gema” e a plasma de “parte aquosa” (POLSON; VON WECHMAR; VAN REGENMORTEL, 1980).

A fração granular possui 22 % de proteínas totais da gema, e de sua composição, 70 % são lipoproteínas de alta-densidade (HDL e  $\alpha$ - e  $\beta$ - lipovitelinas), 16 % de fosfovítina (glicofosfoproteína) e 12 % de proteínas de baixa-densidade, chamada de LDL (BURLEY; COOK, 1961; JOLIVET et al., 2006). Já o plasma, porção hidrofílica da gema, possui 78 % das proteínas totais da gema. Desta medida, 86 % são LDL, e 14 % são livetinas. As livetinas são glicoproteínas globulares livres de lipídios e solúvel em água. São elas:  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -livetinas. A IgY é predominante da  $\gamma$ -livetinas (BERNARDI; COOK, 1960; KOVACS-NOLAN; MINE, 2005; MCCULLY; MOK; COMMON, 1962; NILSSON; HANRIEDER; et al., 2008). A composição da gema está demonstrada na figura 12.

Figura 12 – Componentes presentes na gema.



Legenda: Pirâmide esquemática demonstrando os componentes presente na gema de ovo, divididas em grânulos e plasma. Fonte: Araújo (2007).

Nilsson e colaboradores (2008) encontraram no interior da gema algumas proteínas plasmáticas, como o fibrinogênio, hemopexina e o fator de coagulação IX (NILSSON; LARSSON et al., 2008).

#### 4.6.6 Isolamento da proteína

A extração de imunoglobulinas consiste na remoção de lipídios para formar uma fração solúvel em água (WSF), seguida pelo processo de precipitação dos anticorpos contidos. Sendo este processo, um dos maiores desafios na purificação. Vários métodos de extração estão disponíveis para a obtenção de IgY da gema de ovo, e a escolha do método adequado depende da finalidade. Podem exigir diferentes graus de purificação, bem como a escala de extração, custo e tecnologia disponível (CHALGHOUMI et al., 2009).

Vários métodos foram relatados que resultam em diferentes rendimentos e purezas para isolar e purificar a IgY presente na gema, que normalmente envolve o isolamento da fração solúvel em soluções contendo o anticorpo, seguido por etapas de purificação adicionais (JENSENIUS et al., 1981). Segundo Pauly e colaboradores (2011), Tong e colaboradores

(2015), esses métodos podem ser divididos entre quatro grupos: método de precipitação, de deslipidação, de cromatografia e de ultrafiltração (PAULY et al., 2011; TONG et al., 2015) (Tabela 3).

Tabela 3 – Grupos de métodos de purificação de IgY.

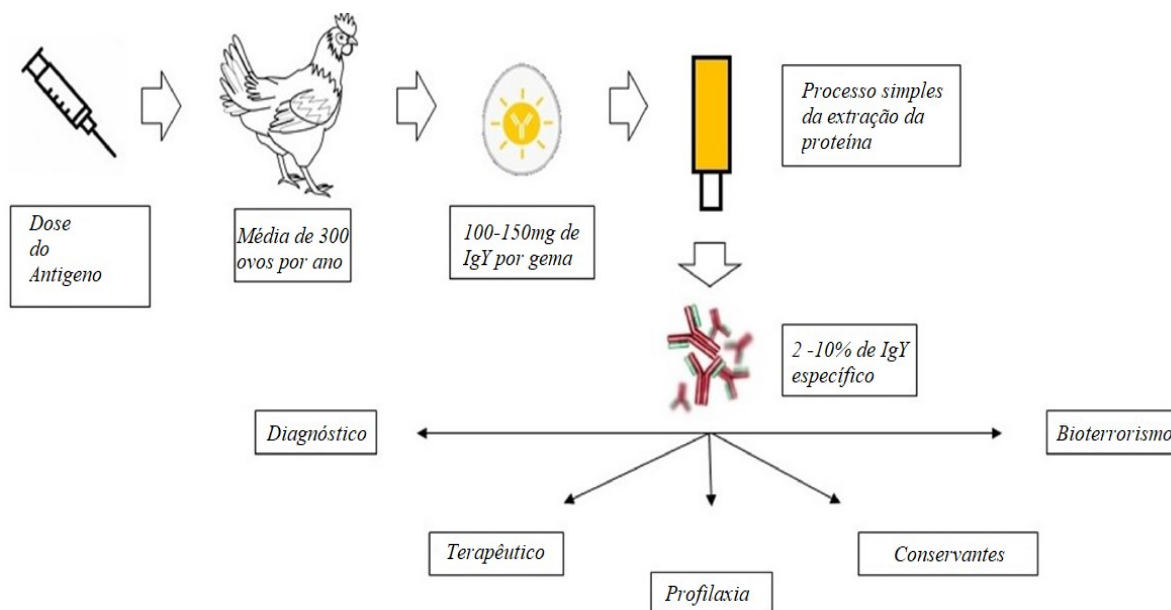
<b>1. Métodos de precipitação:</b> amônio ou sulfato de sódio, polietilenoglicol (PEG), ácido caprílico e carragenina.
<b>2. Métodos de deslipidação:</b> pectina, carragenina, carboximetilcelulose, sulfato de dextrana e metilcelulose.
<b>3. Métodos de cromatografia:</b> Cromatografia por afinidade, troca iônica, interação hidrofóbica, interação tiofílica e métodos de cromatografia de filtração em gel.
<b>4. Ultrafiltração:</b> Método que usa barreira seletiva, permitindo a passagem de certos componentes de uma mistura permitindo a separação molecular.

Cada método resulta em diferentes rendimentos, pureza, estabilidade e atividade. A escolha do método a ser adaptado depende da aplicação dos anticorpos IgY (THIRUMALAI et al., 2019). A purificação da IgY pode ser realizada combinando métodos, como por exemplo a junção da precipitação por PEG com Cromatografia de afinidade (SCHADE et al., 2005). Vale ressaltar que alguns métodos de cromatografia exigem que o anticorpo se ligue a proteína A ou G, como ocorre na purificação da IgG de coelhos. Porém, como mencionado anteriormente, a IgY não se liga nessas proteínas em questão, devido a sua porção Fc, o que torna técnicas com esse método inviável para a extração da IgY.

#### 4.7 APLICABILIDADES MÉDICAS DA IGY

A tecnologia IgY vem sendo demonstrada como um método inovador para síntese de anticorpos específicos, à serem utilizados em imunoterapias passivas e profilaxias (DIRAVIYAM et al., 2014; HUOPALAHTI et al., 2007). Seu emprego como nova ferramenta terapêutica para diversos fins na saúde humana e veterinária, como imunodiagnóstico (CAI et al., 2012), imunoterapia (RAHMAN et al., 2013), combate a toxinas de animais venenosos (MENDOZA et al., 2012), contra bactérias (LECLAIRE; HUNT; BAVARI, 2002) e também como alimento funcional (HORIE et al., 2004). A produção da IgY e suas possíveis aplicabilidades na Medicina Humana e Veterinária estão resumidas na figura 13.

Figura 13 – Ilustração da utilização da IgY na saúde humana e veterinária.



Legenda: Ilustração da imunização de galinhas até a aquisição de ovos e aplicabilidades possíveis da IgY. Adaptada de Pereira e colaboradores (2019a).

#### 4.7.1 Atividade antiviral

É possível perceber pela amplitude de estudos, que a IgY vem se mostrando uma potente arma contra infecções, entre elas as que são desencadeadas por vírus. Por isso novos métodos de tratamento de enfermidades virais com IgY pode ser de interesse para comunidade científica que desenvolve trabalhos com terapias antivirais ou que trabalham com anticorpo de aves.

O rotavírus bovino (BRV) é um importante causador de diarreia em bezerros recém-nascidos. Na década de 90 já havia relatado que o IgY anti-BRV ao ser administrado por via oral, poderia proteger contra a infecção em camundongos e bezerros (KUROKI et al., 1994; MASAHIKO KUROKI et al., 1993). Mais recentemente, foi evidenciado que a administração da gema rica em IgY anti-BRV conferiu 80 % de proteção contra diarreia induzida pelo BRV em bezerros neonatais, quando comparados com bezerros que receberam gema de ovos não imunizados (VEGA et al., 2011). Outro estudo similar realizado com Rotavírus do grupo A (RVA), foi administrado oralmente gemas em pó contendo IgY anti-RVA levando atenuação da doença nesses animais tratados, com redução do período de diarreia, hipertermia e ausência de outros sinais clínicos evidenciados em bezerros não tratados, tais como: anorexia, desidratação e depressão. A gema de ovo em pó enriquecida com anti-RVA IgY manteve a atividade após dois anos, quando mantida a 4 °C (VEGA et al., 2015). Estudos como estes

sugerem que a suplementação em bezerros recém-nascidos com ovos hiperimunes podem ser uma estratégia promissora na prevenção na mortalidade relacionada ao BRV.

A influenza, vírus causador da gripe gera uma enfermidade viral respiratória, aguda e é causada por um vírus de RNA de fita negativa da família Orthomyxoviridae. Existem três tipos distintos de vírus da gripe que infectam humanos: influenza A, B e C. Influenza A é capaz de infectar várias espécies, incluindo humanos, suínos, equinos e pássaros (BARBERIS et al., 2016; TAUBENBERGER; MORENS, 2010). As aves migratórias disseminam o vírus ao redor do mundo. Esses vírus são classificados em subtipos, a depender da combinação de duas proteínas diferentes, a Hemaglutinina (HA ou H), e a neuraminidase (NA ou N). Os subtipos da influenza A são o H1N1 H3N2 que infectam humanos de maneira sazonal. Há outros subtipos de vírus causador da Influenza A de origem animal. São eles: H5N1, H7N9, H10N8, H3N2v. Estes vírus podem infectar humanos e causar doença grave (SESA; MIN. SAÚDE., 2021).

As normas sanitárias do Vietnã exigem realizar imunização em aves para prevenir infecção pelo vírus H5N1, causador da influenza aviária A. Sendo assim, IgY anti-H5N1 foram extraídos de ovos comerciais disponíveis em supermercados do Vietnã e foram administrados em camundongos via intranasal, antes e depois de serem infectados com H5N1 e H5N2, do qual pode prevenir completamente o início da doença (WALLACH et al., 2011). Esses resultados revelam que ovos vendidos em países onde a vacinação anti-H5N1 é obrigatória, apresentam uma fonte de IgY considerável, e que poderia ser aplicada para prevenir uma possível pandemia do vírus H5N1. IgY anti-H1N1 também foi aplicada por via intranasal em camundongos, uma hora antes da infecção pelo vírus influenza, e apresentaram atividade profilática. Assim, IgY contra cepas de vírus influenza pode ser usado em aplicações nasais, orais ou spray para proteger indivíduos e ambientes (WALLACH et al., 2011).

Em outro estudo, Tsukamoto e colaboradores (2011) produziram IgY anti-H1N1 a partir de uma cepa vacinal do vírus da influenza suína, vírus responsável pela pandemia de influenza em 2009. Os anticorpos resultaram em uma forte reatividade cruzada com as cepas virais suínas e humanas, sendo capazes de neutralizar o H1N1 *in vitro* (TSUKAMOTO., 2011).

Parvovirose canina é uma doença extremamente letal e altamente infectocontagiosa, não zoonótica, que acomete canídeos em todo o mundo, principalmente pela alta capacidade do parvovírus canino (CPV-2) resistir em diferentes temperaturas e condições ambientais. Os sinais mais comuns são a diarreia com hematoquezia intensa, êmese, anorexia, febre, desidratação intensa, depressão e morte. A Parvovirose é mais comum em filhotes e cães errantes que vivem na rua ou que não são imunizados adequadamente (MYLONAKIS; KALLI;

RALLIS, 2016).

O efeito da IgY contra a parvovirose foi avaliada em dez cães da raça beagle de dois meses. Os cães foram divididos em três grupos, e todos foram infectados com a cepa do vírus por via oral e tratados com IgY Anti-CPV2. Os quatro cães do grupo controle receberam gema de ovo normal e demonstraram sinais clínicos típicos da parvovirose. Nenhum sinal clínico da doença foi observado por 16 dias após o experimento nos três cães que receberam 2 g de IgY de ovos imunizados. Dos três cães que receberam 0,5 g de IgY, dois manifestaram doença clínica, mas com sinais com menor gravidade ao comparado com o grupo controle. Os grupos tratados tiveram ganho de massa corpórea significativamente maior e menor duração da eliminação do vírus em relação ao grupo controle. Os resultados deste estudo indicam que a IgY é útil para prevenção da doença clínica induzida por CPV-2 (NGUYEN et al., 2006).

A raiva é uma zoonose viral aguda, que acomete mamíferos, caracterizada como uma encefalite progressiva e aguda. É causada pelo vírus do gênero *Lyssavirus*, da família *Rabhdoviridae* e transmitida, em sua maioria das vezes, através de mordidas de cães, gatos ou morcegos. Os sintomas vão desde dores e náuseas a convulsões, espasmos generalizados, delírio e até mesmo hidrofobia. Sendo que, o infectado, embora receba tratamento, nem sempre sobrevive, pois, a raiva é letal em quase 100% dos casos. Entretanto, a doença possui vacina que é aplicada em animais de companhia e em apenas candidatos com pré-exposição. Pessoas que sofreram ataques de animais podem receber a imunização seguindo os devidos protocolos médicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

Motoi e colaboradores (2005), descreveram a produção de IgY antirrábicos contra uma porção da proteína G do vírus da Raiva. *In vitro* as IgY específicas ligam-se a células infectadas com o vírus e tem infecção neutralizada (MOTOI; INOUE; et al., 2005; MOTOI; SATO; et al., 2005). Em camundongos infectados, a IgY específica administrada pode reduzir a mortalidade causada pelo vírus sugerindo que a IgY direcionada contra a Proteína G do vírus da raiva é uma alternativa possível para preparações de anticorpos antirrábicos. atualmente disponíveis feitas em humanos ou equinos (MOTOI; SATO; et al., 2005).

A atividade antiviral da IgY também foi estudada com flavivírus. Tais como, o vírus da dengue, vírus do Nilo ocidental e vírus Zika. Em experimentos com IgY de gansos, os anticorpos policlonal específicos puderam prevenir a infecção dos respectivos vírus em experimentos *in vitro* (FINK et al., 2017; O'DONNELL et al., 2019; O'DONNELL et al., 2017).

O vírus da Ebola é um patógeno muito virulento, causador da febre hemorrágica, e com alta taxa de mortalidade em humanos. A transmissão se dá através do contato direto com

sangue, fluidos corporais e tecidos de infectados (BASELER et al., 2017). Ensaios experimentais demonstram que a IgY foi capaz de bloquear a atividade do vírus, enquanto camundongos recém nascidos obtiveram proteção completa com os anticorpos, mesmo recebendo doses letais do vírus (ZHANG et al., 2021).

#### 4.7.1.1 – SARS-CoV-2

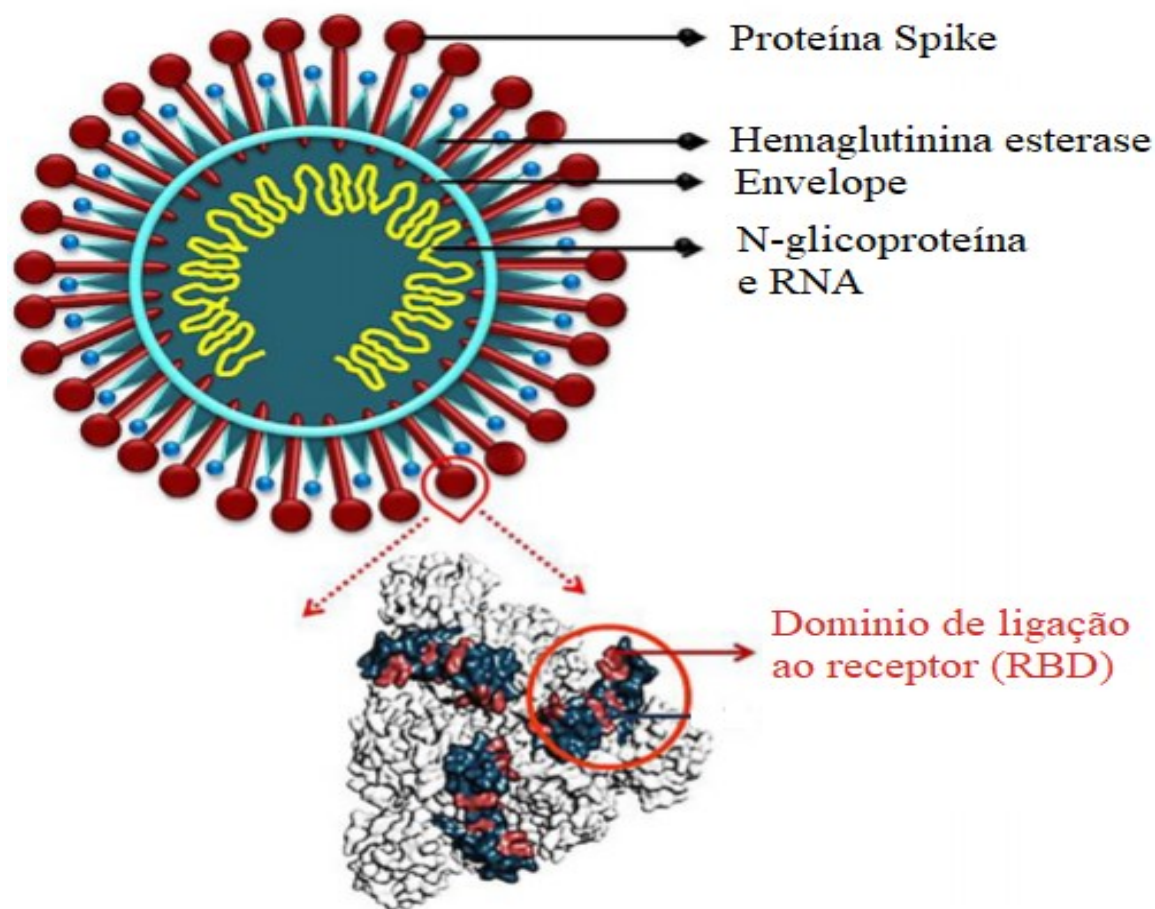
Em dezembro de 2019, um novo agente infeccioso foi identificado na cidade de Wuhan, na China. O vírus (SARS-CoV-2) recebeu o nome de novo coronavírus, causador da doença COVID-19. Tal infecção viral é altamente transmissível e patogênica, sendo essas uma das suas principais preocupações e, na ausência de tratamento aprovado clinicamente, a COVID-19 se tornou um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo, ceifando a vida de milhões de pessoas (LI et al., 2020; SHEREEN et al., 2020).

As principais manifestações clínicas da COVID-19 são a fadiga, febre, tosse seca, dores musculares e dispneia. Outros sintomas em menor recorrência são a cefaleia, coriza, congestão nasal, dores na garganta, vômito e diarreia. Os pacientes que desenvolvem a forma mais grave da doença, frequentemente apresentam dispneia com ou sem hipoxemia, podendo ocorrer choque séptico, SARA (Síndrome da angústia respiratória aguda), acidose metabólica de difícil correção e coagulopatias (HUANG et al., 2020; WANG et al., 2020). Sua transmissão ocorre pela inalação do vírus, quando entramos em contato com pessoas infectadas e fômites.

Tratando-se de uma preocupação global, a busca por novas ferramentas terapêuticas que possam tratar a COVID-19 tornou-se uma preocupação em todo o mundo. Além disso, pesquisas para produção de vacinas também é uma preocupação já que é através da imunização que se impede a propagação do vírus. Entretanto, ainda em momentos de pandemia, a imunoterapia passiva desempenha um papel vital como possível alternativa para tratar pessoas infectadas (SOMASUNDARAM; CHORARIA; ANTONYSAMY, 2020). Para formular medicações e vacinas contra o coronavírus, é necessário conhecer a fisiopatogenia da doença e compreender quais são os meios que o patógeno utiliza para infectar as células do hospedeiro.

Durante o percurso da doença, o vírus precisa entrar na célula do hospedeiro. A fusão do vírus na membrana celular é mediada pela proteína *Spike*, considerada o principal domínio do SARS-CoV-2, e está exposta na superfície do vírus. A *Spike* interage com o receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) e permite a entrada do vírus na célula do hospedeiro que causará a infecção (REN et al., 2020; TORTORICI; VEESLER, 2019; TRIPET et al., 2004; WANG et al., 2004; YANG et al., 2020).

Figura 14– Ilustração do SARS-CoV-2.



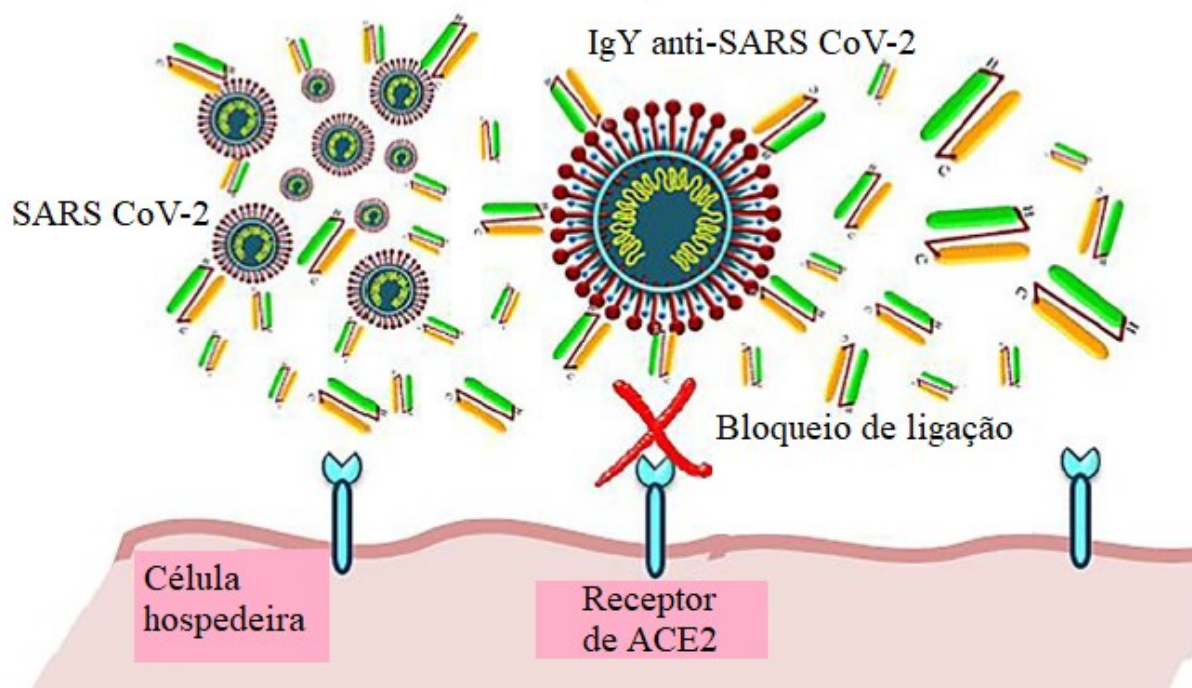
Legenda: Ilustração da proteína Spike e o seu domínio de ligação ao receptor. Ilustração de outras estruturas, hemaglutinina esterase, envelope, N-glicoproteína e RNA. Adaptada de somasundaram; Choraria e Antonysamy (2020).

Devido as proteínas *Spikes* estarem exteriorizadas na superfície do vírus, o acesso dos anticorpos neutralizantes é facilitado. A partir disso, conhecendo as regiões de contato entre a proteína *Spike* e ACE2, é possível que anticorpos específicos que tenham como alvo esses epítomos, possam prevenir o desenvolvimento da doença ao bloquear a entrada do vírus, como é apresentado na figura 15 (PÉREZ DE LA LASTRA et al., 2020).

No que diz respeito a IgY, a produção de anticorpos monoclonais de frango contra a proteína *Spike* do SARS CoV-2 seria mais reproduzível e adequado para a produção em larga escala para tratar COVID comparada a produção de IgG em mamíferos, já que a produção é maior e mais fácil podendo atender a alta demanda de pacientes que até então, são vítimas da doença (SOMASUNDARAM; CHORARIA; ANTONYSAMY, 2020).



Figura 15 – Bloqueio da ligação entre SARS CoV-2 e ACE2.



Legenda: Ilustração do intermédio da IgY no bloqueio da proteína Spike, impedindo-a de infectar a célula. Adaptada de somasundaram; Choraria e Antonysamy (2020).

Sugere-se que o tratamento da COVID-19 com anticorpos anti-*spike* iria impedir o antígeno SARS-CoV-2 de se ligar ao ACE2, já bloquearia a estrutura viral utilizada para infectar. Na figura 15 é ilustrado o bloqueio do epítipo do SARS CoV-2 pela utilização de IgY anti-*Spike* SARS CoC-2 (SOMASUNDARAM; CHORARIA; ANTONYSAMY, 2020).

#### 4.7.2 Atividade antibacteriana

O uso irracional de antibióticos vem favorecendo a resistência bacteriana contra os antimicrobianos. A resistência das bactérias é um grande problema para sociedade, já que isso pode contribuir para diminuição da efetividade de antimicrobianos e aumentar capacidade de combater infecções (ALÓS, 2015). Baseando-se nisso, é necessário a criação de novas ferramentas eficazes no controle de infecções bem como também a necessidade do uso racional de substâncias antimicrobianas já existentes.

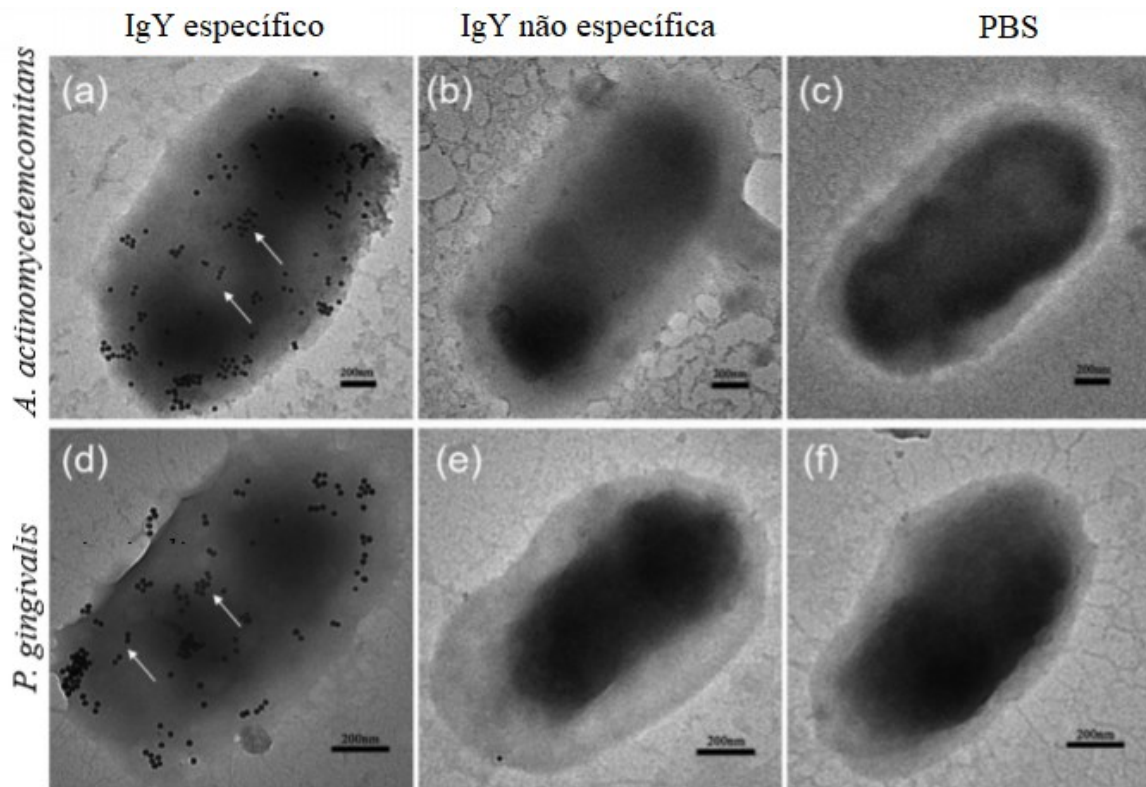
A IgY, em muitos estudos experimentais *in vitro* e *in vivo*, vem demonstrando potencialidades no combate de infecções bacterianas. Diferentes estudos aplicados ao uso da IgY em atividades bacterianas estão listados na tabela 4.

Tabela 4 – Experimentos com atividade antibacteriana da IgY.

Bactéria	Espécie	Efeito da IgY	Referência
<i>Clostridium botulinum</i>	Humanos	Bloqueio das Atividades da Neurotoxina A e B em camundongos	(PAULY, D et al., 2009; TROTT et al., 2009)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Humanos	Colonização reduzida ou evitada em pacientes com fibrose cística pulmonar em estudo clínicos (Mais de 14 anos).	(CARLANDER et al., 2000; KOLLBERG et al., 2003; NILSSON; LARSSON; et al., 2008)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Humanos	Proteção de macacos contra a dose letal da Enterotoxina B da <i>S. aureus</i> .	(LECLAIRE; HUNT; BAVARI, 2002)
	Gado Bovino	Redução dos sinais clínicos da mastite em experimentos clínicos.	(ZHEN et al., 2009)
<i>Salmonella spp.</i>	Frangos	Redução de ovos infectados por <i>Salmonella</i> em galinhas infectadas por <i>Salmonella Enteritidis</i>	(GURTLER et al., 2004)
	Frangos	Redução da eliminação fecal e colonização fecal em frangos Infectados.	(RAHIMI et al., 2007)
<i>Escherichia coli</i>	Humanos	Ligação reduzida da O157:H7 in vitro e proteção de ratos contra a toxina	(WANG, Qin et al., 2010)
	Gado bovino	Inibição do crescimento e cuidados médicos e aumento da captação por macrófagos	(ZHEN et al., 2008)
		Proteção contra infecção de K99+ <i>E. coli</i> em bezerras	(IKEMORI et al., 1992)
	Frangos	Melhoria na saúde intestinal e resposta imunológica de frangos desafiados com O78:K80	(MAHDAVI et al., 2010)
	Suínos	Proteção contra infecções por <i>E. coli</i> (K88+, K99+, and 987P+) Aumento de peso e proteção no uso da IgY anti- <i>E. coli</i> k88+ encapsulada.	Yokoyama et al. 1992 Li et al. 2009a
<i>Porphyromonas gingivalis</i> and <i>Streptococcus mutans</i>	Humanos	Níveis reduzidos de <i>P. gingivalis</i> quando aplicados nos dentes de pacientes com periodontite.	(YOKOYAMA et al., 2007)
		Redução dos níveis de <i>S. mutans</i> quando usado como enxaguante bucal.	(HATTA, H et al., 1997)
		IgY anti-Glucosiltransferase de <i>S. Mutans</i> na redução da incidência e gravidade de cárie dentária em ratos.	(KRÜGER et al., 2004)
<i>Helicobacter pylori</i>	Humanos	Redução do crescimento bacteriano, atividade da Urease e lesão de mucosa gástrica em modelo animal.	(SHIN et al., 2002)
		Supressão da infecção por <i>H. pylori</i> em humanos quando inseridas no Iogurte.	(HORIE et al., 2004)

A periodontite é uma infecção bacteriana que cria um biofilme nos dentes. Dentre os casos, a maior parte são causadas pelas bactérias *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*. Alguns estudos demonstram que a IgY pode inibir o crescimento de patógenos que causam periodontite, e que sua aplicação pode substituir a antibioticoterapia (HOU et al., 2014). Li e colaboradores (2020), avaliaram a os efeitos da IgY específica na formação de biofilme e aglutinação através dos anticorpos específicos para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*. Através da microscopia eletrônica de transmissão, visualizando que a IgY pode se ligar a parede celular do patógeno acelerar a aglutinação e impedir a formação do biofilme (Figura 16) (LI et al., 2020).

Figura 16 – Visualização de IgY agindo sobre bactérias que causam periodontites em microscopia eletrônica de transmissão.



Legenda: Parte A - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* incubada com IgY específica; Parte B *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* incubada com IgY não específica; Parte C - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* incubado com PBS; Parte D - *Porphyromonas gingivalis* incubadas com IgY específica; Parte E - *Porphyromonas gingivalis* incubada com IgY não específico; Parte F - *Porphyromonas gingivalis* incubada com PBS; As setas brancas indicam a ligação das IgY nas bactérias; (ampliação 15000 ×; a barra de escala é 200 μm). Adaptada de Li et al., (2020).

Neste estudo, foi concluído que a atividade do IgY permaneceu estável em diferentes

temperaturas, pH e período de armazenamento. Também foi sugerindo o potencial de IgY para controlar a periodontite causada por patógenos orais (LI et al., 2020).

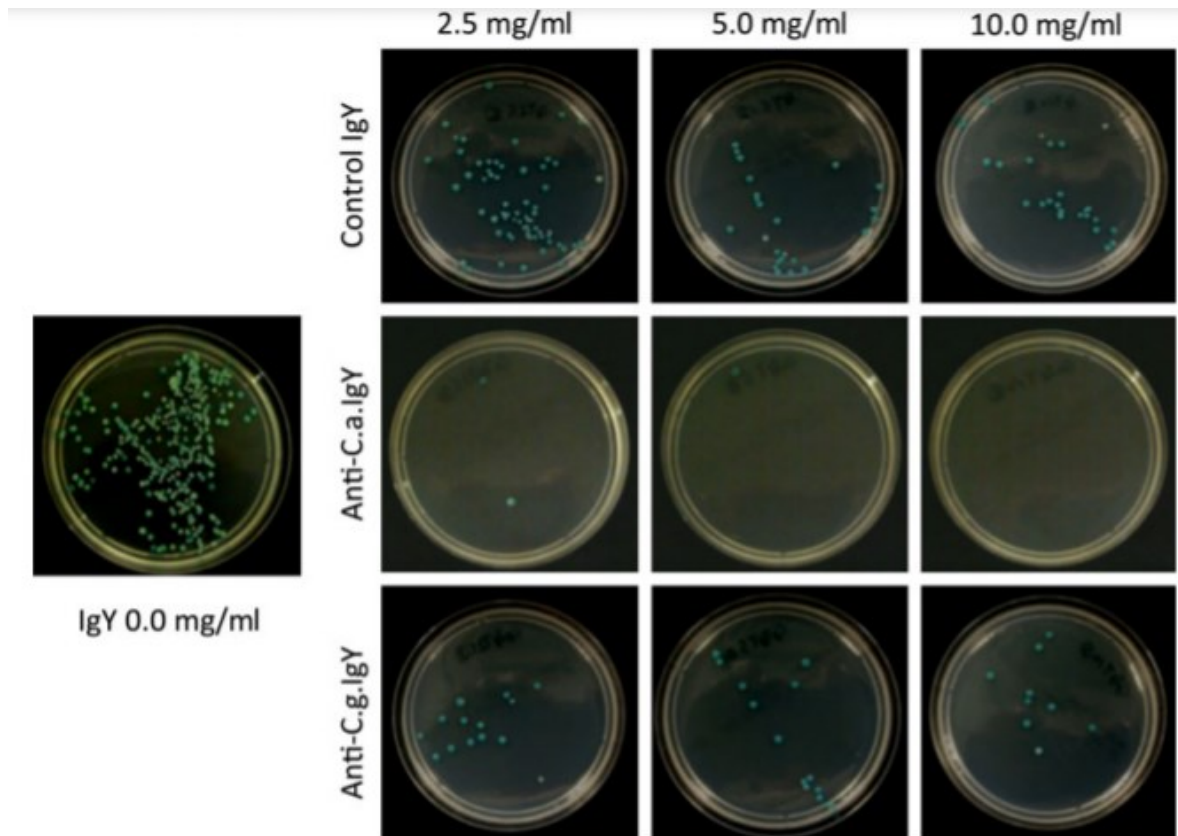
Quando específica, a IgY se torna uma importante alternativa para ser usada como antimicrobiano na medicina humana e veterinária. *In vitro*, a sua atividade antibacteriana pode ser observada pela inibição do crescimento das bactérias e a formação de biofilme, bem como capacidade de adesão, uma vez que são condições prévias para colonização bem sucedida destes microrganismos (RAHMAN et al., 2013; SCHADE; TERZOLO, 2006).

#### 4.7.3 Atividade antifúngica

Os antifúngicos, também conhecido como antimicóticos, são fármacos que visam tratar infecções causadas por fungos. Cetoconazol, miconazol, itraconazol, fluconazol e clotrimazol são alguns exemplos de fármacos antifúngicos. Infelizmente o uso desses fármacos são capazes de desencadear efeitos colaterais importantes, como insuficiência renal, desordem eletrolítica e também hepatotoxicidade (BATES et al., 2001; NETT; ANDES, 2016). Alguns estudos com a IgY vêm surgindo nos últimos anos afins de introduzi-la como terapia antifúngica afim de substituir ou somar as terapias convencionais. Tal conquista poderia resultar na diminuição do uso de drogas convencionais culminando na diminuição dos colaterais previsto nessas drogas. A *Candida albicans* é um patógeno fúngico mais encontrado em humanos, onde em situações normais não desencadeia doença. Em situações como *stress*, imunossupressão o fungo é capaz de gerar dermatites fúngicas superficiais na mucosa de forma oportuna. Em casos sistêmicos pode comprometer a vida (WANG, 2015). A defesa do hospedeiro contra *Candida albicans* depende de respostas imunes inatas e adaptativas, para permitir que o hospedeiro neutralize o fungo invasor (RICHARDSON; MOYES, 2015).

Em 2016, Takeuchi e colaboradores testaram uma preparação em gel, para uso oral, onde continha IgY anti-*Candida albicans* da qual causou um redução no número de UFC (Unidades formadoras de Colônia) em pacientes idosos, mostrando assim ser uma promessa para o uso profilático no combate à infecções por *Candida albicans*. Em outros experimentos, a IgY pode inibir à adesão da *Candida albicans* e *Candida glabrata* ao material da base de prótese dentária (Figura 17). Segundo estes experimentos, o IgY anti-*C. albicans* foi mais eficaz contra *C. albicans* do que o IgY anti-*C. glabrata*, enquanto ambos os anticorpos foram igualmente eficazes na prevenção de adesão da *C. Glabrata* (KAMIKAWA et al., 2016).

Figura 17 – Inibição do crescimento fúngico na presença da IgY anti-*Candida albicans* e IgY anti-*Candida glabrata* em material de prótese dentária.



Legenda: Capacidade da IgY em inibir o crescimento dos respectivos fungos em placas durante ensaios in vitro. Fonte: Kamikawa (2016).

#### 4.7.4 Acidentes com cobras e escorpiões

Acidentes ofídico é uma grande preocupação nas emergências hospitalares. O tratamento básico depende da administração de soro antiofídico à base de imunoglobulinas de origem animal. As terapias antiofídicas apresentam limitações significativas, sendo um desafio no tratamento do envenenamento (ALANGODE; RAJAN; NAIR, 2020), e explorar novas abordagens terapêuticas é um fator importante para superar limitações que ainda podemos evidenciar nos casos de acidente ofídicos.

As IgY tem sido uma opção eficiente para acidentes ofídicos e escorpiônicos. Em 2010, Araújo e colaboradores realizaram experimentos demonstrando a capacidade da IgY em neutralizar a dose letal de um *poll* de cinco serpentes do gênero *Bothrops*, conhecidas como jararacas (ARAÚJO, A.S. et al., 2010). Outro estudo realizado, foi observado que os anticorpos

produzidos contra veneno de serpentes *Crotalus* e *Bothrops* produziram alto efeito neutralizante *in vitro* contra maioria dos antígenos presentes nos venenos (DE ANDRADE et al., 2013).

Verificou-se na IgY uma atividade neutralizante superior aos antiofídicos convencionais, proveniente de mamíferos. Sugerindo aprofundar os estudos para confirmar segurança, eficácia para ser utilizado como método alternativo aos antiofídicos convencionais para serem utilizados em humanos e animais (DUAN et al., 2016).

Em relação aos escorpiões, em 2013 foi produzido por Alvarez e colaboradores, os anticorpos IgY que apresentaram capacidade de neutralizar o veneno das espécies *Tityus caraptensis* e *Tityus* por método *in vivo*. Dessa maneira, sugeriram que a tecnologia IgY pode ser aplicada em alternativa ao antiescorpiônico equino (ALVAREZ et al., 2013).

#### **4.7.5 Utilização para controle de obesidade**

A obesidade é uma grande preocupação das organizações de saúde em todo o mundo. A obesidade pode desencadear ou estar associada à outros problemas como diabetes, aterosclerose, sedentarismo, artrite, hipertensão, problemas cardíacos, apneia do sono, esteatose hepática, e depressão (CABRERA-FUENTES et al., 2016; PURNAMASARI et al., 2011; SHUKLA; KUMAR; SINGH, 2014).

Em 2013, Hirose e colaboradores desenvolveram IgY anti-lipase pancreática suína para realização de experimentos *in vitro* e *in vivo*. Neste estudo, os ratos receberam alimentação hipercalórica e quando obesos, receberam anticorpo via oral concomitante a alimentação. Foi observado diminuição do tecido adiposo, diminuição no nível de gordura no fígado e aumento da excreção fecal de triglicerídeos. O anticorpo IgY anti-lipase foi capaz de inibir a hidrólise da gordura da dieta resultando na diminuição da absorção intestinal. Tal experimento sugere a capacidade do anticorpo no controle da obesidade (HIROSE et al., 2013).

#### **4.7.6 Atividade antitumoral**

Já é possível encontrar estudos que investigam a capacidade da IgY em atingir antígenos tumorais. É uma alternativa atraente para pesquisas como alvo a produção de substâncias antitumorais, visando atuar de forma coadjuvante e contribuir na minimização dos efeitos colaterais que ocorrem em quimioterapias tradicionais (AMIRIJAVID et al., 2016; CHAVEZ-CORTEZ et al., 2019).

Em um estudo conduzido por Amirijavid e colaboradores (2016), foi produzido IgY altamente específico contra pequeno epítipo de vinte e um aminoácidos do receptor TRAIL-2 de humanos com o objetivo de mimetizar um indutor de apoptose. Nesta investigação, foi verificado por citometria de fluxo que a IgY induziu apoptose em células cancerosas mamárias demonstrando um direcionamento específico e potencial para aplicação terapêutica, com efeitos colaterais reduzidos por via apoptótica (AMIRIJAVID et al., 2016).

O glioblastoma é a neoplasia maligna mais comum que acomete sistema nervoso, e que embora exista pesquisas para tratamento, o prognóstico é desanimador. Neste estudo foi desenvolvido IgY anti-proeminina-1 já que em geral as células-tronco malignas possuem esta glicoproteína. A proeminina-1 é um importante alvo para o surgimento de drogas capazes de tratar o glioblastoma (CHAVEZ-CORTEZ et al., 2019).

Chavez e colaboradores (2019), estimularam galinhas a sintetizarem IgY específica contra proeminina-1 e após sua extração avaliaram seu potencial em experimentação *in vitro* e *in vivo*. Foi evidenciado a diminuição em 55% da viabilidade celular nos estudos *in vitro*. A doença foi implantada a partir da administração de células-tronco de glioma maligna, via SC, e depois receberam a IgY específica via IP. Os animais desafiados tiveram mais de 50% de redução da massa neoplásica. Chaves e colaboradores (2019), puderam concluir que o IgY anti-proeminina-1 fornece uma nova abordagem terapêutica para glioblastoma (CHAVEZ-CORTEZ et al., 2019)

#### **4.7.7 Rinite alérgica**

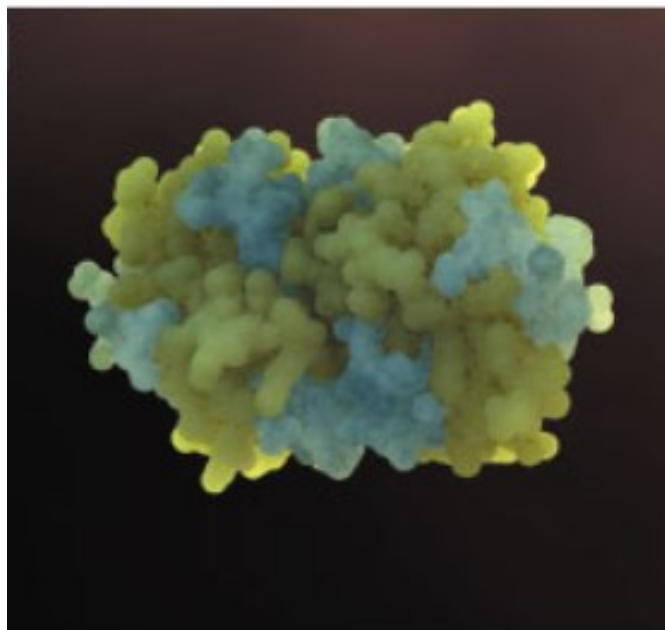
A rinite alérgica é uma doença nasal sintomática, caracterizada por uma inflamação mediado por IgE após a exposição à alérgenos (BOUSQUET et al., 2008). Alérgenos mais comuns são pelos de animais, partículas fecais de ácaros, bolores e pólenes (SMALL; KIM, 2011). Congestão, coceira, obstrução nasal, espirros e rinorreia são sintomas nasais comuns que estão presentes em quadros de rinite alérgicas (SMALL; KIM, 2011). Em casos de obstrução nasal, alguns indivíduos podem apresentar apneia do sono (GEORGALAS, 2011; KOINIS-MITCHELL et al., 2012). Sinais oftálmicos podem surgir, como conjuntivite, lacrimejamento e prurido (GEORGALAS, 2011). A terapia convencional se dá pela administração de corticoides como prednisolona, prednisona ou dexametasona. Outros fármacos são os anti-histamínicos, tais como loratadina, prometazina, cetirizina e hidroxizina (RANG, 2007; SMALL; KIM, 2011; SPINOSA, 2017).



Foi avaliada a atividade antialérgica da IgY através do bloqueio da IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  em quadros de rinite alérgica, reação inflamatória na mucosa nasal e tecidos pulmonares em porquinhos da Índia. Os animais foram divididos em diferentes grupos e receberam as formulações de IgY por via intranasal. Enquanto o grupo controle recebeu solução fisiológica. Na histopatologia dos animais que receberam tratamento de IgY, foi evidenciado que o número de eosinófilos diminuiu significativamente no sangue periférico, na lavagem nasal e lavado bronco alveolar. Além da diminuição importante ou ausência de edema e de leucócitos infiltrados nas cobaias que receberam as Imunoglobulinas. Tais dados sugerem que a IgY pode reduzir inflamação alérgica e patológica em utilizações tópicas (WEI-XU et al., 2016).

A saliva de gatos possui uma proteína chamada Fel d1 (Figura 18) que pode causar sintomas alérgicos nasais e oculares em seres-humanos por intermédio da imunoglobulina IgE. Esta saliva pode estar presente no pelo do felino devido o conhecido banho-de-gato com a língua e também está liberado no ambiente com a queda de pelos do animal. Tal antígeno pode ativar reação alérgica em pessoas que não possuem o felino por fômites. Dos indivíduos que possuem alergia a gatos, 83,7 % das crianças e 88-95 % dos adultos são sensíveis ao antígeno Fel D1, e 90 % destes indivíduos tem a imunoglobulina IgE dirigida contra o antígeno e 60-80 % de todos os IgY sintetizados em resposta à pelos de gato são específicos para a Fel D1 (BJERG et al., 2015; BONNET et al., 2018; ICHIKAWA et al., 1999; MORGENSTERN et al., 1991; UKLEJA-SOKOŁOWSKA et al., 2016).

Figura 18 – Configuração tridimensional da proteína de Fel d 1.

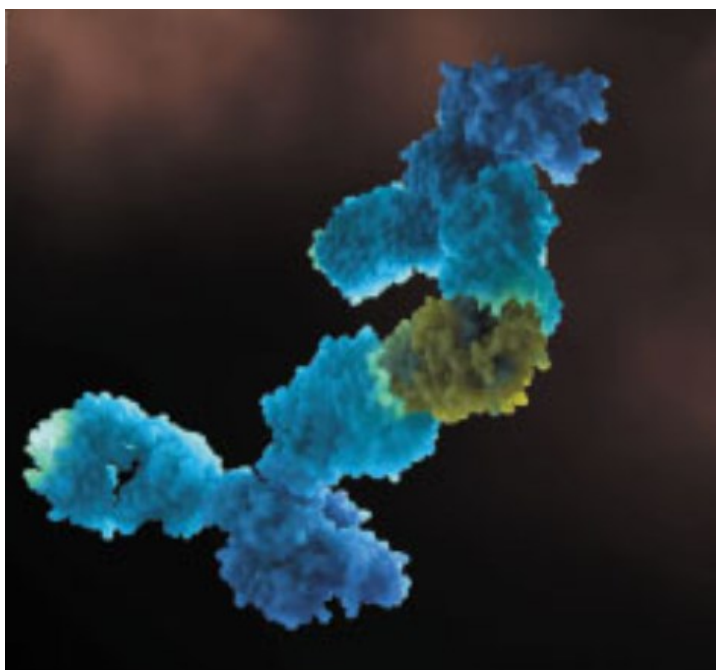


Legenda: Ilustração tridimensional da proteína Fel d1 presente na saliva dos gatos e é capaz de processo alérgicos em humanos. Adaptada de Wandalsen e Sano (2020).



Satyaraj e colaboradores (2019) administraram IgY anti-Fel d1 inseridos na alimentação de gatos visando a diminuição do patógeno durante o processo digestivo desses animais. O estudo concluiu que administrar IgY anti-Fel d1 na alimentação de gatos tem a capacidade de reduzir consideravelmente a quantidade de Fel d1 a partir de três semanas. Em outro estudo houve uma redução significativa na média do antígeno Fel d1 com uma diminuição média geral de 47 %, variando entre 33-71 % em relação ao valor basal na décima semana, e os gatos com o a Fel d1 de linha de base mais alto mostrou a maior diminuição em a Fel d1 (SATYARAJ; GARDNER; et al., 2019). Tais resultados indicam que IgY anti-fel d1 inseridas na alimentação dos gatos podem reduzir consideravelmente a quantidade de antígeno o que resultaria na diminuição das manifestações alérgicas em seres humanos (SATYARAJ; GARDNER; et al., 2019).

Figura 19 – Configuração tridimensional da proteína de Fel d 1 neutralizada por duas IgY.



Legenda: Anticorpos IgY específicos neutralizando a proteína Fel d 1 encontrada na saliva de gatos. Adaptada de Wandalsen e Sano (2020).

A alergia a gatos é um fator importante na decisão de doação e abandono destes e animais, e a partir dessa ideia foi desenvolvido uma alimentação para gatos visando o bem-estar das pessoas. A ração é revestida de IgY anti-Fel d1 e diminui cerca de 47 % da quantidade da Fel d1 presente na saliva. A IgY presente na alimentação entra em contato com o antígeno podendo inativa-la ainda na boca do felino (SATYARAJ; GARDNER; et al., 2019).

#### 4.7.8 Aplicabilidade da IgY para diagnóstico

Uma das grandes vantagens da IgY é a não ocorrência de reações cruzadas, por não haver reconhecimento da porção FC. A IgY se torna uma grande alternativa no surgimento de testes imunológicos para diagnóstico de doenças causadas por diferentes antígenos (MINE; KOVACS-NOLAN, 2002; SCHADE; ZHANG; TERZOLO, 2007), como por exemplo as apresentadas na tabela 5.

Tabela 5 – IgY para diagnóstico.

Diagnóstico	Achados em experimentos	Fonte de pesquisa
Parvovirose canina	Sensibilidade e especificidade em cromatografia e ELISA em amostras fecais.	He e colaboradores (2015)
BVDV (Vírus da diarreia viral bovina)	IgY específica contra a proteína E2 do BVDV em testes de ELISA para detectar patógenos.	Zhang e colaboradores (2016)
HAV (Vírus da hepatite A)	Sensibilidade e especificidade satisfatória em ensaio imunoenzimático para detecção de IgG anti-HAV	Silva e colaboradores (2012)
Infecção por <i>Staphylococcus Aureus</i>	Alta titulação em teste de ELISA e avides em Western Blot utilizando IgY anti-EFB (proteína de ligação de fibrinogênio) e contra epítipo peptídico da proteína EFB.	(Walczak e colaboradores (2015)
	IgY anti- $\alpha$ -hemolisina apresentou alta especificidade contra toxina sem reagir com a proteína A que está presente em todas as cepas de <i>S. Aureus</i>	Reddy e colaboradores (2013)
<i>Toxoplasma Gondii</i>	Utilização de IgY anti-SAG 1 (proteína de superfície) para detecção de <i>toxoplasma Gondii</i> em teste de ELISA e <i>Western Blot</i> .	Cakir-Koc e colaboradores (2016)
Gentamicina residual	Identificação de gentamicina residual em alimentos de origem animal pela utilização de IgY anti-gentamicina	He e colaboradores (2016), Li e colaboradores (2017)

Em estudo para diagnóstico da parvovirose canina, He e colaboradores (2015) puderam evidenciar a alta sensibilidade e especificidade com amostras fecais. Os anticorpos obtidos não demonstraram qualquer reatividade cruzada com os outros patógenos que também causam diarreia. São eles, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus*, *Clostridium difficile*, CDV (vírus da cinomose canina) e CCV (coronavírus canino). Estas observações sugerem que o método desenvolvido com base na IgY anti-CPV, exibindo especificidade

requintada. As 34 amostras de animais suspeitos foram testadas em paralelo por três métodos diferentes. A coincidência de ELISA e ICA (*Independent components analysis*) com PCR (proteína C-reativa) foi de 97,06 % e 94,12 %, respectivamente (HE et al., 2015).

Muitos estudos, como os listados na tabela 5, demonstram o grande potencial e precisão da IgY como anticorpos específicos para imunodiagnóstico onde ensaio como ELISA são realizados.

#### **4.7.9 IgY em doenças celíacas**

O glúten é um derivado do trigo, cevado, centeio e possivelmente aveia. Algumas pessoas podem possuir doença Celíaca (DC) que é uma doença autoimune desencadeada pela intolerância ao glúten. O glúten refere-se a todo componente de proteína enriquecido com prolina e glutamina que usualmente são chamadas de prolaminas. Entre elas a gliadina é conhecida por estar envolvida na patogênese da DC. A gliadina é resistente a digestão das proteases do qual aumenta sua sobrevivência no Lúmen intestinal humano. Com isso é capaz de desencadear má absorção e respectivos sintomas clínicos de ataque autoimune e reações inflamatórias na pele (BARKER; LIU, 2008; SHAN, 2002; SOLLID; THORSBY, 1993).

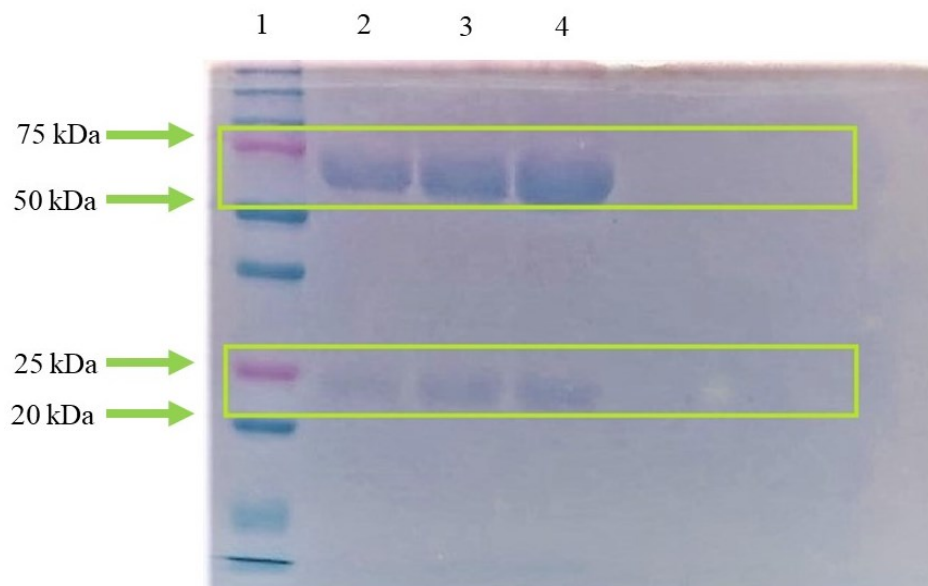
Gujral e colaboradores produziram pós contendo IgY anti-gliadina que apresentou atividade eficaz ao ser submetida a condições químicas análogas as do estômago e do intestino delgado em testes *in vitro*. Foi demonstrado a capacidade de neutralizar a gliadina, tanto a isolada quanto presente nos alimentos. Foi evidenciado em experimentos com camundongos Balb/c que a IgY pode diminuir em menos de 1 % a absorção da gliadina, sugerindo que a a IgY anti-gliadina pode minimizar os efeitos causados em pacientes que sofrem de DC (GUJRAL et al., 2012).

## 5 RESULTADO EXPERIMENTAL

Com objetivo de validar o protocolo de isolamento de IgY de gema de ovos de galinhas, reproduzimos o protocolo proposto por Polson com algumas adaptações (POLSON; VON WECHMAR; VAN REGENMORTEL, 1980). A partir de ovos comuns comerciais, foi extraído proteínas da gema, como descrito na metodologia e o produto final foi resolvido em gel SDS-PAGE 10 %. Na Figura 20 é possível visualizar na primeira coluna o marcador de peso molecular Bio-Rad. Nas colunas 2, 3 e 4 as proteínas resolvidas no decorrer do gel nas diluições 1:5, 1:10 e pura.

Após a etapa de lise da gema, as proteínas foram separadas por colunas de peso molecular 100 kDa. Desta forma, foram excluídas proteínas com peso inferior a 100 kDa, reduzindo contaminações visíveis no gel. Em seguida, a separação das cadeias ocorre mediante a desnaturação pela quebra das pontes de sulfetos onde ocorre a união das cadeias leves e pesadas. A separação ocorreu por calor e quebra química. Na figura 20, é possível visualizar as subunidades da IgY sendo elas a cadeia e pesada entre 50 – 75 kDa e cadeia leve pesando entre 20 e 25 kDa.

Figura 20 – Gel de eletroforese para detecção da imunoglobulina por peso molecular.



Legenda: Eletroforese. Coluna 1: Slader; coluna 2: 1:5; colula 3: concentração 1:10; coluna 4: pura.

O resultado de isolamento de IgY se mostrou eficaz, pois foi possível visualizar as cadeias que compõem a IgY, e inferimos que sua purificação ocorreu de forma satisfatória a partir das bandas visualizadas no gel.

## 6 DISCUSSÃO

A imunoglobulina Y tem sido bastante explorada nos últimos tempos, e isto se dá pelas propriedades bioquímicas distintas comparada a IgG dos mamíferos. Tais características a tornam mais vantajosa em vários aspectos possibilitando a exploração e introdução não só na pesquisa básica como também na indústria farmacêutica (XU et al., 2019). Podendo ser aplicada em vários tipos de terapias, na prevenção de uma gama de enfermidades. A IgY é capaz de detectar antígenos, microrganismos, marcadores tumorais e substâncias, favorecendo ao diagnóstico e ensaios imunológicos. Outro fator, é que como advém de um alimento, facilitaria sua administração, seja como alimento funcional ou em formulações farmacêuticas mais elaboradas para ser introduzida para devidos fins (PEREIRA et al., 2019; SCHADE et al., 2005; THIRUMALAI et al., 2019)

As descobertas usando IgY mostram com clareza, a versatilidade da tecnologia. As vantagens da IgY aviária sobre a IgG de mamíferos vão desde técnicas e econômicas a benefícios na sua empregabilidade em amplo espectro na saúde humana e veterinária (KOVACS-NOLAN; MINE, 2012; SCHADE; ZHANG; TERZOLO, 2007).

As diferenças filogenéticas entre aves e mamíferos aumentam a imunogenicidade contra epítomos, que não são conjugados com anticorpos de mamíferos, tornando-os mais aplicáveis (MUNHOZ et al., 2014). Outra vantagem da IgY sob outros anticorpos é que ela não interage com os receptores Fc de mamíferos que poderia mediar respostas inflamatórias indesejáveis (CARLANDER et al., 2000; DE OLIVEIRA et al., 2019; DIAS DA SILVA; TAMBOURGI, 2010). A IgY também não reage com outras imunoglobulinas em mamíferos, nem mesmo as que compõem o sistema complemento. Dessa forma, não desencadeia reações cruzadas que poderiam resultar em falso-positivo nos imunoenaios (CARLANDER et al., 2000).

Ciente da necessidade e das exigências para o uso de animais em pesquisa, a empregabilidade desta imunoglobulina resulta grandiosamente no bem estar animal, pela não realização de sangria para obtenção da imunoglobulina diminuindo assim o *stress* e eutanásia de animais que são comumente utilizados (LEIVA et al., 2020). Além disso, são necessárias baixas quantidades de antígeno para atingir alta titulação de anticorpos, além de longa duração. Isso irá reduzir o número de animais, já que galinhas produzem maiores quantidades de anticorpos em relação a outros animais (LEE, Warren et al., 2017; PAULY, D et al., 2009; SUDJARWO et al., 2017). Para adquirir uma quantidade igual de IgG de mamíferos e grande volume de soro, a IgY tem uma vantagem sobre a IgG, já é um método menos invasivo exigindo apenas a coleta diária dos ovos em comparação com a coleta de sangue em mamíferos

(KARLSSON; KOLLBERG; LARSSON, 2004; SCHADE; HLINAK, 1996). Por isso, a IgY vem crescendo como métodos alternativos ao uso de animais em experimentos. Isso indica que a IgY pode ser um importante avanço para a manutenção do bem-estar de animais, em especial, quando comparados na produção de IgG de mamíferos que na grande maioria das vezes são eutanasiados.

No ponto de vista econômico, as galinhas apresentam uma fonte mais econômica e grande quantidade de anticorpos específicos (SCHADE; ZHANG; TERZOLO, 2007). Durante um ano, uma galinha produz em média 280 ovos sendo que cada ovo contém 150mg de IgY, resultando em até 42g de IgY por ano (SCHADE; HLINAK, 1996). Estima-se que a produtividade de anticorpos na gema é de quase 18 vezes maior do que a de coelhos, com base no peso do anticorpo produzido por animal (AKITA; NAKAI, 1993a).

A IgY também é viável pelo baixo custo de produção, sendo necessário bem menos antígenos para desencadear resposta imune eficiente. (GASSMANN et al., 1990; LARSSON, Anders; CARLANDER; WILHELMSSON, 1998). A resposta imune das aves é persistente o que induz alta titulação de IgY nas gemas das galinhas imunizadas por longo período (IKEMORI et al., 1993), o que diminui ainda mais os investimentos.

Tais fatos apresentados consolidam a tecnologia IgY como uma alternativa promissora na produção de anticorpos. Essa substituição poderia resultar na diminuição de custos em relação a produção de anticorpos de mamíferos e também em bons resultados, já que a IgY em estudos apresenta vantagens a IgG devido suas diferenças técnicas e facilidade de obtenção, que em muitos casos também são menos custosos.

Em contraste com o soro de mamíferos, na gema do ovo existe apenas a IgY de imunoglobulina, facilitando seu isolamento por técnicas de precipitação (GASSMANN et al., 1990). A separação do anticorpo dos lipídios e demais componentes da gema podem ser realizadas a partir de diferentes formas de precipitação, como por polietilenoglicol, gel de filtração e demais processos nos quais variam a pureza, estabilidade, concentração e atividade do anticorpo (ZHANG, 2003).

No caso de a IgY ser implementada como alimentação, a gema poderá ser administrada liofilizada ou vendida no ovo inteiro, onde não haverá necessidade de uma extração química minimizando ainda mais os gastos.

Outro ponto importante é que a IgY específica pode ser aplicada para tratamento de diversas doenças infecciosas, podendo contribuir para diminuição de efeitos colaterais de medicações e na cura do paciente, podendo ser usado sozinha ou associada a depender da enfermidade. Tendo em vista a capacidade de neutralizadora da IgY, pode representar um

importante recurso antimicrobiano. Tal fato é argumentado já que a diminuição e/ou substituição de antibióticos é uma preocupação pela resistência bacteriana e surgimentos de doenças infecciosas. A IgY é capaz de detectar antígenos próprios e não próprios em virtude das diferenças estruturais da IgY e IgG, e também distância filogenética entre aves e mamíferos (NILSSON; LARSSON, 2005; ZERPA et al., 2014). A IgY não é capaz de ativar sistema complemento em mamíferos, e nem interagem com fatores reumatoides ou receptores Fc de humanos resultando em maior especificidade e precisão em diagnóstico, ensaios imunológicos além de não ocorrer reação cruzada.

## 7 CONCLUSÃO

A nossa revisão nos leva a conclusão de que A IgY é um anticorpo mais vantajoso quando comparada a IgG. É mais rentável e econômica, promove mais bem-estar animal, maior precisão nos imunoenaios. Pode ser produzida em maior escala e ser utilizada na imunidade passiva ou empregada como método alternativo as terapias convencionais. A IgY é uma alternativa promissora e sua introdução na pesquisa e indústria farmacêutica contribuiria com grandes resultados seja experimental ou terapêutico.



## 8 PERSPECTIVAS E ABORDAGENS FUTURAS

Embora já se saiba de tantas possibilidades da IgY, ainda é necessário que se tenham mais pesquisas para o desenvolvimento nas técnicas de produção que vai dos protocolos de imunização das aves, extração e métodos de purificação. Já que existem vários fatores relevantes que interferem nos resultados desejados como: espécie da ave, raça, idade e também o antígeno que será empregado nos experimentos (COOK; TROTT, 2010; LÉVESQUE; MARTINEZ; FAIRBROTHER, 2007; PAULY, D et al., 2009; SCHADE; HLINAK, 1996). Baseado-se em estudos disponíveis sobre os diferentes tipos de imunoglobulinas, a IgY ainda é bem menos caracterizada em relação aos isotipos de mamíferos, em especial aos efeitos resultante de sua aplicação na medicina veterinária e humana.

Se faz necessário investir e aprimorar em mais estudos que visam sua estabilidade até ação sistêmica. Avaliar seus efeitos específicos em animais e humanos, a curto ou a longo prazo, elucidando sua utilização em estudos clínicos. Investigar soluções que facilitarão a farmacocinética da IgY, em especial das enzimas proteolíticas presente no processo digestório. Para empregar a IgY é necessário compreender sua estabilidade e qual o melhor método de obtenção, sem deteriorar sua estrutura e sem minimizar sua efetividade. Com o objetivo de preparações formulações farmacêuticas eficazes e que possam assegurar a qualidade do produto e sua estabilidade. Outro fator importante é a digestibilidade proteolítica principalmente nos casos de administração oral, seja como alimento funcional, encapsulados ou gema desidratada. (ZHEN et al., 2009)

## 9 REFERÊNCIAS

AKITA, E. M.; NAKAI, S. Comparison of four purification methods for the production of immunoglobulins from eggs laid by hens immunized with an enterotoxigenic *E. coli* strain. **Journal of Immunological Methods**, v. 160, n. 2, p. 207–214, 1993a.

AKITA, E.M.; NAKAI, S. Production and purification of Fab' fragments from chicken egg yolk immunoglobulin Y (IgY). **Journal of Immunological Methods**, v. 162, n. 2, p. 155–164, jun. 1993b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002217599390380P>>.

ALANGODE, Aswathy; RAJAN, Karthika; NAIR, Bipin G. Snake Antivenom: Challenges and Alternate Approaches. **Biochemical Pharmacology**, v. 181, p. 114135, nov. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006295220303713>>.

ALÓS, Juan-Ignacio. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 33, n. 10, p. 692–699, dez. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>>.

ALVAREZ, Aurora et al. IgY Antibodies Anti-Tityus Caripitensis Venom: Purification and Neutralization Efficacy. **Toxicon**, v. 74, p. 208–214, nov. 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041010113003425>>.

AMIRIJAVID, Shaghayegh et al. Apoptotic Killing of Breast Cancer Cells by IgYs Produced Against a Small 21 Aminoacid Epitope of the Human TRAIL-2 Receptor. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 17, n. sup3, p. 293–297, 1 jun. 2016. Disponível em: <<http://europepmc.org/abstract/MED/27165241>>.

ARAÚJO, A.S. et al. Brazilian IgY-Bothrops Antivenom: Studies on the Development of a Process in Chicken Egg Yolk. **Toxicon**, v. 55, n. 4, p. 739–744, abr. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041010109005224>>.

ARAÚJO, Amanda Soriano. **Produção de Antiveneno Botrópico em ovos de Galinha**. 2007. 57 f. 2007.

BALLS, Michael. The principles of humane experimental technique: timeless insights and unheeded warnings. **Altex**, p. 144–148, 2010.

BARBERIS, I et al. History and Evolution of Influenza Control through Vaccination: From the First Monovalent Vaccine to Universal Vaccines. **Journal of Preventive Medicine and Hygiene**, v. 57, n. 3, p. E115–E120, set. 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27980374>>.

BARKER, Jennifer M; LIU, Edwin. Celiac Disease: Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Associated Autoimmune Conditions. **Advances in Pediatrics**, v. 55, n. 1, p. 349–365, set. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065310108000029>>.

BASELER, Laura et al. The Pathogenesis of Ebola Virus Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 12, n. 1, p. 387–418, 24 jan. 2017. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-pathol-052016-100506>>.

BATES, D W et al. Mortality and Costs of Acute Renal Failure Associated with Amphotericin B Therapy. **Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 32, n. 5, p. 686–693, mar. 2001.

BERNARDI, G.; COOK, W.H. An electrophoretic and ultracentrifugal study on the proteins of the high density fraction of egg yolk. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 44, p. 86–96, jan. 1960. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006300260915262>>.

BJERG, Anders et al. A Population-Based Study of Animal Component Sensitization, Asthma, and Rhinitis in Schoolchildren. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 26, n. 6, p. 557–563, set. 2015. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pai.12422>>.

BLATTNER, Frederick R; TUCKER, Philip W. The Molecular Biology of Immunoglobulin D. **Nature**, v. 307, n. 5950, p. 417–422, fev. 1984. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/307417a0>>.

BONNET, B. et al. An update on molecular cat allergens: Fel d 1 and what else? Chapter 1: Fel d 1, the major cat allergen. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v. 14, n. 1, p. 14, 10 dez. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13223-018-0239-8>>.

BOUSQUET, J et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008\*. **Allergy**, v. 63, p. 8–160, abr. 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1398-9995.2007.01620.x>>.

BURLEY, R. W.; COOK, W. H. ISOLATION AND COMPOSITION OF AVIAN EGG YOLK GRANULES AND THEIR CONSTITUENT  $\alpha$ - AND  $\beta$ -LIPOVITELLINS. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 39, n. 8, p. 1295–1307, 1 ago. 1961. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/o61-136>>.

CABRERA-FUENTES, Hector A et al. From Basic Mechanisms to Clinical Applications in Heart Protection, New Players in Cardiovascular Diseases and Cardiac Theranostics: Meeting Report from the Third International Symposium on “New Frontiers in Cardiovascular Research”. **Basic Research in Cardiology**, v. 111, n. 6, p. 69, 14 nov. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00395-016-0586-x>>.

CAI, Yu Chun et al. Chicken egg yolk antibodies (IgY) for detecting circulating antigens of *Schistosoma japonicum*. **Parasitology International**, v. 61, n. 3, p. 385–390, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2012.01.008>>.

CAKIR-KOC, Rabia. Production of Anti-SAG1 IgY Antibody against *Toxoplasma Gondii* Parasites and Evaluation of Antibody Activity by ELISA Method. **Parasitology Research**, v. 115, n. 8, p. 2947–2952, 15 ago. 2016. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00436-016-5047-9>>.

CARLANDER, David et al. Peroral immunotherapy with yolk antibodies for the prevention and treatment of enteric infections. **Immunologic research**, v. 21, n. 1, p. 1–6, 2000. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1385/IR:21:1:1>>.

CASALI, P; SCHETTINO, E W. Structure and Function of Natural Antibodies. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.** Germany: [s.n.], 1996. v. 210. p. 167–179. Disponível em: <[http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-85226-8\\_17](http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-85226-8_17)>.

CHALGHOUMI, R et al. Hen egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, v. 13, p. 295–308, 2009.

CHANG, Hung Min et al. Productivity and Some Properties of Immunoglobulin Specific against *Streptococcus m Utans* Serotype c in Chicken Egg Yolk (IgY). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, n. 1, p. 61–66, jan. 1999. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf980153u>>.

CHAVEZ-CORTEZ, Elda-Georgina et al. Production and Evaluation of an Avian IgY Immunotoxin against CD133+ for Treatment of Carcinogenic Stem Cells in Malignant Glioma: IgY Immunotoxin for the Treatment of Glioblastoma. **Journal of Oncology**, v. 2019, p. 1–15, 2 jun. 2019. Disponível em: <<https://www.hindawi.com/journals/jo/2019/2563092/>>.

CHEN, C L; LEHMEYER, J E; COOPER, M D. Evidence for an IgD homologue on chicken lymphocytes. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 129, n. 6, p. 2580–5, dez. 1982. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6183338>>.

CHUCRI, T.M. et al. A review of immune transfer by the placenta. **Journal of Reproductive Immunology**, v. 87, n. 1–2, p. 14–20, dez. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2010.08.062>>.

COOK, M. E.; TROTT, D. L. IgY - Immune component of eggs as a source of passive immunity for animals and humans. **World's Poultry Science Journal**, v. 66, n. 2, p. 215–225, 2010.

CRUVINEL, Wilson de Melo et al. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, n. 4, p. 434–447, ago. 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF02166249>>.

DAVIES, E.Linda et al. Selection of specific phage-display antibodies using libraries derived from chicken immunoglobulin genes. **Journal of Immunological Methods**, v. 186, n. 1, p. 125–135, out. 1995. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002217599500143X>>.

DAVISON, FRED; MAGOR, KATHARINE E.; KASPERS, BERND. STRUCTURE AND EVOLUTION OF AVIAN IMMUNOGLOBULINS. **Avian Immunol.** [S.l.]: Elsevier, 2008. p. 107–127. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123706348500093>>.

DE ANDRADE, Fábio Goulart et al. The Production and Characterization of Anti-Bothropic and Anti-Crotalic IgY Antibodies in Laying Hens: A Long Term Experiment. **Toxicon**, v. 66, p. 18–24, maio 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041010113000524>>.

DE OLIVEIRA, Raylson Pereira et al. Canine cystitis caused by salmonella enterica subsp. Enterica. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. February, p. 1–4, 2019.

DIAS DA SILVA, Wilmar; TAMBOURGI, Denise V. IgY: A promising antibody for use in immunodiagnostic and in immunotherapy. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 135, n. 3–4, p. 173–180, jun. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.12.011>>.

DIRAVIYAM, Thirumalai et al. Effect of Chicken Egg Yolk Antibodies (IgY) against Diarrhea in Domesticated Animals: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, p. e97716, 20 maio 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0097716>>.

DUAN, Hai-long et al. Anti-Trimeresurus albolabris venom IgY antibodies: preparation, purification and neutralization efficacy. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 22, n. 1, p. 23, 24 dez. 2016. Disponível em: <<http://jvat.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40409-016-0078-3>>.

EISEN, H N; PEARCE, J H. The Nature of Antibodies and Antigens. **Annual Review of Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 101–126, out. 1962. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.mi.16.100162.000533>>.

ERHARD, Michael H et al. The Humoral Immune Response and the Productivity of Laying Hens Kept on the Ground or in Cages. **Alternatives to Laboratory Animals : ATLA**, v. 28, n. 5, p. 699–705, 9 set. 2000. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/026119290002800504>>.

FINK, Ashley L et al. Dengue Virus Specific IgY Provides Protection Following Lethal Dengue Virus Challenge and Is Neutralizing in the Absence of Inducing Antibody Dependent Enhancement. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. e0005721, 7 jul. 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0005721>>.

GASSMANN, Max et al. Efficient production of chicken egg yolk antibodies against a conserved mammalian protein. **The FASEB Journal**, v. 4, n. 8, p. 2528–2532, maio 1990. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1096/fasebj.4.8.1970792>>.

GEORGALAS, Christos. The role of the nose in snoring and obstructive sleep apnoea: an update. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**, v. 268, n. 9, p. 1365–1373, 22 set. 2011. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00405-010-1469-7>>.

GILGUNN, Sarah et al. Comprehensive N-Glycan Profiling of Avian Immunoglobulin Y. p. 1–14, 2016.

GRZYWA, Renata et al. Highly sensitive detection of cancer antigen 15-3 using novel avian IgY antibodies. **ALTEX**, v. 31, n. 1, p. 43–52, 2014. Disponível em: <<http://www.altex.org/index.php/altex/article/view/327>>.

GUIMARAES, MCC. Produção de anticorpos em galinhas. **Perspectivas Online**, v. 2, n. 7, p. 122–129, 2008. Disponível em: <<http://jem.rupress.org/content/130/6/1337.abstract>>.

GUJRAL, Naiyana et al. In-Vitro and In-Vivo Binding Activity of Chicken Egg Yolk Immunoglobulin Y (IgY) against Gliadin in Food Matrix. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3166–3172, 28 mar. 2012. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf205319s>>.

GURTLER, M. et al. Effect of Orally Administered Egg Yolk Antibodies on Salmonella Enteritidis Contamination of Hen's Eggs. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v. 51, n. 3, p. 129–134, abr. 2004. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0450.2004.00739.x>>.

GUTIÉRREZ CALZADO, Esteban et al. Extraction of a Monospecific Coombs-Reagent from Chicken Eggs. **ALTEX**, v. 20, n. 1, p. 21–5, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12579352>>.

HANSEN, Per et al. Isolation and Purification of Immunoglobulins from Chicken Eggs Using Thiophilic Interaction Chromatography. **Journal of Immunological Methods**, v. 215, n. 1–2, p. 1–7, 1 jun. 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022175998000507>>.

HATTA, H et al. Passive Immunization against Dental Plaque Formation in Humans: Effect of a Mouth Rinse Containing Egg Yolk Antibodies (IgY) Specific to Streptococcus Mutans. **Caries Research**, v. 31, n. 4, p. 268–274, 1997. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/262410>>.

HATTA, Hajime; TSUDA, Ken; AKACHI, Shigemitsu; KIM, Mujo; YAMAMOTO, Takehiko; et al. Oral Passive Immunization Effect of Anti-Human Rotavirus IgY and Its Behavior against Proteolytic Enzymes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 57, n. 7, p. 1077–1081, 12 jan. 1993. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bbb/article/57/7/1077-1081/5959749>>.

HATTA, Hajime; TSUDA, Ken; AKACHI, Sigemitsu; KIM, Mujo; YAMAMOTO, Takehiko. Productivity and Some Properties of Egg Yolk Antibody (IgY) against Human Rotavirus Compared with Rabbit IgG. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 57, n. 3, p. 450–454, 12 jan. 1993. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bbb/article/57/3/450-454/5959536>>.

HE, Jinxin et al. Development of Indirect Competitive ELISA Using Egg Yolk-Derived Immunoglobulin (IgY) for the Detection of Gentamicin Residues. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 51, n. 1, p. 8–13, 2 jan. 2016. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03601234.2015.1080479>>.

HE, Jinxin et al. Evaluation of Chicken IgY Generated Against Canine Parvovirus Viral-Like Particles and Development of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Immunochromatographic Assay for Canine Parvovirus Detection. **Viral Immunology**, v. 28, n. 9, p. 489–494, nov. 2015. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vim.2015.0030>>.

HIROSE, Mai et al. Anti-Obesity Activity of Hen Egg Anti-Lipase Immunoglobulin Yolk, a Novel Pancreatic Lipase Inhibitor. **Nutrition & Metabolism**, v. 10, n. 1, p. 70, dez. 2013. Disponível em: <<http://nutritionandmetabolism.biomedcentral.com/articles/10.1186/1743-7075-10-70>>.

HOFFMAN, Wayne L; RUGGLES, Ann O; TABARYA, Daniel. Chicken Anti-Protein A Prevents Staphylococcus Aureus Protein A from Binding to Human and Rabbit IgG in Immunoassays and Eliminates Most False Positive Results. **Journal of Immunological Methods**, v. 198, n. 1, p. 67–77, out. 1996. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022175996001524>>.

HORIE, K. et al. Suppressive effect of functional drinking yogurt containing specific egg yolk immunoglobulin on Helicobacter pylori in humans. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 12, p. 4073–4079, 2004. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73549-3](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73549-3)>.

HOU, Y-Y et al. Protective Effect of an Egg Yolk-Derived Immunoglobulin (IgY) against Prevotella Intermedia -Mediated Gingivitis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 116, n. 4, p. 1020–1027, abr. 2014. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jam.12419>>.



HUANG, Chaolin et al. Clinical Features of Patients Infected with 2019 Novel Coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497–506, fev. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673620301835>>.

HUOPALAHTI, Rainer et al. **Bioactive egg compounds**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-37885-3>>.

ICHIKAWA et al. High Prevalence of Sensitization to Cat Allergen among Japanese Children with Asthma, Living without Cats. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 29, n. 6, p. 754–761, jun. 1999. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2222.1999.00472.x>>.

IKEMORI, Y et al. Protection of Neonatal Calves against Fatal Enteric Colibacillosis by Administration of Egg Yolk Powder from Hens Immunized with K99-Piliated Enterotoxigenic Escherichia Coli. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 11, p. 2005–8, nov. 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1466492>>.

IKEMORI, YUTAKA et al. Research Note: Avidity of Chicken Yolk Antibodies to Enterotoxigenic Escherichia Coli Fimbriae. **Poultry Science**, v. 72, n. 12, p. 2361–2365, dez. 1993. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119452723>>.

JARADAT, Ziad W.; MARQUARDT, Ronald R. Studies on the Stability of Chicken IgY in Different Sugars, Complex Carbohydrates and Food Materials. **Food and Agricultural Immunology**, v. 12, n. 4, p. 263–272, 2 dez. 2000. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09540100020008137>>.

JENSENIUS, Jens Chr. et al. Eggs: Conveniently Packaged Antibodies. Methods for Purification of Yolk IgG. **Journal of Immunological Methods**, v. 46, n. 1, p. 63–68, out. 1981. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022175981903331>>.

JOLIVET, P. et al. Protein Components of Low-Density Lipoproteins Purified from Hen Egg Yolk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4424–4429, jun. 2006. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0531398>>.

KAMIKAWA, Yoshiaki et al. Use of Candida-specific chicken egg yolk antibodies to inhibit the adhering of Candida to denture base materials: prevention of denture stomatitis. **Gerodontology**, v. 33, n. 3, p. 342–347, set. 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ger.12163>>.

KARLSSON, Marie; KOLLBERG, Hans; LARSSON, Anders. Chicken IgY: utilizing the evolutionary advantage. **World's Poultry Science Journal**, v. 60, n. 3, p. 341–348, 1 set. 2004. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1079/WPS200422>>.

KELLIE, S.; AL-MANSOUR, Z. Overview of the Immune System. **Micro Nanotechnol. Vaccine Dev.** [S.l.]: Elsevier, 2017. v. 357. p. 63–81. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978032339981400004X>>.

KLEIN, Bradley G. Cunningham Tratado De Fisiologia Veterinária. **Elsevier**, p. 460–494, 2014.

KLEMPERER, F. Archiv für die Experimentelle Pathologie und Pharmakologie. **Ueber natürliche immunität und ihre verwerthung für die immunisirungstherapie**, v. 31, p. 356–382, 1893.

KOINIS-MITCHELL, Daphne et al. Sleep and allergic disease: A summary of the literature and future directions for research. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 130, n. 6, p. 1275–1281, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2012.06.026>>.

KOLLBERG, Hans et al. Oral Administration of Specific Yolk Antibodies (IgY) May Prevent Pseudomonas Aeruginosa Infections in Patients with Cystic Fibrosis: A Phase I Feasibility Study. **Pediatric Pulmonology**, v. 35, n. 6, p. 433–440, jun. 2003. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ppul.10290>>.

KOVACS-NOLAN, Jennifer; MINE, Yoshinori. Egg Yolk Antibodies for Passive Immunity. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, n. 1, p. 163–182, 10 abr. 2012. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-food-022811-101137>>.

KOVACS-NOLAN, Jennifer; MINE, Yoshinori. Microencapsulation for the Gastric Passage and Controlled Intestinal Release of Immunoglobulin Y. **Journal of Immunological Methods**, v. 296, n. 1–2, p. 199–209, jan. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022175904004211>>.

KOVACS-NOLAN, Jennifer; PHILLIPS, Marshall; MINE, Yoshinori. Advances in the Value of Eggs and Egg Components for Human Health. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 22, p. 8421–8431, nov. 2005.

KRÜGER, C et al. The Effects of Egg-Derived Antibodies to Glucosyltransferases on Dental Caries in Rats. **Caries Research**, v. 38, n. 1, p. 9–14, 2004. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/73914>>.

KUMMER, Angela; LI-CHAN, Eunice C.Y. Application of an ELISA-Elution Assay as a Screening Tool for Dissociation of Yolk Antibody–Antigen Complexes. **Journal of Immunological Methods**, v. 211, n. 1–2, p. 125–137, fev. 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022175997001993>>.

KUROKI, M et al. Passive Protection against Bovine Rotavirus in Calves by Specific Immunoglobulins from Chicken Egg Yolk. **Archives of Virology**, v. 138, n. 1–2, p. 143–148, mar. 1994. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/BF01310045>>.

LARSSON, A; KARLSSON-PARRA, A; SJÖQUIST, J. Use of Chicken Antibodies in Enzyme Immunoassays to Avoid Interference by Rheumatoid Factors. **Clinical Chemistry**, v. 37, n. 3, p. 411–4, mar. 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2004449>>.

LARSSON, ANDERS et al. Chicken Antibodies: Taking Advantage of Evolution—A Review. **Poultry Science**, v. 72, n. 10, p. 1807–1812, out. 1993. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119451997>>.

LARSSON, Anders; CARLANDER, David; WILHELMSSON, Martin. Antibody response in laying hens with small amounts of antigen. **Food and Agricultural Immunology**, v. 10, n. 1, p. 29–36, 16 mar. 1998. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09540109809354966>>.

LECLAIRE, Ross D.; HUNT, Robert E.; BAVARI, Sina. Protection against bacterial superantigen staphylococcal enterotoxin B by passive vaccination. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 5, p. 2278–2281, 2002.

LEE, Kyong-Ae et al. Acid Stability of Anti-Helicobacter pylori IgY in Aqueous Polyol Solution. **BMB Reports**, v. 35, n. 5, p. 488–493, 30 set. 2002. Disponível em: <<http://koreascience.or.kr/journal/view.jsp?kj=E1MBB7&py=2002&vnc=v35n5&sp=488>>.

LEE, Warren et al. Insights into the Chicken IgY with Emphasis on the Generation and Applications of Chicken Recombinant Monoclonal Antibodies. **Journal of Immunological Methods**, v. 447, p. 71–85, ago. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022175917302119>>.

LEIVA, Carlos Leónidas et al. IgY-technology (egg yolk antibodies) in human medicine: A review of patents and clinical trials. **International Immunopharmacology**, v. 81, n. January, p. 106269, 2020a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106269>>.

LEIVA, Carlos Leónidas et al. IgY-technology (egg yolk antibodies) in human medicine: A review of patents and clinical trials. **International Immunopharmacology**, v. 81, n. October 2019, p. 106269, 2020b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106269>>.

LESLIE, Gerrie A.; CLEM, L. W. PHYLOGENY OF IMMUNOGLOBULIN STRUCTURE AND FUNCTION. **Journal of Experimental Medicine**, v. 130, n. 6, p. 1337–1352, 1 dez. 1969. Disponível em: <<https://rupress.org/jem/article/130/6/1337/5831/PHYLOGENY-OF-IMMUNOGLOBULIN-STRUCTURE-AND-FUNCTION>>.

LÉVESQUE, S.; MARTINEZ, G.; FAIRBROTHER, J.M. Improvement of Adjuvant Systems to Obtain a Cost-Effective Production of High Levels of Specific IgY. **Poultry Science**, v. 86, n. 4, p. 630–635, abr. 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/ps/86.4.630>>.

LI, Cui et al. Detection of Kanamycin and Gentamicin Residues in Animal-Derived Food Using IgY Antibody Based Ic-ELISA and FPIA. **Food Chemistry**, v. 227, p. 48–54, jul. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814617300699>>.

LI, Heng et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 5, p. 105951, maio 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924857920301011>>.

LI, Xiangguang et al. Production and characteristics of a novel chicken egg yolk antibody (IgY) against periodontitis-associated pathogens. **Journal of Oral Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 1831374, 1 jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/20002297.2020.1831374>>.

LILIUS, Esa-Matti; MARNILA, Pertti. The role of colostral antibodies in prevention of microbial infections. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 14, n. 3, p. 295–300, jun. 2001. Disponível em: <<http://journals.lww.com/00001432-200106000-00008>>.

LIU, Sihong; DONG, Weihua; KONG, Tianhan. Preparation and Characterization of Immunoglobulin Yolk against the Venom of *Naja Naja Atrata*. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 48, n. 8, p. 778–85, ago. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21341535>>.

LÖSCH, U. et al. The Chicken Egg, an Antibody Source. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 33, n. 1–10, p. 609–619, 12 jan. 1986. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1439-0450.1986.tb00076.x>>.

MAHDAVI, A.H. et al. Effects of Dietary Egg Yolk Antibody Powder on Growth Performance, Intestinal Escherichia Coli Colonization, and Immunocompetence of Challenged Broiler Chicks. **Poultry Science**, v. 89, n. 3, p. 484–494, mar. 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119389989>>.

MASAHIKO KUROKI et al. Passive Protection against Bovine Rotavirus-Induced Diarrhea in Murine Model by Specific Immunoglobulins from Chicken Egg Yolk. **Veterinary Microbiology**, v. 37, n. 1–2, p. 135–146, out. 1993. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/037811359390188D>>.

MCCOMB, Scott et al. Introduction to the Immune System. **Var. Adapt. Expr. Antibodies**. [S.l.]: Harvard University Press, 2019. v. 2024. p. 1–24. Disponível em: <<https://www.degruyter.com/document/doi/10.4159/harvard.9780674365148.intro/html>>.

MCCULLY, K A; MOK, Chi-Ching; COMMON, R H. PAPER ELEGTROPHORETIC CHARACTERIZATION OF PROTEINS AND LIPOPROTEINS OF HEN'S EGG YOLK. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 40, n. 7, p. 937–952, 1 jul. 1962. Disponível em: <<https://doi.org/10.1139/o62-105>>.

MEENATCHISUNDARAM, S et al. Neutralization of the Pharmacological Effects of Cobra and Krait Venoms by Chicken Egg Yolk Antibodies. **Toxicon**, v. 52, n. 2, p. 221–227, ago. 2008a. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041010108003528>>.

MEENATCHISUNDARAM, S et al. Studies on Pharmacological Effects of Russell's Viper and Saw-Scaled Viper Venom and Its Neutralization by Chicken Egg Yolk Antibodies. **International Immunopharmacology**, v. 8, n. 8, p. 1067–1073, ago. 2008b. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576908001021>>.

MEENATCHISUNDARAM, S; SHANMUGAM, V; ANJALI, V M. Development of Chicken Egg Yolk Antibodies against Streptococcus Mitis - Purification and Neutralizing Efficacy. **Journal of Basic and Clinical Pharmacy**, v. 2, n. 2, p. 109–14, mar. 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24826009>>.

MENDOZA, Julio C et al. Eficacia experimental de anticuerpos IgY producidos en huevos, contra el veneno de la serpiente peruana *Bothrops atrox* TT - Experimental efficacy of IgY antibodies produced in eggs against the venom of the Peruvian snake *Bothrops atrox*. **Rev Peru Med Exp Salud Publica**, v. 29, n. 1, p. 69–75, 2012.

METZGER, H. Structure and Function of Gamma M Macroglobulins. **Advances in Immunology**, v. 12, p. 57–116, 1970.

MINE, Yoshinori; KOVACS-NOLAN, Jennifer. Chicken Egg Yolk Antibodies as Therapeutics in Enteric Infectious Disease: A Review. **Journal of Medicinal Food**, v. 5, n. 3, p. 159–169, set. 2002. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/10966200260398198>>.

MOHAMMED, S.Mansoor et al. Deposition of Genetically Engineered Human Antibodies into the Egg Yolk of Hens. **Immunotechnology**, v. 4, n. 2, p. 115–125, out. 1998. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138029339800013X>>.

MORGENSTERN, J P et al. Amino Acid Sequence of Fel DI, the Major Allergen of the Domestic Cat: Protein Sequence Analysis and CDNA Cloning. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 88, n. 21, p. 9690–9694, 1 nov. 1991. Disponível em: <<http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.88.21.9690>>.

MORRISON, Sherie L et al. Sequences in Antibody Molecules Important for Receptor-Mediated Transport into the Chicken Egg Yolk. **Molecular Immunology**, v. 38, n. 8, p. 619–25, jan. 2002. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161589001000955>>.

MOTOI, Yurie; INOUE, Satoshi; et al. Detection of Rabies-Specific Antigens by Egg Yolk Antibody (IgY) to the Recombinant Rabies Virus Proteins Produced in *Escherichia Coli*. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 58, n. 2, p. 115–8, abr. 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15858294>>.

MOTOI, Yurie; SATO, Kozue; et al. Production of Rabies Neutralizing Antibody in Hen's Eggs Using a Part of the G Protein Expressed in *Escherichia Coli*. **Vaccine**, v. 23, n. 23, p. 3026–32, 27 abr. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X04009399>>.

MÜLLER, Sandra et al. IgY antibodies in human nutrition for disease prevention. **Nutrition Journal**, v. 14, n. 1, p. 109, 20 dez. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12937-015-0067-3>>.

MUNHOZ, Livia Silveira et al. Avian IgY antibodies: characteristics and applications in immunodiagnostic. **Ciência Rural**, v. 44, n. 1, p. 153–160, jan. 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782014000100025&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782014000100025&lng=en&tlng=en)>.

MURPHY, Kenneth et al. **Imunobiologia de Janeway**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MYLONAKIS, Mathios; KALLI, Iris; RALLIS, Timoleon. Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, v. Volume 7, p. 91–100, jul. 2016. Disponível em: <<https://www.dovepress.com/canine-parvoviral-enteritis-an-update-on-the-clinical-diagnosis-treatm-peer-reviewed-article-VMRR>>.

NETT, Jeniel E.; ANDES, David R. Antifungal Agents Spectrum of Activity, Pharmacology, and Clinical Indications. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 1, p. 51–83, mar. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.012>>.

NGUYEN, Sa Van et al. Passive protection of dogs against clinical disease due to Canine parvovirus-2 by specific antibody from chicken egg yolk. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 1, p. 62–64, 2006.

NILSSON, Elin; LARSSON, Anders; et al. Good Effect of IgY against Pseudomonas Aeruginosa Infections in Cystic Fibrosis Patients. **Pediatric Pulmonology**, v. 43, n. 9, p. 892–9, set. 2008. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ppul.20875>>.

NILSSON, Elin; HANRIEDER, Jörg; et al. Proteomic Characterization of IgY Preparations Purified with a Water Dilution Method. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 24, p. 11638–11642, 24 dez. 2008. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf802626t>>.

NILSSON, Elin; LARSSON, Anders. Chicken Anti-Protein L for the Detection of Small Amounts of Protein L in the Presence of IgG. **Hybridoma**, v. 24, n. 2, p. 112–114, abr. 2005. Disponível em: <<http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/hyb.2005.24.112>>.

O'DONNELL, Kyle et al. Zika Virus-Specific IgY Results Are Therapeutic Following a Lethal Zika Virus Challenge without Inducing Antibody-Dependent Enhancement. **Viruses**, v. 11, n. 3, p. 301, 26 mar. 2019. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4915/11/3/301>>.

O'DONNELL, Kyle Lee et al. Avian IgY antibodies recognize novel Dengue NS1 epitopes with the ability to neutralize Dengue 2 virus infection in vitro and in vivo. **The Journal of Immunology**, v. 202, n. 1 Supplement, p. 196.24 LP-196.24, 1 maio 2019. Disponível em: <[http://www.jimmunol.org/content/202/1\\_Supplement/196.24.abstract](http://www.jimmunol.org/content/202/1_Supplement/196.24.abstract)>.

O'DONNELL, Kyle Lee et al. Dengue NS1-specific IgY antibodies neutralizes dengue infection without inducing antibody dependent enhancement. **The Journal of Immunology**, v. 198, n. 1 Supplement, p. 225.3 LP-225.3, 1 maio 2017. Disponível em: <[http://www.jimmunol.org/content/198/1\\_Supplement/225.3.abstract](http://www.jimmunol.org/content/198/1_Supplement/225.3.abstract)>.

OLOVSSON, Matts; LARSSON, Anders. Biotin labelling of chicken antibodies and their subsequent use in ELISA and immunohistochemistry. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p. 145–152, abr. 1993. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/014795719390007R>>.

P. C. HERBERT, W. John; Wilkinson. **A dictionary of immunology**. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1977.

PATTERSON, R et al. Antibody Production and Transfer to Egg Yolk in Chickens. **Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 89, p. 272–8, ago. 1962. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14484407>>.

PAUL, K et al. Anti-Echis Carinatus Venom Antibodies from Chicken Egg Yolk: Isolation, Purification and Neutralization Efficacy. **Toxicon**, v. 50, n. 7, p. 893–900, dez. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0041010107002292>>.

PAULY, D et al. Monitoring of Laying Capacity, Immunoglobulin Y Concentration, and Antibody Titer Development in Chickens Immunized with Ricin and Botulinum Toxins over a Two-Year Period. **Poultry Science**, v. 88, n. 2, p. 281–290, fev. 2009.

PAULY, Diana et al. IgY Technology: Extraction of Chicken Antibodies from Egg Yolk by Polyethylene Glycol (PEG) Precipitation. **Journal of Visualized Experiments**, v. i, n. 51, p. 2–7, 1 maio 2011. Disponível em: <<http://www.jove.com/index/Details.stp?ID=3084>>.

PEREIRA, E. P.V. et al. Egg yolk antibodies (IgY) and their applications in human and veterinary health: A review. **International Immunopharmacology**, v. 73, n. May, p. 293–303, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.05.015>>.



PÉREZ DE LA LASTRA, José M. et al. Can Immunization of Hens Provide Oral-Based Therapeutics against COVID-19? **Vaccines**, v. 8, n. 3, p. 486, 28 ago. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-393X/8/3/486>>.

POLSON, A; VON WECHMAR, M Barbara; VAN REGENMORTEL, M H.V. Isolation of Viral IgY Antibodies from Yolks of Immunized Hens. **Immunological Communications**, v. 9, n. 5, p. 475–493, 7 jan. 1980. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/08820138009066010>>.

PURNAMASARI, Dyah et al. Identification, Evaluation and Treatment of Overweight and Obesity in Adults: Clinical Practice Guidelines of the Obesity Clinic, Wellness Cluster, Cipto Mangunkusumo Hospital, Jakarta, Indonesia. **Journal of the ASEAN Federation of Endocrine Societies**, v. 2011, n. 2, p. 117–121, 30 nov. 2011. Disponível em: <<http://www.asean-endocrinejournal.org/index.php/JAFES/article/view/80/381>>.

RAHIMI, Shaban et al. Prevention of Salmonella Infection in Poultry by Specific Egg-Derived Antibody. **International Journal of Poultry Science**, v. 6, n. 4, p. 230–235, 15 mar. 2007. Disponível em: <<https://www.scialert.net/abstract/?doi=ijps.2007.230.235>>.

RAHMAN, Shofiqur et al. Oral passive IgY-based immunotherapeutics: A novel solution for prevention and treatment of alimentary tract diseases. **Human Vaccines and Immunotherapeutics**, v. 9, n. 5, p. 1039–1048, 2013.

RANG H.P., Dale M.M. Rang & Dale Farmacologia. 2007.

REDDY, Prakash Kudumala et al. Evaluation of IgY Capture ELISA for Sensitive Detection of Alpha Hemolysin of Staphylococcus Aureus without Staphylococcal Protein A Interference. **Journal of Immunological Methods**, v. 391, n. 1–2, p. 31–38, maio 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022175913000604>>.

REILLY, Raymond M.; DOMINGO, Rommel; SANDHU, Jasbir. Oral Delivery of Antibodies. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 32, n. 4, p. 313–323, abr. 1997. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.2165/00003088-199732040-00004>>.

REN, Li-Li et al. Identification of a Novel Coronavirus Causing Severe Pneumonia in Human: A Descriptive Study. **Chinese Medical Journal**, v. 133, n. 9, p. 1015–1024, 5 maio 2020. Disponível em: <<https://journals.lww.com/10.1097/CM9.0000000000000722>>.

REYNAUD, C A et al. Somatic Hyperconversion Diversifies the Single Vh Gene of the Chicken with a High Incidence in the D Region. **Cell**, v. 59, n. 1, p. 171–83, 6 out. 1989. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2507167>>.

RICHARDSON, Jonathan P; MOYES, David L. Adaptive Immune Responses to Candida Albicans Infection. **Virulence**, v. 6, n. 4, p. 327–337, 19 maio 2015. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2015.1004977>>.

ROSE, M. Elaine; ORLANS, Eva; BUTTRESS, N. Immunoglobulin classes in the hen's egg: their segregation in yolk and white. **European journal of immunology**, v. 4, n. 7, p. 521–3, jul. 1974. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/eji.1830040715>>.

RUSSELL, W M S; BURCH, Rex Leonard. **The Principles of Humane Experimental Technique**. London: Methuen, 1959.

SATYARAJ, Ebenezer; LI, Qinghong; et al. Anti-Fel d1 immunoglobulin Y antibody-containing egg ingredient lowers allergen levels in cat saliva. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 21, n. 10, p. 875–881, 16 out. 2019. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1098612X19861218>>.

SATYARAJ, Ebenezer; GARDNER, Cari; et al. Reduction of active Fel d1 from cats using an antiFel d1 egg IgY antibody. **Immunity, Inflammation and Disease**, v. 7, n. 2, p. 68–73, 9 jun. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/iid3.244>>.

SAÚDE, Ministério da. **Raiva**. Disponível em: <<https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Raiva#>>.

SCHADE, Rüdiger et al. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): A review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine. **ATLA Alternatives to Laboratory Animals**, v. 33, n. 2, p. 129–154, 2005a.

SCHADE, Rüdiger et al. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): A review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine. **ATLA Alternatives to Laboratory Animals**, v. 33, n. 2, p. 129–154, 2005b. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16180988/>>.

SCHADE, Rüdiger et al. The Production of Avian (Egg Yolk) Antibodies: IgY. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 24, n. 6, p. 925–934, 13 dez. 1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/026119299602400607>>.

SCHADE, Rüdiger; HLINAK, Andreas. Egg Yolk Antibodies, State of the Art and Future Prospects. **ALTEX**, v. 13, n. 5, p. 5–9, 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11178463>>.

SCHADE, Rudiger; ZHANG, Xiao-Ying; TERZOLO, Horacio Raúl. Use of IgY Antibodies in Human and Veterinary Medicine. **Bioact. Egg Compd.** Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007. p. 213–222. Disponível em: <[http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-37885-3\\_25](http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-37885-3_25)>.

SCHMIDT, P; WIEDEMANN, V; et al. Chicken Egg Antibodies for Prophylaxis and Therapy of Infectious Intestinal Diseases. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 36, n. 1–10, p. 619–628, 12 jan. 1989. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0450.1989.tb00653.x>>.

SCHMIDT, P; HAFNER, A; et al. Production of Antibodies to Canine Distemper Virus in Chicken Eggs for Immunohistochemistry. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 36, n. 1–10, p. 661–668, 12 jan. 1989. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0450.1989.tb00659.x>>.

SHAN, Lu. Structural Basis for Gluten Intolerance in Celiac Sprue. **Science**, v. 297, n. 5590, p. 2275–2279, 27 set. 2002. Disponível em: <<https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.1074129>>.

SHEREEN, Muhammad Adnan et al. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. **Journal of Advanced Research**, v. 24, p. 91–98, jul. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005>>.

SHIMIZU, Makoto et al. Encapsulation of Chicken Egg Yolk Immunoglobulin G (IgY) by Liposomes. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 57, n. 9, p. 1445–1449, 12 jan. 1993. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bbb/article/57/9/1445-1449/5959406>>.

SHIMIZU, MAKOTO; FITZSIMMONS, ROBERT C.; NAKAI, SHURYO. Anti-E. coli Immunoglobulin Y Isolated from Egg Yolk of Immunized Chickens as a Potential Food Ingredient. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 5, p. 1360–1368, set. 1988. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1988.tb09277.x>>.

SHIN, Ji-Hyun et al. Use of Egg Yolk-Derived Immunoglobulin as an Alternative to Antibiotic Treatment for Control of Helicobacter Pylori Infection. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 9, n. 5, p. 1061–1066, set. 2002. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CDLI.9.5.1061-1066.2002>>.

SHUKLA, Ankita; KUMAR, Kaushalendra; SINGH, Abhishek. Association between Obesity and Selected Morbidities: A Study of BRICS Countries. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. e94433, 9 abr. 2014. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0094433>>.

SILVA, Alexandre dos Santos da et al. An Immunoenzymatic Assay for the Diagnosis of Hepatitis A Utilising Immunoglobulin Y. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 7, p. 960–963, nov. 2012. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0074-02762012000700022&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762012000700022&lng=en&tlng=en)>.

SMALL, Peter; KIM, Harold. Allergic rhinitis. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v. 7, n. S1, p. S3, 10 dez. 2011. Disponível em: <<https://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1710-1492-7-S1-S3>>.

SOLLID, Ludvig M; THORSBY, Erik. HLA Susceptibility Genes in Celiac Disease: Genetic Mapping and Role in Pathogenesis. **Gastroenterology**, v. 105, n. 3, p. 910–922, set. 1993. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/001650859390912V>>.

SOMASUNDARAM, Rajeswari; CHORARIA, Ankit; ANTONYSAMY, Michael. An approach towards development of monoclonal IgY antibodies against SARS CoV-2 spike protein (S) using phage display method: A review. **International Immunopharmacology**, v. 85, n. January, p. 106654, ago. 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567576920315010>>.

SPINOSA, Helenice de Souza. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro - RJ: Guababara Koogan, 2017.

SUDJARWO, Sri Agus et al. The potency of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) specific as immunotherapy to Mycobacterium tuberculosis infection. **Journal of advanced pharmaceutical technology & research**, v. 8, n. 3, p. 91–96, 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28795022>>.

SUGITA-KONISHI, Yoshiko et al. Immune Functions of Immunoglobulin Y Isolated from Egg Yolk of Hens Immunized with Various Infectious Bacteria. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 60, n. 5, p. 886–888, 12 jan. 1996. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bbb/article/60/5/886-888/5951885>>.

TAKEUCHI, Susumu et al. Effects of oral moisturising gel containing egg yolk antibodies against *Candida albicans* in older people. **Gerodontology**, v. 33, n. 1, p. 128–34, mar. 2016. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ger.12139>>.

TAUBENBERGER, Jeffery K; MORENS, David M. Influenza: The Once and Future Pandemic. **Public Health Reports (Washington, D.C. : 1974)**, v. 125 Suppl, n. Suppl 3, p. 16–26, abr. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20568566>>.

TESAR, Devin B.; CHEUNG, Evelyn J.; BJORKMAN, Pamela J. The Chicken Yolk Sac IgY Receptor, a Mammalian Mannose Receptor Family Member, Transcytoses IgY across Polarized Epithelial Cells. **Molecular Biology of the Cell**, v. 19, n. 4, p. 1587–1593, abr. 2008. Disponível em: <<https://www.molbiolcell.org/doi/10.1091/mbc.e07-09-0972>>.

THIBODEAU, Alexandre et al. Production and characterization of anti-*Campylobacter jejuni* IgY derived from egg yolks. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 59, n. 1, p. 80, 6 dez. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13028-017-0346-4>>.

THIRUMALAI, Diraviyam et al. Chicken egg yolk antibody (IgY) as diagnostics and therapeutics in parasitic infections – A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 755–763, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.118>>.

TINI, M et al. Generation and Application of Chicken Egg-Yolk Antibodies. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 131, n. 3, p. 569–574, mar. 2002. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1095643301005086>>.

TIZARD, Ian R. *Imunologia Veterinária*. **Imunologia Veterinária**, 2014.

TONG, Chenyao et al. A Simple Method for Isolating Chicken Egg Yolk Immunoglobulin Using Effective Delipidation Solution and Ammonium Sulfate. **Poultry Science**, v. 94, n. 1, p. 104–110, jan. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032579119324101>>.

TORTORICI, M. Alejandra; VEESLER, David. Structural insights into coronavirus entry. **Adv. Virus Res.** 1. ed. [S.l.]: Elsevier Inc., 2019. v. 105. p. 93–116. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/bs.aivir.2019.08.002>>.

TRIPET, Brian et al. Structural Characterization of the SARS-Coronavirus Spike S Fusion Protein Core. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 20, p. 20836–20849, maio 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925820669368>>.

TROTT, D. L. et al. Egg Yolk Antibodies for Detection and Neutralization of Clostridium Botulinum Type A Neurotoxin. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 5, p. 1005–1011, 1 maio 2009. Disponível em: <<https://meridian.allenpress.com/jfp/article/72/5/1005/172258/Egg-Yolk-Antibodies-for-Detection-and>>.

TSUKAMOTO. Antibodies against Swine Influenza Virus Neutralize the Pandemic Influenza Virus A/H1N1. **Molecular Medicine Reports**, v. 4, n. 2, p. 209–214, 1 mar. 2011. Disponível em: <<http://www.spandidos-publications.com/mmr/4/2/209>>.

UKLEJA-SOKOŁOWSKA, Natalia et al. Analysis of feline and canine allergen components in patients sensitized to pets. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v. 12, n. 1, p. 61, 30 dez. 2016. Disponível em: <<http://aacijournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13223-016-0167-4>>.

VAN DE PERRE, Philippe. Transfer of antibody via mother's milk. **Vaccine**, v. 21, n. 24, p. 3374–6, 28 jul. 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0264410X03003360>>.

VEGA, C et al. 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**, v. 142, n. 3–4, p. 156–169, ago. 2011. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242711001528>>.

VEGA, C et al. Egg Yolk IgY Antibodies: A Therapeutic Intervention against Group A Rotavirus in Calves. **Research in Veterinary Science**, v. 103, p. 1–10, dez. 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0034528815300539>>.

WALCZAK, Maciej et al. Method for Generation of Peptide-Specific Igy Antibodies Directed to Staphylococcus Aureus Extracellular Fibrinogen Binding Protein Epitope. **Biopolymers**, v. 104, n. 5, p. 552–559, set. 2015. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bip.22695>>.

WALLACH, Michael G et al. Cross-Protection of Chicken Immunoglobulin Y Antibodies against H5N1 and H1N1 Viruses Passively Administered in Mice. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 18, n. 7, p. 1083–1090, jul. 2011. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/CVI.05075-11>>.

WANDALSEN, Gustavo Falbo; SANO, Flavio. Alérgenos do gato nas alergias respiratórias : situação atual e novas perspectivas. v. 4, n. 1, p. 61–71, 2020.

WANG, Dawei et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. **JAMA**, v. 323, n. 11, p. 1061, 17 mar. 2020. Disponível em: <<https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2761044>>.

WANG, Peigang et al. Expression Cloning of Functional Receptor Used by SARS Coronavirus. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 315, n. 2, p. 439–444, mar. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X04001214>>.

WANG, Qin et al. Passive Protection of Purified Yolk Immunoglobulin Administered against Shiga Toxin 1 in Mouse Models. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 12, p. 1003–1010, dez. 2010. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/W10-087>>.

WANG, Yan. Looking into Candida Albicans Infection, Host Response, and Antifungal Strategies. **Virulence**, v. 6, n. 4, p. 307–308, 19 maio 2015. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21505594.2014.1000752>>.

WANKE, R et al. [Freund's complete adjuvant in the chicken: efficient immunostimulation with severe local inflammatory reaction]. **Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe A**, v. 43, n. 4, p. 243–53, jun. 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8767734>>.

WARR, Gregory W.; MAGOR, Katharine E.; HIGGINS, David A. IgY: clues to the origins of modern antibodies. **Immunology Today**, v. 16, n. 8, p. 392–398, ago. 1995. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0167569995800085>>.

WEI-XU, Hu et al. Anti-Interleukin-1 Beta/Tumor Necrosis Factor-Alpha IgY Antibodies Reduce Pathological Allergic Responses in Guinea Pigs with Allergic Rhinitis. **Mediators of Inflammation**, v. 2016, p. 1–11, 2016. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/mi/2016/3128182/>>.

WEN, Junlin et al. Preparation and characterization of egg yolk immunoglobulin Y specific to influenza B virus. **Antiviral Research**, v. 93, n. 1, p. 154–159, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.11.005>>.

WOOLLEY, Jane A; LANDON, John. Comparison of Antibody Production to Human Interleukin-6 (IL-6) by Sheep and Chickens. **Journal of Immunological Methods**, v. 178, n. 2, p. 253–265, jan. 1995. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002217599400263V>>.

XU, Le et al. Immunomodulatory effects of chicken egg yolk antibodies (IgY) against experimental *Shewanella marisflavi* AP629 infections in sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*). **Fish & shellfish immunology**, v. 84, n. 2, p. 108–119, jan. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S105046481830617X>>.

YANG, Xiaobo et al. Clinical Course and Outcomes of Critically Ill Patients with SARS-CoV-2 Pneumonia in Wuhan, China: A Single-Centered, Retrospective, Observational Study. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 5, p. 475–481, maio 2020. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213260020300795>>.

YOKOYAMA, Kyosuke et al. Effects of Egg Yolk Antibody against *Porphyromonas Gingivalis* Gingipains in Periodontitis Patients. **Journal of Oral Science**, v. 49, n. 3, p. 201–206, set. 2007. Disponível em: <[http://www.jstage.jst.go.jp/article/josnusd/49/3/49\\_3\\_201/\\_article](http://www.jstage.jst.go.jp/article/josnusd/49/3/49_3_201/_article)>.

ZERPA, Noraida et al. Toxicon IgY pharmacokinetics in rabbits : Implications for IgY use as antivenoms. v. 90, p. 124–133, 2014.

ZHANG, Wei-Wei. The use of gene-specific IgY antibodies for drug target discovery. **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 8, p. 364–371, abr. 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s1359-6446\(03\)02655-2](https://doi.org/10.1016/s1359-6446(03)02655-2)>.

ZHANG, Xiaoying et al. Preparation of Chicken IgY against Recombinant E2 Protein of Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) and Development of ELISA and ICA for BVDV Detection. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 80, n. 12, p. 2467–2472, 1 dez. 2016. Disponível em: <<https://academic.oup.com/bbb/article/80/12/2467/5938230>>.



ZHANG, Yuan et al. IgY Antibodies against Ebola Virus Possess Post-Exposure Protection in a Murine Pseudovirus Challenge Model and Excellent Thermostability. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, p. e0008403, 12 mar. 2021. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0008403>>.

ZHEN, Yu-Hong et al. Characterization of Specific Egg Yolk Immunoglobulin (IgY) against Mastitis-Causing Escherichia Coli. **Veterinary Microbiology**, v. 130, n. 1–2, p. 126–133, jul. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113507006505>>.

VEGA, C et al. Efficacy of Specific Egg Yolk Immunoglobulin (IgY) to Bovine Mastitis Caused by Staphylococcus Aureus. **Veterinary Microbiology**, v. 133, n. 4, p. 317–322, fev. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378113508002848>>.