



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2023 00094

(22) Data de depozit: 28/02/2023

(41) Data publicării cererii:  
30/06/2023 BOPI nr. 6/2023

(71) Solicitant:

- NICOLESCU MARIA- ANCA,  
ȘOS.PANTELIMON, NR.227, BL.B70, SC.2,  
AP.78, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- VERES PAUL SEBASTIAN,  
STR.SOMEȘUL RECE, NR.95, BUCUREȘTI,  
B, RO;
- ANDRONESCU ECATERINA,  
CALEA PLEVNEI, NR.45, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- ROTARIU MIHAI, ȘOS.ANDRONACHE,  
NR.87, BUCUREȘTI, B, RO;
- MORARU ILIE, STR.MARIN  
SERGHIESCU, NR.9, BUCUREȘTI, B, RO;
- NICULESCU CIPRIAN- MITUȘ,  
STR. DRUMUL SĂRII, NR.18, BUCUREȘTI,  
B, RO;
- DONISAN ADRIANA- ELENA,  
STR.NICOLAE TITULESCU, NR.1,  
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- NICOLESCU MARIA- ANCA,  
ȘOS.PANTELIMON, NR.227, BL.B70, SC.2,  
AP.78, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- VERES PAUL SEBASTIAN,  
STR.SOMEȘUL RECE, NR.95, BUCUREȘTI,  
B, RO;
- ANDRONESCU ECATERINA,  
CALEA PLEVNEI, NR.45, BUCUREȘTI, B,  
RO;
- ROTARIU MIHAI, ȘOS.ANDRONACHE,  
NR.87, BUCUREȘTI, B, RO;
- MORARU ILIE, STR.MARIN  
SERGHIESCU, NR.9, BUCUREȘTI, B, RO;
- NICULESCU CIPRIAN- MITUȘ,  
STR.DRUMUL SĂRII, NR.18, BUCUREȘTI,  
B, RO;
- DONISAN ADRIANA- ELENA,  
STR.NICOLAE TITULESCU, NR.1,  
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **PRODUSE INOVATIVE BAZATE PE IMUNIZAREA PASIVĂ  
PRIN IMUNOGLOBULINE Y SPECIFICE ANTI SPIKE,  
DESTINATE PREVENIRII ȘI TRATAMENTULUI INFECȚIEI  
CU SARS COV2 ȘI A COMPLICAȚIILOR POST-VACCINALE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la utilizarea Imunoglobulinei IgY specifică Anti S1 (Spike 1) pentru prepararea unui produs cu administrare orală sau spray intranasal pentru profilaxia pre și post-expunere la patogenul SARS-CoV-2, în care produsul cuprinde în procente

masice 40...60% IgY anti S1, 20...25% Nattokinaza, 5% Astaxantin, 10% Glutacion, respectiv, Quercetin, 5% combinație de vitamina C/ vitamina D3/Zinc și 3% xilitol.

Revendicări: 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 2023 000 94
Data depozit	28-02-2023

## DESCRIERE

20

Calitatile Imunoglobulinelor Y aviare, in combaterea diverselor afectiuni infectioase, locale sau generale, nu mai trebuiesc demonstrate, acestea fiind cunoscute si recunoscute mondial, si dovedite prin sute de studii clinice. Principiul imunizarii pasive este utilizat de peste 100 de ani, iar serurile continand anticorpi sunt folosite pe scara larga in intreaga lume (ser antirabic, ser antitetanic, ser antidifteric, etc.). Majoritatea acestor seruri purtatoare de anticorpi specifici, sunt produse prin imunizarea unor specii de mamifere, iar procesul de purificare pentru administrarea la om este anevoios si indelungat, datorita activarii FC si a riscului de reactii anafilactice.

În ceea ce privește strategia de imunizare pasivă, imunoglobulinele specifice (IgY) extrase din gălbenușul de ou, întrucât distanța filogenetică dintre mamifere și păsări determină un răspuns imun ridicat al păsărilor la antigenele de mamifere, oferă o serie de avantaje în comparație cu anticorpii imunoglobulinei G de mamifere (IgGs). În special, IgY-urile au potențialul de a induce anticorpi neutralizanți împotriva infecțiilor respiratorii, pot inhiba răspândirea de la celulă la celulă a particulelor virale, suprimând astfel colonizarea virală și posedă o activitate remarcabilă de neutralizare a agenților patogeni în tractul respirator și plămâni.

Până în prezent, o IgY specifica a fost dezvoltata utilizând proteina recombinantă a subunității S MERS-CoV care prezintă o neutralizare eficientă atât in vitro, cât și in vivo cu un model animal de infecție cu MERS-CoV. IgY specifica împotriva proteinei nucleocapside conservatoare (NP) a SARS-CoV-2 a arătat o capacitate puternică de legare a acesteia. Tinta principala a anticorpilor neutralizanti este evitarea patrunderii virale in cellule.

IgY determina un raspuns imun ridicat al pasarilor la antigenele de mamifere, avand potentialul de a induce anticorpi neutralizanți împotriva infecțiilor respiratorii, de a inhiba răspândirea de la celulă la celulă a particulelor virale, suprimând astfel colonizarea virală și de a poseda o activitate remarcabilă de neutralizare a agenților patogeni în tractul respirator și plămâni. Mai multe studii au demonstrat eficacitatea utilizării IgY în infecțiile virale. Experimentele de imunizare pasivă la șoareci au arătat că administrarea intranasală de anticorpi IgY împotriva virusului gripal H5N1 conferea protecție împotriva unei infecții letale a unui H5N1 foarte

*Mm*  
*Ami*  
*Avens*

*Mant*

*Ab*

*EA*

*Ab*

patogen. În plus, acești anticorpi anti-H5N1 conferă, de asemenea, protecție împotriva tulpinii virusului H1N1, demonstrând capacitatea de protecție a anticorpilor policlonali, în ciuda diferențelor dintre diferitele tulpini ale virusului gripal. În plus, acești șoareci au dezvoltat o memorie imunitară de protecție, ceea ce face utilizarea anticorpilor IgY utilizați în imunizarea pasivă și mai practic.

Studii asemănătoare au fost realizate și pentru Rotavirusuri, Virusul West Nile, Denga, Zika, Hantavirusuri, Virusul Rabiei, Virusul Ebola, Norovirus, Coronavirus, etc.

Toate aceste studii demonstrează utilitatea IgY în controlul infecțiilor virale. Majoritatea acestor studii au arătat că utilizarea IgY conferea protecție in vitro și / sau in vivo fără a produce ADE. Mai mult, utilitatea anticorpilor IgY a fost validată chiar și atunci când sunt disponibile vaccinuri pentru o anumită boală virală. În unele cazuri, răspunsul policlonal obținut de anticorpii IgY a fost, de asemenea, eficient împotriva mai multor epitopi și subunități ale virusului expus.

Siguranța administrării, reprezintă diferența majoră prin care IgY este superioară IgG a mamiferelor. IgY-urile sunt mai sigure decât IgG-urile, deoarece nu se leagă de receptorii Fc umani sau nu fixează componentele complementului la mamifere, prin urmare nu declanșează răspunsuri imune potențial periculoase. Kubickova și colab. au expus celulele epiteliale pulmonare umane imortalizate la IgY, folosind lipopolizaharida pentru control pozitiv și soluție salină tamponată cu fosfat ca martor negativ. Tratamentele au inclus, de asemenea, expunerea la IgG umane și de capră, iar expunerea a durat 24 de ore pentru toate tratamentele. Cercetătorii au descoperit că nivelurile de factor de necroză tumorală a citokinelor proinflamatorii (TNF)- $\alpha$ , interleukina (IL)-1 $\beta$ , IL-6 și factorul de stimulare a coloniilor de granulocite-macrofage (GM-CSF) au fost foarte scăzute în culturile celulare tratate cu IgY în comparație cu nivelurile ridicate de TNF- $\alpha$  și GM-CSF în celulele tratate cu lipopolizaharide, ceea ce indică faptul că IgY nu provoacă răspunsuri inflamatorii în celulele pulmonare și pot fi astfel utilizate în siguranță pentru prevenirea și tratarea infecțiilor căilor respiratorii. În plus, IgY administrată pe cale orală, în tratarea infecțiilor cu rotavirus la oameni cât și pentru a trata, de exemplu, a infecțiilor pulmonare cu *Pseudomonas aeruginosa*, nu a produs efecte secundare negative ale tratamentului cu IgY în până la 10 ani de utilizare. (4, 2, 24, 14, 34))



Handwritten signatures and initials at the bottom of the page, including names like 'Preu', 'M', 'Mark', 'JW', and 'JH'.

Siguranța administrării intranazale de IgY a fost documentată pentru tratamentul virusului gripal19 și al faringitei acute și cronice la om.

Foarte recent, a fost studiată și realizată prepararea anticorpilor ingerabili pentru a neutraliza legarea SARSCoV 2 RBD (domeniul de legare la receptor) la receptorul ACE2 uman.

Anticorpii IgY derivați din ouă de găină împotriva domeniului de legare la receptor (RBD) al Proteinei Spike SARSCoV2, care este implicată în legarea de receptorii ACE2 de celule umane, neutralizează în mod eficient legarea RBD la ACE2 și, de asemenea, legarea SARS CoV2 varianta delta RBD la ACE2. Având în vedere că IgY derivate din ouă de găină sunt sigure și permise pentru consumul uman, și vom dezvolta acești anticorpi administrați oral pentru prevenirea virusului și pentru intrarea acestuia în tractul orofaringian și digestiv la om, ca imunoterapie pasivă.

In cadrul studiilor, a fost dezvoltat un anticorp IgY neutralizant împotriva spațiului extracelular SARS-CoV-2 al proteinei S (Spike). S-a demonstrat aici că, după imunizarea puilor cu proteina S1 recombinantă, au fost generați anticorpi de neutralizare IgY împotriva subunității S1 a proteinei spike SARS-CoV-2, dovedind potențiala utilizare a IgY pentru a bloca intrarea acestui virus. (18, 21, 23, 24, 35)

#### Semnificație și impact

IgY care vizează subunitatea S1 a SARS-CoV-2 este un candidat promițător pentru profilaxia pre și post-expunere sau tratamentul COVID-19. Administrarea de preparat oral pe bază de IgY, sub forma de spray oral sau nazal și sub forma orală, poate bloca SARS-CoV-2. De maniera similară, neutralizarea Spike 1 ca eventuala remanentă în organism post-vaccinal, este posibilă și eficientă.

Patogenul, SARS-CoV-2, este un virus ARN monocatenar cu sens pozitiv, cu un genom de aproximativ 30 kbp, codifică patru proteine structurale, inclusiv spike, înveliș, matrice și nucleocapsida.

Proteina spike (S) cuprinde două componente: S1, care conține domeniul distinct de legare la receptor (RBD); S2, care conține peptida de fuziune. Virusii intră în celulele gazdă prin interacțiunea RBD cu enzima 2 de conversie a angiotensinei receptorului celulei gazdă (ACE2).



Anticorpul împotriva subunității S1, care vizează în special RBD, previne legarea proteinei de suprafață a particulelor virale de receptorul ACE2, prevenind astfel invazia virală.

**Mai precis, proteina SARS-CoV-2 S1 a fost acceptată ca țintă ideală pentru proiectarea anticorpilor și a vaccinurilor.**

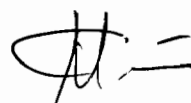
În afară de IgG utilizate în mod obișnuit, IgY este precursorul evolutiv al IgG, anticorpul IgY de origine aviară pot fi, de asemenea, serviți ca omologul IgG, iar IgY policlonală poate fi obținută cu ușurință în cantități mari din gălbenușul de ou de găină în scopuri biomedicale largi, având o serie de avantaje cum ar fi productivitate mai mare, bunăstare mai bună a animalelor, imunogenitate mai mare la proteinele conservate de mamifere, reactivitate încrucișată mai mică și nu reacționează cu factorii reumatoizi pentru a evita rezultate fals pozitive în imunotestul, în comparație cu generarea și aplicarea monoclonale de lungime completă la mamifere.

IgY au fost studiate pe larg pentru tratamentul diferitelor virusuri respiratorii înainte de COVID-19, iar IgY au realizat, de asemenea, unele realizări în tratamentul coronavirusurilor patogene : în 2003 după epidemia de SARS, a existat o cercetare asupra IgY împotriva SARS-CoV . În ultimii ani, anticorpul IgY au fost dezvoltați și accesați ținând coronavirusul, IgY specifice proteinei spike anti-MERS-CoV au o neutralizare eficientă a infecției cu virus atât in vitro, cât și in vivo, IgY specifică de la găinile imunizate cu SARS-CoV-2 inactivat a avut un inhibitor semnificativ împotriva infecțiilor in vitro cu SARS-CoV-2 viu și pseudotipizat.

În concluzie, imunizarea pasărilor SPF cu proteina S1 recombinantă produce anticorpi neutralizanți IgY împotriva subunității S1 a proteinei spike SARS-CoV-2, eficient și sensibil, iar producția de cantități mari de IgY care inhibă legarea și replicarea virusului SARS-CoV-2 este fezabilă pentru încorporare într-un spray intranasal și/sau în produse cu administrare orală.

  
  
Svor.









## BIBLIOGRAFIE

1. Artman C, Brumfield KD, Khanna S, Goepp J. Avian antibodies (IgY) targeting spike glycoprotein of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) inhibit receptor binding and viral replication. PLoS ONE. 2021;
2. Bao L, Zhang C, Lyu J, Yi P, Shen X, Tang B, Zhao H, Ren B, Kuang Y, Zhou L, Li Y. Egg yolk immunoglobulin (IgY) targeting SARS-CoV-2 S1 as potential virus entry blocker. J Appl Microbiol. 2021 doi: 10.1111/jam.15340
3. Casadevall A, Pirofski LA. The convalescent sera option for containing COVID-19. J Clin Invest. 2020;130(4):1545–1548. doi: 10.1172/JCI138003.
4. Chen RE, Winkler ES, Case JB, Aziati ID, Bricker TL, Joshi A, Darling TL, Ying B, Errico JM, Shrihari S, VanBlargan LA, Xie X, Gilchuk P, Zost SJ, Droit L, Liu Z, Stumpf S, Wang D, Handley SA, Stine WB, Jr, Shi PY, Davis-Gardner ME, Suthar MS, Knight MG, Andino R, Chiu CY, Ellebedy AH, Fremont DH, Whelan SPJ, Crowe JE, Jr, Purcell L, Corti D, Boon ACM, Diamond MS. In vivo monoclonal antibody efficacy against SARS-CoV-2 variant strains. Nature. 2021;596(7870):103–108. doi: 10.1038/s41586-021-03720-y.
5. El-Kafrawy SA, Abbas AT, Sohrab SS, Tabll AA, Hassan AM, Iwata-Yoshikawa N, Nagata N, Azhar EI. Immunotherapeutic efficacy of IgY antibodies targeting the full-length spike protein in an animal model of middle east respiratory syndrome coronavirus infection. Pharmaceuticals. 2021;14(6):511. doi: 10.3390/ph14060511.
6. Gilliland T., Y. Liu, R. Li, M. Dunn, E. Cottle, Y. Terada, Z. Ryckman, M. Alcorn, S. Vasilatos, J. Lundy, D. Larson, H. Wu, T. Luke, C. Bausch, K. Eglund, E. Sullivan, Z. Wang, W. B. Klimstra (2021) Protection of human ACE2 transgenic Syrian hamsters from SARS CoV-2 variants by human polyclonal IgG from hyper-immunized transchromosomal bovines. bioRxiv. 26:2021.07.26.
7. Gottlieb RL, Nirula A, Chen P, Boscia J, Heller B, Morris J, Huhn G, Cardona J, Mocherla B, Stosor V, Shawa I, Kumar P, Adams AC, Van Naarden J, Custer KL, Durante M, Oakley G, Schade AE, Holzer TR, Ebert PJ, Higgs RE, Kallewaard NL, Sabo J, Patel DR, Klekotka P, Shen L, Skovronsky DM. Effect of bamlanivimab as monotherapy or in combination with etesevimab on viral load in patients with mild to moderate COVID-19: a randomized clinical trial. JAMA. 2021;325(7):632–644. doi: 10.1001/jama.2021.0202
8. Hädige D, Fiebig H, Puskas E, Ambrosius H. Evolution of low molecular weight immunoglobulins. II. No antigenic cross-reactivity of human IgD, human IgG and IgG3 to chicken IgY. Dev Comp Immunol. 1980;4(4):725–736. doi: 10.1016/S0145-305X(80)80073-5.
9. Hong J., H. J. Kwon, R. Cachau, C. Z. Chen, K. J. Butay, Z. Duan, D. Li, H. Ren, T. Liang, J. Zhu, V. P. Dandey, N. Martin, D. Esposito, U. Ortega-Rodriguez, M. Xu, M. J. Borgnia, H. Xie, M. Ho (2021) Camel nanobodies broadly neutralize SARS-CoV-2 variants. bioRxiv. 29:2021.10.27.465996.

10. Kim HY, Lee JH, Kim MJ, Park SC, Choi M, Lee W, Ku KB, Kim BT, Changkyun Park E, Kim HG, Kim SI. Development of a SARS-CoV-2-specific biosensor for antigen detection using scFv-Fc fusion proteins. *Biosens Bioelectron.* 2021;175:112868. doi: 10.1016/j.bios.2020.112868.
11. Kovacs-Nolan J, Mine Y. Egg yolk antibodies for passive immunity. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2012;3:163–182. doi: 10.1146/annurev-food-022811-101137.
12. Le Bert N, Tan AT, Kunasegaran K, Tham CYL, Hafezi M, Chia A, Chng MHY, Lin M, Tan N, Linster M, Chia WN, Chen MI, Wang LF, Ooi EE, Kalimuddin S, Tambyah PA, Low JG, Tan YJ, Bertoletti A. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature.* 2020;584(7821):457–462. doi: 10.1038/s41586-020-2550-z.
13. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, Liao P, Qiu JF, Lin Y, Cai XF, Wang DQ, Hu Y, Ren JH, Tang N, Xu YY, Yu LH, Mo Z, Gong F, Zhang XL, Tian WG, Hu L, Zhang XX, Xiang JL, Du HX, Liu HW, Lang CH, Luo XH, Wu SB, Cui XP, Zhou Z, Zhu MM, Wang J, Xue CJ, Li XF, Wang L, Li ZJ, Wang K, Niu CC, Yang QJ, Tang XJ, Zhang Y, Liu XM, Li JJ, Zhang DC, Zhang F, Liu P, Yuan J, Li Q, Hu JL, Chen J, Huang AL. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(6):845–848. doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.
14. Lu Y, Wang Y, Zhang Z, Huang J, Yao M, Huang G, Ge Y, Zhang P, Huang H, Wang Y, Li H, Wang W. Generation of chicken IgY against SARS-COV-2 spike protein and epitope mapping. *J Immunol Res.* 2020;2020:9465398.
15. Park A, Iwasaki A. Type I and type III interferons—induction, signaling, evasion, and application to combat COVID-19. *Cell Host Microbe.* 2020;27(6):870–878. doi: 10.1016/j.chom.2020.05.008.
16. Parray HA, Chiranjivi AK, Asthana S, Yadav N, Shrivastava T, Mani S, Sharma C, Vishwakarma P, Das S, Pindari K, Sinha S, Samal S, Ahmed S, Kumar R. Identification of an anti-SARS-CoV-2 receptor-binding domain-directed human monoclonal antibody from a naïve semisynthetic library. *J Biol Chem.* 2020;295(36):12814–12821. doi: 10.1074/jbc.AC120.014918.
17. Pérez de la Lastra JM, Baca-González V, Asensio-Calavia P, González-Acosta S, Morales-delaNuez A. Can immunization of hens provide oral-based therapeutics against COVID-19? *Vaccines.* 2020;8(3):486. doi: 10.3390/vaccines8030486
18. Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, Martinez DR, Raut R, Markmann A, Cornaby C, Bartelt L, Weiss S, Park Y, Edwards CE, Weimer E, Scherer EM, Rouphael N, Edupuganti S, Weiskopf D, Tse LV, Hou YJ, Margolis D, Sette A, Collins MH, Schmitz J, Baric RS, de Silva AM. The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Sci Immunol.* 2020;5(48):eabc8413. doi: 10.1126/sciimmunol.abc8413.


A collection of handwritten signatures and initials in black ink, including 'Mm', 'Don', 'Ahs', 'SA', 'Jm', and 'Pru'.

19. Schusser B, Yi H, Collarini EJ, Izquierdo SM, Harriman WD, Etches RJ, Leighton PA. Harnessing gene conversion in chicken B cells to create a human antibody sequence repertoire. *PLoS ONE*. 2013;8(11):e80108. doi: 10.1371/journal.pone.0080108.
20. Seo G, Lee G, Kim MJ, Baek SH, Choi M, Ku KB, Lee CS, Jun S, Park D, Kim HG, Kim SJ, Lee JO, Kim BT, Park EC, Kim SI. Rapid detection of COVID-19 causative virus (SARS-CoV-2) in human nasopharyngeal swab specimens using field-effect transistor-based biosensor. *ACS Nano*. 2020;14(4):5135–5142. doi: 10.1021/acsnano.0c02823.
21. Shen H, Cai Y, Zhang H, Wu J, Ye L, Yang P, Lin X, Jiang S, Liao M. Anti-SARS-CoV-2 IgY isolated from egg yolks of hens immunized with inactivated SARS-CoV-2 for immunoprophylaxis of COVID-19. *Virol Sin*. 2021;36(5):1080–1082. doi: 10.1007/s12250-021-00371-1.
22. Sui J, Li W, Murakami A, Tamin A, Matthews LJ, Wong SK, Moore MJ, Tallarico AS, Olurinde M, Choe H, Anderson LJ, Bellini WJ, Farzan M, Marasco WA. Potent neutralization of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus by a human mAb to S1 protein that blocks receptor association. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(8):2536–2541. doi: 10.1073/pnas.0307140101
23. Wang C, Li W, Drabek D, Okba NMA, van Haperen R, Osterhaus A, van Kuppeveld FJM, Haagmans BL, Grosveld F, Bosch BJ. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun*. 2020;11(1):2251. doi: 10.1038/s41467-020-16256-y.
24. Zhang X, Calvert RA, Sutton BJ, Doré KA. IgY: a key isotype in antibody evolution. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2017;92(4):2144–2156. doi: 10.1111/brv.12325.
25. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain Bound to the ACE2 Receptor. *Nature* (2020),581(7807):215–20. doi: 10.1038/s41586-020-2180-5
26. Planas D, Veyer D, Baidaliuk A, Staropoli I, Guivel-Benhassine F, Rajah MM, et al. Reduced Sensitivity of SARS-CoV-2 Variant Delta to Antibody Neutralization. *Nature* (2021) 596(7871):276–80. doi: 10.1038/s41586-021-03777-9
27. Focosi D, Tuccori M, and Franchini M. The Road Towards Polyclonal AntiSARS-CoV-2 Immunoglobulins (Hyperimmune Serum) for Passive Immunization in COVID-19. *Life (Basel)* (2021) 11(2):144. doi: 10.3390/life11020144
28. Abraham J. Passive Antibody Therapy in COVID-19. *Nat Rev Immunol* (2020) 20(7):401–3. doi: 10.1038/s41577-020-0365-7
29. Pereira EPV, van Tilburg MF, Florean EOPT, and Guedes MIF. Egg Yolk Antibodies (IgY) and Their Applications in Human and Veterinary Health: A Review. *Int Immunopharmacol* (2019) 73:293–303. doi: 10.1016/j.intimp.2019.05.015
30. Wibawan IWT, Kristanti ND, Zulfa A, Sasi KD, and Permatasari DA. Production of IgY Against Infectious Bursal Disease Virus and Purification of IgY From Egg by Using Biocompatible Technique. *Intern J Appls Res VetMed* (2018) 16(3):175–9.

A collection of handwritten signatures and initials in black ink, including 'Mm', 'Pereira', 'Am', 'Androtz', and several other stylized marks.



31. Agurto-Arteaga et al. Chicken-IgY Against SARS-CoV-2 *Frontiers in Immunology* | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org) 10 May 2022 | Volume 13 | Article 881604
32. Abdool Karim SS, and de Oliveira T. New SARS-CoV-2 Variants - Clinical, Public Health, and Vaccine Implications. *N Engl J Med* (2021) 384(19):1866–8. doi: 10.1056/NEJMc2100362
33. Garcia-Beltran WF, Lam EC, St Denis K, Nitido AD, Garcia ZH, Hauser BM, et al. Multiple SARS-CoV-2 Variants Escape Neutralization by Vaccine-Induced Humoral Immunity. *Cell* (2021) 184(9):2372–83.e9. doi: 10.1016/j.cell.2021.03.013
34. Pérez de la Lastra JM, Baca-González V, Asensio-Calavia P, González-Acosta S, and Morales-de la Nuez A. Can Immunization of Hens Provide Oral-Based Therapeutics Against COVID-19? *Vaccines (Basel)* (2020) 8(3):486. doi: 10.3390/vaccines8030486
35. Hakalehto E. Chicken IgY Antibodies Provide Mucosal Barrier Against SARS-CoV-2 Virus and Other Pathogens. *Isr Med Assoc J* (2021) 4(23):208–11.
36. Lee L, Samardzic K, Wallach M, Frumkin LR, and Mochly-Rosen D. Immunoglobulin Y for Potential Diagnostic and Therapeutic Applications in Infectious Diseases. *Front Immunol* (2021) 12:696003. doi: 10.3389/fimmu.2021.696003
37. Shen H, Cai Y, Zhang H, Wu J, Ye L, Yang P, et al. Anti-SARS-CoV-2 IgY Isolated From Egg Yolks of Hens Immunized With Inactivated SARS-CoV-2 for Immunoprophylaxis of COVID-19. *Virol Sin* (2021) 36(5):1080–2. doi: 10.1007/s12250-021-00371

A collection of handwritten signatures and initials in black ink, located at the bottom of the page. The signatures are stylized and vary in length and complexity, including a large signature on the left, a smaller one in the middle, and several others on the right.

## REVEDICARI

Sunt revendicate :

Utilizarea IgY specifice Anti S1(Spike 1), in prezentele formule si in combinatiile mentionate, precum si variantele acestora cantitative si calitative, tinand cont de asocierea de baza dintre :

A. Imunoglobulina Y Specifica Anti S1 (Spike 1), obtinuta din oul de pasare SPF prealabil imunizat cu recombinat S1, si / sau

B. Nattokinaza

C. ASTAXANTHIN

D. Glutacione

F. Quercetin

D. Vitamina C, Vitamina D3, Zinc

(indiferent de tipul de conditionare al acestora : formele lichide, solide (liofilizat), uleiuri, si tipul de administrare : spray intranasal, administrare per os).

Imunoglobulina Y specifica Anti Spike S1	40 – 60%
Nattokinaza	20 - 25%
Astaxantin	5%
Glutacione	10%
Quercetin	10%
Vitamina C/vitamin D3/Zinc	5%
Xylitol	3%

Im —

Prez:

*[Signature]*

*[Signature]*

*[Signature]*

*[Signature]*

*[Signature]*