

پادتن پلی کلونال اختصاصی IgY: مروری بر کاربردهای آن در درمان و پیشگیری از بیماری‌های آبزیان

علی کارگر خیرآباد^۱، سید محمد جلیل ذریه زهرا^{۲*}، ثناء یوسفیان جزی^۳، سمیرا حسین گرکانی^۴، سید مسعود موسوی شاهتوری^۵، کورس رادخواه^۶ و حسام رفیعی^۶

۱- گروه ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

بخش تحقیق و توسعه شرکت دانش بنیان ارغوان طب کاویان، کرج، ایران

۲- بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- گروه سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد شیمی دارویی، دانشکده شیمی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵- بخش علوم دامی، دپارتمان تحقیق و توسعه، شرکت دانش بنیان ارغوان طب کاویان، کرج، ایران

۶- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده

امروزه بیماری‌های آبزیان به عنوان یکی از چالش‌های اساسی در صنعت شیلات و آبی پروری است و فناوری‌های نوین راهکارهایی برای خروج از این بحران‌ها ارائه کرده است. در این راستا، ایمونوگلوبولین زرده تخم مرغ (IgY) یک پادتن طبیعی در پرندگان است که در حال تبدیل شدن به ابزاری قدرتمند برای تشخیص، پیشگیری و درمان بیماری‌ها در دام، طیور، آبزیان و حتی انسان‌ها می‌باشد. برخلاف IgG پستانداران، IgY به روشی غیرتهاجمی از زرده تخم مرغ استخراج شده و واکنش‌های متقاطع با سیستم ایمنی عامل کمپلمان پستانداران ایجاد نمی‌کند. این ویژگی‌ها IgY را به گزینه‌ای مناسب و کاربردی برای مصرف خوراکی در حیوانات و استفاده‌های در صنایع پزشکی، دارویی و غذایی تبدیل کرده است. در این مقاله مروری، به معرفی IgY، روش‌های تولید، استخراج، تخلیص، ریزپوشانی، نحوه کاربرد و استفاده در دام و طیور و آبزیان و همچنین مزایا و چالش‌های موجود در مسیر تجاری‌سازی آن پرداخته شده است.

با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در تولید و به کارگیری IgY، توسعه روش‌های پایدارسازی، بهینه‌سازی فرمولاسیون و گسترش مطالعات کاربردی می‌تواند مسیر را برای بهره‌برداری گسترده‌تر از این پادن مفید و کاربردی را در صنعت آبی‌پروری هموار سازد.

نوع مقاله

مقاله مروری

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۱۵

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۰

تاریخ چاپ الکترونیکی:

۱۴۰۵/۰۳/۲۵

*نویسنده مسئول:

m.zorriehzahra@areeo.ac.ir

کلید واژه‌ها: آبی پروری، پادتن، پلی کلونال، ایمونوگلوبولین زرده تخم مرغ

مقدمه

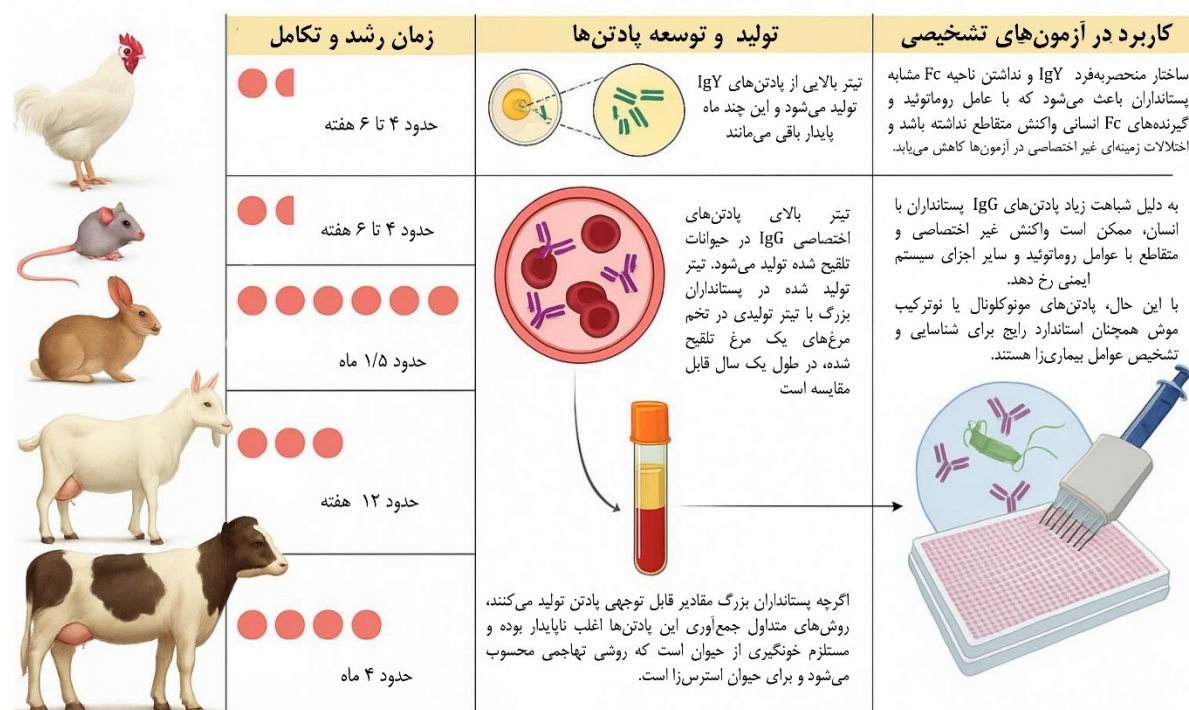
پادتن IgY، نوعی پادتن طبیعی موجود در سرم پرندگان، دوزیستان و خزندگان است. پرندگان از جمله مرغ‌های تخم‌گذار نژاد لگهورن (Leghorn) یکی از میزبان‌هایی اصلی تولید پادتن IgY است. تزریق پادگن‌ها به مرغ، موجب تجمع زیاد IgY در زرده می‌شود؛ لذا جداسازی و خالص‌سازی آن از زرده تخم مرغ روشی غیرتهاجمی با سهولت بالا، ارزان و مقرون به صرفه است (۱، ۲).

ویژگی‌های منحصربه‌فرد پادتن IgY در متصل‌نشدن به عامل روماتوئید، گیرنده‌های FC، سیستم عامل کمپلمان و پروتئین‌های A و G است. به همین دلیل امروزه به طور گسترده‌ای از پادتن IgY در حوزه آزمون‌های تشخیصی پزشکی و دامپزشکی استفاده می‌شود و به عنوان استاندارد طلایی در این زمینه شناخته شده است (۳، ۴).

از طرفی IgG پادتن سرمی ویژه پستانداران است که برای دستیابی به این دسته از پادتن‌ها نیازمند خونگیری از حیوان میزبان بوده که روشی تهاجمی و استرس‌زا برای میزبان محسوب می‌شود؛ علاوه بر آن فرایند تولید زمانبر و روش‌های جداسازی و خالص سازی آن نیز پرهزینه است. در مقابل استخراج IgY از تخم مرغ بسیار سریعتر و کم هزینه تر می‌باشد (۵، ۶).

پادتن IgY هومولوگ IgG انسانی محسوب می‌شود. ویژگی‌های منحصر به فرد پادتن IgY، موجب شده است تا پادتن IgY به جایگزین قدرتمند IgG در زمینه‌های مختلف تبدیل شود. ایمونوگلوبولین (IgY)، پادتن اصلی در سرم و زرده تخم مرغ پرندگان است و عملکردی مشابه IgG در پستانداران دارد، با این تفاوت که ساختار و خواص بیوشیمیایی آن منحصر به فرد است. IgY برخلاف IgG، با عوامل روماتوئیدی و سیستم عامل مکمل پستانداران تداخل نداشته و به روش غیرتهاجمی از زرده تخم مرغ قابل استخراج است؛ این ویژگی آن را برای کاربردهای پژوهشی، درمانی و صنعتی بسیار ارزشمند می‌سازد (۷).

با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی و نگرانی‌های ناشی از مصرف بی‌رویه داروها در دام و طیور و آبزیان، نیاز به جایگزین‌های طبیعی و ایمن‌تر به شدت احساس می‌شود. در همین راستا، IgY به‌عنوان راهکاری مؤثر برای پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی در حال جلب توجه گسترده است، به‌ویژه در صنعت آبزی‌پروری که جایگزین‌های آنتی‌بیوتیکی نقش حیاتی دارند (۸) (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱ - مقایسه پادتن‌های IgG پستانداران و IgY پرندگان

پیشینه تحقیق در ایران و جهان:

در مطالعات مختلف مشخص شده است که IgY می‌تواند علیه بیماری‌های مختلفی مانند بیماری لکه سفید (WSD) در میگوها و خرچنگ‌های آب شیرین، بیماری ناشی از ویروس آنژیلا روم و یرسینیا روکری در ماهی قزل آلا، رنگین کمان، بیماری ناشی از آیروموناس هیدروفیلا در ماهی قرمز یا طلایی، ادواردزیلوزیس در مارماهی ژاپنی بسیار مؤثر باشد (۶، ۹-۱۲).

پادتن IgY تولید شده از زرده تخم مرغ در مرغ ایمن شده با WSSV، که یک بیماری مهم اقتصادی در میگو می باشد، برای کنترل این بیماری اثربخش گزارش شده است (۱۳). مشخص شده است که واکسیناسیون با پادتن های اختصاصی IgY علیه بیماری ویروسی لکه سفید (WSD) می تواند از راه های تزریق عضلانی، استفاده خوراکی و غوطه وری در خرنج آب شیرین تحت درمان با WSD محافظت ایجاد کند. ایمونوتراپی با IgY اختصاصی، روشی امید بخش برای پیشگیری از بیماری WSD در میگو است (۱۴).

همچنین گزارش شده است که ایمنی غیرفعال با IgY نیز در برابر باکتری یرسینا روکری، باعث بروز عفونت های کمتر و در نتیجه میزان مرگ و میر کمتری می شود (۱۵). اثربخشی IgY بر عفونت ادواردزیلا تاردا نیز مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده است، که IgY در جلوگیری از این بیماری عفونی ماهی ها ایجاد محافظت می کند (۹).

همچنین در یک مطالعه مشخص گردید در هنگامی که پادتن IgY اختصاصی به طور همزمان و به صورت خوراکی به مارماهیان ژاپنی مبتلا به ادواردزیلا تاردا تزریق شد، منجر به ایجاد یک میزان بقای مناسب و از بین رفتن علایم بیماری شد (۹) Keetanon و همکاران، تاثیر پادتن IgY را بر روی رشد، بازماندگی و پاسخ ایمنی در برابر عامل بیماری ویبریو، *Vibrio parahaemolyticus*، در میگوی سفید اقیانوس آرام (*Litopenaeus vannamei*) را اثبات کردند (۱۶). Gao و همکاران نیز اثرات مثبت IgY را در ایجاد ایمنی غیرفعال بر روی دو پاتوژن مهم *Vibrio harveyi* and *Vibrio parahaemolyticus* در میگوی سفید اقیانوس آرام گزارش نمودند (۱۷).

Yi و همکاران نشان دادند که افزودن IgY اختصاصی ضد سروتایپ RGNNV به تیره سلولی باله هامور (GF-1) باعث خنثی سازی ویروس و مانع تکثیر RGNNV عامل اصلی بیماری نکروز عصبی ویروسی (VNN) در این تیره سلولی شد (۱۸). همچنین در مطالعه ای که توسط Gan و همکاران انجام شد، پادتن IgY اختصاصی *A. salmonicida* تولید و خالص سازی شد. ماهی های ایمن شده با پادتن ضد *A. salmonicida* حفاظت قابل توجهی را از خود نشان دادند (۱۹).

در مطالعه دیگری برای درمان کفشک ماهیان (*C. semilaevis*) در برابر باکتری *Vibrio anguillarum* از پودر زرده تخم مرغ ضد *Vibrio anguillarum* بصورت کپسوله (ریزپوشانی) شده به جیره غذایی آن ها اضافه شد. نرخ بازماندگی در کفشک ماهیان تغذیه شده تا ۷۰ درصد بود. همچنین فعالیت ماکروفاژها در این دسته از ماهیان افزایش یافت (۱۷) Li و همکاران با استفاده از پادتن ضد *A. hydrophila* ماهی *Carassius auratus gibelio* را ایمن سازی کردند و نرخ بقا در ماهیان پس از مواجهه سازی با آنروموناس هیدروفیلا را تا حدود ۶۰ درصد گزارش دادند (۲۰).

در یک بررسی انجام شده توسط Arasteh و همکاران، ماهیان قزل آلائی رنگین کمان با IgY ضد *Vibrio anguillarum* بصورت خوراکی و تزریق صفاقی ایمن شدند. نتایج نشان داد که نرخ مرگ و میر در گروه ایمن شده به صورت صفاقی به طور معنا داری کمتر از گروهی بود که پادتن را بصورت خوراکی دریافت کردند (۱۲).

در ایران تحقیقات محدودی در مورد نقش پادتن های اختصاصی زرده تخم مرغ IgY در کنترل، پیشگیری و یا درمان بیماری های آبزیان صورت گرفته است. ولی در مطالعات انسانی و دامی، پژوهش های گسترده ای تاکنون در کشور صورت گرفته است از جمله تولید IgY اختصاصی بر علیه زیر واحد C آنزیم اوره آز صورت گرفته است که امکان استفاده از این پادتن را به صورت خوراکی و به منظور محدود کردن رشد و توسعه عفونت باکتری هلیکوباکتریلوری جهت عارضه گاستریت در انسان مطرح نموده که در جهت درمان نیز مورد توجه قرار می گیرد (۲۱).

همچنین در یک تحقیق دیگر، اثر بازدارندگی رشد پودر پادتن زرده تخم مرغ (IgY) برای کاربرد غذایی بر روی باکتری اشیریشیا کلی 078:K80، به عنوان یک مدل و عامل اصلی بیماری سپتی سمی مرتبط در مرغ های گوشتی توسط مهدوی و همکاران (۲۰۱۰) بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان می دهد که *E. coli* می تواند خواص آنتی ژنی طولانی مدتی برای القای پاسخ ایمنی در مرغ های تخم گذار داشته باشد. تولید IgY در مقیاس بزرگ و طولانی مدت، با خلوص و فعالیت ویژه بالا، می تواند با روش رقیق سازی با آب حاصل شود (۲۲).

همچنین در تحقیق مشابه دیگری توسط Zhen، فعالیت آزمایشگاهی ایمونوگلوبولین زرده تخم مرغ (IgY) علیه باکتری اشیریشیا کلی عامل ورم پستان گاو مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از افزایش بیگانه خواری توسط لکوسیت‌های نوتروفیل چند هسته‌ای (PMN) در حضور IgY بود (۲۳).

تولید IgY بر پایه تخم‌مرغ، به‌ویژه در سطح خلوص متوسط و کاربردهای آن در خوراک دام، از نظر ماده خام، توانمندی مقرون‌به‌صرفه بودن را دارد. اما مراحل خالص‌سازی و به‌ویژه ریزپوشانی آن همچنان مهم و ضروری است. مطالعات نشان‌دهنده تولید IgY در کاربردهای دامی معمولاً بالاتر از آنتی‌بیوتیک‌های معمول و مشابه پروبیوتیک‌های ریزپوشانی‌شده است. با این حال، وجود خطر مقاومت ضد میکروبی و عدم ایجاد باقیمانده‌های دارویی، مزیت‌های اقتصادی و بهداشتی IgY نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند باشد (۲۴، ۲۵).

در مجموع، مطالعات انجام شده مشخصه‌های مختلفی را در خصوص کاربرد IgY مورد بررسی و آزمون قرار داده و تأثیرات آن‌ها قابل بررسی است. از این پژوهش‌ها میتوان نتیجه گرفت مواردی چون تفاوت در گونه ماهی، روش تجویز، دوز مصرفی، مدت درمان، نوع عامل بیماریزا و وارسته آن و همچنین شرایط محیطی و فیزیولوژیکی بر آن موثر است. گونه‌های ماهی در سیستم‌های ایمنی ذاتی و مخاطی خود تفاوت زیادی دارند این تفاوت موجب گوناگونی جذب پادتن خارجی و پاسخ به آنها می‌شود. از سوی دیگر شیوه‌های مختلف مصرف پادتن نیز در پژوهش‌ها نتایج مختلفی را اثبات کرده‌اند. برخی تجویزها مانند روش خوراکی، ساده‌تر و در مقابل روش تزریق مستقیم دارای اثرات بهتر ولی در مراحل عملی دشوارتر است. در بررسی سایر عوامل نیز استفاده از دوز و زمان مناسب در شرایط محیطی و فیزیولوژیکی مناسب بر نتایج حاصل از پژوهش تأثیر بسزایی دارد. در نهایت گونه ماهی و روش تجویز بیشترین نقش را در متفاوت بودن نتایج دارند (۲۶-۲۸).

منبع	گونه	عامل / پاتوژن	روش کاربرد IgY	نوع ایمنی	نتایج کلیدی
(۹)	مارماهی ژاپنی (<i>Anguilla japonica</i>)	<i>Edwardsiella tarda</i>	غوطه‌وری (Passive immersion)	غیرفعال	کاهش مرگ‌ومیر و بار باکتریایی در ماهیان چالش‌شده
(۱۳)	میگوی سفید اقیانوس آرام (<i>L. vannamei</i>)	<i>White Spot Syndrome Virus (WSSV)</i>	آنتی‌بادی‌های زرده علیه VP28/VP19	غیرفعال	افزایش چشمگیر بقا پس از چالش WSSV
(۱۵)	قرل‌آلای خال‌قرمز	<i>Yersinia ruckeri</i>	غوطه‌وری (Passive immersion)	غیرفعال	حفاظت قابل توجه در مقایسه با گروه شاهد
(۱۶)	میگوی سفید اقیانوس	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	جیره غذایی	غیرفعال	بهبود بقای جانوری، رشد و فراسنجه‌های ایمنی
(۱۷)	میگوی سفید اقیانوس آرام	<i>Vibrio harveyi</i> & <i>V. parahaemolyticus</i>	خوراک کپسوله‌شده	غیرفعال	تقویت ایمنی غیرفعال و کاهش مرگ‌ومیر
(۱۸)	سلول‌های باله هامور-GF-1	<i>Red-spotted grouper nervous necrosis virus (RGNNV)</i>	آزمایش خنثی‌سازی درون کشتگاهی	غیرفعال	خنثی‌سازی ویروس و ممانعت از تکثیر RGNNV
(۱۹)	ماهی کپور	<i>Aeromonas salmonicida</i>	تزریق و حمام (Bath immersion)	غیرفعال	حفاظت قابل توجه در برابر عفونت <i>A. salmonicida</i>
(۱۲)	قرل‌آلای رنگین‌کمان	<i>Vibrio anguillarum</i>	تزریق صفاقی vs خوراکی	غیرفعال	اثربخشی بالاتر تزریق صفاقی نسبت به مصرف خوراکی در کاهش مرگ‌ومیر
(۲۰)	کپور طلایی	<i>Aeromonas hydrophila</i>	انتقال به زرده	غیرفعال	افزایش نرخ بقا تا حدود ۶۰٪

تولید IgY در مرغ‌های تخم‌گذار

پس از ایمن‌سازی مرغ‌های تخم‌گذار با پادگن‌های خاص، پادتن‌های IgY بعد از مدتی در زرده تخم‌مرغ تجمع می‌یابند. مرغ‌ها به‌عنوان سیستم‌های بیولوژیکی و یا راکتور تولید پادتن ارزان، مؤثر و بدون نیاز به خون‌گیری در نظر گرفته می‌شوند. معمولاً مرغ‌ها با دوزهای مشخصی از پادگن‌ها و بر اساس پروتکل‌های مربوطه ایمن‌سازی می‌شوند و سپس تخم‌مرغ‌های آن‌ها در هفته‌های بعدی برای استخراج IgY جمع‌آوری می‌گردد (۲۹).

استخراج و خالص‌سازی ایمونوگلوبولین (IgY) از زرده تخم‌مرغ

ایمونوگلوبولین (IgY) نوعی پادتن پلی‌کلونال اختصاصی است که عمدتاً در پرندگان یافت می‌شود. IgY پرندگان، معادل IgG و ایمونوگلوبولین (G) در پستانداران است و پادتن اصلی در خون و زرده تخم‌مرغ آن‌ها محسوب می‌شود. در مرغ‌ها، IgY از سرم خون به زرده تخم‌مرغ منتقل می‌شود تا ایمنی غیرمستقیم (Passive Immunity) را به جنین در حال رشد منتقل کند. هر تخم‌مرغ بیش از ۱۰۰ میلی‌گرم IgY دارد و مقدار پادتن اختصاصی تولیدشده در آن حدود ۲ تا ۱۰ درصد آن می‌باشد. از آنجا که مرغ تقریباً روزی یک تخم می‌گذارد، مقدار پادتن قابل استخراج از هر مرغ بسیار زیاد است (۳۰، ۳۱).

IgY از نظر ساختاری مشابه IgG است و از دو زنجیره سنگین و دو زنجیره سبک تشکیل شده، اما وزن مولکولی بیشتری (حدود ۱۸۰ کیلودالتون) دارد و بخش FC آن طولانی‌تر است. IgY جایگزینی ارزشمند برای پادتن‌های پستانداران در پژوهش، تشخیص و درمان به شمار می‌رود. روش تولید غیرتهاجمی، بازده بالا و تفاوت تکاملی با ایمونوگلوبولین‌های پستانداران، آن را برای کاربردهای زیست‌پزشکی، قابل توجه نموده است. برخلاف IgG، IgY سیستم عامل مکمل پستانداران را فعال نمی‌کند و به گیرنده‌های FC نیز متصل نمی‌گردد، که این پدیده باعث کاهش واکنش‌های متقاطع در آزمون‌های ایمونولوژیکی می‌شود. این ویژگی‌ها، به همراه مزایای اخلاقی و اقتصادی، IgY را به جایگزینی مناسب برای تولید پادتن‌های سنتی تبدیل کرده است (۳، ۴).

ترکیب زرده تخم‌مرغ و چالش‌های استخراج IgY

زرده تخم‌مرغ از حدود ۵۰٪ آب، ۳۳٪ چربی و ۱۷٪ پروتئین تشکیل شده است. IgY در بخش لیپوپروتئینی زرده قرار دارد و برای استخراج آن نیاز به روش‌های جداسازی مؤثر بدون تغییر ساختار پروتئین است. چالش اصلی در استخراج IgY، میزان بالای چربی است که فرآیند خالص‌سازی را تا حدودی می‌تواند مختل نماید (۳۲).

مزایا استفاده از IgY

بازار درمانی IgY: بازار جهانی درمان‌های آنتی‌بادی مونوکلونال از نظر درآمد، در سال ۲۰۲۴ به ارزش ۲۵۲٫۶ میلیارد دلار تخمین زده شده است و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۲۹ به ۴۹۷٫۵ میلیارد دلار برسد (۳۳).

آنتی‌بادی‌های IgY نسبت به آنتی‌بادی‌های IgG پستانداران مزایای زیادی دارند، از جمله مقرون‌به‌صرفه بودن، زمان کوتاه مورد نیاز برای آماده‌سازی و تولید، طیف گسترده‌ای از اهداف بالقوه پاتوژن، سهولت در جابجایی و ذخیره‌سازی و بازده بالا از آن جمله است (۳۴، ۳۵). استفاده از IgY پلی‌کلونال علیه بیماری‌های عفونی، خطر ابتلا به مقاومت آنتی‌بیوتیکی (AMR) را به حداقل می‌رساند. از آنجایی که پادتن‌ها به آنتی ژن‌های مختلف یک میکروارگانیسم خاص هدایت می‌شوند، این امر احتمال ایجاد مقاومت در برابر همه این آنتی‌ژن‌ها را به طور همزمان کاهش می‌دهد، زیرا آنها برای سنتز به چندین ژن نیاز دارند (۳۶).

معایب استفاده از IgY

پایداری IgY در pH اسیدی ۳ و کمتر، استفاده از آن را برای استفاده خوراکی محدود می‌کند، زیرا IgY فعالیت خود را کاملاً از دست می‌دهد (۳۷، ۳۸). IgY همچنین در روده کوچک، محل اصلی هضم پروتئین، پروتئولیز می‌شود. با این حال، میکروکپسولاسیون (ریزپوشانی) یکی از روش‌های مؤثر برای غلبه بر این مشکل است، اما این فرآیند هزینه‌های اضافی را به همراه خواهد داشت (۳۹، ۴۰).

IgY برخلاف IgG پستانداران قادر به فعال کردن مسیر کلاسیک سیستم کمپلمان نیستند. گزارش‌های محدودی در مورد کاربرد IgY علیه باکتری‌های گرم منفی وجود دارد (41, 42). روش‌های تولید IgY مونوکلونال در حال حاضر پیچیده و گران هستند و بنابراین، تولید IgY مونوکلونال در مقایسه با IgY پلی کلونال در بازار مکمل‌ها و افزودنی‌های غذایی، اقتصادی و رقابتی نیست (۴۳).

روش‌های استخراج IgY

(۱) روش رقیق‌سازی با آب یا روش Akita

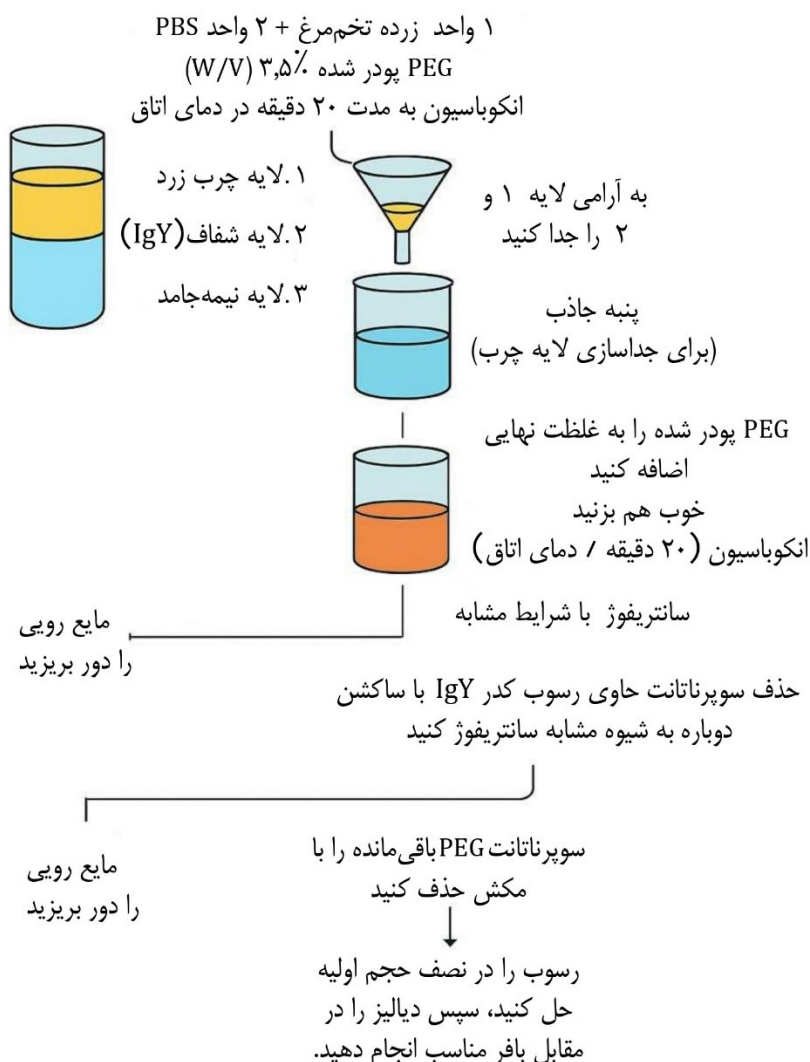
این ساده‌ترین و پرکاربردترین روش است. زرده تخم‌مرغ با آب اسیدی رقیق می‌شود تا لیوپروتئین‌ها رسوب کنند. فاز آبی حاوی IgY از طریق سانتریفیوژ جدا می‌شود. این روش ساده و غیر سمی و مقرون به صرفه است و جهت استخراج اولیه نیز مناسب است؛ اما از طرفی با چالش‌هایی همچون وجود ناخالصی و وابستگی بازده نهائی به pH و درجه رقیق‌سازی مواجه است (۴۴).

(۲) رسوب‌گذاری با پلی اتیلن گلیکول (PEG)

PEG برای رسوب‌گذاری انتخابی چربی‌ها و پروتئین‌ها استفاده می‌شود. پس از رقیق‌سازی یا مستقیماً از زرده، PEG بین (۳/۵٪ تا ۱۲٪) اضافه می‌شود. در این روش، زرده در بافر فسفات ۱M، pH 7.6 به نسبت ۱:۵ رقیق شده، سپس PEG به غلظت ۳/۵٪ اضافه شده و محلول ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ g سانتریفیوژ می‌شود. سپس PEG بیشتری اضافه می‌شود تا غلظت به ۱۲٪ برسد و دوباره سانتریفیوژ می‌شود (شکل شماره ۲) خالص‌سازی به روش رسوب‌گذاری با پلی اتیلن گلیکول بازده و خلوص بالایی دارد و برای مقیاس صنعتی نیز قابل توسعه است ولی به سانتریفیوژ متعدد و نیاز به حذف PEG در برخی موارد، استفاده آن را محدود می‌کند (۴۵).

رسوب‌دهی پلی اتیلن گلیکول (PEG)

(Polson et al., 1880)



شکل ۲. نمودار شماتیک استخراج IgY با استفاده از رسوب پلی اتیلن گلیکول طبق روش Polson و همکاران، ۱۹۸۰.

(۳) رسوب‌گذاری با نمک (سولفات آمونیوم)

این روش براساس اختلاف در حلالیت پروتئین‌های هدف و مواد ناخالصی عمل می‌کند. سولفات آمونیوم با اشباع ۱۰۰٪ مرسوم‌ترین روش انتخاب است که برای جداسازی پروتئین‌های محلول از زرده تخم‌مرغ طرحی شده است. این راهبرد پذیرفته‌شده برای خالص‌سازی پروتئین‌ها و سازگار با روش‌های کروماتوگرافی بعدی است. اما به علت استفاده از نمک، در مراحل بعدی اختلال ایجاد و با روش‌هایی مثل دیالیز نیاز به حذف نمک وجود دارد. همچنین در حذف چربی‌ها نسبت به روش PEG کمتر مؤثر واقع شده است (۴۶، ۴۷).

۴) استخراج با حلال‌های آلی و حذف چربی

برای استخراج ایمونوگلوبولین Y می‌توان از حلال‌هایی مانند کلروفرم، هگزان یا اتانول برای حذف موثر چربی استفاده کرد، هرچند به دلیل نگرانی‌های ایمنی و بهداشتی مانند باقی ماندن حلال‌های سمی و احتمال تغییر ماهیت (دنا توره شدن) ایمونوگلوبولین مدنظر، استفاده از این مواد کمتر کاربرد دارند (۴۸).

روش‌های خالص‌سازی

خالص‌سازی ایمونوگلوبولین Y از زرده مرغ، یک ابتکار تحقیقاتی دشوار است. روش‌های خالص‌سازی به طور قابل توجهی متفاوت می‌باشند و به دلیل روش‌های جداسازی متمایز، یافته‌ها به سختی قابل مقایسه هستند. اگرچه محققان اذعان کرده‌اند که اشباع نمک شاید ساده‌ترین راه برای به دست آوردن IgY از مایع رویی زرده تخم مرغ باشد، محققان روش‌های دیگری را برای خالص‌سازی IgY از زرده تخم مرغ نیز توسعه داده‌اند (۴۹، ۵۰).

۱) اولترافیلتراسیون و دیالیز

اساس این روش تفاوت در اندازه مولکولی و وزن مولکولی است. اولترافیلتراسیون با غشاهای مناسب باعث جداسازی IgY از پروتئین‌های کوچک‌تر مانند لیوپروتئین‌ها را می‌شود و دیالیز نیز برای حذف نمک‌ها و سایر مولکول‌های کوچک ناخالص به کار می‌رود. کاربرد این روش به طور کلی تغلیظ و تعویض بافر پس از استخراج خام به کار است (۵۱). از مزایای این روش می‌توان به مقرون به صرفه بودن و قابلیت تولید در حجم بالا اشاره کرد. اما گرفتگی غشاها می‌تواند بازده را کاهش و خلوص نهایی را کمتر کند (۴۴، ۵۲).

۲) کروماتوگرافی تعویض یونی

کروماتوگرافی تعویض یونی (Ion Exchange Chromatography, IEX) از روش‌های رایج برای خالص‌سازی IgY از زرده تخم مرغ است که بر مبنای بار الکتریکی پروتئین‌ها در pH مشخص عمل می‌کند. استفاده از رزین‌های تبادل آنیونی مانند (DEAE-Sepharose) برای خالص‌سازی IgY در گرادیان نمکی باعث شسته شدن انتخابی پادتن می‌شود. خلوص بالای ۹۰ درصد، قابلیت مقیاس پذیری و کاهش ناخالصی‌ها باعث مورد توجه قرار گرفته شدن این روش آزمایشگاهی شده است. اما محدودیت‌هایی چون زمان‌بر بودن، هزینه بالاتر نسبت به روش‌های غیر کروماتوگرافی و نیاز به بهینه‌سازی شرایط وجود دارد (۵۳، ۵۴).

۳) کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون

این روش مبتنی بر جداسازی پروتئین‌ها براساس اندازه به کار می‌رود و IgY از پروتئین‌های کوچک‌تر جدا می‌شود. در کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون مولکول‌های بزرگ‌تر مانند ایمونوگلوبولین‌ها از میان بستر ژلی بدون ورود به حفره‌ها عبور می‌کند و در نتیجه سریع‌تر از ستون کروماتوگرافی خارج می‌شوند. از مزیت‌های این روش نسبت به سایر روش‌ها می‌توان به حفظ ساختار و فعالیت زیستی IgY، عدم استفاده از حلال‌ها یا مواد دنا توره‌کننده و سهولت در آماده‌سازی اشاره کرد. با این حال، محدودیت در ظرفیت نمونه‌گذاری، زمان‌بر بودن فرآیند و نیاز به دستگاه‌های تخصصی از مهم‌ترین محدودیت‌های این روش به شمار می‌روند (۵۵، ۵۶).

۴) کروماتوگرافی تمایلی

کروماتوگرافی تمایلی روشی قدرتمند به شمار می‌رود. اساس این روش تعامل اختصاصی بین IgY و لیگاند تثبیت شده است؛ اگرچه پروتئین IgY به A/G متصل نمی‌شود، از ستون‌های اختصاصی ضد IgY یا بر اساس پادگن می‌توان استفاده کرد. این نوع اتصال اختصاصی باعث خلوص بالا و یکنواختی محصول در هر سری تولید می‌شود. با وجود هزینه‌های نسبتاً بالای این روش برای تجهیزات تخصصی و لزوم طراحی لیگاند اختصاصی، کاربرد وسیعی پیدا کرده است (۴۴، ۵۷).

خلاصه مقایسه‌ای روش‌ها

روش	بازده	خلوص	قابلیت توسعه	هزینه
رقیق‌سازی با آب	متوسط	پایین	بالا	پایین
رسوب‌گذاری با PEG	بالا	متوسط	بالا	متوسط
رسوب‌گذاری نمکی	متوسط	متوسط	متوسط	پایین
کروماتوگرافی	متوسط	بالا	متوسط	بالا

انتخاب روش به اهداف تحقیق، مقیاس تولید، خلوص مورد نیاز و هزینه تمام شده، بستگی دارد. روش PEG از محبوب‌ترین روش‌هاست چرا که توازن خوبی بین بازده، خلوص و سادگی ایجاد می‌نماید (۵۸).

پایداری و کاربردهای IgY

IgY یک ایمونوگلوبولین محلول در آب است و گزارش شده که می‌تواند تا ۳۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد پایدار باقی بماند. با این حال، آنزیم‌های پروتئازی مانند تریپسین و پپسین و همچنین pH نامناسب می‌توانند موجب تخریب IgY شوند. طبق گزارش Li و همکاران (۲۰۰۷)، فناوری میکروکپسولاسیون (ریزپوشانی) با آلزینات و کیتوزان می‌تواند از IgY محافظت و فعالیت آن را تثبیت کند (۵۹).

تولید خوراک آبزیان به روش پلیت، با دماهای ۹۰-۶۰ سانتی‌گراد و فشار مکانیکی همراه است، که می‌تواند سبب تغییر ماهیت (دنا توره شدن) IgY شود. گزارش‌ها نشان می‌دهند IgY بدون پوشش در دماهای بالاتر از ۷۰°C به سرعت فعالیت خود را از دست می‌دهد (۳۷). ریزپوشانی، به‌ویژه با ماتریکس‌های لیپیدی و پلی‌ساکاریدی، می‌تواند ۷۰-۵۰ درصد پایداری IgY را در شرایط پلت با دما و زمان متوسط حفظ کند، اگرچه در دماهای بسیار بالاتر از ۸۰°C همچنان کاهش فعالیت مشاهده می‌شود. بنابراین، برای حفظ کارایی، استفاده از پلت سرد یا پوشش‌های مقاوم به حرارت توصیه می‌گردد (۶۰، ۶۱).

میکروکپسولاسیون (ریزپوشانی) IgY

یکی از چالش‌های مهم مصرف خوراکی IgY، ناپایداری این ساختار پروتئینی در برابر آنزیم‌های گوارشی مانند پپسین است که موجب تجزیه ایمونوگلوبین و کاهش اثربخشی آن شود؛ به همین دلیل پژوهشگران به دنبال رویکردهایی برای حفاظت از IgY بوده اند. فرآیند "میکروکپسولاسیون" یا "ریزپوشانی" مهمترین رویکردهای حفاظتی است که به پوشاندن پادتن‌ها در یک ماده محافظ (مثل لیپوزوم، نانوذرات، یا ذرات آلزینات و کیتوزان) اطلاق می‌شود. ترکیب آلزینات و کیتوزان که یکی خاصیت ژل شونده و دیگری بار مثبت دارد، ساختار مقاومی جهت

حفاظت از IgY ایجاد می‌کند. ریزپوشانی که امروزه توجه‌های زیادی را به خود جلب کرده است، به دنبال تحقق اهدافی مانند بهبود پایداری پادتن، کنترل رهایش آن و محافظت از تخریب ساختاری است. این فناوری در ایجاد ایمنی غیرفعال خوراکی در انسان و حیوان، دارورسانی هدفمند و مصرف به عنوان مکمل تغذیه کاربرد دارد. به طور مثال بدون ریزپوشانی، IgY به سرعت هیدرولیز (تجزیه) می‌شود و فعالیت آن پس از یک ساعت در شبیه‌ساز مایع معده از بین می‌رود (۶۲، ۶۳).

در برخی مطالعات، از جمله تحقیق Gao و همکاران، نشان داده شده که استفاده از خوراک حاوی IgY ریزپوشانی شده توانسته از میگوها در برابر باکتری‌های بیماری‌زا مثل *Vibrio harveyi* محافظت کند و حتی نرخ مرگ‌ومیر را به‌طور قابل توجهی کاهش دهد. چنین نتایجی نشان می‌دهد که این فناوری نه تنها در سطح آزمایشگاهی، بلکه در کاربردهای صنعتی نیز می‌تواند مؤثر باشد (۱۷).

امروزه روش‌های مختلفی برای ریزپوشانی مانند خشک‌کردن پاششی (Spray-drying)، خشک‌کردن انجمادی و استفاده از نانوذرات چربی توسعه یافته است. خشک‌کردن پاششی به دلیل هزینه کمتر و قابلیت توسعه آن را برای کاربردهای صنعتی مناسب می‌کند (۶۴). با این حال، ممکن است برای ترکیبات حساس به گرما قابل استفاده نباشد. خشک‌کردن انجمادی، اگرچه گران‌تر و زمان‌برتر است، برای ترکیبات حساس به گرما ترجیح داده می‌شود. هر کدام از این روش‌ها مزایا و محدودیت‌هایی دارند که با در نظر گرفتن هدف نهایی، نوع گونه حیوانی و شرایط مصرف انتخاب می‌شوند. در تغذیه حیوانات، ریزپوشانی با افزایش پایداری و فراهمی زیستی، نویدبخش بهبود کارایی افزودنی‌های خوراکی بوده است (۶۵، ۶۶).

کاربرد IgY در آبزیان و سایر حیوانات

در صنعت آبزی‌پروری، IgY به‌صورت خوراکی یا از طریق حمام (Immersion) به ماهیان داده می‌شود. همانگونه که در بخش‌های قبلی نیز مطرح شد، این پادتن در مقابله با عوامل بیماری‌زای رایج مانند *Vibrio spp.* و *Streptococcus spp.* مؤثر بوده و می‌تواند از وقوع بیماری جلوگیری کند یا شدت آن را در جمعیت مورد نظر کاهش دهد (۸، ۱۱).

در دام و طیور، IgY به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک برای پیشگیری از بیماری‌های روده‌ای و تنفسی و یا گوارشی استفاده می‌شود. از آنجایی که IgY با دستگاه گوارش سازگار است، می‌تواند در خوراک دام و طیور گنجانده شود و ایمنی غیرفعال مؤثری ایجاد کند (۶).

جمع‌بندی

فناوری تولید، استخراج و خالص‌سازی IgY یک راهکار امیدبخش و چندمنظوره برای ایمن‌سازی غیرفعال در دامپزشکی، آبزی‌پروری و دیگر زمینه‌هاست. مزایایی همچون بی‌خطر بودن، مقیاس‌پذیری، هزینه پایین، و قابلیت تولید غیرتهاجمی، آن را به گزینه‌ای مطلوب در مبحث محرک‌های ایمنی تبدیل کرده است.

در آبزی‌پروری، مصرف خوراکی یا حمام‌دادن با IgY راهکاری عملی برای کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌ها و کنترل بیماری‌ها به‌شمار می‌رود. با توجه به دستاوردهای پژوهشی، پیش‌بینی می‌شود IgY بتواند در آینده جایگاه ویژه‌ای در برنامه‌های بهداشتی دام و طیور و آبزیان به خود اختصاص دهد.

چالش‌های این مسیر نیز برای محققان همواره قابل توجه بوده و در صدد حل آن‌ها هستند. مثلاً اکثر مطالعات در مقیاس آزمایشگاهی یا نیمه‌صنعتی بوده‌اند و مطالعات تجاری واقعی بسیار محدود انجام شده‌اند و یا چالش اصلی انتقال IgY به سطح مؤثر در بدن ماهی است، زیرا اغلب

در مسیر گوارش تخریب می‌شود. همچنین هزینه بالا برای تولید IgY اختصاصی علیه هر عامل بیماریزا (و گاهی هر سویه) از موانع اصلی تجاری سازی است. پایداری پایین IgY در محیط آبی و خوراک مرطوب نیز یکی از محدودیت‌های گزارش شده در بیشتر مطالعات است. تا کنون هیچ فرمولاسیون استاندارد و پایدار تجاری از IgY برای آبزیان در بازار جهانی به‌طور گسترده تأیید نشده است و اغلب مطالعات هنوز در مرحله تحقیق و پژوهش می‌باشد.

در نهایت، با اینکه فناوری ریزپوشانی گامی بزرگ برای افزایش دوام و کارایی IgY محسوب می‌شود، هنوز پرسش‌های مهمی بی‌پاسخ مانده‌اند؛ از جمله تعیین ترکیب بهینه کپسول‌ها جهت انجام ریزپوشانی و انتخاب روش‌های مناسب برای تولید انبوه این محرک ایمنی ارزشمند. پاسخ به این پرسش‌ها می‌تواند زمینه‌ساز بهره‌برداری گسترده‌تر از IgY در صنعت آبزی‌پروری باشد. با این حال، چالش‌هایی مانند بهینه‌سازی فرمولاسیون، حفظ پایداری طولانی‌مدت و توسعه روش‌های مؤثر انتقال، همچنان نیازمند پژوهش و نوآوری‌های بیشتر است. در این مسیر، همکاری نزدیک بین پژوهشگران، دانشگاه‌ها، صنعت و نهادهای قانون‌گذار و همچنین افزایش آگاهی تولیدکنندگان و پرورش‌دهندگان می‌تواند نقش مهمی در تحقق کامل ظرفیت‌های IgY ایفا کند. با پیشرفت روش‌های خالص‌سازی و ریزپوشانی، انتظار می‌رود IgY بزودی جایگاه ویژه‌ای در کاهش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در آبزی‌پروری پیدا کند. از سوی دیگر ایجاد تسهیلات و حمایت‌های لازم از سوی دستگاه‌های مسئول در خصوص صدور مجوزهای لازم جهت کاربرد بیشتر اینگونه محصولات فناورانه جدید در صنعت آبزی‌پروری، ضمن رعایت ضوابط و مقررات مربوطه، زمینه را برای کاربرد بیشتر آنها در کشور فراهم خواهد نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله وظیفه خود می‌دانند از کلیه عزیزانی که ما را در نگارش این مقاله مروری یاری نمودند قدردانی نموده و سپاس ویژه داشته باشیم.

تأییدیه اخلاقی: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

منابع مالی: قسمتی از بودجه طرح پژوهشی توسط بنیاد علم ایران (صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور) در ارتباط با طرح مصوب شماره ۴۰۲۳۴۸۵ تامین شده است که از زحمات این دوستان نیز سپاس ویژه داریم.

منابع

1. Amro WA, Al-Qaisi W, Al-Razem F. Production and purification of IgY antibodies from chicken egg yolk. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2018;16(1):99-103.
2. Tan SH, Mohamedali A, Kapur A, Lukjanenko L, Baker MS. A novel, cost-effective and efficient chicken egg IgY purification procedure. *Journal of immunological methods*. 2012;380(1-2):73-6.
3. Karlsson M, Kollberg H, Larsson A. Chicken IgY: utilizing the evolutionary advantage. *World's Poultry Science Journal*. 2004;60(3):341-8.
4. Pereira E, Van Tilburg M, Florean E, Guedes M. Egg yolk antibodies (IgY) and their applications in human and veterinary health: A review. *International immunopharmacology*. 2019;73:293-303.
5. Michael A, Meenatchisundaram S, Parameswari G, Subbraj T, Selvakumaran R, Ramalingam S. Chicken egg yolk antibodies (IgY) as an alternative to mammalian antibodies. *Indian J Sci Technol*. 2010;3(4):468-74.
6. Kovacs-Nolan J, Mine Y. Egg yolk antibodies for passive immunity. *Annual review of food science and technology*. 2012;3(1):163-82.
7. Zorriehzahra MJ, Ruchi Tiwari RT, Swati Sachan SS, Kumaragurubaran Karthik KK, Malik YS, Dadar M, et al. Avian egg yolk antibodies (IgY) and their potential therapeutic applications for countering infectious diseases of fish and aquatic animals. 2016.

8. Zhang L, Lin L, Qin Z. A review on the application of chicken immunoglobulin Y in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. 2024;16(1):536–51.
9. Gutierrez M, Miyazaki T, Hatta H, Kim M. Protective properties of egg yolk IgY containing anti-*Edwardsiella tarda* antibody against paracolo disease in the Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel. *Journal of Fish Diseases*. 1993;16(2):113–22.
10. Sui J, Cao L, Lin H. Antibacterial activity of egg yolk antibody (IgY) against *Listeria monocytogenes* and preliminary evaluation of its potential for food preservation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2011;91(11):1946–50.
11. Baloch AR, Zhang XY, Schade R. IgY Technology in aquaculture—a review. *Reviews in Aquaculture*. 2015;7(3):153–60.
12. Arasteh N, Aminirissehei A-H, Yousif A, Albright L, Durance T. Passive immunization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with chicken egg yolk immunoglobulins (IgY). *Aquaculture*. 2004;231(1-4):23–36.
13. DK K. Shrimp protected from WSSV disease treatment with egg yolk antibodies (IgY) against a truncated fusion protein derived from white spot syndrome virus. *Aquaculture*. 2004;237:21–30.
14. Xu Y, Li X, Jin L, Zhen Y, Lu Y, Li S, et al. Application of chicken egg yolk immunoglobulins in the control of terrestrial and aquatic animal diseases: a review. *Biotechnology advances*. 2011;29(6):860–8.
15. Lee SB, Mine Y, Stevenson RM. Effects of hen egg yolk immunoglobulin in passive protection of rainbow trout against *Yersinia ruckeri*. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2000;48(1):110–5.
16. Keetanon A, Chuchird N, Bae H-D, Won M-K, Kim S-Y, Elahi F. Effects of IgY antibody on growth, survival, immune responses and protection against *Vibrio parahaemolyticus* in Pacific white shrimp. *Journal of Fisheries and Environment*. 2021;45(1):1–7.
17. Gao X, Zhang X, Lin L, Yao D, Sun J, Du X, et al. Passive immune-protection of *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio harveyi* and *Vibrio parahaemolyticus* infections with anti-*Vibrio* egg yolk (IgY)-encapsulated feed. *International journal of molecular sciences*. 2016;17(5):723.
18. Yi L, Qin Z, Lin H, Zhou Y, Li J, Xu Z, et al. Features of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against the infection of red-spotted grouper nervous necrosis virus. *Fish & shellfish immunology*. 2018;80:534–9.
19. Gan H, He H, Sato A, Hatta H, Nakao M, Somamoto T. Ulcer disease prophylaxis in koi carp by bath immersion with chicken egg yolk containing anti-*Aeromonas salmonicida* IgY. *Research in Veterinary Science*. 2015;99:82–6.
20. Li X-l, Shuai J-b, Fang W-h. Protection of *Carassius auratus* Gibelio against infection by *Aeromonas hydrophila* using specific immunoglobulins from hen egg yolk. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*. 2006;7(11):922–8.
21. Basiri H, Mousavi Gargari SL, Rasoli I, Salmanian AH, Parivar K, Nejad Satari T. Production of IgY in chicken egg yolk against *Helicobacter pylori* urease using UreC recombinant protein. *Pathobiology Research*. 2008;11:1–13.
22. Mahdavi A, Rahmani H, Nili N, Samie A, Soleimanian-Zad S. Chicken egg yolk antibody (IgY) powder against *Escherichia coli* O78: K80. *J Anim Vet Adv*. 2010;9:366–73.
23. Zhen Y-H, Jin L-J, Guo J, Li X-Y, Lu Y-N, Chen J, et al. Characterization of specific egg yolk immunoglobulin (IgY) against mastitis-causing *Escherichia coli*. *Veterinary microbiology*. 2008;130(1-2):126–33.
24. Hussein MA, Rehan IF, Rehan AF, Eleiwa NZ, Abdel-Rahman MA, Fahmy SG, et al. Egg yolk IgY: a novel trend of feed additives to limit drugs and to improve poultry meat quality. *Frontiers in veterinary science*. 2020;7:350.
25. Eto SF, Fernandes DC, Yunis-Aguinaga J, da Silva Claudiano G, Shimada MT, Salvador R, et al. Characterization and production of IgY antibodies anti-*Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*: Therapeutic and prophylactic use in *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*. 2019;513:734424.
26. Van Hai N. Research findings from the use of probiotics in tilapia aquaculture: a review. *Fish & shellfish immunology*. 2015;45(2):592–7.
27. Embregts CW, Forlenza M. Oral vaccination of fish: Lessons from humans and veterinary species. *Developmental & Comparative Immunology*. 2016;64:118–37.
28. Potiwong C, Suwan C, Noimoon P, Yawichai P, Jitmanowan S, Chitmanat C. Effects of medicinal plants on fish immunity and its growth performances. *Burapha Science Journal*. 2020:595–616.
29. Tetik K. Avian IgY antibodies and its immunotherapeutic applications. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*. 2024;8(1):64–74.
30. Lanzarini NM, Bentes GA, Volotão EdM, Pinto MA. Use of chicken immunoglobulin Y in general virology. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*. 2018;39(3):235–48.

31. Criste A, Urcan AC, Corcionivoschi N. Avian IgY antibodies, ancestors of mammalian antibodies—production and application. *Rom Biotechnol Lett*. 2020;25(2):1311–9.
32. Ståhlberg J, Larsson A. Extraction of IgY from egg yolk using a novel aqueous two-phase system and comparison with other extraction methods. *Upsala journal of medical sciences*. 2001;106(2):99–110.
33. 2025 [Available from: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/>].
34. Lee L, Samardzic K, Wallach M, Frumkin LR, Mochly-Rosen D. Immunoglobulin Y for potential diagnostic and therapeutic applications in infectious diseases. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:696003.
35. Carlander D, Kollberg H, Wejåker P-E, Larsson A. Peroral immunotherapy with yolk antibodies for the prevention and treatment of enteric infections. *Immunologic research*. 2000;21(1):1–6.
36. Rahman S, Van Nguyen S, Icatlo Jr FC, Umeda K, Kodama Y. Oral passive IgY-based immunotherapeutics: a novel solution for prevention and treatment of alimentary tract diseases. *Human vaccines & immunotherapeutics*. 2013;9(5):1039–48.
37. Hatta H, Tsuda K, Akachi S, Kim M, Yamamoto T. Productivity and some properties of egg yolk antibody (IgY) against human rotavirus compared with rabbit IgG. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 1993;57(3):450–4.
38. Shimizu M, Fitzsimmons Rc, NAKAI S. Anti-E. coli Immunoglobulin Y isolated from egg yolk of immunized chickens as a potential food ingredient. *Journal of Food Science*. 1988;53(5):1360–8.
39. Chang HM, Lee YC, Chen C, Tu YY. Microencapsulation protects immunoglobulin in yolk (IgY) specific against *Helicobacter pylori* urease. *Journal of Food Science*. 2002;67(1):15–20.
40. Cho YH, Lee JJ, Park IB, Huh CS, Baek YJ, Park J. Protective effect of microencapsulation consisting of multiple emulsification and heat gelation processes on immunoglobulin in yolk. *Journal of food science*. 2005;70(2):E148–E51.
41. Wang L-H, Li X-Y, Jin L-J, You J-S, Zhou Y, Li S-Y, et al. Characterization of chicken egg yolk immunoglobulins (IgYs) specific for the most prevalent capsular serotypes of mastitis-causing *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Microbiology*. 2011;149(3-4):415–21.
42. Zhen Y-H, Jin L-J, Li X-Y, Guo J, Li Z, Zhang B-J, et al. Efficacy of specific egg yolk immunoglobulin (IgY) to bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Microbiology*. 2009;133(4):317–22.
43. Zhang X-Y, Vieira-Pires RS, Morgan PM, Schade R. IgY-technology: production and application of egg yolk antibodies: basic knowledge for a successful practice: Springer; 2021.
44. Akita E, 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*. 1993;160(2):207–14.
45. Polson A, von Wechmar MB, Van Regenmortel M. Isolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens. *Immunological communications*. 1980;9(5):475–93.
46. Ko K, Ahn D. Preparation of immunoglobulin Y from egg yolk using ammonium sulfate precipitation and ion exchange chromatography. *Poultry science*. 2007;86(2):400–7.
47. Mirica KA, Lockett MR, Snyder PW, Shapiro ND, Mack ET, Nam S, et al. Selective precipitation and purification of monovalent proteins using oligovalent ligands and ammonium sulfate. *Bioconjugate chemistry*. 2012;23(2):293–9.
48. Ren H, Yang W, Thirumalai D, Zhang X, Schade R. A comparative evaluation of six principal IgY antibody extraction methods. *Alternatives to laboratory animals*. 2016;44(1):11–20.
49. De Meulenaer B, Huyghebaert A. Isolation and purification of chicken egg yolk immunoglobulins: a review. *Food and Agricultural Immunology*. 2001;13(4):275–88.
50. Bizhanov G, Jonauskiene I, Hau J. A novel method, based on lithium sulfate precipitation for purification of chicken egg yolk immunoglobulin Y, applied to immunospecific antibodies against Sendai virus. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*. 2004;31(3):121–30.
51. Schade R, Calzado EG, Sarmiento R, Chacana PA, Porankiewicz-Asplund J, Terzolo HR. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): a review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine. *Alternatives to laboratory animals*. 2005;33(2):129–54.
52. Hernandez-Campos FJ, Brito-De la Fuente E, Torrestiana-Sanchez B. Purification of egg yolk immunoglobulin (IgY) by ultrafiltration: effect of pH, ionic strength, and membrane properties. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010;58(1):187–93.
53. Wang L, Ma M, Cai Z, Jin Y, Huang X. Preparation of immunoglobulin from chicken egg yolk by anion-exchange chromatography. *Se pu= Chinese Journal of Chromatography*. 2012;30(1):80–5.

54. Grodzki AC, Berenstein E. Antibody purification: ion-exchange chromatography. *Immunocytochemical methods and protocols*: Springer; 2009. p. 27–32.
55. Kim I-H, Lee Y-T, Lee C-H, Chung B-H. Purification of egg immunoglobulin IgY. *KSBB Journal*. 1999;14(6):677–81.
56. Goldring JD, Coetzer TH. Isolation of chicken immunoglobulins (IgY) from egg yolk. *Biochemistry and Molecular Biology Education*. 2003;31(3):185–7.
57. Béhar G, Renodon-Cornière A, Mouratou B, Pecorari F. Affitins as robust tailored reagents for affinity chromatography purification of antibodies and non-immunoglobulin proteins. *Journal of Chromatography A*. 2016;1441:44–51.
58. Lee E, Sunwoo H, Menninen K, Sim J. In vitro studies of chicken egg yolk antibody (IgY) against *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium*. *Poultry Science*. 2002;81(5):632–41.
59. Li X-Y, Jin L-J, McAllister TA, Stanford K, Xu J-Y, Lu Y-N, et al. Chitosan– alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY). *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007;55(8):2911–7.
60. Jaradat ZW, Marquardt RR. Studies on the stability of chicken IgY in different sugars, complex carbohydrates and food materials. *Food and Agricultural Immunology*. 2000;12(4):263–72.
61. Shimizu M, NAGASHIMA H, Hashimoto K, SUZUKI T. Egg yolk antibody (Ig Y) stability in aqueous solution with high sugar concentrations. *Journal of food science*. 1994;59(4):763–5.
62. Zhang J, Li H-h, Chen Y-f, Chen L-h, Tang H-g, Kong F-b, et al. Microencapsulation of immunoglobulin Y: optimization with response surface morphology and controlled release during simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*. 2020;21(8):611–27.
63. Wang H, Zhong Q, Lin J. Egg yolk antibody for passive immunization: status, challenges, and prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2023;71(13):5053–61.
64. Rezvankhah A, Emam-Djomeh Z, Askari G. Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. *Drying Technology*. 2020;38(1-2):235–58.
65. do Amaral PHR, Andrade PL, de Conto LC. Microencapsulation and its uses in food science and technology: A review. *Microencapsulation-processes, technologies and industrial applications*. 2019.
66. Temiz U, Öztürk E. Encapsulation methods and use in animal nutrition. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*. 2018;32(3):624–31.

Polyclonal IgY Antibodies: A Review of Their Therapeutic and Preventive Applications in Aquaculture

Ali Karegar Kheirabad¹, Mohammad Jalil Zorriehzahra^{2*}, Sana Yousefian Jazi³, Samira Hossein Garakani⁴, Seyed Masoud Mousavi Shahtouri⁵, Kouros Radhkhah² and Hesam Rafiei⁶

¹ Department of Virology, Faculty of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

R&D Department, Arghavan Teb Kavian Knowledge-based Company, Karaj, Iran

² Department of Aquatic animal Health and Diseases, Iranian Fisheries Science Research Institute (IFSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

³ Department of Cell, Molecular and Microbiology, Faculty of Biological Sciences and Technologies, Isfahan University, Isfahan, Iran

⁴ M.Sc. Graduate in Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Chemistry, University of Medical Sciences of Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁵ Animal Science Division, R&D Department, Arghavan Teb Kavian Knowledge-based Company, Karaj, Iran

⁶ Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

ABSTRACT

Aquatic animal diseases have emerged as a critical challenge in the fisheries and aquaculture sectors, posing significant threats to production efficiency and sustainability. In response, novel biotechnological approaches have been proposed to mitigate these issues. Among them, egg yolk-derived immunoglobulin (IgY), a naturally occurring antibody in birds, is gaining recognition as a promising tool for the diagnosis, prevention, and treatment of infectious diseases across a range of species, including livestock, poultry, aquatics, and even humans. Unlike mammalian IgG, IgY can be extracted non-invasively from egg yolk and does not cross-react with the mammalian complement system, thus minimizing potential immunological complications. These attributes render IgY a viable candidate for oral administration in animals and offer broad applicability in medical, pharmaceutical, and food industries. This review provides a comprehensive overview of IgY, encompassing its production, extraction, purification, microencapsulation, and practical applications in animal husbandry and aquaculture. Furthermore, the article examines the benefits and current limitations associated with the commercialization of IgY-based technologies. Despite recent advancements in its development and deployment, further progress in formulation optimization, stabilization techniques, and applied research is essential to fully realize the potential of IgY as an effective immunological tool in modern aquaculture practices.

KEYWORDS: Aquaculture, Antibody, Polyclonal, Egg Yolk Immunoglobulin (IgY)

ARTICLE TYPE

Review Article

ARTICLE HISTORY

Received: 04 Feb. 2026

Revised: 30 Apr. 2026

Accepted: 10 June 2026

ePublished: 15 June 2026

* Corresponding Author:

Email address: m.zorriehzahra@areeo.ac.ir

Tel: 09121075728

© Published by Tarbiat Modares University

ISSN: 2322-5513