

## OUL HIPERIMUN: PREPARARE, CARACTERIZARE ȘI ACTIVITATE IMUNOTERAPEUTICĂ ALTERNATIVĂ

### HIPERIMMUNE EGG: PREPARATION, CHARACTERIZATION AND ALTERNATIVE IMUNOTERAPEUTIC ACTIVITY

Teodora Supeanu<sup>1</sup>, Mădălina Tablică<sup>1</sup>, Cristina Urducea<sup>1</sup>, Ioana Alina Dimulescu<sup>1</sup>, Lucica Sima<sup>1</sup>,  
Viorica Chiurciu<sup>1</sup>, Mariana Oporanu<sup>1</sup>, C. Chiurciu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Romvac Company S.A., 7 Centurii Road, Voluntari, RO 77190 Ilfov, România

[constantinchiurciu@gmail.com](mailto:constantinchiurciu@gmail.com)

**Cuvinte cheie:** ou hiperimun, imunoglobulină Y, proteine biologice active, sistem imunitar  
**Key words:** hiperimmun egg, imunoglobulin Y, active biological proteins, immune system

#### Rezumat

Cercetările efectuate descriu un procedeu de preparare a ouălor hiperimune polivalente și monovalente (personalizate) obținute de la găini imunizate cu un complex de antigene bacteriene și fungice, patogene pentru om, rezistente sau sensibile la antibiotice. S-a preparat un antigen monovalent din tulpina de *Staphylococcus aureus* MRSA izolată de la un pacient cu infecție urinară. S-au format loturi de găini ouătoare, aflate la începutul perioadei de ouat, care s-au imunizat în zilele 0, 14 și 28. Din ouăle hiperimune obținute s-a extras și purificat imunoglobulina Y (IgY) specifică prin obținerea fracțiunii solubile în apă și precipitare cu polyethylene glycol 6000 (PEG). Analiza purității s-a efectuat prin electroforeză în gel de poli-acrilamidă în sistem denaturant (SDS-PAGE), obținându-se o singură fracțiune cu evidențierea lanțurilor grele (masa moleculară = 75KDa și a lanțurilor ușoare (masa moleculară=25KDa). Prin testul de imunodifuzie în gel de agar (IDGA) s-a pus în evidență identitatea între IgY analizat și IgY standard (MyBiosource). Specificitatea anticorpilor IgY obținuți din gălbenușul de ou hiperimun s-a efectuat prin testul imunoenzimatic ELISA, obținându-se titruri ridicate pentru fiecare antigen prezent în inocul. Din ouăle hiperimune s-au preparat produse biologice active din gama Imunoinstant, utilizate în terapia unor afecțiuni determinate de germeni multirezistenți.

#### Abstract

The research carried out describes one preparation procedure of the monovalent and polyvalent hyper immune eggs, obtained from hens immunized with a bacterial and fungal antigen complex, pathogenic for humans, resistant or sensitive to antibiotics. It was prepared a monovalent antigen of *Staphylococcus aureus* MRSA strain, isolated from a patient with urinary infection. Lots of laying hens have been formed, at the beginning of the laying period, which were immunized on days, 0, 14 and 28. From the hyper immune eggs obtained the specific immunoglobulin Y (IgY) was extracted and purified by polyethylene glycol precipitation (PEG 6000). Purity analysis was performed by polyacrylamide gel electrophoresis in a denatured system (SDS-PAGE) obtaining a single fraction with highlighting of heavy chains (molecular weight=75KDa) and light chains (molecular weight=25KDa). By the agar gel immune-diffusion assay (IDGA), the identity between analyzed IgY and standard IgY (MyBiosurse) was highlighted. The specificity of IgY antibodies obtained from hyper immune egg yolk was proved by the ELISA immune enzymatic assay, obtaining high titers for each antigen present in the inoculums. The hyper immune eggs were used for preparation of biologically active products from the range IMUNOINSTANT, recommended in the therapy of diseases caused by multi resistant germs.

#### Introducere

Încă din 1893, F. Klemperer a arătat că o găină infectată cu un agent patogen are

capacitatea să producă o imunoglobulină specifică, Imunoglobulina Y (IgY), pe care o transferă din sânge în ou, pentru a proteja viitorul pui [1].

Pornind de la această descoperire, cercetătorii din întreaga lume, au discutat pentru prima dată de oul hiperimun ca produs farmaceutic [8].

Imunoglobulinele din gălbenuș aparțin clasei IgY; IgA și IgM sunt de asemenea prezente, dar în cantitate mica. IgY-ul îndeplinește același rol pentru păsări, ca IgY-ul pentru mamifere [2, 3].

Oamenii de știință au descoperit un mod foarte interesant de a asigura un suport imunologic natural, utilizând proteinele biologice active din oul hiperimun [5].

Pe lângă imunoglobuline Y (anticorpi specifici) pentru anumiți germeni patogeni, oul hiperimun mai conține imunomodulatori, factori de transfer, lizozim, ovotransferină, ovomucină etc., de o importanță deosebită în refacerea și stimularea răspunsului imun al întregului organism [4].

Oul hiperimun se obține prin imunizarea găinilor cu un complex de tulpini bacteriene, virale sau fungice, rezistente la antibiotice, recoltate de la pacienți umani; prin conținutul său reprezintă o sursă valoroasă de anticorpi care contribuie la întărirea imunității organismului.

S-a demonstrat eficiența terapiei cu ouă hiperimune la pacienți cu diferite forme de artrită, boli cardiovasculare, scleroză, boli autoimune, cancer, inflamații, etc. [7, 8].

Studiile efectuate au avut ca scop obținerea ouălor hiperimune polivalente și monovalente (personalizate), ca produse în compoziția cărora sunt: imunoglobuline Y specifice față de anumiți germeni patogeni, respectiv față de o singură tulpină microbiană izolată de la un pacient anume.

## 1. Material și metodă

### 1.1. Animale

Studiile s-au efectuat pe loturi de găini ouătoare convenționale sau libere de germeni specifici (SPF) în vârstă de 20-23 săptămâni din rasa Rhode Island Red, clinic sănătoase.

Păsările au fost ținute câte 2, în baterii, la temperatura ambiantă ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ) și hrănite cu dieta standard R 21,5. În timpul experimentului programul de lumină/întuneric a fost de 12 ore.

### 1.2. Antigene.

#### 1.2.1. Prepararea antigenului polivalent

Tulpinile bacteriene și fungice folosite în acest studiu au fost obținute de la pacienți din spitale, cu semne clinice de boală, acestea fiind rezistente la antibiotice: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile* - corpi bacterieni, *Clostridium difficile* - exotoxine, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus grup B*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* și respectiv din colecția Laboratorului de Microbiologie al Companiei Romvac: *Streptococcus mutans* ATCC 55670, *Salmonella typhimurium* R005TL3/2014, *Salmonella enteritidis* TL 248 și *Helicobacter pylori* ATCC 49503.

Pentru prepararea antigenului polivalent utilizat la inocularea găinilor, tulpinile bacteriene și fungice s-au multiplicat pe medii de cultură selective, s-au spălat de trei ori cu PBS steril, pH =  $7,2 \pm 0,2$  și s-au inactivat cu formaldehida 0.5% timp de 18 h.

Complexul antigenic obținut s-a ajustat la valoarea 0,05 (DO = 600), corespunzând unei densități celulare de aproximativ  $1 \times 10^{10}$  UFC/ml.

### 1.2.2. Prepararea antigenului monovalent personalizat.

S-a izolat și identificat tulpina de *Staphylococcus aureus* MRSA, de la un pacient cu infecție urinară.

Din cultura de bacterii de 24 ore obținută pe mediu BHI (Oxoid) s-a preparat antigenul conform tehnicii descrise la punctul 1.2.1

### 1.3. Imunizarea găinilor.

Găinile s-au inoculat la începutul perioadei de ouat pe cale intramusculară, de trei ori, cu antigenul polivalent, respectiv cu antigenul monovalent reprezentând 3-4 mg proteină/ ml din fiecare tulpină resuspendată în PBS steril pH=7,2±0,2.

Amestecul s-a emulsificat în adjuvant Vet-Sap (DesertKing) calculând 0,045 ml/doză de 1 ml. Inoculările s-au făcut în două puncte diferite în musculatura pieptului (0,5ml / punct).

Administrarea antigenului s-a repetat la 14 zile respectiv la 28 zile de la prima inoculare.

Ouăle hiperimune s-au colectat zilnic, după două săptămâni de la ultima inoculare și au fost ținute la 4°C până la prelucrare.

### 1.4. Extracția și purificarea imunoglobulinei Y (IgY)

S-a efectuat separarea gălbenușului de albuș utilizând aparatul automat de spart ouă (Ovo-Tech). Gălbenușul s-a diluat cu apă deionizată menținută la 4 °C în proporția de 1:8; suspensia s-a omogenizat cu ajutorul unui turmix și s-a ajustat la pH= 5,0 cu soluție de

HCl 0,5 M. În prima etapă amestecul s-a congelat la -30°C în containerul Arctisstore.

Pentru extragerea IgY suspensia s-a menținut la 20°C timp de 48 ore.

Fracțiunea solubilă în apă (IgY) s-a prelucrat prin prefiltrare și filtrare și s-a menținut la -4°C până la efectuarea determinărilor cantitative și calitative. În a doua etapă, fracțiunea compusă din lipide și lipoproteine s-a eliminat prin filtrare și centrifugare.

Pentru purificarea IgY fracțiunea solubilă în apă s-a precipitat cu polyethylene glycol 6000 PEG (Sigma-Aldrich).

Amestecul s-a menținut pe agitator (Stuart) timp de 10 minute, apoi s-a centrifugat la 10500 rpm timp de 20 minute.

Supernatantul s-a reprecipitat de două ori cu PEG 12% iar după centrifugare la 10500 rpm, depozitul s-a reluat în PBS pH= 7,2±0,2.

Puritatea IgY s-a testat prin SDS-PAGE.

### 1.5 Electroforeza în gel de poliacrilamidă în sistem denaturant (SDS-PAGE).

Electroforeza s-a realizat folosind un aparat Omni Page Electrophoresis (Clever Scientific) după tehnica descrisă de Laemmli [6]. Probele de IgY s-au diluat la o concentrație finală de 2 mg/ml proteină folosind 2-mercaptoetanol (Sigma Aldrich) și albastru de bromphenol (Sigma Aldrich).

După incubarea probelor timp de 10 minute la 96 °C, 5μl din fiecare probă s-a adăugat în gelul de migrare 10% și de concentrare de 4%.

Markerul molecular, (Protein Marker VI, Applichem) conținând un amestec de 12 proteine cu mase moleculare cuprinse între 10-

254 KDa a fost folosit ca martor. Electroforeza s-a realizat utilizând 90 V și 185 mA timp de 90 minute. Gelul s-a colorat cu Coomassie Brilliant Blue R 250(Sigma Aldrich).

### 1.6. Testul de imunodifuzie în gel de agar (IDGA)

S-a efectuat în Agar Noble 1% preparat în tampon borat pH= 8,6; 17 ml de agar cald la 45-60 °C s-a turnat în plăci Petri cu diametrul de 90 mm.

În gel s-au efectuat șapte godeuri (unul central și șase periferice) cu diametrul de 6 mm și distanța dintre ele de 3 mm.

Pentru stabilirea identității, în godeurile 3 și 5 s-a repartizat IgY standard (MyBiosource) iar în godeurile 2 și 6 IgY obținut din oul hiperimun; în godeurile 1,4 și central s-au repartizat câte 40 μl IgG iepure anti-IgY (Romvac).

S-au efectuat diluții binare (1/2- 1/2048) în scopul de a stabili diluția optimă de lucru pentru probele de IgY de testat.

Reacțiile de precipitare s-au citit la 24 ore.

### 1.7. Testul imunoenzimatic ELISA direct.

Cuantificarea IgY s-a efectuat utilizând un cititor de microplăci Spectra Max 190 și un Kit standardizat (MyBiosource).

Testul ELISA s-a pregătit *“in house”* pentru fiecare determinare în parte. Plăci cu 96 godeuri (Greiner Bio-One) s-au căptușit cu 150 μl IgG iepure anti-IgY având concentrația de 3,75μg/ml în tampon carbonat bicarbonat (0,05 M, pH = 9,6).

După incubare plăcile s-au spălat cu 300 μl PBS-Tween. Blocarea absorbției nespecifice s-a făcut cu soluție BSA 1% (Merck) timp de

45 minute. Câte 150 μl din probe diluate în PBS pH= 7,4 s-au repartizat în godeuri împreună cu martorul pozitiv (IgY standard-Sigma) și martorul negativ (IgY- SPF).

Plăcile s-au incubat 90 minute la 37°C.

După spălare cu PBS- Tween, s-a adugat în fiecare godeu 150μl conjugat IgG anti-IgY marcat cu peroxidază (MyBiosource) la diluția 1:5000.

După adăugarea substratului cromogenic TMB, reacția a fost stopată cu HCl 1N și s-a citit la un spectrofotometru (Spectra Max 150) la lungimea de undă de 450 nm.

### 1.8. Determinarea conținutului specific de IgY prin testul ELISA indirect, *“in house”*

Pentru determinarea cantitativă a anticorpilor din gălbenușul de ou hiperimun s-a aplicat testul ELISA *“in house”*.

Plăcile cu 96 godeuri (Greiner Bio-One) s-a căptușit cu suspensia de bacterii la concentrația de 10 μg/ml proteină, în tampon carbonat-bicarbonat (0,05M, pH= 9,0). După menținerea plăcii la 4 °C timp de 12 h și spălarea cu PBS-Tween, reacția s-a blocat cu tampon de fixare, câte 300 μl/godeu și s-a incubat 30 minute la temperatura camerei.

După înlăturarea lichidului de spălare, s-a adăugat în fiecare godeu 100μl suspensie IgY 1:1000, în diluții binare.

După incubare 2 h la 37°C și spălare cu PBS-Tween s-a adăugat 100μl conjugat IgG anti-IgY în diluția 1:5000.

După incubarea și spălarea plăcii, s-a adăugat 100 μl TNB, apoi 100 μl soluție de stopare.

Placa s-a citit la spectrofotometru (Spectra Max 190) la lungimea de undă de 450 nm.

## 2. Rezultate și discuții

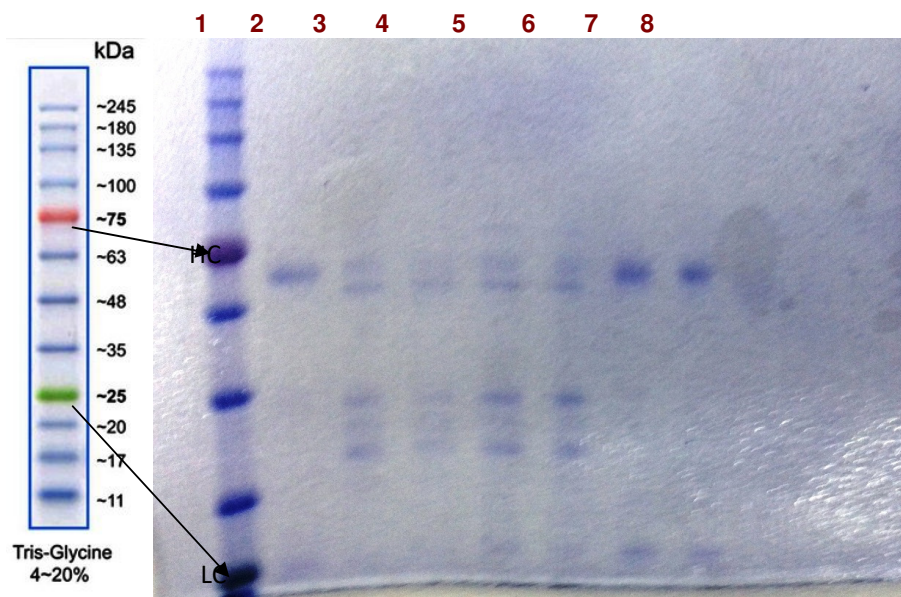
Procedeele de izolare a IgY prin congelare - decongelare au cuprins două etape: în prima etapă s-a obținut fracțiunea solubilă în apă și un strat de lipide și de lipoproteine.

În etapa a doua fracțiunea solubilă în apă s-a precipitat de trei ori cu polietilen glicol 6000 3,5% respectiv 12%.

Puritatea IgY a fost evaluată prin SDS-PAGE, comparativ cu IgY standard

(MyBiosource). Rezultatele au evidențiat două benzi de precipitare reprezentând lanțurile grele (HC) și lanțurile ușoare (LC) (fig.1.coloanele 7 și 8).

Pe baza migrării markerului molecular s-au identificat lanțurile grele cu masa moleculară 75 KDa și lanțurile ușoare de 25 Kda. Se remarcă că IgY purificat obținut prin precipitare cu PEG prezintă aceleași două fracțiuni (HC și LC) ca IgY standard (MyBiosource).

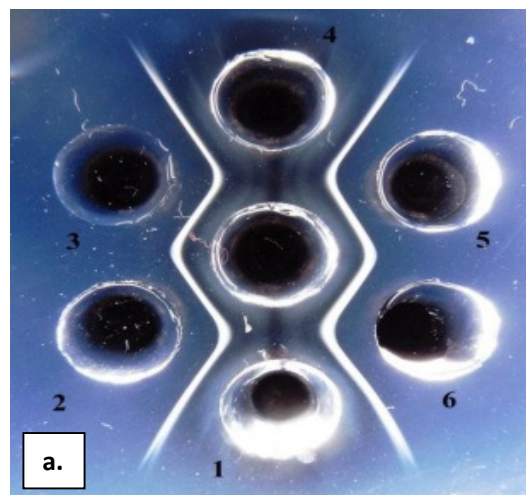


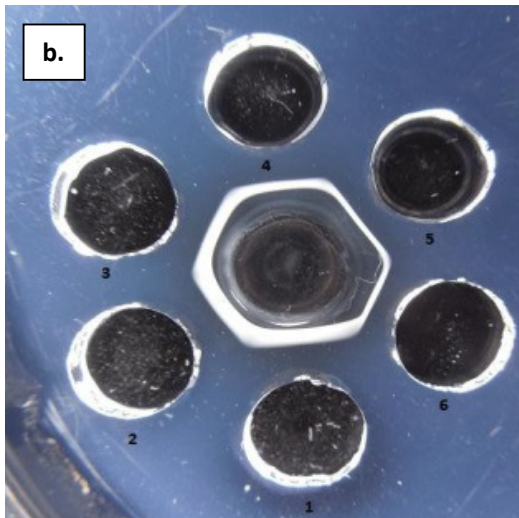
**Fig. 1.** Analiza purității prin SDS PAGE a imunoglobulinei Y: 1: Marker molecular; 2: IgY Standard (MyBiosource); 3, 4, 5, 6: Imunoinstant Multiplu ; 7 și 8: IgY purificat cu PEG și evidențierea lanțurilor HC; LC

IgY purificat obținut din ouă hiperimune a fost testat comparativ cu IgY standard (MyBiosource) prin testul IDGA.

Rezultatele obținute au demonstrat identitatea între IgY standard (godeurile 3 și 5) și IgY purificat (godeurile 2 și 6) față de IgG iepure anti IgY (fig.2 a).

Se evidențiază faptul că linia de precipitare dată de IgY purificat prezintă continuitate cu cea dată de IgY standard, fiind situate la jumătatea distanței dintre godeuri (fig. 2a).





**Fig. 2:** Testul IDGA: a) Stabilirea identității între IgY standard (godeurile 3 și 5) și IgY purificat (godeurile 2 și 6); în godeurile 2, 4 și central: IgG iepure anti IgY; b) Testarea în diluții binare (1/2- 1/64) a IgY purificat (godeurile 1-6); în godeul central: IgG iepure anti IgY

IgY purificat a fost testat în diluții de la 1/2- 1/2048, prin testul de IDGA față de IgG iepure anti IgY. S-a obținut linii de precipitare intense

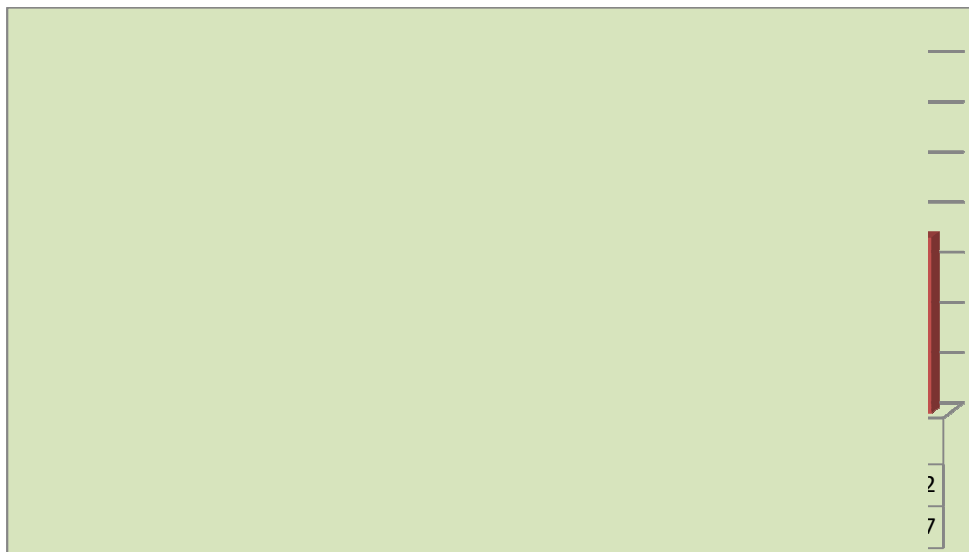
la diluțiile 1/2, 1/4, 1/8. 1/16 stabilindu-se diluția optimă de lucru de 1/32 (fig.2b, godeul 5)

S-a determinat comparativ concentrația imunoglobulinei Y (mg / 100 ml) din ouă hiperimune polivalente și ouă convenționale prin testul ELISA direct.

Rezultatele sunt sintetizate în figura 3. Concentrația IgY din ouă hiperimune a fost cuprinsă între 630,47- 686,13 mg/100 ml, pe când în ouăle convenționale a fost de 297,45- 402,7 mg/100 ml.

Analiza statistică a acestor valori a indicat o diferență dinstint semnificativă ( $p < 0,001$ ) între cele două categorii de ouă.

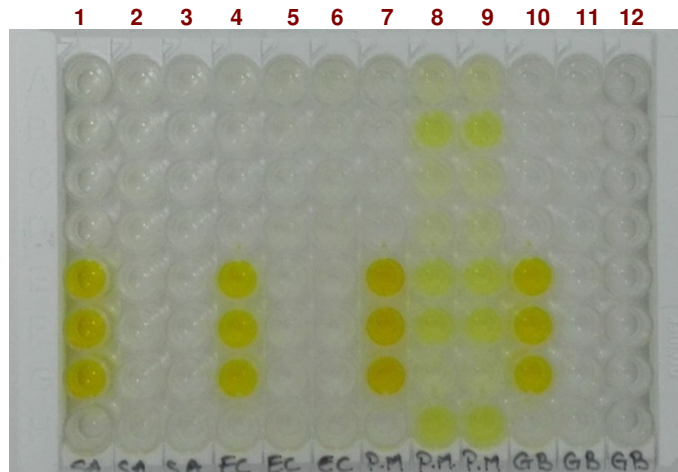
Aceasta conferă oului hiperimun calități deosebite, prin conținutul său bogat în imunoglobuline specifice (anticorpi) față de anumiți germeni patogeni.



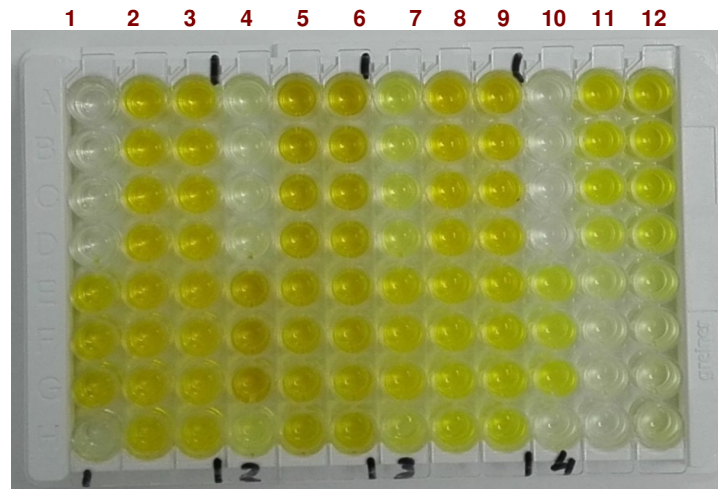
**Fig. 3.** Valorile medii ale concentrației IgY (mg/100mL) din ouă hiperimune și ouă convenționale

Imunoglobulina Y izolată din ouăle hiperimune polivalente s-a testat pentru specificitate prin tehnica ELISA calitativă (fig. 5), comparativ cu cea obținută din ouă convenționale (fig. 4).

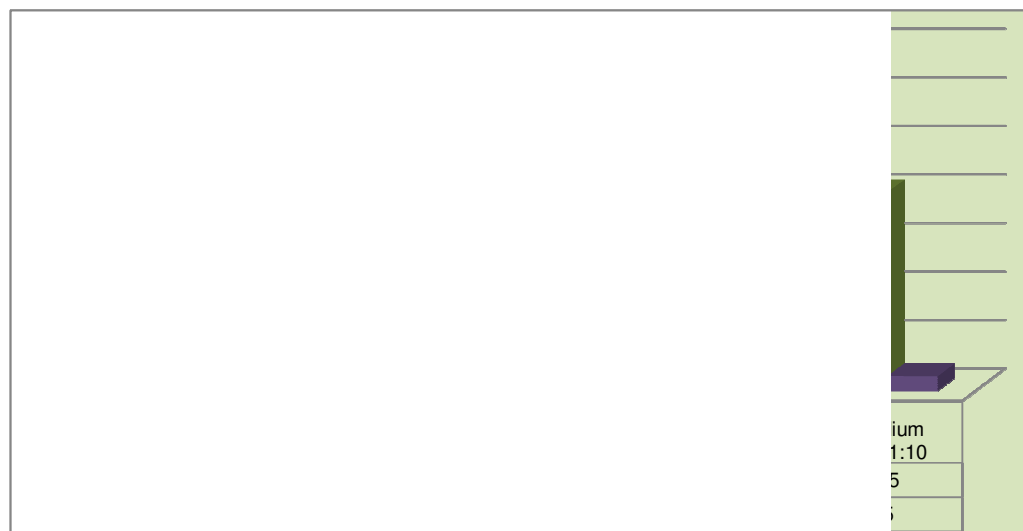
Experimentul s-a efectuat față de unele tulpini bacteriene, rezistente la antibiotice conținute în inocul: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* și *Clostridium difficile*.



**Fig. 4.** Testarea specificității IgY extras din gălbenuș de ou convențional față de patru antigene (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Clostridium difficile*) prin testul ELISA calitativ



**Fig. 5.** Testarea specificității IgY extras din gălbenuș de ou hiperimun polivalent față de patru antigene (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Clostridium difficile*) prin testul ELISA calitativ



**Fig. 6.** Testul ELISA: Testarea specificității IgY obținut din ouă hiperimune polivalente și ouă convenționale față de patru antigene

Datele prezentate în figura 6 au relevat că anticorpii IgY izolați din oul hiperimun evidențiază o specificitate ridicată față de antigenele bacteriene testate.

Valorile densității optice (DO 450 nm) sunt crescute, dar diferite pentru fiecare antigen în parte:

- DO=3,325 pt. *Staphylococcus aureus*;
- DO=2,085 pt. *Escherichia coli*,
- DO=2,322 pt. *Acinetobacter baumannii*
- DO= 1,500 pt. *Clostridium difficile*.

Aceasta demonstrează că sistemul imun al găinilor răspunde la fiecare stimul antigenic inoculat.

Rezultatele obținute demonstrează că în componența oului hiperimun polivalent se găsesc anticorpi (IgY) cu specificitate față de tulpinile bacteriene prezente în inocul.

Oul hiperimun conține titruri ridicate de anticorpi, comparativ cu oul de consum care conține imunoglobulină Y contra unor agenți patogeni cu care găina a venit în contact fie întâmplător, fie prin vaccinare.

Oul hiperimun mai conține imunomodulatori și factori de transfer de o importanță deosebită în stimularea răspunsului imun al întregului organism, precum și ovotransferinei specifice.

Întrucât produsele ce conțin IgY polivalentă cu specificitate față antigenele inoculate la găină, nu pot acoperi întreaga gama de infecții bacteriene, fungice sau virale cu care pacienții se confruntă, s-au obținut ouă hiperimune monovalente personalizate care conțin anticorpi față de o anumită tulpină microbiană care îl afectează pe un anumit pacient.

S-au obținut ouă hiperimune personalizate, utilizând tulpina de *Staphylococcus aureus MRSA* izolată de la un pacient cu infecție urinară. Acesta prezenta o infecție urinară veche, recurentă, rebelă la tratamentul clasic.

Pacientului i s-au administrat ouă hiperimune și soluție de imunoglobuline polivalentă, însă din punct de vedere clinic răspunsul terapeutic a fost redus; astfel s-a decis instituirea unei terapii personalizate, bazată pe imunoglobulina monovalentă anti *Staphylococcus aureus MRSA*. Terapia a constat în administrarea de ouă personalizate și soluție conținând imunoglobulină monovalentă personalizată. Anticorpii IgY anti *Staphylococcus aureus MRSA* s-au testat pentru specificitate față de tulpina utilizată la inocularea găinilor (Tabelul 1).

**Tabelul 1.**

**Testul ELISA: Valorile DO ale anticorpilor IgY anti *Staphylococcus aureus MRSA* (tratament personalizat)**

Godeu	Martori (DO)		IgY anti <i>Staphylococcus aureus MRSA</i>		
			Diluții Dilutions	1 (DO)	2 (DO)
<b>A</b>	Blank	0.035	1:100	3.704	3.709
<b>B</b>	Martor IgY negativ	0.057	1:200	3.708	3.709
<b>C</b>	Martor IgY negativ	0.050	1:400	3.685	3.694
<b>D</b>	Martor IgY negativ	0.056	1:800	3.626	3.671
<b>E</b>	Martor IgY pozitiv	3.670	1:1600	3.496	3.519
<b>F</b>	Martor IgY pozitiv	3.896	1:3200	3.013	3.081
<b>G</b>	Martor IgY pozitiv	3.933	1:6400	2.304	2.379
<b>H</b>	Blank	0.057	1:12800	1.534	1.617



Din analiza rezultatelor prezentate în Tabelul 1 se remarcă valorile ridicate ale densităților optice ( $DO_{450}$ ) ale anticorpilor anti *Staphylococcus aureus* MRSA la diluțiile:

- 1:100 ( $DO=3,704$ );
- 1:200 ( $DO=3,708$ );
- 1:400 ( $DO= 3,685$ );
- 1:800 ( $DO= 3,626$ );
- 1:1600( $DO=3,496$ );
- 1:3200(  $DO= 3,013$ ).

Aplicarea terapiei personalizate a avut rezultat favorabil, examenul microbiologic al probelor de urină fiind negativ.

Avantajul ouălor hiperimune monovalente constă în faptul că acestea se pot personaliza în funcție de pacient și/sau infecție, astfel încât să acționeze strict asupra tulpinii microbiene care afectează un pacient anume.

Rezultatele noastre sunt în concordanță cu studiile efectuate de Lesli [2] și Peng Wei [3] care au demonstrat că oul hiperimun diferă de oul de consum, datorită conținutului ridicat de anticorpi specifici imunomodulatori, factori de transfer, ovotransferine [4] având activitate antimicrobiană, antiinflamatoare și imunomodulatoare contra unor agenți patogeni, care evoluează la om.

Oul hiperimun și produsele biologic active din gama Imunoinstant obținute de noi (soluții, pulberi, sprayuri, geluri, produse cosmetice, suspensii) au ca substanță activă Imunoglobulina Y și contribuie la menținerea stării de sănătate a organismului.

Imunoglobulina Y prezentă în aceste produse reprezintă un mijloc terapeutic extrem de eficient împotriva unor germeni patogeni, rezistenți la antibiotice.

Produsele sunt 100% naturale, fiind utilizate în terapia unor afecțiuni determinate de germeni multirezistenți (infecții gastrice, respiratorii, urinare, afecțiuni parodontale, dermatite de diferite forme, boli autoimune, etc.)

### 3. Concluzii

- Oul hiperimun polivalent și monovalent personalizat a demonstrat activitate imunologică, putând fi utilizat ca mijloc biologic alternativ în prevenirea și tratamentul infecțiilor produse de germeni sensibili și rezistenți la antibiotice.
- Rezultatele obținute au demonstrat specificitatea imunoglobulinei Y izolată din oul hiperimun, care reacționează cu epitopii antigenelor utilizate la imunizarea găinilor.
- Oul hiperimun reprezintă un depozit natural de proteine biologic active, de protecție, reprezentând un produs rapid și sigur ce poate fi utilizat în imunoterapie sub formă de soluții, pulberi, sprayuri, unguente, geluri, suspensii etc. Proteinele biologic active asigură imunizarea pasivă a organismului având efect de stimulare a funcțiilor sistemului imunitar.

### Bibliografie

1. **KLEMPERER F. (1893).** Uber naturliche Immunitat und ihre Verwertung fur die Immunisierungstherapie. *Arch fur Exp Pathol und PharmaKologie.* 31: 356-382.
2. **LESLIE G.A., CLEAM, L.W. (1969).** Phylogeny of Immunoglobulin structure and Function. *J. Exp Med.*, 130,6, 1337-1352.
3. **WEI, P., SUN Y., LIU, D., ZHAO, S. (2013).** Optimized Protocol of Chicken Antibody (IgY). Purification Providing Electrophoretically Homogenous

- Preparation. *Int.J. Electrochem Sci.*, 8, 113-124.
4. **CHIURCIU, C., CHIURCIU, V., OPORANU, M., PĂTRAȘCU, I.V., MIHAI, I., TABLIȚĂ, M., CRISTINA, R.T. (2017).** PC2 Ovotransferrin: Characterization and Alternative Immunotherapeutic Activity. *Ev-Based Complement Alternat Med.* Volume 2017, Article ID 8671271, 11 pages. <https://doi.org/10.1155/2017/8671271>
  5. **CHIURCIU C., CHIURCIU, V., IONESCU, V., RADU, G., SIMA, L., OPORANU, M., PĂTRAȘCU, I.V. (2017).** Biological Products PC2. Part 2 - Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection treatment in humans. *One Health International J.* 3 (1), 59-63.
  6. **LAEMMLI U.K, (1970).** Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Heat of Bacteriophage T4-Nature 227, 680-685.
  7. **SIMA L., C. CHIURCIU, CHIURCIU, V., PĂTRAȘCU, I.V. (2017).** Biological products PC2. Part1. Oral and topical treatment of Psoriasis vulgaris in humans, *One Health Inter. J.*, 3(1), 53-58.
  8. **PATRAȘCU I.V., CHIURCIU, C., CHIURCIU, V., OPORANU, M., MIHAI, I., SIMA, L., RADU, G., TOPILESCU, G., CĂȘARU, C. (2016).** Biological Products PC2(3) – Active Immunity Via Passive Immunity- *One Health Eur.Inter.Conf*, 22-24 Sept., 29.