مطالعه کمی و کیفی آنتی‌بادی IgY طیور به‌دست‌آمده از تخم برخی پرندگان اهلی و زینتی

محمد مهدی رنجبر*[۱]، محمدحسین بنی طبا بیدگلی[۱]، سعید عالمیان[۱]، نوید داداش پور دواچی[۱]

۱ - موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج

دریافت مقاله: ۳۰ بهمن ۱۹۳۶، بازنگری: ۳ خرداد ۱۳۹۷، پذیرش نهایی: ۲۵ مرداد ۱۳۹۷

چکیده

پرندگان در زرده‌ی تخم خود ایمونوگلوبین Y (IgY) که معادل IgG پستانداران است را می‌سازند. در این مطالعه به بررسی کیفی و کمی آنتی‌بادی‌های استخراج شده از زرده‌ی تخم برخی از پرندگان اهلی و زینتی از جنبه‌های مختلف پرداخته شده است. محتوای چربی زرده تخم شش گونه مختلف از پرندگان اهلی و زینتی پس از ضد عفونی و اندازه‌گیری میانگین وزنی و میزان زرده، جدا گردید. میزان سرم به‌دست آمده ثبت و رسوب آنتی‌بادی در دو مرحله متوالی با سولفات آمونیوم صورت گرفت و پس از دیالیز، آنتی بادی استخراج گردید. در مرحله نهایی، OD مقدار کمّی آنتی‌بادی، برای هر کدام از نمونه‌ها به طور جداگانه، در طول موج‌های متفاوت برحسب ml/µg محاسبه و تجزیه و تحلیل انجام گرفت. میانگین وزنی تخم غاز، اردک، مرغ بومی، کبوتر، بلدرچین و مرغ عشق به ترتیب: ۱۴۵/۵، ۶۲/۷، ۵۷/۴، ۱۹/۵، ۱۲/۴ و ۶/۱ گرم و نسبت وزن زرده به وزن تخم ۰/۳۲، ۰/۳۱، ۰/۲۳، ۰/۱۶، ۰/۲۱ و ۰/۲۱ و مقدار سرم به دست آمده به ترتیب برابر با ۵۲، ۱۲/۵، ۱۵، ۳/۷۵، ۳ و ۱/۵ میلی‌لیتر گزارش شد. نتایج غلظت آنتی‌بادی استحصالی از هر تخم نیز به ترتیب قبلی ۶۰۴۵۰ ، ۱۰۶۳۱/۲۵، ۱۲۰۲۶، ۵۲۰۳ و ۲۵۳۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در OD280 به‌دست آمد. نتایج حاکی از بیشترین آنتی‌بادی استحصالی از غاز و سپس مرغ بومی و همچنین امکان استفاده مناسب از بلدرچین به عنوان جایگزین مرغ بود.

واژگان کلیدی: *آنتی بادی، تخم مرغ، IgY*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: mm.ranjbar.phd@gmail.com

مقدمه

آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ پرندگان IgY معادل عملکرد آنتی‌بادی IgG است که در سرم، جفت و آغوز پستانداران یافت می‌شود. در پرندگان (ماکیان) آنتی‌بادی‌های IgY به‌طور انتخابی به گیرنده‌های به‌خصوصی از سرم مرغ متصل و به زرده تخم‌مرغ منتقل می‌شوند و سبب مصونیت جنین آنها می‌گردند (۱).

زمانی که سلول‌های لنفوسیت B در پاسخ سیستم ایمنی هومورال پرنده فعال می‌شوند، تقسیم شده و تبدیل به پلاسماسل تولیدکننده آنتی‌بادی بر علیه یک آنتی‌ژن بخصوص می‌گردند. آنتی‌بادی‌ها (ایمونوگلوبولین‌ها) گلیکوپروتئین‌هایی هستند که در دفاع علیه عوامل بیماری‌زا نقش ایفا می‌کنند. سه نوع اصلی آنتی‌بادی در پرندگان جهت مواجه شدن با اجرام پاتوژن وجود دارد که عبارت هستند از: IgM IgY, IgG , و IgA ایمونوگلوبین IgY به عنوان فراوان‌ترین ایمونوگلوبین (آنتی‌بادی) در سرم پرندگان شناخته می‌شود (۳،۲).

به‌کارگیری تکنولوژی‌های کارا نظیر تولید آنتی‌بادی در زرده تخم‌مرغ IgY با اهداف کاربردهای درمانی- تشخیصی در حال گسترش روزافزون می‌باشد و جوجه‌ها به عنوان تولیدکننده‌های کارای ایمونوگلوبولین (IgY) در زرده تخم‌مرغ شناخته می‌شوند (۱). IgY موجود در زرده تخم‌مرغ دارای وزن مولکولی 180 KDa است که وزنی بالاتر از همتای IgG خود در پستانداران دارد و همچنین نقطه ایزوالکتریک آن پائین‌تر (۷/۶-۵/۷) است که سبب می‌شود خصوصیات فیزیکو شیمیایی آن اندکی با IgG پستانداران متفاوت باشد. از سوی دیگر، سیستم کمپلمان را فعال نمی‌کند و با فاکتور روماتوئید تداخلی ندارد (۴، ۵).

از نقطه نظر رعایت حقوق حیوانات، ماکیان جایگزین مناسبی برای تولیدکنندگان آنتی‌بادی در مقادیر بالا بوده و نیازی به مهار و استفاده از روش‌های تهاجمی نظیر خون‌گیری نمی‌باشد (۶، ۸).

در مطالعات بسیاری، از IgY به دلیل غیر تهاجمی بودن روش تهیه آن (به سبب برداشت از تخم مرغ و عدم خونگیری)، غنی بودن منبع آن، فاصله فیلوژنتیک این آنتی‌بادی از پستانداران، قیمت ارزان، سادگی دسترسی و کار با آن (۹)، عمر نسبتاً بالای آن نسبت به سایر حیوانات آزمایشگاهی برای تولید سرم و در نهایت در تولید سرم هایپر ایمن استفاده شده است (۱۰). همچنین IgY موجود در زرده تخم‌مرغ جوجه را می‌توان در مقادیر بالا و به آسانی در مقایسه با IgG پستانداران تخلیص کرد. از طرف دیگر IgY در شرایط گوناگون نظیر حرارت، فشار، اسیدی و بازی و اثر آنزیم‌های پرتئولتیک نسبتاً پایدار است. همچنین IgY به پروتئین G و A و پذیرنده (Fc(Fragment of crystallization پستانداران متصل نمی‌شود، در صورتی‌که IgG پستانداران شدیداً تمایل به اتصال به آنها دارد که این امر گاهی منجر به وقوع مثبت کاذب در آزمایشاتی می‌شود که در آنها از IgG پستانداران استفاده می‌شود (۱۱).

تمایل اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن جزء عملکردهای اصلی ایمنی می‌باشد که منجر به خنثی‌سازی (Neutralization) و بی‌حرکت‌سازی (Immobilization) آنتی‌ژن می‌شود. به عنوان یک پلی‌کلونال آنتی‌بادی، IgY قابلیت اتصال به تعدادی از اپی‌توپ‌های آنتی‌ژنی مختلف را دارد و توانایی بیشتری جهت پاسخ به آنتی‌ژن‌ها نسبت به مونوکلونال آنتی‌بادی را دارد، از این رو به‌طور رایج به عنوان ابزاری در ایمونولوژی به کار می‌رود. این خصوصیات و مزایای IgY به آن اجازه می‌دهد که محدوده وسیعی از کاربردها از جمله ایمن‌سازی غیرفعال، استفاده در آزمایشات تشخیصی و

جداسازی پروتئین‌ها و درمان بیماری‌ها را داشته باشد (۱۲، ۱۳).

از نگاه اقتصادی، حداقل قیمت هر گرم از IgY حدود ۱۰۰۰ دلار آمریکا است. سالیانه هر مرغ حدود ۳۰ گرم IgY تولید می‌کند. اگر فقط حداقل ۱۰ درصد از آن آنتی‌بادی اختصاصی IgY باشد (حدود سه گرم)، درآمد تقریبی حاصله از هر مرغ در سال حدود ۳۰۰۰ دلار خواهد بود. بنابراین بهینه‌سازی تولید، استخراج و خالص‌سازی IgY می‌تواند ضمن تأمین نیازهای بخش صنعت و محققین و همچنین صرفه‌جویی در هزینه‌های تحقیقاتی، در آینده به منبع درآمد مطمئنی از محل قبول سفارش و فروش آنها تبدیل شود.

آنتی بادی IgY طیور جهت اهداف تشخیصی، پیشگیری و درمان: ماکیان را می‌توان جهت تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال علیه پاتوژن‌های بیماری‌زای متنوعی ایمن کرد. عملکرد اتصالی آنتی بادی‌ها به‌عنوان مهم‌ترین فاکتور برای کاربردهای گوناگون آن‌ها بوده و آنتی‌بادی می‌تواند در به دام اندازی آنتی‌ژن (Capturing) و واکنش با آنتی‌ژن‌ها شرکت کند، از این بابت میزان عملکرد اختصاصی آن در مقابله و بی‌تحرک‌سازی آنتی‌ژن‌ها خصوصاً پاتوژن‌های باکتریایی و ویروسی حائز اهمیت است.

به عنوان پلی کلونال آنتی‌بادی، IgY قابلیت اتصال به تعدادی از اپی‌توپ‌های آنتی‌ژنی مختلف را دارد و لذا توانایی بیشتری جهت پاسخ به آنتی‌ژن‌ها نسبت به مونوکلونال آنتی‌بادی دارد (۱۴،۱۳). به‌طور کلی، روز به روز تمایل به استفاده از زرده تخم‌مرغ جهت تولید آنتی‌بادی پلی‌کلونال برای اهداف کاربردی و اقتصادی افزایش می‌یابد (۵، ۸، ۱۵). آنتی‌بادی‌های زرده تخم‌مرغ IgY تا به حال به‌طور موفقیت‌آمیزی جهت اهداف علمی (۱۶)، تشخیصی (۱۷)، پیش‌گیرانه (۱۸، ۱۹) و درمانی (۲۰) و همچنین در دامپزشکی در مقابله با باکتری‌هایی نظیر *اشیرشیاکلی* انتروپاتوژنیک (۲۱) استفاده شده است.

تأثیر ایمونوگلوبولین Y در مقابله با باکتری‌های پاتوژن متنوع در پرندگان با موفقیت همراه بوده است. از IgY جهت کنترل *Salmonella enteridis* در جوجه‌ها و اردک‌ها، پیشگیری و درمان کمپیلوباکتر ژژونی در جوجه‌های بیمار، کاهش کلونیزاسیون *Clostridium perfringens* در جوجه های گوشتی، سرکوب کلونیزاسیون *سالمونلا تیفی موریوم*، *اشریشیا کلای* و *کمپیلوباکتر ژژونی* در مرغ‌های تخم‌گذار، القای مقاومت نسبت به *اشریشیا کلای* عامل عفونت مجرای تنفسی در جوجه‌ها و کنترل عفونت *اشریشیا کلای* در خرگوش‌ها استفاده شده است. از سوی دیگر، مطالعات قبلی نشان داده است که IgY بر علیه سلول‌های *هلیکوباکتر* لیزشده در مرغ توانسته در درمان این عفونت کمک‌کننده باشد (۲۲). اخیراً نیز مشخص شده که آنتی‌بادی های IgY زرده در مرغ‌های هایپرایمن شده به طور غیر فعال قادرند مقاومت را علیه کوکسیدیوز پرندگان تازه از تخم درآمده ایجاد کنند (۲۳).

تحقیقات اخیر نشان داده است که آنتی‌بادی های زرده تخم‌مرغ می‌توانند جایگزینی مفید برای تشخیص و درمان ورم پستان در گاوها با عامل ارگانیسمی باشند. Zhen و همکارانش در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که IgY اختصاصی علیه Mastitis با عامل *استافیلوکوکوس اورئوس* رشد این باکتری را مهار کرده و فاگوسیتوز *استافیلوکوکوس اورئوس* را به وسیله ماکروفاژهای پستان بهبود بخشیده است (۲۴). Marco و همکارانش در سال ۲۰۰۹ بر روی مهار رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* به وسیله آنتی‌بادی زرده تخم‌مرغ کار کردند و گزارش دادند که رشد این باکتری به‌وسیله IgY اختصاصی در غلظت ۵-۱ میلی‌گرم مهار شد (۲۵). همچنین تجویز ایمونوگلوبولین پرنده IgY جهت محافظت از

عفونت روتاویروسی توسط Ebina و همکاران اثرات سودمندی را نشان داده است (۲۶). از سوی دیگر، برای کنترل مسمومیت غذایی می‌توان آنتی‌بادی مونوکلونال ضد *اشریشیا کلای* و سالمونلا نیز استفاده کرد (۲۷).

آنتی‌ونوم‌ها (پادزهرها) به واسطه ایمن‌سازی پستاندارانی نظیر اسب، بز، خرگوش با سم گونه‌هایی از مار و عقرب و سپس جداسازی ایمونوگلوبولین های تولید شده، به خصوص از خون حاصل می‌شوند و جهت درمان افرادی که مورد گزش عقرب و مار قرار گرفته‌اند، استفاده می‌شوند. به هر حال، تولید آنتی‌ونوم‌ها و تخلیص آن‌ها از خون پستانداران امری مشکل است و ممکن است در کاربرد درمانی باعث ایجاد واکنش‌های بالینی مختلف نظیر شوک انافیلاکسی، واکنش تب‌زایی، بیماری سرم، آرتریت و غیره گردد. به سبب پیشرفت‌های اخیر که در تکنولوژی ایمونوگلوبولین تخم‌مرغ حاصل شده است، تهیه آنتی‌ونوم ضد عقرب‌گزیدگی و مارگزیدگی امری جدید، امن‌تر، راحت‌تر و روشی ارزان‌تر برای ساخت آنتی‌ونوم به حساب می‌آید (۲۸).

تا کنون، چندین نوع IgY تک‌ظرفیتی علیه سموم مار و عقرب در تخم‌مرغ ایمن‌شده تولید شده است، که قادرند سم گونه‌های *Rattlesnake*، *Bothrops*، *Viper*، *cobra* *Indian* و *Krait* را خنثی کنند. به علاوه، IgY چندگانه (چند ظرفیتی) علیه Bitis و Naja با استفاده از سم‌های *B. arientans*، *B. nasicornis*، *B. rhinoceros*، *N. melanoleuca* و *N. mossambica* با ایمن‌سازی جوجه آماده شده است (۲۸).

با توجه به مزایای چشم‌گیر آنتی‌بادی‌های استحصالی از زرده تخم مرغ جوجه که به واسطه ایمن‌سازی اختصاصی آن‌ها حاصل می‌شود به نظر می‌رسد در آینده‌ای نزدیک، این آنتی‌بادی‌ها در مصارف درمانی، پیشگیری و تشخیصی در انسان و حیوانات بیش از گذشته مورد توجه قرار گیرد.

با توجه به هزینه‌های تولید، پرورش و نگهداری در مرغ، حساسیت به بیماری‌های متنوع جوجه مرغ ها و همچنین کلسترول بالای تخم‌مرغ آن، اخیراً تمایل به استفاده از پرندگان جایگزین افزایش یافته است. آقای Scholtz در سال ۲۰۱۰، تأثیر ایمن سازی را بر پاسخ ایمنی بلدرچین‌های تخم‌گذار علیه اورگانیسم‌های باکتریایی سنجید که نتایج آن رضایت‌بخش بود. این مطالعه این ایده را به وجود آورد که در آینده نزدیک ممکن است بتوان از پرندگان دیگر به عنوان منبع IgY استفاده کرد. در این مقاله، به بررسی کیفی و کمی آنتی‌بادی‌های استخراج شده از زرده تخم برخی از پرندگان اهلی و زینتی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه تخم پرندگان: تخم شش گونه مختلف پرنده اهلی و زینتی شامل: غاز، اردک، کبوتر، مرغ بومی، بلدرچین و مرغ عشق، از هر پرنده ۶ تخم، از شهرستان گرگان تهیه گردید. سپس تخم‌ها، از هر نوع آلودگی، تمیز گشته و با الکل ضد عفونی گردیدند و تا زمان استخراج در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و به آزمایشگاه انتقال داد شد.

اندازه‌گیری وزنی و استخراج زرده: پس از اندازه‌گیری میانگین وزنی تخم‌های هر گونه به طور مجزا، آنها را شکسته، غشاء کنار زده شده، محتویات زرده به دقت از سفیده جدا گردید و در لوله مخصوص ذخیره شدند. در گام بعدی، میزان زرده جدا شده، اندازه گیری و در محلول بافر فسفات (PBS)حل شد و سپس با استفاده از کلروفورم محتوای چربی زرده جدا گردید. میزان سرم به دست آمده پس از این مرحله یادداشت شد.

استخراج آنتی‌بادی: در ادامه بر روی سرم به دست آمده دو مرحله رسوب آنتی‌بادی با سولفات

آمونیوم اشباع و سولفات آمونیوم ۴۰درصد بر روی یخ و شیکر بر اساس روش Polson و همکاران صورت گرفت (۲۹). در مرحله بعد مایع رویی دور ریخته شده و رسوب مربوطه محلول بافر فسفات حل شد. سپس دو شبانه روز جهت جداسازی بقایای سولفات آمونیوم در کیسه مخصوص دیالیز، دیالیز شده و در نهایت آنتی‌بادی تخم استخراج گردید .

اندازه‌گیری آنتی‌بادی به‌دست آمده: در مرحله نهایی دانسیته‌ی نوری (OD) آنتی‌بادی استحصالی برای هر کدام از نمونه‌ها به طور جداگانه جهت به‌دست آوردن مقدار کمی آنتی‌بادی برحسب µg/ml محاسبه گردید و نتایج به‌دست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

میانگین وزنی تخم‌های غاز، اردک، مرغ بومی، کبوتر، بلدرچین و مرغ عشق به‌دست آمده به ترتیب؛ ۱۴۵/۵، ۶۲/۷، ۵۷/۴، ۱۹/۵، ۱۲/۴ و ۱/۶ گرم بود. سپس وزن زرده اندازه‌گیری و نسبت وزن زرده به وزن تخم به همان ترتیب برابر ۰/۳۲ ، ۰/۳۱، ۰/۱۶، ۰/۲۱ و ۰/۲۱ حاصل شد. مقدار سرم حاصل شده بعد از افزودن محلول بافر فسفات وکلروفرم به ترتیب قبلی برابر با ۵۲، ۱۲/۵، ۳/۷۵، ۳ و ۱/۵ میلی‌لیتر بود. نتایج غلظت آنتی‌بادی استحصالی از هر تخم نیز به ترتیب قبلی ۶۰۴۵۰، ۱۰۶۳۱/۲۵، ۱۲۰۲۶، ۵۲۰۳ و ۲۵۳۵ میکروگرم در میلی‌لیتر با دستگاه اسپکتروفتومتری در OD280 به دست آمد. همچنین قابل ذکر است، از تخم‌مرغ عشق به علت حجم پائین محتوای زرده، آنتی‌بادی در مرحله نهایی استحصال نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر اولین مطالعه در این زمینه بر روی IgY طیوری اهلی و زینتی در ایران بوده و می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات عمیق‌تر و جزئی‌نگرانه‌تری در این حوزه باشد. نتایج مطالعه حاضر حاکی از بیشترین آنتی بادی استحصالی از غاز و سپس مرغ بومی بود که این امر احتمالاً به سبب اندازه تخم‌مرغ در این پرنده است. همچنین با توجه به حجم آنتی‌بادی به‌دست آمده در بلدرچین و عرضه تخم آن به صورت تجاری به نظر، می‌تواند گزینه مناسبی در کنار مرغ جهت تولید آنتی بادی IgY باشد.

تا به حال مطالعاتی در مورد ابعاد مختلف خصوصیات آنتی‌بادی IgY در پرندگان انجام شده است که برخی از آنها بر روی آنتی‌بادی‌های استخراجی از سرم و تحقیقات تشخیصی متمرکز شده‌اند (۳۰) و در پرندگانی نظیر طیور، بوقلمون و قرقاول مورد بررسی قرار گرفته‌اند. همچنین Oloyede و همکاران نیز در سال ۲۰۱۳ آنتی‌بادی‌های IgY مستخرج از سه پرنده را مورد بررسی قرار دادند و روابط تکاملی نزدیکی از نظر آنتی‌ژنی را در آنها مشاهده کردند (۳۱).

به نظر می‌رسد در آینده نزدیک تکنولوژی IgY نقش پررنگ‌تری را در مطالعات تشخیصی و درمانی بازی کند و تا اندازه‌ای بتواند جایگزین سروتراپی‌ها معمول شود.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان تخم بلدرچین را به عنوان جایگزین تخم‌مرغ بومی معرفی نمود، اگرچه تحقیقات جامع‌تری در ارتباط با این موضوع مورد نیاز است.

References

1. Rajeswari S, Choraria A, Zhang XY, Antonysamy M. Applications of Chicken Egg Yolk Antibodies (Igy) in Healthcare: A Review. Biomed J Sci & Tech Res. 2018;2(1):1-3.

2- Narat M. Production of antibodies in chickens. A review. Food Technol Biotechnol. 2003;41(3):259-267.

3- Verdoliva A, Basile G, Fassina G. Affinity purification of immunoglobulins from chicken egg yolk using a new synthetic ligand. J Chromatogr B. 2000;749(2):233-242.

4- Schade R, Staak C, Hendriksen C, Erhard

M, Hugl H, Koch G, et al. The Production of Avian (Egg Yolk) Antibodies: IgY The Report and Recommendations of ECVAM Workshop 21, 2002. Available from: http://altweb.jhsph.edu/publications/ECVAM/ecvam21.htm.

5- Bollen LS, Hau J. Chicken eggs in polyclonal antibody production. Scand J Lab Anim Sci. 1996, 23(Supp. 1):85-91.

6- Bizhanov G, Vyshniauskis G. A comparison of three methods for extracting IgY from the egg yolk of hens immunized with Sendai virus. Vet Res Commun. 2000,24(2):103-113.

7- Schade R, Staak C, Hendriksen C, Erhard M, Hugl H, Koch G, et al. The production of avian (egg yolk) antibodies: IgY. The report and recommendation of ECVAN workshop 21. Atla-Altern Lab Anim. 1996,24(6):925-934.

8- Svendsen L, O'Brien D, Stodulski G, Hau J. Use of chickens and exploitation of egg yolk antibody production. In: Welfare and Science (Bunyan J ed). Royal Society of Medicine Press; 1994. P.324-327.

9- Shin JH, Nam SW, Kim JT, Yoon JB, Roe IH. Identification of immunodominant Helicobacter pylori proteins with reactivity to H. pylori-specific egg yolk immunoglobulin. J Med Microbiol. 2003;52(3):217-22.

10- Larsson A, Balow R, Lindahl TL, Forsbery P. Chicken antibodies: Taking advantage of evolution. Poult Sci.1993, 72(10):1807-1812.

11- Sunwoo HH, Lee EN, Menninen K, Suresh MR, Sim JS. Growth inhibition of chicken egg yolk antibody (IgY) on Escherichia coli O157:H7. J Food Sci. 2002;67(4):1486-94.

12- Schade R, Zhang XY, Terzolo HR. Use of IgY Antibodies in Human and Veterinary Medicine. In: Huopalahti R, López-Fandiño R, Anton M, Schade R (eds) Bioactive Egg Compounds. Springer, Berlin, Heidelberg, 2007. P.213-222.

13- Zuniga A, Yokoyama H, Albicker-Rippinger P, Eggenberger E, Bertschinger, HU. Reduced intestinal colonisation with F18- positive enterotoxigenic Escherichia coli in weaned pigs fed chicken egg antibody against the fimbriae. FEMS Immunol Med Microbiol. 1997;18(3):153-61.

14- Braun V, Bosch V, Klumpp ER, Neff I, Mayer H, Schlecht S. Antigenic determinant of murein lipoprotein and its exposure at the surface of Enterobacteriaceae. Eur J Biochem. 1976;62(3):555-66.

15- Tini M, Jewell UR, Camenish G, Chilov D, Gassmann M. Generation and application of chicken egg-yolk antibodies. Comp Biochem Physiol. 2002,131(3):569-574.

16- Schade R, Hlinak A. Egg Yolk Antibodies, State of the Art and Future Prospects. ALTEX 1996,13(5):5–9.

17- Lonardo MD, Marcante L, Poggiali F, Hamsøikova E, Venuti A. Egg yolk antibodies against the E7 oncogenic protein of human papillomavirus type 16. Arch Virol. 2001,146(1),117-125.

18- Almeida C, Kanashiro MM, Filho R, Mata R, Kipnis TL, Dias da Silva W. Development of snake antivenom antibodies in chickens and their purification from yolk. Vet Rec. 1998,143(21):579-584.

19- Sarker SA, Casswall TH, Juneja FL, Sharmin S, Fuchs GJ, Hammarström L. Randomised, placebo-controlled, clinical trial of hyperimmunised chicken egg yolk immunoglobulin (HEY) in children with rotavirus diarrhea. J Pediat Gastroenterol Nutr. 2001,32(1):19-25.

20- Lemamy GJ, Roger P, Mani JC, Robert M, Rochefort H, Brouillet JP. High affinity antibodies from hen's-egg yolk against human mannose-6- phosphate/insulin-like growth-factor-II receptor (MGP/IGFII-R): Characterization and potential use in clinical cancer studies. Int J Cancer. 1999,80(1):896-902.

21- Amaral JA, Franco MTD, Carneiro-Sampaio MMS, Carbonare SB. Antienteropathogenic Escherichia coli immunoglobulin Y isolated from eggs laid by immunized Leghorn chickens. Res Vet Sci. 2002,72(3):229-234.

22- Kazimierczuk K, Cova L, Ndeboko B, Szczyrk U, Targosz A, Brzozowski T, et al. Genetic immunization of ducks for production of antibodies specific to Helicobacter pylori UreB in egg yolks. Acta Biochim Pol. 2005; 52(1):261-266.

23- Wafaa, A, El-ghany A. Comparision between immunoglobulin IgY and vaccine for prevention of infectious bursal diseases in chickens. Global Vet. 2011,6(1):6-24.

24- Zhen YH, Jin J, J. Guo X, Li Y, Li Z, Fang R, Xu Y. Characterization of specific egg yolk immunoglobulin (IgY) against mastitis-causing Staphylococcus aureus. J Appl Microbiol. 2008;105(5):1529-1535.

25- Guimarães Marco, Amaral L, Batista L, Silva I, Gomes C, and Matta M. Growth inhibition of Staphylococcus aureus by chicken egg yolk antibodies. Arch Immunol Ther Exp. 2009; 57: 377–382.

26- Ebina T, Tsukada K, Umezu K, Nose M, Tsuda K, Hatta H, et al. Gastroenteritis in suckling mice caused by human rotavirus can be prevented with egg yolk Ig (IgY) and treated with a protein-bound polysaccharide be preparation. Microbiol Immunol. 1990;34(7):617-629.

27- Chalghoumi R, Beckers Y, Portetelle D, Théwis A. Hen egg yolk antibodies (IgY), production and use for passive immunization against bacterial enteric infections in chicken: a review. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2009; 13(2): 295-308

28- Liu S, Dong W, Kong T. Preparation and characterization of immunoglobulin yolk against the

venom of Naja naja atra. Indian J Exp Biol. 2010,48(8):778-85.

29- Polson A, Wechmar MBV, Regenmortel MHVV. Isolation of viral IgYantibodies from yolks of immunized hens. Immunol Commun. 1980;9(5):475-493.

30- Narat M, Biek A, Vadnjal R, and Benina D. Production, Characterization and Use of Monoclonal Antibodies Recognizing IgY Epitopes Shared by Chicken, Turkey, Pheasant, Peafowl and Sparrow. Food Technol Biotechnol. 2004; 42 (3) 175–182.

31-Oloyede O.I, Faparusi S. Characterization of antibodies from egg yolk of some birds. Asian NAT APPL SCI. 2013, 2:2.

Comparative quantities and qualities study on avian IgY antibody obtained from egg yolks of domestic and ornamental birds

Mohammad Mehdi Ranjbar1*, Mohammad Hossein Banitaba bidgoli1[1], Saeed Alamian[1], Navid Dadashpou Davachi[1]

1 - Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj

Accept: August 16, 2018 Receive: February 19, 2018; Revise: May 24, 2018;

Summary

Birds produce IgY immunoglobulin in their egg yolks, which is equivalent to the mammalian IgG. In this study, we investigated the quality and quantity of antibody in egg yolks of some domestic and ornamental birds.Eggs of six different species of domestic and ornamental birds were examined after disinfection and weighing of the yolk content and the content of yolk fat was separated. The serum level was recorded and two consecutive levels of antibody precipitation with ammonium sulfate were followed and after dialysis, the antibody was extracted. At the final stage, the OD values were calculated and analyzed for each sample, separately. Average egg weight of geese, ducks, native chicks, pigeons, quail and chicken eggs were 145.5, 62.7, 57.4, 19.5, 12.4 and 1.6 gram, respectively; and ratio of the yolk weight to egg weight were 0.32, 0.31, 0.23, 0.16, 0.21 and 0.21, respectively. The serum levels were observed as 52 ml, 12.5 ml, 15 ml, 3.75 ml, 3 ml, and 5.1 ml, respectively. The results of the concentration of antibody to each egg were 60450 µg / ml, 10631.25 µg / ml, 12026 µg / ml, 5203 µg / ml and 2535 µg / ml in OD_{280}, respectively. The results showed that the highest antibody production is related to geese and in next turn is for native chicken. Also, the use of quail egg as chicken egg alternative could be advisable.

Keywords: *Antibody, Egg, IgY*