

Produs biologic realizat în România

imunoinstant

O speranță pentru fiecare

2014, începutul erei post-antibiotice!



DNAse +
Staphylococcus aureus
Serratia marcescens

Malonate +
S. arizonae
C. koseri
K. pneumoniae

Citrate +
Salmonella (st. S. paratyphi, S. typhi)
Citrobacter
P. rettgeri
Proteobacter



40

Romvac
de ani de tradiție, inovație și performanță
în medicină





Începând cu anul 2014, Compania Romvac realizează sub numele brand-ului IMUNOINSTANT (având autorizația seria AA nr./7484/07.04.2014), produse care se administrează la om (adulți și copii), sub formă lichidă.

Aceste produse pot fi monovalente și polivalente.



Romvac Company S.A.
Sos. Centurii, nr.7, Voluntari, jud. Ilfov
Tel.: +4 021 350 31 09, +4 021 350 31 07
Fax: +4 021 350 31 10
e-mail: office@imunoinstant.ro
website: www.imunoinstant.ro



Un mijloc de prevenire și combatere a infecțiilor cu bacterii rezistente la antibiotice

O speranță pentru fiecare dintre noi

Produs biologic realizat în România





Cuprins

Echipa de cercetare.....	3
Anul 2014, începutul erei post - antibiotice.....	5
Raportul OMS: aspectele importante!.....	6
Ce este de făcut?.....	7
Era post-antibiotic prezentată de personalitățile din lumea medicală.....	8
Anticorpii moderni (IgY).....	11
Informațiile actuale despre IgY.....	14
Gama Imunoinstant: primele produse din imunoglobuline de pasăre (<i>Gallus domesticus</i>) (IgY), pentru uz uman, preparate în România.....	17
Romvac Company S.A., 40 de ani de experiență!.....	19
Păsări libere de germenii patogeni specifici (păsări SPF).....	21
Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale "Dr. Victor Babeș", București.....	22
Institutul de Pneumoftiziologie "Marius Nasta", București.....	24
Proiectul de cercetare IgY.....	25
Testul IMB PaChi (brevet de invenție).....	27
Evaluări "in vitro" a imunoglobulinelor Imunoinstant, 2013 -2014.....	30
Diagnostic diferențial.....	33



Echipa de cercetare

Romvac Company S.A.

Dr. Ionel Victor Pătrașcu
Dr. Viorica Chiurciu
Ing. chim. Constantin Chiurciu
Dr. Georgiana Topilescu
Biol. Mariana Oporanu
Dr. Bogdan Frunzăreanu
Dr. Mădălina Loredana Manea
Bioteh. Andreea Dinu
Biochim. Gabriel Oltean

Spitalul de boli contagioase și tropicale "Dr.Victor Babeș", București

Prof. Dr. Emanoil Ceaușu
Dr. Lazăr Ștefan
Dr. Maria Nica
Dr. Corina Barbu
Dr. Amalia Dascălu

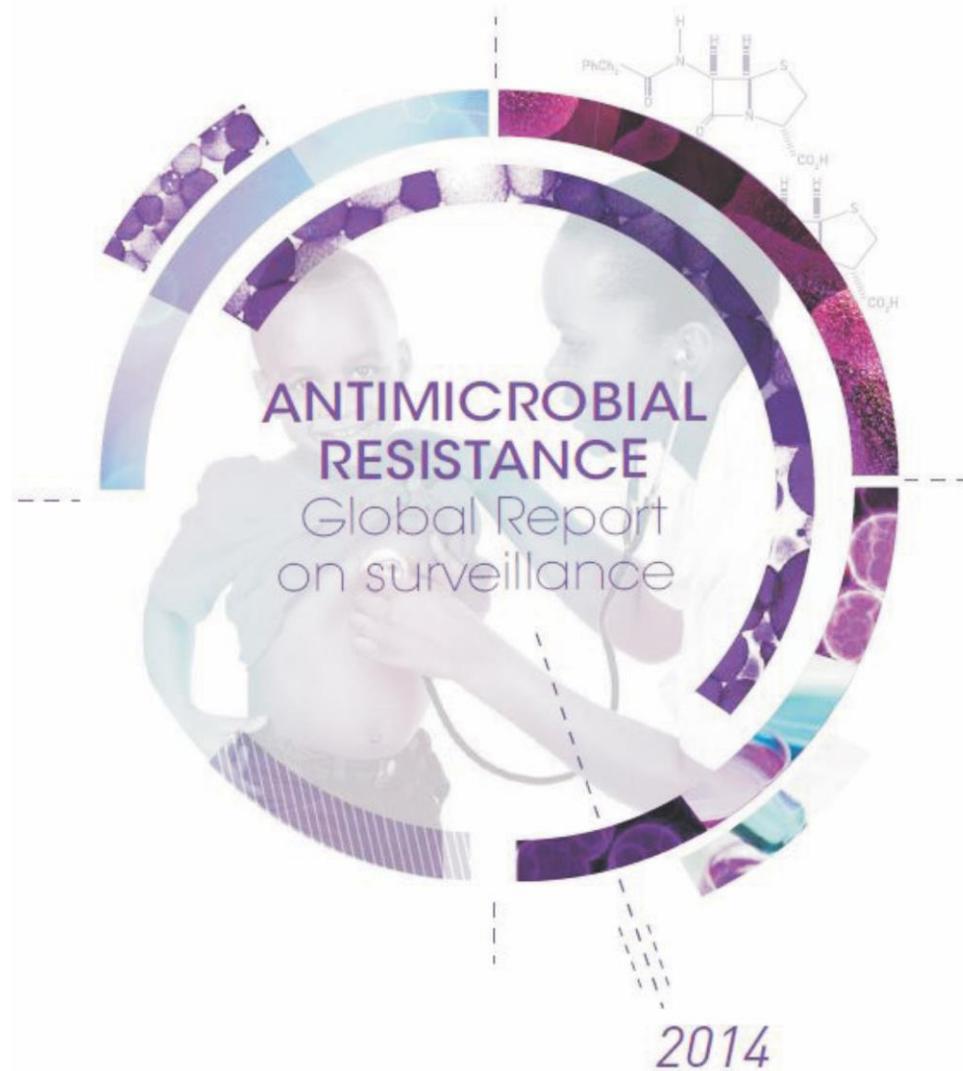
Institutul de Pneumoftiziologie "Marius Nasta", București

Prof. Dr. Ioan Cordoș
Dr. Irina Strâmbu
Dr. Adriana Moisoiu
Dr. Beatrice Mahler
Dr. Cristian Popa
Dr. Radu Stoica



imuno instant
O speranță pentru fiecare

4



| Antimicrobial Resistance
Global Report on Surveillance 2014



Romvac
Company



Anul 2014, începutul erei post - antibiotice

Organizația Mondială a Sănătății, Centrul de Control al Bolilor din Atlanta, S.U.A. și prestigioase reviste științifice semnalează începutul unei ere noi, ulterioare erei antibioticelor, cu care se va confrunta omenirea.

Raportul Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) transmis în ziua de 30 aprilie 2014 menționează că bacteriile rezistente la antibiotice pot afecta pe oricine, la orice vîrstă, în orice țară. OMS a menționat că, atunci când bacteriile devin rezistente la antibiotice, bacteriile se schimbă și antibioticele nu mai acționează asupra infecțiilor. Astfel, OMS ține să sublinieze: "acum, aceasta este o problemă majoră de tratament pentru sănătatea publică".

Dr. Keiji Fukuda, asistent al directorului general pentru securitatea sănătății de la OMS, a cerut să se inițieze urgent o acțiune coordonată în acest domeniu deoarece omenirea este într-o eră post-antibiotice, în care infecțiile comune și traumatismele minore, tratabile de zeci de ani, pot din nou, să omoare. Studiul numit "Antimicrobial resistance: global report on surveillance" conține informații din 114 țări. Acesta nu constituie un tablou complet al rezistenței la antibiotice, dar este cel mai cuprinzător din câte s-au realizat vreodată.

Acest raport se referă la rezistența la antibiotice a șapte tipuri de bacterii care sunt responsabile de boli comune, dar grave. Acestea includ septicemile, diarea, pneumonia, infecțiile tractusului urinar și gonoreea. Fukuda a menționat că frecvența bacteriilor rezistente la antibiotice în aceste infecții este foarte mare.

Mai mult, în raport Fukuda susține că în toată lumea, spitalele raportează infecții nefiltrabile sau aproape nefiltrabile, iar medicamentele de ultimă generație sunt complet ineficiente pentru unele dintre acestea. În plus, nu numai că unele infecții simple devin nefiltrabile, dar și antibioticele devin ineficiente la prevenirea infecțiilor ce afectează persoanele cu sistemul imun compromis: bolnavii de cancer, pacienții sub tratament chimoterapeutic, copiii născuți prematur.

Fukuda subliniază importanța acestui aspect, explicând faptul că rezistența la antibiotice se traduce în ineficiența acestor medicamente atunci când este nevoie de ele "pentru noi toți, pentru membrii familiilor noastre, pentru prietenii noștri".



Raportul OMS: aspectele importante!

OMS a constatat că infecțiile intestinale produse de *Klebsiella pneumoniae* sunt printre cele mai răspândite la nivel mondial. Aceasta este una dintre cauzele principale ale infecțiilor intraspitalicești, precum pneumonia, unele infecții din sânge, infecții ale nou-născuților și ale pacienților de la terapie intensivă. Se pare că, în unele țări, tratamentul cu antibiotice din grupa carbapenem (beta-lactamazelor), nu ar fi eficient la mai mult de jumătate dintre pacienți.

La fel de cunoscută este și rezistența la unul dintre cele mai întrebuițate antibiotice - fluoroquinolonele - cu care se tratează infecțiile tractusului urinar cauzate de *Escherichia coli*. În acest caz, s-a constatat că în unele țări, tratamentul menționat este ineficient la mai mult de jumătate dintre pacienți.

Rezistența la tratamentul gonoreei cu cea de-a treia generație de cefalosporine s-a constatat în Canada, Australia, Anglia, Japonia, Africa de Sud și o parte din Europa de est și de vest. OMS a constatat că în fiecare zi, mai mult de un milion de persoane din lume contactează gonoree.

Fukuda insistă asupra importanței urmărilor pe care le are o infecție neutrabilă, explicând că, în unele cazuri, se pot dezvolta forme cronice, cum este cazul gonoreei care, în fază cronică, duce la infertilitate și sarcini extrauterine. Mai mult, copii născuți de mame cu gonoree neutratați se pot naște orbi.

Pe continentele americane, s-a găsit un procent mare de tulpini de *Escherichia coli* rezistente la două antibiotice din cea de-a treia generație de cefalosporine și fluoroquinolone. În raportul OMS, se menționează că, în unele situații, "90% dintre infecțiile cu *Staphylococcus aureus* sunt raportate a fi rezistente la methicilina (MRSA), aceasta însemnând că tratamentul cu antibiotice standard nu mai este eficient".

Mai mult, în raport se explică și faptul că rezistența la antibiotice prelungește suferința și crește riscul de mortalitate. Astfel, este foarte probabil ca 64% dintre pacienții care s-au infectat cu MRSA, să moară. Legat de aceasta, Fukuda anunță: "Noi anticipăm mai multe cazuri de deces!".



Ce este de făcut?

În raport, se precizează că multe țări nu au sisteme sau instrumente corespunzătoare pe care să le folosească în problemele legate de rezistență la antibiotice. Punând pe primul loc problema prevenirii infecțiilor, OMS susține reducerea consumului de antibiotice peste tot în lume, explicând că metodele de prevenire trebuie să vizeze o igienă mai bună, accesul la apă curată, măsuri mai stricte de control a instituțiilor medicale și vaccinările.

Scopul raportului OMS este relevarea necesității dezvoltării unor standarde de sănătate și metode care să ajute țările, să găsească soluții privind rezistență la antibiotice. Astfel, recomandările OMS sunt:

- **Pentru cetățeni:** să folosească antibiotice prescrise de doctor, să le folosească toată perioada prescrisă și să nu fracționeze acest tratament.
- **Pentru personalul medical și farmaciști:** să îmbunătățească măsurile de prevenire și control, să prescrie și să vândă antibioticele numai când este necesar și dacă sunt recomandate pentru infecția în cauză.
- **Pentru factorii de decizie politică:** să întărească controlul rezistenței la antibiotice, să crească capacitatea laboratoarelor și să reglementeze folosirea corectă a medicamentelor.
- **Pentru sectorul industrial:** să stimuleze inovarea, cercetarea și apariția de noi mijloace și schimburi de informații.

Bibliografie

1. Robert Pursell - We're headed towards a post-antibiotic era, World Health Organization waens. PBS News hour: May 1, 2014
2. Andrea Janus. World headed for dangerous post-antibiotic era, WHO warns in landmark report. CTV News. My Health, April 30, 2014
3. Sera Reardon. WHO warns against 'post-antibiotic' era. Agency recommends global system to monitor spread of resistant microbes. Nature /doi:10.1038/30 April 2014.
4. WHO's first global report on antibiotic resistance reveals serious, worldwide threat to public health. 30 April 2014/Geneva.
5. Alfonso J. Alanis. Lilly Research Laboratories, Eli Lilly and Company, Indianapolis, Indiana. Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era? Archives of Medical Research 36 (2005) 697705
6. Maryn McKenna. CDC Threat Report: 'We Will Soon Be in a Post-Antibiotic Era' Superbug 09.16.2013



imuno instant
O speranță pentru fiecare

8

Era post-antibiotice prezentată de personalitățile din lumea medicală



1945

Sir Alexander Fleming a precizat într-un interviu acordat în 1945 ziarului The New York Times, că este îngrijorat deoarece utilizarea incorectă a penicilinelui ar putea duce la selecția “unor mutante” rezistente ale Staphylococcus aureus, tulpini care pot cauza infecții mai serioase. și s-a dovedit că a avut dreptate. La numai un an de la această declarație, un număr semnificativ de tulpini ale acestei bacterii au devenit rezistente la penicilina. După câțiva ani, 50% nu mai erau sensibile la acest nou medicament.

Levy SB, ed. The Antibiotic Paradox: How the Misuse of Antibiotics Destroys Their Curative Powers, 2nd ed. Cambridge, MA: Perseus Publishing;2002.pp. 114.



2005

Suntem noi în era post-antibiotice?

Rezistența la antibiotice, inițial o problemă a pacienților cu boli severe și imunosupresie cauzată de infecțiile intraspitalicești, s-a extins acum, în colectivitate, creând probleme serioase în stabilirea diagnosticului și aplicarea tratamentului potrivit.

Alfonso J. Alanis, Indianapolis, S.U.A.
(11 iunie 2005)



2012

O eră post-antibiotice înseamnă, ca efect, un sfârșit al medicinei moderne aşa cum o stim noi. O banală amigdalită sau o zgârietură pe genunchiul copilului pot din nou, să omoare.

Dr. Margaret Chan,
Director General al OMS
(14 martie 2012)



imuno instant
O speranță pentru fiecare

9



2013

“Dacă nu suntem atenți, curând vom fi în era post-antibiotice. Pentru unii pacienți și pentru unii microbi, noi am intrat deja în această eră.”

Dr. Tom Frieden,
Directorul CDC Atlanta, Ge. S.U.A.
(16 septembrie 2013)



2013

“Sunt profund îngrijorat de faptul că antibioticele, care ne-au permis să tratăm infecții bacteriene ce altădată se soldau cu moartea și care în trecut au salvat multe vieți, devin în prezent din ce în ce mai puțin eficace.”

Tonio Borg
Comisarul european pentru sănătate
(16 noiembrie 2013)



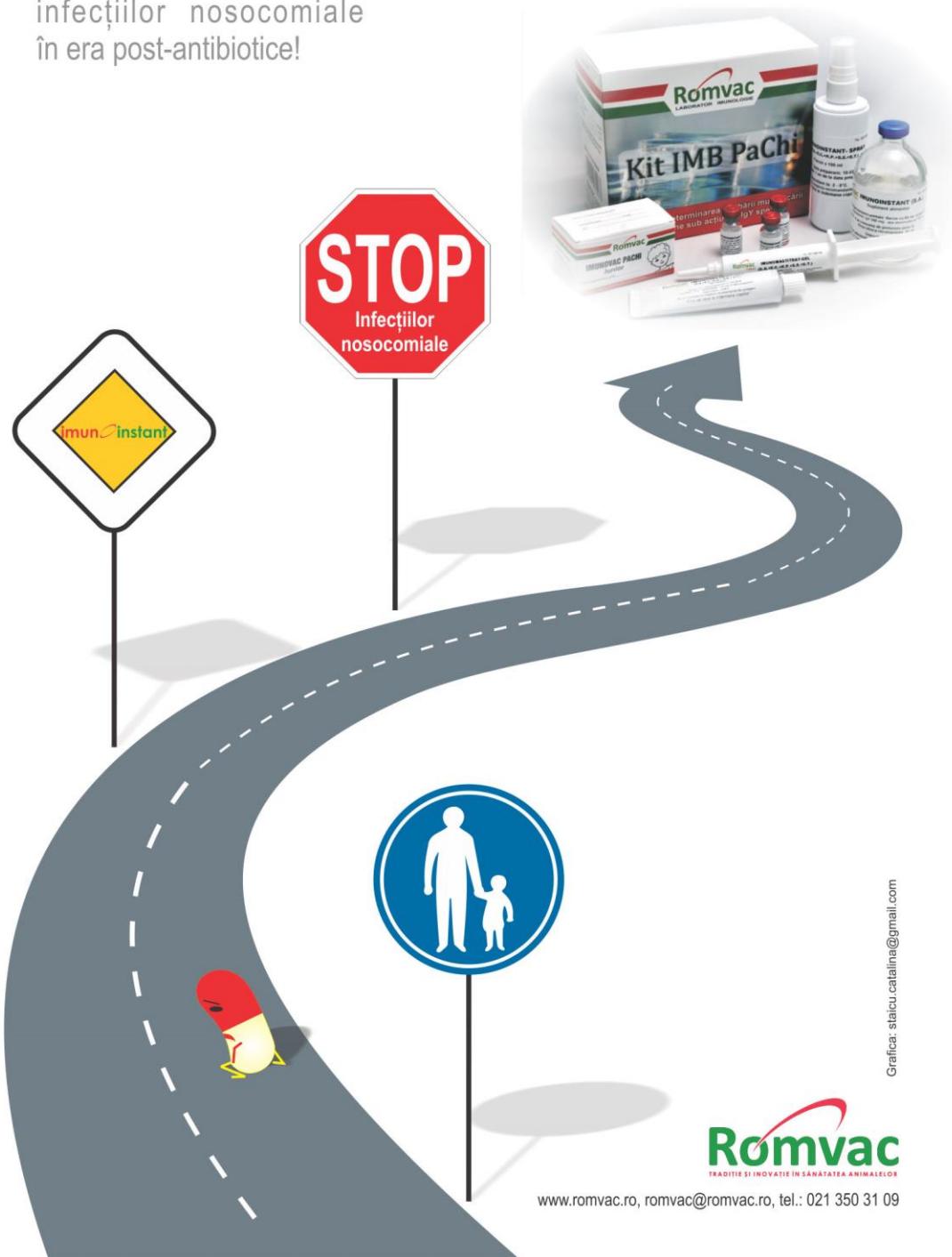
2014

“Un nou raport al OMS, primul care se referă la rezistența la antibiotice pe plan mondial, evidențiază faptul că această amenințare nu mai este de domeniul viitorului, deoarece fenomenul se manifestă acum, în toate regiunile lumii și are potențialul de a afecta pe oricine, la orice vîrstă, în orice țară”.

Dr. Keiji Fukuda,
Asistentul Directorului General
Pentru securitatea sănătății OMS
(30 aprilie 2014)

imunoinstant

Speranță pentru prevenirea infecțiilor nosocomiale
în era post-antibiotice!



Grafiță: stăicu_catalina@gmail.com

Romvac
TRADITIE SI INNOVATIE IN SANATATEA ANIMALELOR

www.romvac.ro, romvac@romvac.ro, tel.: 021 350 31 09



Anticorpii moderni (IgY)

Producția de anticorpi la păsări și extracția anticorpilor specifici din gălbenușul de ou a devenit un subiect atractiv pentru specialiști, fapt demonstrat de creșterea volumului în cercetare și a datelor din literatură cu privire la IgY.

Rezultatele studiilor in vitro și in vivo privind imunoglobulinele (Ig) extrase din gălbenușul oului (Y) de găină (*Gallus domesticus*) au devenit o mare speranță în prevenirea și combaterea unui număr mare de boli la om.

Interesul față de imunoglobulinele preparate pe găină este, în prezent, mare datorită incidenței din ce în ce mai ridicate a tulpinilor bacteriene rezistente la antibiotice. Literatura oferă multe informații cu privire la IgY:

- tehnologia de preparare a IgY-ului, ținând cont de mecanismul transferului anticorpilor din sânge în gălbenuș
- caracteristicile și proprietățile IgY-ului versus ale IgG-ului
- cantitatea mare de anticorpi specifici produsă pe an, de o găină (20-40 g IgY în total)
- eficacitatea IgY-ului specific în comparație cu IgG-ul preparat pe iepuri, oi și șoareci
- protocolul de imunizare
- metodologia de extracție a IgY-ului
- noi posibilități de utilizare a IgY-ului în medicina umană și medicina veterinară
- reducerea volumului de antibiotice folosite la om și animale
- prepararea anticorpilor anti venin de șarpe și de scorpion
- intensificarea activității de cercetare în acest domeniu, în America de Sud, America Centrală, Statele Unite ale Americii, Canada, Australia, Japonia, China, Coreea de Sud, India, Cehia, Germania, Suedia și România

IgY-ul se bucură de multă atenție din partea specialiștilor datorită diferențelor structurale față de IgG-ul de la mamifere și a reactivității în organismul uman. Caracteristicile care diferențiază IgY-ul de IgG fac din acest produs, o speranță în medicină, IgY-ul putând fi utilizat în mai multe domenii de activitate.

În cadrul programului de cercetare (2012-2013) al Romvac Company S.A., s-au efectuat studii cu privire la procedurile de obținere a IgY-ului în condiții de laborator și producție.



În același timp s-au făcut experimente cu privire la purificarea IgY-ului și s-a studiat specificitatea acestor imunoglobuline față de antigenele care au fost folosite pentru imunizarea găinilor.

Produsele biologice conținând IgY-ul specific se prepară monovalent sau polivalent. Imunoglobulinele Y s-au obținut față de tulpini bacteriene izolate din spitalele din România, dintre care, multe tulpini bacteriene care s-au dovedit rezistente la antibiotice.

În anul 2013, pentru evaluarea IgY-ului specific, s-a realizat în cadrul Romvac, testul de inhibare a creșterii bacteriilor (IMB PaChi). Acest test este realizat pentru prima dată în lume și el constituie un ajutor de o importanță deosebită pentru specialiștii din medicina umană și veterinară. Testul se folosește pentru confirmarea specificității și eficacității IgY-ului specific față de bacteriile patogene izolate de la pacienți. Apariția fenomenului de inhibare a multiplicării bacteriilor permite o intervenție specifică imediată asupra pacienților.

În anul 2013 s-a demarat un program de cercetare între Spitalul clinic de boli infecțioase și tropicale "Victor Babeș" și Romvac Company S.A., cu privire la studiul in vitro și in vivo al IgY-ului. În prima etapă s-au efectuat testări de laborator privind eficiența IgY-ului specific față de tulpini bacteriene rezistente la antibiotice izolate de la pacienți. Rezultatele experimentelor efectuate până în prezent dovedesc că IgY-urile specifice inhibă in vitro, multiplicarea bacteriilor rezistente la antibiotice. Acest proces de inhibare se poate vedea cu ochiul liber sau se poate evalua spectrofotometric. Evaluările testului IMB PaChi confirmă posibilitatea controlului activității specifice a IgY-ului față de bacteriile rezistente la antibiotice izolate de la pacienți.

Descoperirea unui test de evaluare a inhibării multiplicării bacteriene in vitro oferă posibilitatea unui tratament curativ eficace specific pentru fiecare tulpină bacteriană rezistentă la antibiotice, în parte. Această metodă permite creșterea eficienței imunoglobulinelor din grupul IMUNOINSTANT preparate la Romvac și controlul acestor mijloace de tratament imunologic, la om.

În funcție de intensitatea răspunsului specific de inhibiție a multiplicării bacteriilor, dar și de timpul de inhibiție in vitro, se poate stabili conduită terapeutică. În aceste condiții, se poate efectua un tratament cu doză unică la 24 de ore sau cu doze fracționate la intervale diferite de timp.

Informațiile recente obținute in vitro cu privire la produsele IMUNOINSTANT față de tulpinile



rezistente la antibiotice izolate de la pacienții din spital, permit să se aplique programe mai eficiente de tratament la om, IgY-ul inhibând specific, cantități mari de germeni patogeni, a căror acțiune este, astfel, neutralizată.

În acest scop, tratamentul trebuie să fie controlat permanent cu mijloace de laborator, iar programul, să fie monitorizat corespunzător.

Următorul obiectiv al programului de cercetare se referă la prevenirea infecțiilor intraspitalicești. În acest scop, IgY-ul din grupa IMUNOINSTANT poate proteja organismul pacientului pre și post operator. Reducerea numărului de pacienți infectați în spitale, folosind IgY-ul pentru prevenirea infecției, reduce și numărul de surse de infecție din spitale. Tratamentul preventiv cu IgY se va stabili în funcție de tulpinile izolate (tulpinile izolate și incidența acestora) în ultimii 3 ani de zile. În funcție de numărul acestora, se va prepara un IgY-polivalent care să cuprindă imunoglobuline specifice pentru fiecare specie bacteriană în parte.

Concomitent cu programul de reducere a infecțiilor intraspitalicești, se pot realiza tratamente cu IMUNOINSTANT pentru infecțiile acute și cronice cu bacterii rezistente la antibiotice.



Informațiile actuale despre IgY

În 1893, Klemperer (1) a demonstrat că în ou sunt proteine care neutralizează virusuri. În 2004-2006, experți din toată lumea au discutat pentru prima dată, despre ou ca produs farmaceutic (2). S-a discutat despre gălbenuș ca sursă importantă de imunoglobuline care pot fi folosite în diagnostic, profilaxie și tratament, la animale și om. Leslie și Clem, în 1969, au demonstrat că IgY-ul este diferit de IgG (2). IgY-ul nu afectează activitatea medicamentelor în tractusul digestiv, nici absorbția lor în circulația sângeului și nici activitatea lor în organism. IgY-ul nu produce rezistență microorganismelor pentru care a fost creat și nici remanență în organism.

Anticorpii folosiți în prezent pentru cercetare, diagnostic și tratament provin de la mamifere. Aceștia sunt anticorpi monoclonali sau policlonali. În general, pentru producerea de anticorpi policlonali sunt folosite animale precum calul, oaia, porcul, iepurele și cobaiul, iar pentru anticorpi monoclonali, se folosesc animale ca iepurele și șoarecele. Ambele tehnologii au avantaje și dezavantaje (3,6). Cea mai mare problemă a anticorpilor monoclonali este că mulți antigeni sunt slab sau nu sunt deloc imunogeni pentru șoarece. S-a constatat că prepararea anticorpilor proveniți de la mamifere necesită tehnologii sofisticate și de multe ori, cu un randament scăzut. Tehnologia folosită la mamifere este stresantă atât pentru imunizare, cât și la prelevarea de sânge, pentru prepararea anticorpilor (3). În ultimii 25 de ani, utilizarea găinilor în locul mamiferelor pentru producția de anticorpi a crescut. Cel mai mare avantaj îl constituie faptul că anticorpii se prelevează din ou în loc de ser. În același timp, cantitatea de anticorpi produși de către o găină ouătoare este mai mare decât cea produsă de un mamifer având aceeași dimensiune (10). Purificarea imunoglobulinelor de la mamifere este consumatoare de timp și scumpă. Astăzi, găinile sunt recunoscute ca o sursă ieftină și convenabilă de anticorpi. Cantitatea de imunoglobulină produsă dintr-un ou este egală cu cea preparată din 300 ml de sânge prelevat de la iepure.

Anticorpii de la găină se folosesc cu succes în cercetare, diagnostic și tratamente cu scop profilactic sau curativ. Proteinele sunt mult mai imunogene la păsări decât la mamifere, datorită distanței filogenetice dintre păsări și mamifere, iar producția de anticorpi este imediat stimulată la păsări (11). Folosirea găinilor pentru producerea de anticorpi permite reducerea drastică a numărului de animale. Stresul provocat mamiferelor este înlocuit cu recoltarea anticorpilor din ou. În plus, în ou este o cantitate mai mare de anticorpi decât în ser (12). Producția de anticorpi pe găină are o serie de avantaje în comparație cu anticorpii policlonali de



la mamifere. Aceste avantaje permit utilizarea IgY-ului atât în analize, cât și în terapie.

În ou se găsesc imunoglobulinele IgA și IgM care ajung în albuș din oviduct, în timp ce IgG-ul, numit mai recent IgY, se transferă din sânge în ovar. Masa moleculară este 180 kDa (25 kDa lanțurile ușoare și 65-68 kDa lanțurile grele).

Fragmentul Fc din IgY are cele mai hidrofobice molecule. Cantitatea de imunoglobuline din ou este egală cu cea din serul de mamifer, aproximativ 6-13 mg/ml. O singură găină poate produce 30-34g de imunoglobulină pe an, de 10 ori mai multă decât poate produce un iepure. Perioada optimă de imunizare este de 60 de zile. După acest interval de timp de imunizare, se poate obține cantitatea de 40g IgY per an (4,5,6,7).

IgY-ul este o imunoglobulină cu greutate moleculară mică prezentă în serul și gălbenușul păsărilor, în concentrație de aproximativ 5-20 mg/ml.

Masa moleculară este 180 de kDa (25 kDa lanțurile ușoare și 65-68 kDa lanțurile grele). Fragmentul FC din IgY are cele mai hidrofobe molecule.

Afinitatea anticorpilor policlonali nu se poate măsura deoarece nu interacționează doar cu un singur epitop. Afinitatea evidențiază doar interacția dintre un locus de cuplare cu antigenul și un epitop de pe antigen, ceea ce se poate măsura doar cu anticorpi monoclonali.

Puterea de cuplare a anticorpilor monoclonali se poate descrie ca aviditate, care este o combinație între afinitatea către un singur locus și valența anticorpilor. Valența descrie cu câte locuri interacționează anticorpul când se cuplează cu un antigen. IgY-ul poate acționa, ca și IgG-ul, și sau monovalent, în funcție de dimensiunea antigenului. Din acest motiv, activitatea de cuplare a anticorpilor policlonali poate fi puternică sau slabă. Se poate constata uneori, că IgY-ul are o afinitate scăzută față de antigene. În acest caz, trebuie ca IgY-ul să fie tratat cu atenție deoarece capacitatea de cuplare este foarte mare. Acest fapt apare când antigenele sunt mai străine pentru găină, decât pentru iepure. În aceste situații se poate ca anticorpul să fie puternic multivalenți la pasare, comparativ cu iepurele, chiar dacă afinitatea este scăzută.

La mamifere, diversitatea anticorpilor este de cele mai multe ori realizată prin rearanjarea segmentelor diferitelor gene, ca să producă partea hipervariabilă a anticorpilor și, în plus, prin mutații somatice. În acest mod este posibil să fie mai mult de un milion de anticorpi specifici.



Diversitatea anticorpilor de la găina este realizată în special prin conversia genelor și, în plus, prin jocul flexibilității V-J, dar și prin mutația punctului somatic ca la mamifere. În comparație cu mamiferele, la găini este o singură genă VH sau VL, dar există încă aproximativ 25 de așa-numite pseudo-geneV (care au pierdut sevențele uzuale de reglare a transcripției și recunoaștere de semnal), astfel că găinile pot produce frecvent, anticorpi care vor recunoaște mai mulți epitopi decât anticorpii de mamifere.

Bibliografie

1. Klemperer, F. Ueber natürlich Immunität und ihre Verwerthung für die Immunisirungstherapie. Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 1893; 31:356382.
2. Leslie G. A. and Clem L.W. "Phylogeny of immunoglobulin structure and function", Journal of Experimental Medicine, Vol. 130, No. 6: 1337-1352, 1969.
3. Mojca Narat. Production of Antibodies in Chickens, Food Technol. Biotechnol. 41 (2003) 259-267.
4. Kingori A.M. Uses of Poultry Eggs: Egg Albumen and Egg Yolk. Res. J. Poultry Sci. 5(2):9-13, 2012.
5. Mine Y., Kovacs-Nolan J. Chicken egg yolk antibodies as therapeutics in enteric infectious diseases: a review: J. Med. Food. 2002;5(3):159-169.
6. Michael et al. Chicken egg yolk antibodies (IgY) as an alternative to mammalian antibodies. Indian Journal of Science and Technology Vol. 3 No. 4 (Apr. 2010).
7. Carlander D, Kollberg H, Wejäker PE, Larsson A. Peroral immunotherapy with yolk antibodies for the prevention and treatment of enteric infections. Immunol Res. 2000;21(1):1-6.
8. Larsson A, Carlander D. Oral immunotherapy with yolk antibodies to prevent infections in humans and animals. Ups J Med Sci. 2003;108(2):129-40.
9. Xu Y, Li X, Jin L, Zhen Y, Lu Y, Li S, You J, Wang L. Application of chicken egg yolk immunoglobulins in the control of terrestrial and aquatic animal diseases: a review. Biotechnol Adv. 2011 Nov-Dec;29(6):860-8.
10. Hau J and Hendriksen C Refinement of polyclonal antibody production by combining oral immunization of chickens with harvest of antibodies from the egg yolk. ILAR.(2005) 46, 294-299.
11. Bizanov G and Jonavskiene I Production and purification of IgY from egg yolk after immunization of hens with pig IgY. Bull. Vet. Inst. Pulawy. (2003) 47, 403-410.
12. Larsson A, Balow RM, Lindahl TL and Forsberg PO Chicken antibodies: Taking advantage of evolution. A review. Poultry Sci.(1993) 72, 1807-1812.



Gama Imunoinstant: primele produse din imunoglobuline de pasăre (*Gallus domesticus*) (IgY), pentru uz uman, preparate în România

Imunoglobulinele (Ig) extrase din gălbenușul oului (Y) de găină (*Gallus domesticus*), imunoglobuline specifice preparate față de un antigen dat, au devenit o mare speranță în prevenirea și combaterea unui spectru larg de boli la om și animale.

La acestea se adaugă creșterea alarmantă a rezistenței microbilor față de antibioticele existente pe piața medicală (Raportul OMS din 1 mai 2014). Literatura oferă informații multe cu privire la IgY (bibliografia la Romvac). IgY-ul este diferit structural de IgG-ul de la mamifere și datorită modului în care organismul uman reacționează la prezența IgY-ului. Caracteristicile care diferențiază IgY-ul de IgG fac din acest produs, o alternativă promițătoare pentru medicină.

În cadrul programului de cercetare (2012-2013) realizat de Romvac Company S.A., s-au efectuat studii cu privire la procedurile de obținere a IgY-ului în condiții de laborator și producție. În același timp, s-au făcut experimente cu privire la purificarea IgY-ului și la specificitatea acestor imunoglobuline față de antogenele care au fost folosite pentru imunizarea găinilor. În acest scop, s-au folosit teste imunologice acceptate pe plan internațional dintre care: ELISA, ID, ID radiară, seroaglutinarea, imunofluorescența, imunolectroforeza și testul IMB PaChi. Rezultatele de laborator au dovedit că răspunsul imun al păsărilor este specific și titrurile obținute sunt peste diluția IgY-ului de 1×10^{-4} în testul ELISA.

S-a preparat IgY specific folosind ca antogene bacterii sau virusuri din produse biologice inactivate. De asemenea, s-au inoculat găini cu antogene preparate din bacterii rezistente la antibiotice izolate de la pacienții internați cu semne clinice, în spitalele din București. Până la data de 15 mai 2014, s-au preparat 12 tipuri de IgY-specific, în funcție de antigenul dat și s-a reușit condiționarea acestora sub formă granulată, cașetată, lichidă concentrată pentru administrare intranasală, lichidă pentru adulți și copii, pulbere liofilizată, spray și unguent.

În cursul anului 2013, s-au obținut imunoglobuline care pot fi aplicate pe suprafețele de contact, a căror activitate imunologică specifică permite să reducă numărul de germeni care, în condiții de spital, pot infecta pacienții.



IgY-ul specific se prepară monovalent sau polivalent. În produsele polivalente, se folosesc IgY-urile preparate din tulpini izolate frecvent în spitalele din România, tulpini bacteriene care s-au dovedit rezistente la antibiotice. La această dată, sunt în lucru alte forme de condiționare și administrare a IgY-ului specific de uz uman.

În anul 2013, pentru evaluarea activității specifice a IgY-ului, s-a realizat testul IMB PaChi. Acest test s-a conceput pentru prima dată în lume și constituie un ajutor de o importanță deosebită pentru specialiștii din medicina umană și veterinară. IMB PaChi se folosește pentru confirmarea specificității și eficacității imunoglobulinelor față de bacteriile patogene izolate de la pacienți. În anul 2013, s-a organizat un program de cercetare între Spitalul clinic de boli infecțioase și tropicale "Dr. Victor Babeș" și Romvac Company S.A. cu privire la studiul IgY-ului. În prima etapă, s-au efectuat testări de laborator privind eficiența IgY-ului specific față de tulpini bacteriene izolate de la pacienți, tulpini bacteriene care s-au dovedit rezistente la antibiotice. Rezultatele experimentelor efectuate până în prezent dovedesc că IgY-urile specifice inhibă multiplicarea bacteriilor in vitro.

Descoperirea unui proces de blocare a multiplicării bacteriene in vitro oferă posibilitatea unui tratament curativ eficace, specific pentru anumite infecții bacteriene pentru fiecare izolat în parte. Această metodă permite creșterea eficienței imunoglobulinelor preparate la Romvac și controlul acestor mijloace de tratament immunologic la om.

Folosind testul IMB PaChi, se poate stabili și conduită terapeutică. În funcție de intensitatea răspunsului specific de inhibiție a multiplicării bacteriilor, dar și de timpul de inhibiție, se poate efectua un tratament cu doză unică la 24 de ore sau cu doze fracționate, la diferite intervale de timp.

Informațiile obținute până la această dată permit să se organizeze programe eficiente de tratament la om. În acest scop, trebuie să se asigure condițiile în care IgY-ul să fie permanent activ inhibând specific cantități mari de germeni patogeni sau toxinele acestora, suficient ca acțiunea nocivă a lor să fie neutralizată, iar pacientul să se recupereze. Această metodologie se poate aplica și în asociere cu antibioticele utilizate în unitățile medicale sau se poate folosi numai IgY-ul specific.

Tratamentul preventiv cu un complex IgY permite evitarea infecțiilor intraspitalicești. În acest scop, urmează a se folosi diferite tipuri de IgY în funcție de frecvența contaminărilor la pacienții internați în spitale. Aceste produse se vor administra intranasal, oral, gastric, intestinal și cutanat.



Romvac Company S.A., 40 de ani de experiență!

Romvac Company S.A. este o unitate de cercetare și producție modernă, dotată corespunzător nivelului de abordare științifică a cercetării în microbiologie, imunologie și, în mod special, în prepararea și controlul produselor biologie sub brand-ul IMUNOINSTANT.



Romvac Company S.A. are:

- certificarea SMI (Sistemul de Management Integrat), care cuprinde: Managementul Calității ISO 9001, Sistemul de Management al Mediului ISO 14001 și Sistemul de Sănătate și Securitate Ocupațională OHSAS 18001:2004
- confirmarea încadrării în normele de bună practică de fabricație (G.M.P.)
- activitate de cercetare în medicina umană și veterinară (1965-2014)
- atestarea pentru efectuarea activității de Cercetare Dezvoltare în domeniul Medicinei Veterinare, unitatea aflându-se în coordonarea științifică a Academiei de Științe Agricole și Silvice
- producție de biopreparate și medicamente de uz veterinar (1970-2014)
- producție de ouă și păsări SPF (1965-2014)

Romvac Company S.A. are experiență în medicina veterinară:

- avicultură (1965-2014)
- creșterea păsărilor libere de germani patogeni specifici (SPF), (1965-2014)
- patologie aviară (boala Marek, leucozele aviare), (1965-2014)
- patologie bovină (leucoza bovină, tuberculoza), (1977-2014)

Romvac Company S.A. are experiență în medicina umană:

- vaccin antigripal inactivat de uz uman (1970);
- imunologia cancerului la om (leucemii, limfoame, sarcoame), (1971-2007)
- studii virusologice, genetice și epidemiologice privind HIV/SIDA, la copiii din România (1989-2007)



20

- producerea valvei biologice Pop de Popa (1984-1986)
- cercetare în patologia comparată (om și animale) (1965-2014)

Romvac Company S.A. deține 17 brevete de invenție aplicate în producție (1965-2014).

Din anul 2012, Romvac Company S.A. a demarat activitatea de cercetare în domeniul imunoglobulinelor aviare. În colaborare cu Spitalul clinic de boli infecțioase și tropicale "Dr. Victor Babeș" din București, a abordat tema rezistenței la antibiotice. În perioada 2012-2014, s-au preparat pentru prima dată în lume, imunoglobuline față de antingene obținute din tulpini bacteriene rezistente la antibiotice. Studiile paraclinice au dovedit că se pot obține imunoglobuline (IgY) care să acționeze specific asupra bacteriilor patogene izolate de la pacienții din spitale.

Romvac Company S.A. deține produse IMUNOINSTANT condiționate sub formă lichidă pentru adulți și copii, produse lichide pentru administrare nazală, granule din gălbenuș, spray și unguent. Toate aceste produse conțin fie IgY monovalent, fie IgY polivalent, cu un amestec de 5 până la 8 imunoglobuline specifice.

Produse preparate sub formă lichidă, granule, spray și unguent cu IgY-monospecific sau IgY-poly anti:

1. *Salmonella enteritidis*
2. *Salmonella typhimurium*
3. *Klebsiella pneumoniae*
4. *Pseudomonas aeruginosa*
5. *Staphylococcus aureus*
6. *Acinetobacter baumannii*
7. *Clostridium difficile* forma vegetativă
8. *Clostridium difficile* forma sporoidală (în curs de preparare)
9. *Clostridium difficile* exotoxine A și B (în curs de realizare)
10. *Virus rabic* tulpina Flury
11. *Virus rabic* tulpina CVS
12. *Rotavirus*
13. *Bacillus anthracis*
14. *Virusul parvovirozei*
15. *Virusul bolii Carré*
16. *Candida albicans* (în curs de imunizare)
17. *Helicobacter pylori* (în curs de imunizare)



Păsări libere de germenii patogeni specifici (păsări SPF)

Din anul 1965, Romvac crește păsări SPF, pentru evaluări clinice, cercetare și producție de biopreparate.

Pe aceste păsări se prepară IMUNOINSTANT care îndeplinește condițiile administrării pentru uz extern și intern.

Creșterea păsărilor libere de germenii patogeni specifici este asigurată folosind aer, apă și furaje sterile, fără accesul omului în mediul lor de creștere.

Păsările SPF sunt controlate cu privire la starea de sănătare și indemintarea referitoare la germenii patogeni specifici.

Ouăle provenite de la aceste păsări sunt folosite la prepararea vaccinurilor, diagnostic și cercetare.

În programul pentru obținerea, prepararea și controlul imunoglobulinelor aviare (IgY), păsările SPF sunt cele care oferă ouă libere de germenii patogeni specifici.



Pavilion cu izolatoare
în care sunt crescute
păsări SPF



Păsări SPF în izolator



imuno instant
O speranță pentru fiecare

22

Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale “Dr. Victor Babeș”, București



Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale “Dr. Victor Babeș” a luat ființă în anul 1956, datorită necesității de asigurare a spațiului spitalicesc pentru izolarea cazurilor de hepatită acută virală, consecutiv creșterii morbidității prin această infecție în Municipiul București și a început să funcționeze cu participarea unor cadre didactice cu experiență remarcabilă în bolile infecțioase, transferate din Spitalul de Boli Infecțioase Colentina.

Ulterior, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale “Dr. Victor Babeș” s-a dezvoltat și s-a modernizat, prin apariția de pavilioane și secții noi ce asigurau condiții de izolare și tratament al bolnavilor, suspectilor de boli tropicale (variola, holera etc.) și a celor cu infecție HIV/SIDA.

În anul universitar 1976 - 1977, s-a înființat, în cadrul Universității de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București, Clinica de Boli Infecțioase și Tropicale cu sediul în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale “Dr. Victor Babeș”.

Cadrele didactice și ceilalți medici ai Spitalului Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale “Dr. Victor Babeș” s-au implicat enorm în rezolvarea provocărilor epidemice apărute în decursul timpului: hepatitele virale, supravegherea rujeolei în perioada introducerii vaccinării antirujeolice, epidemii de holera (1977, 1982 etc.), epidemia determinată de Neisseria meningitidis (1986 - 1988), epidemia de encefalită West-Nile (1996), epidemia de meningită determinată de virusul ECHO30 (1999), epidemia de gripă cu virus A H1N1 (2009 - 2010), infecția cu virusul imunodeficienței umane HIV/SIDA (de la diagnosticarea primului caz de SIDA la adulți, în 1985).



Trebuie subliniate implicarea corpului didactic din clinică, în asigurarea standardelor tehnice pentru diagnostic, asistența medicală a bolnavilor internați și, respectiv, aportul în limitarea evoluțiilor epidemice a bolilor infecțioase.

O atenție specială s-a acordat introducerii tehnicilor moderne de imunologie, imunoenzimologie, biologie moleculară, de perfecționare și automatizare a diagnosticului microbiologic și histochimic etc..

Baza materială și specialiștii din clinică și laboratoare asigură un sprijin real pentru activitatea de cercetare.

În mod tradițional, relația de colaborare științifică a Clinicii de Boli Infecțioase și Tropicale "Dr. Victor Babeș" s-a realizat cu toate clinicele de boli infecțioase din țară, în special prin organizarea de congrese și conferințe naționale de boli infecțioase și tropicale, cât și prin editarea Revistei de Boli Infecțioase.

În vederea confirmării diagnosticului și supravegherii bolilor infecțioase clinica întreține relații de colaborare cu Institutul Cantacuzino și Institutul de Virusologie "Ştefan S. Nicolau". Începând cu anul 1980, Clinica de Boli Infecțioase și Tropicale a fost admisă în Consiliul European al școlilor și Institutelor de Medicină Tropicală și Igienă. S-au stabilit relații de colaborare cu Japanese Foundation for AIDS Prevention, Tokio, Japonia și National Institute of Infectious Diseases Laboratory of Pathology AIDS Research Center, San-Diego, SUA.

Având în vedere orientarea către pacienți și creșterea calității serviciilor medicale oferite, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale "Dr. Victor Babeș" a implementat și menține încă din 2006, Sistemul de Management al Calității (ISO 9001:2008).



imuno instant
O speranță pentru fiecare

24

Institutul de Pneumoftiziologie "Marius Nasta", București



Institutul Național de Pneumoftiziologie "Marius Nasta" se înscrie în rândul spitalelor cu tradiție din România, activitatea sa începând în anul 1906 când, sub denumirea de "Spitalul Filaret", se ridică primul spital pentru tuberculoză din București. Promotorii ideii de a construi acest spital au fost Prof. Dr. I. Cantacuzino și Dr. G. Procare.

La conducerea Spitalului Filaret au fost numiți, în 1906, Dr. Ștefan Irimescu și Dr.

Alexandru Slătineanu. După plecarea lui Al. Slătineanu la Universitatea din Iași, în 1908, Dr. Ștefan Irimescu rămâne singur la conducerea spitalului până la 1 aprilie 1943.

Cu doar 80 de paturi disponibile la început, spitalul își începea misiunea ambițioasă de a veni în ajutorul unui segment de pacienți până atunci neglijat. După 1920 și până la al doilea război mondial, Spitalul Filaret a continuat să promoveze ideile cu privire la combaterea tuberculozei din România și formarea cadrelor de specialitate.

În 1947, a luat ființă prima Clinică de Fiziologie a Facultății de Medicină din București, condusă de Prof. Dr. Marius Nasta, urmând o perioadă în care s-a ajuns la complexul actual de clădiri și s-a înființat Institutul de Fiziologie (1949). De la început, sub conducerea lui Marius Nasta, Institutul își organizează activitatea în mod complex, axându-se pe munca de cercetare științifică, activitatea didactică, îndrumarea tehnică a unităților de specialitate din teritoriu și asistență medicală de înaltă calificare. Trecerea timpului a adus cu sine progresul bine meritat. În prezent, manifestând același interes față de domeniul pe care îl deservea și odinioară, Institutul de Pneumoftiziologie "Marius Nasta" din București este o instituție de referință în diagnosticarea și tratarea pacienților cu boli bronho-pulmonare. Institutul de Pneumoftiziologie "Marius Nasta" reprezintă, totodată, una dintre instituțiile care realizează programe de prevenire și control al tuberculozei.



Proiectul de cercetare IgY

Acest proiect a fost conceput pentru a răspunde imediat condițiilor din România. În acest scop, s-au izolat și se folosesc tulpieni bacteriene patogene rezistente parțial sau total la antibiotice. Întregul program se evaluatează folosind ca etalon tulpinile standard internaționale de la ATCC.

Proiectul de cercetare privind IgY-ul are trei etape distincte:

- Prepararea, extragerea, controlul și caracterizarea IgY-ului
- Evaluarea preclinică a IgY-ului
- Evaluarea clinică a IgY-ului

Activitatea de cercetare cu privire la IgY-ul specific urmează a se transfera în clinicele de specialitate, urmărindu-se:

1. Prevenirea infecțiilor nosocomiale (intraspitalicești)

- Prevenirea infecțiilor virale (rotavirus) la copiii internați în spitale, de la pacienții infectați
- Prevenirea infecțiilor în saloanele de terapie intensivă
- Reducerea surselor de infecție în spitale

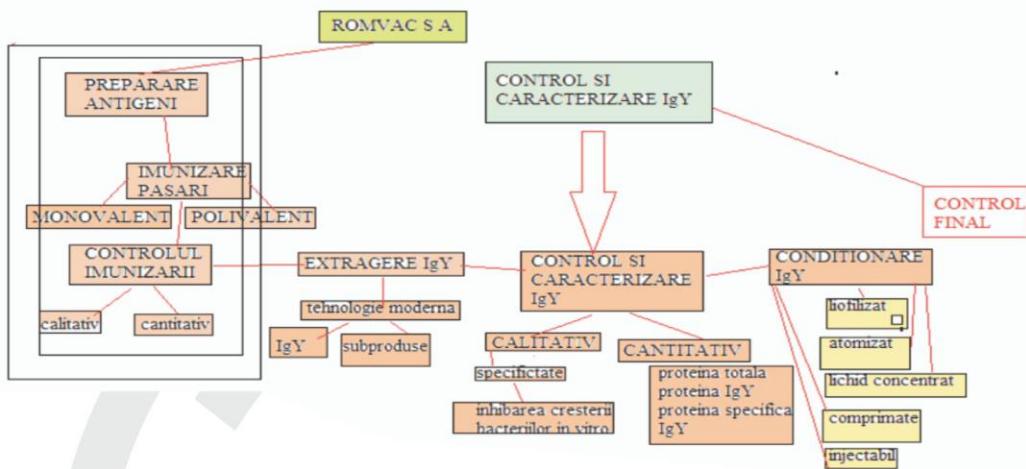
2. Tratamentul formelor de infecție recente (acute)

- Infecții digestive recente (acute) produse de enterobacteriaceae
- Tratamentul infecțiilor cu Clostridium difficile (IgY - specific anti spori, forme vegetative și exotoxine)
- Tratamentul infecției cu rotavirus
- Tratamentul infecțiilor cu MRSA
- Tratamentul infecțiilor cu Pseudomonas aeruginosa (tulpieni rezistente la antibiotice)

3. Tratamentul infecțiilor cronice (recidive)

- Tratamentul infecțiilor pulmonare cu Pseudomonas aeruginosa
- Tratamentul infecțiilor genito-urinare.

Pentru realizarea acestui program, urmează a se organiza activitatea clinică corespunzătoare, inclusiv supravegherea pacienților și înregistrarea semnelor clinice conform normelor internaționale. Etapele sunt prezentate în schița nr. 1.



Utilizările IgY-ului la om

1. IgY purificat

- IgY purificat pentru teste de laborator, diagnostic și cercetare
- IgY purificat pentru administrare orală
- IgY purificat pentru administrare cutanată
- IgY purificat pentru administrarea intranasală
- IgY pentru administrarea gastrică
- IgY pentru administrarea digestivă
- IgY purificat pentru prepararea seturilor ELISA
- IgY purificat pentru prepararea kiturilor cu flux laminar

2. IgY purificat pentru administrări parenterale

3. IgY standard alimentar

- IgY pentru consum uman ca stimulator al regenerării țesuturilor
- IgY standard alimentar energizant la sportivi sau în covalescență
- IgY standard alimentar pentru dezinfecții, specific pentru spații cu un nivel mare de contaminare (suprafețe de contact) în spitale
- În domeniul cosmetic
- În turism
- În domeniul militar



Testul IMB PaChi (brevet de inventie)

Lucrare prezentată la Congresul de Biotehnologii din Lecce, Italia, 16.05.2014.

The slide features two main sections: 'Romvac Company' and 'EUROPEAN BIOTECHNOLOGY CONGRESS 2014'.

IMB-PaChi Assay for Growth Inhibition of Bacteria by Neutralizing IgY Antibodies

Viorica CHIURCIU, I. V. PATRAȘCU, C. Gh.CHIURCIU, Georgiana TOPILESCU, B. FRUNZĂREANU

IMB-PaChi assay description:

The IMB-PaChi assay is a test for the in vitro evaluation of IgY ability to specifically inhibit the bacterial multiplication, properties can be used in establishing a right thermal conduct. The kit has one sample of 2 ml culture media with SPF-IgY, culture media with 2 ml of specific IgY and 9 ml of culture media for bacterial multiplication.

24 hours old bacterial culture, at a concentration of 0.045 CFU/ml (0.045 OD₆₂₀) was inoculated concomitantly into a culture medium containing specific IgY to the given antigen, and respectively into a culture medium containing IgY from specific pathogen free chicken (SPF) as negative sample and then, samples were incubated at 37°C for 24 hours. Multiplication of bacteria could be assessed with a naked eye or by spectrophotometric means using a 600 nm filter after 4, 8 and respectively 24 hours of incubation.

Antibiotic resistant *Salmonella* spp. # 56123 evaluation by microtiter plate IgY assay:

Partial inhibition of IgY-specific anti-*S. typhimurium* and total inhibition of IgY-specific anti-*S. enteritidis* of the strain *Salmonella* spp. 56123 without the species identification. Emergency assay regarding of patient conditions.

Comments:

In samples containing specific IgY, when the total inhibition of bacterial growth occurred, the culture medium remained clear (0.045 OD₆₂₀). If the "partial" inhibition of the growth occurred in samples containing specific IgY during the 8–24 hours incubation interval, the testing repeat using a higher concentration of specific IgY was recommended. When neutralization of bacterial growth by specific IgY was present at 24 hours of incubation, this inhibition was maintained for 30 days while storing the sample at 37°C.

Conclusion:

1. The course of a treatment could be correctly done by analyzing the results of the IMB-PaChi assay.
2. 200 mg/ml of specific IgY for adult and 50 mg/ml of specific IgY for children inhibit the amount of 7.6 log CFU/ml *Staphylococcus aureus* more than the amount of bacteria cells in general.
3. 200 mg of specific IgY inhibit the 6.7 log of CFU/ml of antibiotic resistance strain 54980 in liquid medium at 37°C.
4. The cell multiplication inhibition of *Staphylococcus aureus* for more than 30 days at 37°C.

Reference:
-53 titles - they are found to the author

Presenters: Chiorici Constantin Eng. Contact: chiorici@clicknet.ro, 0640213803106, 0640213803116

Romvac Company

Graphs and Data:

- IgY anti *Salmonella enteritidis*:** Shows growth inhibition over 24 hours for IgY and IgG.
- IgY anti *Salmonella typhimurium*:** Shows growth inhibition over 24 hours for IgY and IgG.
- Staphylococcus aureus specific growth inhibition by specific IgY at 24 h:** Shows growth inhibition for ATCC 29213 and antibiotic resistance strain 64980.
- ANTIBIOTIC RESISTANCE STRAIN 64980:** Shows growth inhibition over 24 hours for IgY and IgG.
- The inhibition of 24 hour antibiotic resistance *Staphylococcus aureus* culture(log 8.6 CFU/ml) by specific IgY:** Shows growth inhibition for 200 mg IgY.
- Inhibition of antibiotic resistance strain of *Staphylococcus aureus* by 200 mg/ml of specific IgY:** Shows growth inhibition for 200 mg IgY.
- O.D. 620:** Shows growth inhibition for 200, 100, 50, 25, 12.5 mg/ml of specific IgY.



Foto 1. Set IMB PaChi
înainte de utilizare

Conținutul trusei IMB PaChi

1. Mediu de cultură cu IgY SPF, martor negativ
2. Mediu de cultură cu IgY-specific (pentru fiecare tulpină bacteriană în parte)
3. Mediul de cultură pentru diluția culturii bacteriene
4. Instrucțiuni de folosire

Cultura bacteriană de 24 de ore, izolată și caracterizată, se poate folosi ca atare sau se poate multiplica în mediul din tubul #1 (cu etichetă neagră). În acest scop, în 9,9 ml mediu de cultură se pun 0,1 ml din cultura bacteriană de testat. Suspensia bacteriană se omogenizează și se citește densitatea optică la un spectofotometru cu filtru 600 nm. Densitatea optică trebuie să fie aproximativ 0,05 OD_{600 nm}, (Foto 1).

1. Din tubul de diluție se repartizează steril câte 2 ml de suspensie bacteriană în fiecare din cele 3 tuburi rămase în trusă. Probele se incubează la 37 °C cu agitare permanentă. Citirea rezultatelor se poate face la 4 și 8 ore de incubație. Citirea finală se face la 24 ore de incubație. Citirea se poate face cu ochiul liber sau cu un spectofotometru cu filtru de 600 nm.
2. Inhibarea specifică a creșterii bateriilor se poate observa la 4 și 8 ore de incubație la 37° C. Citirea finală se face la 24 de ore de incubație la 37° C. Efectul inhibitor specific al IgY-ului se poate vedea cu ochiul liber când în probă cu IgY, mediul de cultură rămâne transparent, iar în probele martor negativ și pozitiv, mediul are o turbiditate din ce în ce mai mare, la 4, 8 și respectiv 24 de ore.



O probă se consideră pozitivă când există o diferență între turbiditatea intensă din probele martor, față de proba care conține IgY specific. În cazul în care densitatea optică se evaluatează la un spectofotometru, proba este pozitivă când diferența dintre probele martor și proba cu IgY specific este mai mare de 0,02 OD 600 nm (Foto 2 și Foto 3).



Foto 2. Test pozitiv IMB PaChi pentru *Salmonella enteritidis*, la 8 ore de incubație

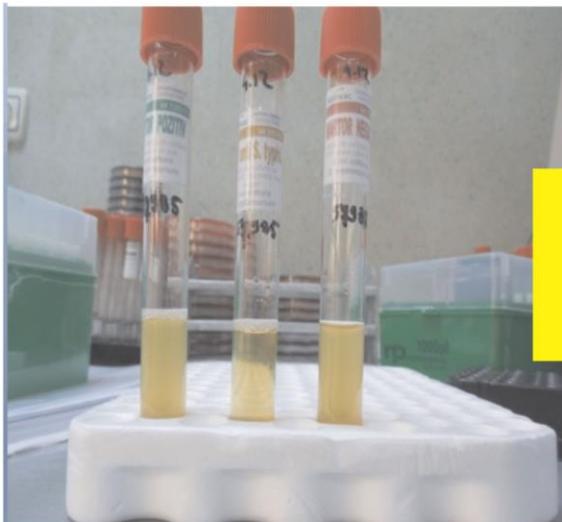


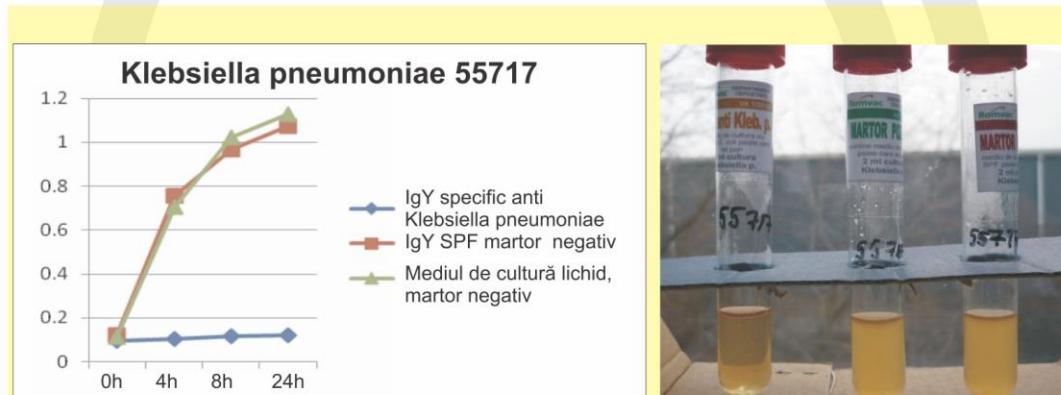
Foto 3. Test pozitiv IMB PaChi în care inhibiția multiplicării bacteriilor este parțială, la 8 ore de incubație



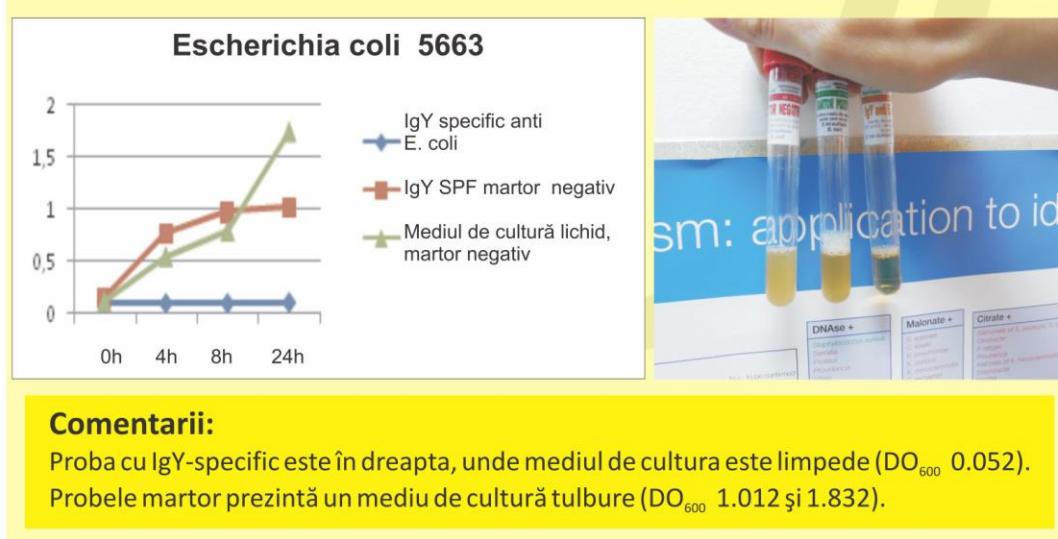
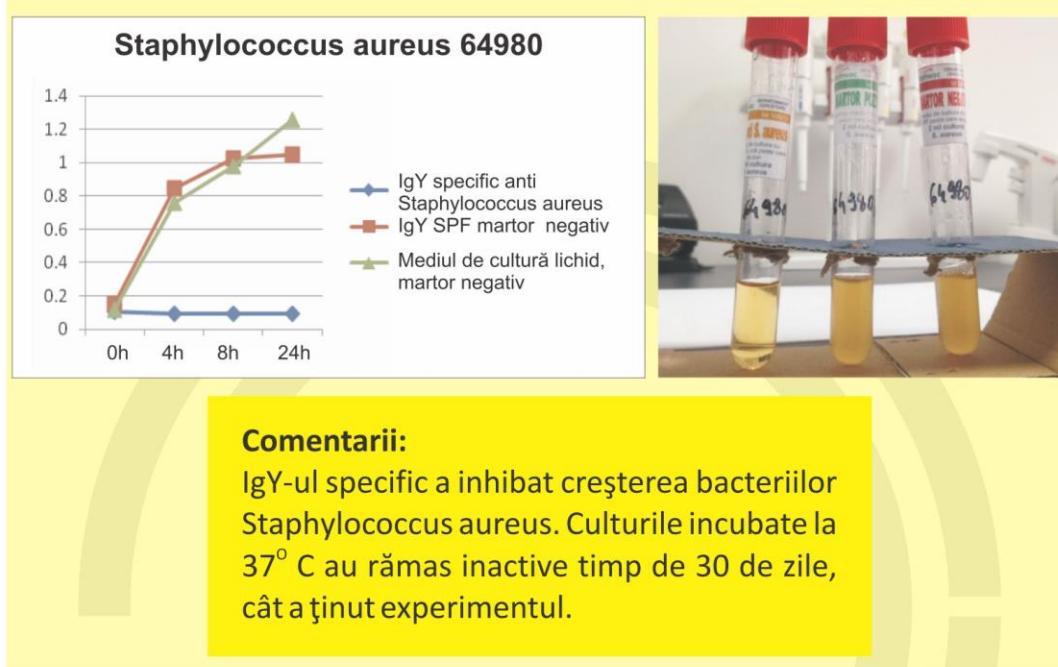
Evaluări "in vitro" a imunoglobulinelor Imunoinstant 2013 -2014

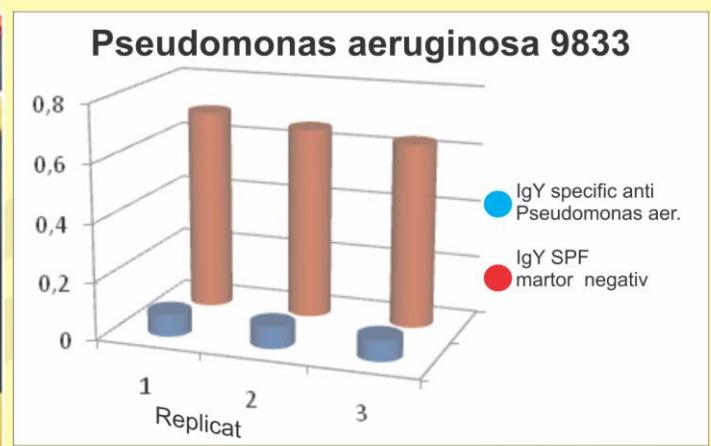
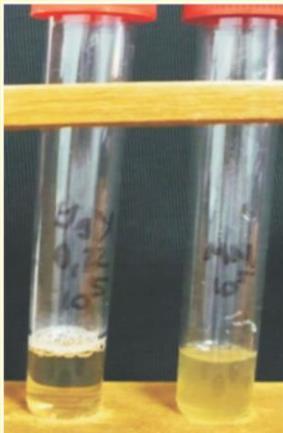
Tulpini bacteriene rezistente la antibiotice

Rezultatele experimentelor de evaluare a activității de inhibare a creșterii bacteriene, asupra tulpinilor rezistente, izolate de la pacienți din spitalul Victor Babeș:



Comentarii:
Se constată inhibarea creșterii bacteriene (linia de culoare albastră), față de martori.





Comentarii:

Inhibarea creșterii tulpinii de *Pseudomonas aeruginosa* 9833, folosind IgY-ul specific anti *P. aeruginosa* seria 002/2014, preparată din 7 tulpini bacteriene rezistente la antibiotic, izolate de la pacienți cu semne clinice de boală.

Proba martor cu IgY – SPF: turbiditatea provocată de creșterea *P. aeruginosa* - densitatea optică măsurată la spectofotometru a fost de 1.021 OD600, iar în proba de testat cu IgY –specific anti *P.aeruginosa*, densitatea optică a fost de 0.045 OD600 la 24 și respectiv, la 48 de ore de incubație cu agitare la 37°C.

Graficul reprezintă valorile în trei replicate pentru densitatea optică la inhibarea creșterii *P.aeruginosa* (culoarea albastră) și valoarea la 24 de ore, la proba martor IgY-SPF (culoarea roșie).

Inhibarea creșterii bacteriene a IgY-ului specific

Specificare	Pozitiv/testate
<i>Staphylococcus aureus</i>	31/31
<i>Salmonella enteritidis</i>	4/4
<i>Salmonella typhimurium</i>	6/6
<i>Salmonella spp.</i>	4/4
<i>E. coli</i>	11/11
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22/22
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3/3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3/3



Diagnostic diferențial



Salmonella spp.
57985



Salmonella spp
56123

Comentarii:

IgY-ul specific permite și stabilirea unui diagnostic diferențial pe baza inhibării specifice a multiplicării bacteriene într-o probă de testat.





Un nou raport al OMS, primul care se referă la rezistența la antibiotice pe plan mondial, evidențiază faptul că această amenințare nu mai este de domeniul viitorului, deoarece fenomenul se manifestă acum, în toate regiunile lumii și are potențialul de a afecta pe oricine, la orice vîrstă, în orice țară.

Dr. Keiji Fukuda

Asistentul Directorului General
pentru siguranța sănătății OMS

30 aprilie 2014



Sos. Centurii, nr.7, Voluntari, jud. Ilfov
Tel.: 021 350 31 09, Fax: 021 350 31 10, romvac@romvac.ro, www.romvac.ro