

Contractor : Institutul Național de Cercetare "Cantacuzino"

Cod fiscal : 15203810

RAPORT FINAL DE ACTIVITATE

privind desfășurarea programului-nucleu

„Evaluarea riscurilor majore pentru sănătatea umană și dezvoltarea de metodologii, tehnologii și produse pentru a asigura un nivel ridicat de protecție a acesteia – IC-PROTSAN”

cod PN 16 39

Durata programului: 2 ani

Data începerii: martie 2016

Data finalizării: decembrie 2017

1. Scopul programului:

Scopul programului este dezvoltarea de studii și cercetări care să îmbunătățească metodele de evaluare a riscurilor majore pentru sănătatea umană și dezvoltarea de metodologii, tehnologii și produse pentru a asigura un nivel ridicat de protecție a acesteia. Prin acesta se răspunde unor obiective strategice ale politicii de sănătate a UE: „Protejarea cetățenilor împotriva amenințărilor pentru sănătate: îmbunătățirea monitorizării și pregătirii pentru situații de urgență în cazuri de epidemie sau bioterorism, pentru a mări capacitatea de reacție la noi provocări legate de sănătate, cum ar fi schimbările climatice” și „Sprijinirea sistemelor de sănătate dinamice pentru a ajuta sistemele de sănătate ale statelor membre să răspundă provocărilor pe care le reprezintă îmbătrânirea populației, cerințele tot mai mari ale cetățenilor și mobilitatea pacienților și a personalului medical”.

Programul se bazează pe domeniile de competență tradițională ale Institutului Cantacuzino dar față de programul anterior are o componentă de cercetare aplicată mai puternică urmărind valorizarea unor concepte ale produselor tradiționale ale Institutului Cantacuzino și dezvoltarea altora noi.

2. Modul de derulare al programului:

2.1. Descrierea activităților (utilizând și informațiile din rapoartele anuale)

PN 16 39 01 01:

1. Stabilirea compoziției specifice a faunei de culicide și a dinamicilor sezoniere în zonele pilot de studiu.
2. Analiza moleculară a probelor de culicide în vederea identificării agenților arbovirali circulanți.
3. Identificarea speciilor vectoare pentru virusul West Nile.
4. Identificarea zonelor de tip 'hotspot' cu rol de microfocare și potențial de inițiere a epidemiilor arbovirale prin integrarea și analiza datelor obținute într-un sistem geografic informațional.
5. Identificarea factorilor favorizanți pentru inițierea și amplificarea circulației virale, premergători izbucnirilor epidemic.
6. Analiza epidemiologică în vederea identificării zonelor de tip focar din zona metropolitană București-Ilfov neîncadrate inițial în grupa zonelor de studiu pilot (studiu experimental).
7. Studiu experimental de elaborare a hartzii de risc epidemic la nivelul capitalei.
8. Elaborarea unui set de măsuri prevenționale și intervenționale ce vizează diminuarea riscului de infecții arbovirale.

PN 16 39 01 02:

Conform obiectivelor proiectului au fost realizate urmatoarele activitati:

- Personalul a fost instruit in vederea imbunatatirii procesului de fabricatie si repartizarii aseptice a mediilor de cultura si ulterior pentru pregatirea loturilor fabricate in vederea iradierii pe platforma tehnologica IFIM-Bucuresti, cu scopul evaluarii calitatii mediilor iradiate la Institutul de Fizica Atomica si Inginerie Nucleara (sterilitate, eficienta, stabilitate) pentru fundamentarea mediilor "gata de intrebuintat" obtinute prin iradiere;
- Actualizarea bazei de date in scopul selectarii mediilor care vor fi optimizate;
- Modificarea formulelor de fabricatie in cazul mediilor de cultura iradiate si mediilor utilizate in microbiologia apei care nu au corespuns la determinarile de eficienta si/sau stabilitate efectuate in prima faza;
- Au fost efectuate studii experimentale pentru optimizarea si evaluarea a 20 medii de cultura gata de folosinta pentru uz medical si 8 medii de cultura pentru microbiologia apelor;
- Multiplicarea seriilor iradiate pe platforma *Institutului de Fizica Atomica și Inginerie Nucleara Horia Hulubei*;
- Au fost revizuite si actualizate dosarele de fabricatie a mediilor de cultura cu includerea de noi etape de lucru in conformitate cu deficientele constatate, privind imbunatatirea activitatii tehnice specifice, prin studierea unor variante de medii optimizate, adaptarea si/sau introducerea in fabricatie de noi medii de cultura; Evaluarea finala a mediilor de cultura INC Cantacuzino optimizate, documentarea dosarelor de fabricatie si initierea transferului rezultatelor cercetarii in microproductie;
- Au fost transferate datele obtinute catre microproductia de medii de cultura microbiologice, cu scopul diversificarii serviciilor

PN 16 39 01 03:

Evaluarea unei metode moleculare pentru detectarea rapida a enterovirusurilor umane în apă reziduala și în probele de scaun recoltate de la copii sănătoși, in scopul stabilirii riscului de import a tulpinilor de poliovirus în țara noastră. Implementarea sistemului GeneXpert ca metoda de screening pentru identificarea enterovirusurilor in ape reziduale, si in probe de scaun, in paralel cu utilizarea metodei de izolare a virusului pe culturi celulare. Secventierea unor tulpini de enterovirusuri izolate din probele de scaun si din probele de apa uzata. Evaluarea prezentei enteropatogenilor intestinali asupra multiplicarii enterovirusurilor folosind FilmArray GI panel.

PN 16 39 01 04:

- Actualizarea informatiei privind microbiota intestinala, a patternului de citochine in spondilartropatii seronegative (spondilita anchilozanta, artrita reactiva, artrita psoriazica).
- Optimizarea metodelor de diagnostic utilizate pentru detectarea prezentei patogenilor enterici in materiile fecale ale pacientilor cu spondilartropatii prin metode bacteriologice clasice si moleculare.
- Optimizarea metodelor de diagnostic utilizate pentru evaluarea imunitatii umorale la pacienti cu spondilartropatii seronegative.
- Optimizarea metodelor de investigare a florei intestinale.
- Optimizarea metodelor de detectare a patternului de citochine si prezentei de autoanticorpi (anti – SSA-52, SSA-60, SSB, Sm, RNP, Scl-70, Jo-1, Centromer B, Ribozomal P) si a anticorpilor anti-ATPO, anti-tireoglobulina in ser si lichidul sinovial la pacientii cu spondilartropatii si in serul amartorilor fara spondilartropatii
- Evaluarea imunitatii umorale antiinfecioase la pacientii cu spondilite anchilozante si artrita reactiva (46 pacienti) si la lotul de martori fara spondilartritoze (26 de martori) (anticorpi anti- *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*)
- Investigarea prezentei patogenilor enterici in materiile fecale ale pacientilor cu spondilartropatii si a martorilor fara spondilartropatii prin metode bacteriologice clasice si moleculare la ambele loturi incluse in studiu
- Investigarea prezentei agentilor patogeni in lichidul sinovial, urina și saliva la pacientii cu spondilartropatii seronegative prin metode bacteriologice clasice si moleculare

- Investigarea în dinamica a titrului de anticorpi anti-*Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis* la un număr restrâns de pacienți cu spondilartropatii datorită dificultății de colectare a produselor biologice de la pacienți
- Analiza microbiotei la un număr de 10 pacienți cu spondilartropatii (8 pacienți cu spondilită ankilozantă, 1 pacient cu artrita reactivă și 1 pacient cu artrită psoriazică).
- Investigarea profilului de citochine în lichidul sinovial și serul pacienților cu spondilartropatii.
- Detectarea autoanticorpilor (anti – SSA-52, SSA-60, SSB, Sm, RNP, Scl-70, Jo-1, Centromer B, Ribozomal P) în serul pacienților și a martorilor incluși în studiu .
- Detectarea prezenței anticorpilor anti-ATPO, anti-Tg și TSH la pacienții pozitivi pentru anticorpi anti-*Yersinia* și corelarea rezultatelor obținute cu prezența altor boli autoimune.
- Corelarea rezultatelor obținute: prezența anticorpilor antiinfecțioși în serul pacienților analizați și martorilor fără artropatii, patternul de citochine, microbiota intestinală și severitatea bolii corelat cu prezența factorului genetic HLA B 27.

PN 16 39 01 05:

- Realizarea rețetelor și a rețetelor de diete purificate.
- Obținerea și caracterizarea dietelor purificate.
- Pentru începerea fazei experimentale de administrare a dietelor purificate s-a întocmit un dosar de autorizare și s-au urmat pașii procedurali pentru evaluarea etică și autorizarea proiectului experimental. Procedurile efectuate au fost următoarele :

- Aclimatizare animale
- Lotizare animale pe sexe și pe categorii de administrare furaj
- S-au constituit 22 loturi de animale pentru fiecare specie folosită (11 pentru șobolani și 11 pentru șoareci), pentru 5 tipuri de diete purificate, 5 loturi martor, 5 loturi de testat și un lot pentru tipul actual de dietă nepurificată, dietă naturală.
- Fiecare lot, format din 20 de animale a avut la început 10 femele și 10 masculi.
- În preția începerii testării s-a recoltat sânge de la animale și s-a testat biochimic.
- Furajele studiate s-au administrat prin ingestie voluntară, zilnic.
- Pentru fiecare animal s-au monitorizat parametrii biochimici generali și speciali (glucoză, colesterol, acid uric, creatinină, trigliceride, alanine aminotransferază, aspartate aminotransferază, gama – glutamiltransferază), specific pentru fiecare tip de sindrom urmărit.
- Monitorizarea consumului de furaj, săptămânal.
- Monitorizarea greutateii, săptămânal la șobolani și periodic la șoareci.
- Monitorizarea semnelor clinice locale zilnic.
- Monitorizarea parametrilor biochimici lunar la loturile în care s-a urmărit inducerea sindroamelor metabolice și la începutul și sfârșitul perioadei de experimentare la celelalte loturi.
- Monitorizarea parametrilor hematologici la toate loturile la sfârșitul perioadei de experimentare.
- La sfârșitul perioadei de monitorizare, animalele s-au sacrificat, s-a efectuat necropsie, monitorizări specifice și examen histopatologic.

PN 16 39 02 01:

În anul 2016, au fost selectate, în total, un număr de 44 de hibridoame crioconservate, dintre care, 34 cu specificitate pentru virusul gripal A/H1 și 10 cu specificitate pentru virusul gripal A/H5.

În vederea imuno-testărilor, au fost preparate, în paralel, antigene virale gripale din tulpini vaccinale (reasortanti), subtipurile: A/H1H1 (tulpina X179A), A/H3N2 (tulpina X223A) și A/H5N1 (tulpina NIBRG-14).

În final, au fost selectate prin imunotestări și analizate imunochimic și molecular un număr de 4 hibridoame cu specificitate pentru virusul gripal A/H5N1 și un hibridom cu specificitate pentru toate antigenele virale analizate

(A/H1N1, A/H3N2, A/H5N1). Dintre acestea, au fost caracterizate imunochimic (clasa, subclasa, tipul de lant usor, specificitatea de legare a virusului gripal) si molecular (secventierea genelor codificatoare pentru domeniile VH si VL) un numar de trei hibridoame care secreta anticorpi monoclonali de tip IgG, cu specificitate pentru hemaglutinina virusului gripal subtipur A/H5, intr-o portiune aflata la nivelul domeniului de legare pentru receptorii celulelor permissive.

In anul 2017, pentru dezvoltarea și optimizarea unui imunotest, au fost purificați trei anticorpi monoclonali (denumiti CIB 5, CIB 6, CIB 13) selectati in fazele anterioare, cu specificitate pentru hemaglutinina (HA) virusului gripal, subtipur A/H5. Ulterior, anticorpii monoclonali (AMC) s-au utilizat în testul de hemaglutino-inhibare, micro-neutralizare, ELISA indirectă și imunoblot, cu antigene preparate din tulpini virale gripale A/H5N1 – candidati vaccinali derivati din clada 1 (tulpinile NIBRG 14 si NIBRG 88) si subclada 2.2 (tulpina NIBRG 23).

S-a explorat capacitatea de cuplare a AMC de nanoparticule (cu dimensiuni de 20-50 nm) utilizabile în imunoteste rapide sau imunosenzori.

O alta directie explorată a urmărit dezvoltarea unui test imunoenzimatic (ELISA) cu AMC menționați, pentru detectie si/sau cuantificare de antigen gripal A/H5, deoarece imunotestele care detecteaza antigenele virale se utilizează cu precădere în primele faze de apariție a semnelor clinice de boală, înaintea apariției anticorpilor specifici – care se dezvoltă și pot fi identificați după minim 7-10 zile de la debutul bolii. In acest sens, a fost efectuate lucrari pentru optimizarea si validarea un test imunoenzimatic (ELISA) de captare antigenică, tip *sandwich*, utilizând toti cei trei AMC.

PN 16 39 02 02:

- Dezvoltarea modelelor experimentale in vitro pentru evaluarea efectului Th-polarizant al adjuvantilor
- Determinarea in vitro efectului Th-polarizant al adjuvantilor (oil-in water, derivati polizaharidici amfifili, liganzi TLR)
- Evaluarea tipului de răspuns imun indus in vivo prin imunizare în prezența adjuvanților
- Evaluarea efectului răspunsurilor imune adaptative distincte asupra evoluției bolii în infecția gripală experimentală la șoareci

PN 16 39 02 03:

Activitățile desfășurate in cadrul fazei 1 au avut drept scop stabilirea secvențelor de ADN corespunzătoare proteinelor specifice pentru Mycobacterium tuberculosis (ESAT6 - Rv3875, CFP10 - Rv3874, MPT64 - Rv1980c) prin optimizarea codonilor pentru expresia în E.coli, precum și designul primerilor necesari sintezei și clonării.

In faza 2 a proiectului s-au obținut moleculele de ADN recombinant care au fost introduse în sușa de expresie.

In continuare s-au realizat expresia si purificarea de proteine micobacteriene recombinante urmate de obtinerea complexelor antigen-adjuvant si testarea acestora.

PN 16 39 02 04:

- Studii in vederea standardizarii metodei de testare a capacitatii de epurare a radicalilor •OH pentru produsul SOD Natural;
- Testarea a 8 loturi SOD Natural din productia aceiiasi an (2015) in scopul evidentierii unei posibile influente a procesului de productie asupra capacitatii de epurare a radicalilor •OH;
- Stabilirea unei valori medii a capacitatii de epurare a radicalilor •OH corespunzatoare celor 8 loturi de SOD Natural testate.
- Studiu in vederea standardizarii metodei FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) de testare a capacitatii antioxidante a produsului SOD Natural;
- Studiu in vederea standardizarii metodei de testare a capacitatii de epurare a radicalilor ONOO- pentru produsul SOD Natural.
- studiu in vederea identificarii eventualelor variatii ale capacitatii antioxidante in conditiile modificarii temperaturii de pastrare (20-25°C);
- studiu privind pastrarea proprietatilor antioxidante in conditiile eliminarii compusilor cu dimensiuni mai mari de 100nm (intervalul 1-6 luni)

- studiu privind capacitatea antioxidantă a produsului SOD Natural și derivatelor sale (SOD Natural păstrat la 20-25°C, fracția 0-100nm) – intervalul 6-12 luni

PN 16 39 02 05:

- Realizarea modelului experimental de cultivare a bacteriilor în sistem de operare discontinuu repetat
- Caracterizarea fizico-chimică și determinarea activității biologice a imunomodulatorului studiat
- Elaborarea și realizarea modelelor experimentale in vivo și in vitro pentru afecțiuni inflamatorii cutanate.
- Evaluarea efectelor administrării sistemice/topice a imunomodulatorilor microbieni asupra unor componente ale sistemului imun în afecțiunile cutanate induse experimental.

PN 16 39 02 06:

Îmbunătățirea gradului de caracterizare a tulpinii de producție *Mycobacterium bovis* BCG, sub-tulpina românească, prin secvențierea genomului acestei tulpini. În vederea analizării tulpinii vaccinale românești BCG s-a abordat fiola de BCG liofilizat, lotul de sămânță secundar (de lucru) R2 anul 1994. După trecerea în soluție a tulpinii liofilizate s-a cultivat pe mai multe tuburi cu mediu Lowenstein Jensen, cu sau fără prezență de bioxid de carbon. Creșterea a avut loc mai bine pe tuburile în care nu s-a adăugat bioxid de carbon, la 3 săptămâni de la cultivare.

În prima fază a proiectului s-a realizat secvențierea întregului genom al sub-tulpinii *Mycobacterium bovis* BCG – România, utilizând tehnologia de secvențiere de generație nouă ("NextGen Sequencing" sau "Deep Sequencing" Ion Torrent, de la Thermo Fisher.

Lungimea totală a genomului, în urma asamblării: 4 216 729 pb

Cu ajutorul programului Prokka au fost identificate 4281 gene, 4228 CDS (coding sequences), 2 regiuni cu repetiții (repeat region), 50 secvențe corespunzătoare pentru 50tRNA și una pentru tmTNA.

În contig-ul NODE_15 a fost identificată gena corespunzătoare ARNr 16S care a fost utilizată pentru interogarea bazei de date GenBank pentru aflarea genului și speciei. Rezultatul obținut a fost „*Mycobacterium bovis*”.

După secvențierea întregului genom al *Mycobacterium bovis* BCG, sub-tulpina românească, realizată în 2016, a continuat analiza secvențelor obținute prin WGS. Acestea au fost trimise către NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline pentru readnotare și publicarea ulterioară. Au fost identificate regiunile de deleție RD2, RD14, RD15 și RD16. De asemenea, au fost identificate două gene care prezintă deleții majore, comparativ cu sub-tulpina Pasteur, dar și cu genomul *M. tuberculosis* H37Rv (gena cu locus-tag „B7493_14330” și gena cu locus-tag "B7493_17080"). Analiza filogenetică a arătat că sub-tulpina BCG România nu se grupează în mod particular cu nici o altă sub-tulpină studiată, cele mai apropiate fiind BCG Suedia și BCG Birkhaug.

Analiza genetică a continuat cu identificarea tipului/subtipului de duplicație DU existent în sub-tulpina BCG România, precum și a numărului de copii IS6110. În urma reacției de amplificare, a fost obținut un amplicon corespunzător primerilor care amplifică joncțiunea caracteristică tipului DU2-III. De asemenea, primerii care flanchează regiunea de deleție Δ int, au amplificat un fragment specific de aprox. 400 pb (397pb în BCG Pasteur), ceea ce sugerează existența acestei deleții. Aprecierea mărimii ampliconilor obținuți s-a realizat prin compararea cu un marker de greutate moleculară de 100 pb. A fost obținut un singur amplicon de aproximativ 350 pb în reacția în care s-a utilizat primerul ISA1, ceea ce sugerează existența unei singure copii IS6110. Aprecierea mărimii ampliconului s-a realizat prin compararea cu un marker de greutate moleculară de 100 pb. Prin generarea unei hărți de restricție in silico a genomului BCG Pasteur cu enzima Sall (BioEdit), a putut fi evidențiat un situs Sall în amonte de situsul complementar primerului ISA1, în care, probabil, a fost inserat linker-ul Sall, iar ampliconul rezultat ar avea 335 pb, ceea ce concordanță cu rezultatele obținute in vitro.

Pentru dezvoltarea unei metode adecvate de determinare a umidității reziduale din produsul finit – vaccin BCG liofilizat, s-au făcut documentarea științifică și reglementarea privind metodele de determinare a umidității reziduale, cu evidențierea metodelor nedistructive, respectiv analiza cu infraroșu apropiat (spectroscopia FT-NIR) care tinde să devină o metodă QC de elecție pentru materialele liofilizate datorită capacității sale de a penetra recipientele din sticlă sau din material plastic.

Pentru optimizarea procesului de fabricație a solventului Sauton diluat (mediul de reconstituire a vaccinului liofilizat BCG) prin implementarea noilor tehnologii de unică folosință, s-a făcut documentarea științifică și reglementarea privind elaborarea modelului experimental, s-au stabilit componentele tehnologiei single-use și în scopul optimizării

procesului de fabricație a Sauton-ului concentrat și diluat, s-au elaborat procedurile de operare standard și fișele de fabricație pentru prepararea solventului Sauton concentrat și a celui diluat utilizând tehnologiile de unică folosință, și s-a demarat studiul de compatibilitate al solventului Sauton cu materialele de unică folosință.

PN 16 39 02 07:

Polidinul a fost conceput ca o suspensie injectabilă la un volum de 1ml care conține 13 tulpini bacteriene gram pozitive și gram negative izolate din teren, inactivate și supuse bilolizei. Formularea finală pe lângă germeni conținea și excipienți : clorură de sodiu, fenol, bilă de bou, apă pentru preparate injectabile.

Explorarea efectelor imunomodulatoare a acestui produs sub o nouă formă de administrare și formulare face posibilă încadrarea ca supliment alimentar cu potențial de revalorificare. În **faza 1** a proiectului ne-am propus analiza mai detaliată a bacteriilor din compoziția Polidinului. Cercetarile efectuate în această fază au urmărit caracterizarea tulpinilor bacteriene gram pozitive și gram negative din componența prin metode și tehnici clasice de microbiologie și de biologie moleculară. S-au realizat stocurile tulpinilor bacteriene investigate. S-a înaintat solicitarea de evaluare către comisia de etică a studiilor pe model animal. În **faza 2** a proiectului ne-am propus explorarea *in vitro* a efectelor imunomodulatoare asupra unor parametri imuni. Cercetarile *in vitro* pe linia celulară THP1 au urmărit evaluarea a efectului componentelor bacteriene din Polidin dar și a preparatului Polidin și s-au evidențiat diferențe ale secreției citokinelor IL-1beta, IL-6, TNFalfa. S-a realizat preparatul Polidin. S-au completat investigațiile prin metode moleculare a tulpinilor bacteriene din componența Polidinelui.

În **faza 3 și 4** a proiectului am investigat *in vivo* a efectelor imunomodulatoare ale polidinelui administrat oral fie adăugat la hrana fie prin includerea în apa de băut și utilizarea unei formulări noi care a presupus liza bacteriană cu o soluție de 1% deoxicolat de Na în locul bilolizei 4%. Pe toată durata administrării Polidinelui nu au fost înregistrate semne clinice de suferință iar curba ponderală a înregistrat valorile fiziologice. Analiza comparativă a nivelelor serice ale unor citokine proinflamatorii (IL-6, IFNg, TNFa, KC, FAS și MMP9) între soarecii naivi și cei care au primit imunomodulatorul în diferite formulări a evidențiat o scădere a concentrației serice a acestora fără semnificație statistică. Pentru a evalua efectul imunomodulator al preparatelor bacteriene, au fost realizate modele de infecție cu *S. Tiphymurium* (ST) și tulpina murină de Influenza A H1N1 /Puerto Rico/ 8/1934 (PR8). Analiza tabloului clinic în toate grupurile de șoareci a arătat prezența infecției dar comparativ cu martorul naiv, șoarecii care au primit polidin au prezentat o pierdere în greutate mai mică față de aceștia. Aceste diferențe au fost mai mici atunci când grupurile de șoareci au fost comparate cu grupurile martor bilă și deoxicolat, evidențiind influența imunomodulatoare a acestora. Rezultatele analizei serice a citokinelor au arătat în infecția cu ST, că în grupurile la care s-a administrat oral polidin 4% bila nivele serice ale citokinelor a fost mai scăzută față de grupul șoarecilor naivi. Analiza producției speciilor reactive de oxigen (ROS) de către granulocitele medulare a evidențiat nivele intracelulare cele mai mari de ROS în infecție la grupurile murine care au primit polidin preparat cu 1% deoxicolat. Cercetarile efectuate au evaluat efectul imunomodulator al polidinelui pe modele murine de infecție și au fost evaluate formulările cu bilă și deoxicolat

PN 16 39 02 08:

PN 16 39 02 08 și-a propus caracterizarea tulpinilor izolate de la pacienții cu infecții repetate stafilococice cutanate și adresabilitate pentru autovaccin și analiza detaliată a statusului imun al acestora înainte și după administrarea autovaccinului, pentru stabilirea unor eventuale corelații clinice și epidemiologice.

În faza I a proiectului s-a redactat formularul de consimțământ informat care să fie analizat și semnat de către pacienții care își manifestă disponibilitatea pentru participarea benevolă la acest studiu. S-a întocmit un raport care a fost înaintat spre avizare Comisiei de etică a INC Cantacuzino în care s-au precizat condițiile de desfășurare a proiectului, eșantioanele care vor fi recoltate de la pacienți și investigațiile la care vor fi supuse aceste probe biologice (raport de evaluare favorabil CE/104/1.08.2016). S-a elaborat un algoritm de investigare a pacienților cu infecții stafilococice recurente cu adresabilitate pentru autovaccin.

În faza a II-a a proiectului s-a început înregistrarea voluntarilor, persoane cu infecții cutanate recurente (infecții identificate etiologic ca fiind stafilococice și cu recurențe foarte probabil cu aceeași etiologie) care s-au prezentat la Institutul Cantacuzino cu recomandarea efectuării unui autovaccin. După semnarea consimțământului informat, voluntarilor li s-a făcut o anamneză riguroasă și li s-au recoltat probe pentru investigarea bacteriologică și pentru cea imunologică. S-a constituit și un lot martor alcătuit din persoane fără infecții cutanate stafilococice de la care s-au recoltat probe de sânge pentru investigații imunologice.

Investigația bacteriologică a urmărit izolarea și caracterizarea fenotipică a tulpinilor responsabile de infecțiile recurente purulente. S-a verificat și prezența portajului nazal de *S. aureus* la subiecții introduși în studiu. Materialul genetic a fost extras și stocat în vederea prelucrării. Tulpinile stafilococice izolate de la nivelul leziunilor cutanate au fost stocate și trimise laboratorului care se ocupă cu elaborarea autovaccinului după protocolul propriu.

Din probele de sânge s-a lucrat hemoleucograma completă, s-a calculat nivelul seric de proteină C reactivă și de imunoglobuline totale (IgE, IgG, IgM și IgA), s-a făcut evaluarea producției de specii reactive de oxigen și a funcției granulocitare și fenotiparea limfocitară prin citometrie de flux.

În faza a IIIa a proiectului, pe lângă continuarea activităților începute în faza I, s-a prelucrat materialul genetic extras din tulpinile stafilococice, efectuându-se următoarele investigații: reacția de polimerizare în lanț (PCR) pentru genele *nuc*, *lukS/F-PV*, *mecA*; pentru genele *seA-seE* care codifică enterotoxinele A-E, gena *tst1* care codifică toxina sindromului de șoc toxic, genele *eta*, *etb* care codifică toxinele exfoliative A și B. S-au efectuat metodele de tipizare: *spa* typing și *agr* typing. Pentru determinarea clonalității tulpinilor izolate înainte și după terapia cu autovaccin s-a utilizat tehnica PFGE.

În faza a IVa a proiectului s-au continuat și finalizat activitățile din faza a III-a și s-au comparat rezultatele obținute în momentul includerii pacienților în studiu și după finalizarea administrării vaccinului autolog și s-au corelat datele de evoluție clinică cu cele de laborator.

2.2. Proiecte contractate:

Cod obiectiv	Nr. proiecte contractate	Nr. proiecte finalizate	Valoare (mii lei)		Total (lei)
			2016	2017	
1. PN 16 39 01	5	5	1596,37	1606,25	3202620,00
2. PN 16 39 02	8	8	2023,63	2500,00	4523630,00
Total:	13	13	3620,00	4106,25	7726250,00

2.3 Situația centralizată a cheltuielilor privind programul-nucleu : Cheltuieli în lei

	2016	2017	Total
I. Cheltuieli directe	2403536,00	3176489,00	5580025,00
1. Cheltuieli de personal	657461,00	1276829,00	1934290,00
2. Cheltuieli materiale și servicii	1746075,00	1899660,00	3645735,00
II. Cheltuieli Indirecte: Regia	600886,00	794046,00	1394932,00
III. Achiziții / Dotări independente din care:	451422,00	135715,00	587137,00
1. pentru construcție/modernizare infrastructura	0,00	0,00	0,00
TOTAL (I+II+III)	3455844,00	4106250,00	7562094,00

3. Analiza stadiului de atingere a obiectivelor programului

(descriere)

PN 16 39 01 01: Obiectivele propuse au fost atinse în totalitate, după cum urmează:

1. Stabilirea compoziției specifice, a distribuției și densității relative a principalelor specii de culicide potențial vectoare în regiunea București-Ilfov.

Cunoașterea adecvată a structurii și distribuției spațiale a populațiilor de culicide la nivelul capitalei și a zonelor periurbane adiacente, precum și a dinamicilor sezoniere ale principalilor vectori furnizează suportul necesar pentru fundamentarea unor strategii operaționale preventive eficiente.

2. Identificarea focarelor active (zone de tip „hotspot”) de circulație arbovirală la nivelul capitalei.

Studiul nostru arată ca virusul West Nile se amplifică în microfocare. Structura ecologică și stabilitatea în timp a unui

astfel de focar de circulație a virusului, "hot spot", depinde foarte mult de ciclul biologic al patogenului și de biologia vectorului. În cazul patogenilor transmiși de țânțarii vectori, aceste micro-focare sunt cel mai adesea temporare, tranzitorii, fiind deosebit de active o perioadă de câteva săptămâni, în a doua jumătate a verii, după care se sting natural. Menținerea endemică a virusului de la un an la altul a fost documentată prin metode moleculare. Astfel, din totalul de 53 de probe pozitive identificate în cei doi ani de studiu, un număr de cinci au fost secvențiate după segmentul genetic NS5, fiind evidențiate tulpina virală Volgograd-2007, și o tulpină virală similară cu Nea Santa-2010. Ambele tulpini aparțin liniei genetice II de virus *West Nile*. Tulpina Nea Santa este o tulpină virală foarte virulentă ce a cauzat cea mai gravă epidemie de WN din Grecia (zona Central Macedonia) în anul 2010. Ținând cont de faptul că în anii precedenți studiului nostru această tulpină nu a fost înregistrată pe teritoriul țării noastre și de numărul redus de probe în care a fost evidențiată în 2016 (o probă), considerăm că această tulpină a fost introdusă recent în țara noastră.

3. Identificarea și analiza factorilor favorizanți pentru amplificarea arbovirusurilor și transmiterea acestora la om.

Analiza dinamicilor factorilor meteorologici din anul 2016 indică faptul că începutul anului a fost caracterizat de temperaturi scăzute și precipitații relativ abundente. Acest lucru a avut ca rezultat decalarea perioadei de migrație de primăvară, în sensul întârzierii, pentru unele specii de păsări migratoare și implicit decalarea perioadei de cuibarit pentru aceste specii. Întârzierea migrației se pare că a favorizat inițierea ciclului de amplificare virală din două motive:

a) În momentul ajungerii păsărilor migratoare (posibil viremice), populația de culicide avea densități semnificative fapt ce a permis transferul virusului către vectorii de tip culicid;

b) Decalarea perioadei de cuibarit la unele specii a favorizat amplificarea circulației virale până spre sfârșitul verii, puștii nidicoli ai multor specii de păsări reprezentând gazde de hranire pentru culicidele preponderent ornitofile cum este cazul speciei *Culex pipiens* considerată principalul vector al virusului *West Nile* în Europa.

Începând cu sfârșitul lunii iunie, anul 2016 a devenit canicular și extrem de secetos. Acest lucru a condus la reducerea numerică a populațiilor de culicide dar la creșterea „concentrației de virus”. În sprijinul acestor afirmații stă și numărul mare de cazuri de infecții cu virus *West Nile* înregistrate în București și zonele adiacente, în anul 2016.

4. Realizarea hărții de risc epidemic (studiu experimental) și elaborarea setului de măsuri intervenționale specifice.

Prin realizarea hărții GIS de risc epidemic (studiu experimental) la nivelul Bucureștiului și a zonelor adiacente, ne dorim implementarea unui sistem de avertizare precoce asupra zonelor și perioadelor de risc epidemiologic arboviral, în funcție de dinamica valorilor parametrilor luați în considerare. În plus, pe baza analizei datelor colectate din teren se va elabora un set de măsuri prevenționale eficiente, aplicabile locoregional în zonele de risc. Prin elaborarea acestor măsuri cu aplicare temporală și regională țintită proiectul nostru își propune să contribuie atât la reducerea costurilor de control al vectorilor cât și la diminuarea riscului de epidemii arbovirale în zona propusă de studiu.

PN 16 39 01 02: PN 16 39 01 02: Obiectivele proiectului au fost realizate în totalitate pentru indicatorii propuși.

Cercetările aplicative desfășurate au dus la elaborarea unor procedee inovative în domeniul microproductiei de medii de cultură, domeniu de activitate a Institutului Cantacuzino. Utilizarea radiațiilor gamma pentru sterilizarea mediilor a fost pentru prima dată utilizată în cadrul laboratorului de microproductie de medii de cultură. În vederea aplicării acestei metode de sterilizare au fost optimizate rețetele mediilor de cultură și au fost testate diverse niveluri de radiații gamma. În urma sterilizării prin radiații gamma unele formule de medii de cultură (ex mediul de cultură pentru germeni anaerobi, mediul pentru identificarea stafilococului patogen) și unele forme de condiționare a produsului finit au suferit modificări ale calitatilor biologice respectiv fizice și au fost excluse în experimentările ulterioare.

A fost întocmit raportul de evaluare a mediilor de cultură optimizate și s-a stabilit nivelul optim al radiațiilor pentru asigurarea sterilității cu păstrarea caracteristicilor biologice ale produselor. Cunoștințele obținute au fost transferate Laboratorului de producție medii, unde au fost utilizate pentru revizuirea a 26 dosare de fabricație în care au fost definite toate etapele de fabricație conform fluxurilor tehnologice de preparare, a 26 specificațiilor de produs finit cu descrierea exactă a compoziției mediilor de cultură, a formei de prezentare și a caracteristicilor de control (aspect fizic, sterilitate, pH-metrie și eficiența), a condițiilor de păstrare, precum și a temenului de valabilitate.

PN 16 39 01 03: Obiectivele fazelor au fost atinse in totalitate

Testarea sistemului GeneXpert pe probe de apa reziduala, concentrate prin doua metode : metoda OMS si metoda in house (ultracentrifugare), precum si a probelor de scaun izolate de la copii sanatosi

Au fost secventiate in I Pasteur Paris, 36 tulpini de enterovirus nonpolio izolate din probe de apa uzata si 23 tulpini de enterovirus nonpolio izolate din probe de scaun recoltate de la copii sanatosi. In paralel au fost investigate probe de scaun pozitive pentru enterovirusuri, in vederea determinarii enteropatogenilor intestinali si a fost evaluata co-circulatia enterovirusurilor si norovirusurilor in probe de apa uzata , in arii la risc.

PN 16 39 01 04: Obiectivele proiectului au fost indeplinite integral.

S-a evaluat imunitatea umorale antiinfecioase prin detectarea prezentei anticorpilor anti- *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Chlamydia* si *Klebsiella pneumoniae* în ser si in lichidul sinovial al pacienților cu spondilartrite in paralel cu detectarea prezentei patogenilor enterici in materiile fecale ale pacientilor cu spondilartropatii. S-a detectat in dinamica aceste titruri de anticorpi anti- *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Chlamydia* si *Klebsiella pneumoniae* la un numar restrans de pacienti datorita dificultatii de colectare in dinamica a probelor biologice la intervale de 6 luni si 1 an. S-a investigat prezenta agentilor patogeni in saliva, urina, materii fecale la pacientii si martorii inclusi in studiu prin metode bacteriologice si moleculare.

S-a investigat profilul de citokine in ser si in lichidul sinovial al bolnavilor folosind tehnologia Multiplex pe platforma Luminex. S- au detectat concentratiile autoanticorpilor (anti – SSA-52, SSA-60, SSB, Sm, RNP, Scl-70, Jo-1, Centromer B, Ribozomal P) folosind tehnologia Multiplex pe platforma Luminex in serul pacientilor inclusi in studiu. S-a detectat titrurile de anticorpi ATPO, anti-Tg, TSH la pacientii cu anticorpi anti-*Yersinia* pozitivi pentru a detecta prezenta consecutiva a mai multor boli autoimune la acelasi pacient si in special bolile autoimune consecutive infectie cu *Yersinia* (patogeneza bolilor autoimune ale tiroidei asociată infectie cu tulpini de *Y. enterocolitica* a fost atribuită mimetismului molecular). A fost analizata prin metode genetice microbita intestinala la 10 pacienti cu diferite patologii autoimune pentru a detecta modificari in compozitia florei intestinale si corelarea acestor rezultate cu manifestarile articulare si severitatea bolii. Rezultatele obtinute orienteaza catre o continuarea a studiului prin utilizarea unor metode de investigare care au putut evidentia particularitati in cazul pacientilor cu spondilartropatii, metode ce ar putea fi utilizate ca pentru detectarea agentului declansator al acestor patologii si eventual in orientarea tratamentului (ex. anticorpi anti-*Yersinia*, studiul microbiotei intestinale, studiul profilului citokinic etc.). Pentru clarificarea unora dintre rezultatele obtinute este necesară extinderea studiului pe un numar mai mare de pacienti.

PN 16 39 01 05: Obiectivele propuse pentru acest proiect au fost atinse integral, respectiv:

S-au realizat rețetele de diete purificate, s-au fabricat și s-au caracterizat chimic.

S-au creat loturile de animale (șoareci și șobolani) și s-au administrat furajele purificate.

Animalele au fost monitorizate pe durata administrării furajelor clinic.

S-au efectuat analize biochimice, hematologice, iar post-mortem analize histopatologice.

Rezultatele analizelor au evidențiat apariția la loturile de animale (în funcție de dieta administrată) a sindroamelor metabolice estimate respectiv: ateroscleroză, diabet de tip II, obezitate.

PN 16 39 02 01: Obiectivele propuse pentru proiect au fost realizate în proporție de 100%.

O cantitate de ~2 mg/ml anticorpi monoclonali purificati, secretati hibridoamele caracterizate (CIB 5, CIB 6 si CIB 13) au avut capacitate de neutralizare in vitro si inhibare a hemaglutinarii virusului gripal, subtipurul A/H5N1, pana la o dilutie de peste 1/2560, in functie de anticorp. In experimente au fost utilizati candidati vaccinali virali derivati din tulpini inalt patogene apartinand cladei 1 (2 tulpini) si 2.2 (1 tulpina). Au fost identificate, prin RT-PCR urmata de secventiere automata (~400 baze), secventele genice codificatoare pentru domeniile VH si VL ale hibridoamelor mentionate, apoi analizate bioinformatic cu softurile de imunogenetica VBASE2 si IMGT pentru confirmare, prin comparare cu secvente similare existente la nivel international. Ele vor face parte dintr-o documentatie pentru brevetare/inovare, dupa analizele bazelor de date informatice care contin secvente brevetate pentru Romania.

2017. A fost optimizat si validat un test imunoenzimatic (ELISA) de captare antigenică, tip sandwich, pentru detectia virusului gripal, subtipurul A/H5, utilizand trei anticorpi monoclonali inalt specifici pentru hemaglutinina virala,

dezvoltati si caracterizati imunochimic si genetic in cadrul Institutului Cantacuzino, in premiera nationala. Rezultatele au arătat o limita de detectie (LOD) de 18,95 ng HA/ml și o specificitate analitică limitată numai la domeniul antigenelor gripale din subtipul A/H5. Testul este inalt reproductibil, compararea inter-laboratoare demonstrand o concordanta a rezultatelor de minim 90%, sensibilitatea de diagnostic fiind de 87,5-91,6%, iar sensibilitatea de 93,7%, caracteristici comparabile cu cele ale imunotestelor similare de la nivel international. La final s-a elaborat un protocol standard operational pentru executia imunotestului.

De asemenea, doi doctoranzi au participat la lucrarile din cadrul proiectului si s-au initiat colaborari stiintifice in domeniul imunotestelor si biosenzorilor, la nivel national, cu INCIE ICPE-CA Bucuresti si Institutul de Diagnostic si Sanatate Animala – Bucuresti.

PN 16 39 02 02: Obiectivele proiectului au fost atinse in totalitate

In prima faza a proiectului au fost optimizate conditiile de diferentiere in vitro a celulelor dendritice din maduva osoasa si au fost stabilite conditiile de stimulare in vitro a BMDC si a splenocitelor cu adjuvanti si combinatii de adjuvanti si liganzi TLR, permitand evaluarea influentei acestora asupra etapelor initiale de dezvoltare a raspunsului imun. In faza a doua a fost evaluat efectul diversilor adjuvanti/ liganzi TLR asupra maturarii maturarii BMDC, prin determinarea cresterii expresiei de MHCII pe suprafata precum si influenta prezentarii antigenului de catre BMDC maturate in prezenta adjuvantilor asupra secretiei de citokine de catre limfocitele T specifice. În cea de-a treia fază, a fost evaluata capacitatea celulelor dendritice derivate din maduva osoasa (BMDC) maturate in prezenta diversilor liganzi TLR de a modula secretia de citokine de catre limfocitele T specifice, la recunoasterea antigenului, permitand selectarea conditiilor optime pentru imunizare. A fost elaborat, de asemenea, protocolul experimental pentru evaluarea influentei tipului de răspuns imun indus in vivo prin imunizare în prezența diverselor combinatii de adjuvanti asupra evolutiei bolii in infectia gripala experimentală la soareci, in lipsa unui raspuns prin anticorpi neutralizanti, si au fost obtinute aprobarile legale. În cea de-a patra fază, au fost extinse studiile in vitro si ex vivo pentru evaluarea efectului diverselor combinatii de adjuvanti/liganzi TLR asupra etapelor initiale de dezvoltare a raspunsului imun prin includerea de liganzi TLR pentru receptori intracelulari, permitand caracterizarea efectului acestora asupra maturarii, secretiei de citokine și capacitatii de prezentare a antigenului a celulelor dendritice derivate din maduva osoasa (BMDC). Pe baza rezultatelor obtinute in aceste experimente au fost selectate formularile folosite pentru imunizarea soarecilor din studiul de infectie experimentală.

PN 16 39 02 03: Obiectivele fazelor au fost atinse in totalitate

Acest proiect a permis obținerea de rezultate interesante, promițătoare pentru dezvoltarea unui nou concept de vaccin. Folosirea proteinelor care să se poată lega de adjuvant ar putea să ducă la o mai bună eficiență a materialul injectat.

In cadrul fazei 1 au fost analizate mai multe programe de optimizare a codonilor pentru expresia proteinelor micobacteriene în *E. coli*. Rezultatele obținute au arătat că programul DNA WORKS ar putea fi cel potrivit pentru sinteza acestora. Prin urmare au fost obținute secvențele sintetice cu primerii corespunzători, precum și primerii destinați realizării moleculelor de ADN recombinant.

In faza 2 au fost clonate secvențele sintetice ale proteinelor ESAT6, CFP10 și MPT64 în plasmide care permit producerea proteinelor native, dar și cu HisTag (6 resturi de Histidină) și LizTag (6 resturi de Lizină) la capatul N-terminal. Moleculele de ADN recombinant rezultate au fost introduse într-o sușă *E. coli* de expresie, în vederea inducerii sintezei proteinelor de interes.

În urma expresiei s-au obținut proteine recombinante fuzionate cu LizTag în capatul N-terminal în forma solubilă. De asemenea au fost stabilite condițiile primare de lucru pentru purificare. Din datele obținute se observă că soluția globală de purificare se bazează pe schimbători cationici chiar și la un pl mai mic.

Prezentul proiect a permis demonstrarea faptului că dacă proteina este încărcată pozitiv aceasta poate fi legată de adjuvant, care la rândul lui servește drept transportor. Demonstrarea a fost făcută in faza 4, folosind măsurători de potențial Zeta ceea ce reprezintă o dovadă indirectă a acestui fenomen. Probabil că într-o etapă ulterioară ar utilă construirea unui sistem artificial prin fuziune Liz-Tag cu o proteină fluorescentă precum green fluorescent protein care să dovedească mult mai intuitiv această legare. De asemenea ar trebui dovedit pentru un experiment *in vitro* eficiența acestui sistem în comparație cu sistemul clasic. Continuarea proiectului ar putea să urmeze aceste două linii.

PN 16 39 02 04: Obiectivele propuse pentru anii 2016-2017 au fost realizate in proportie de 100%.

- Am standardizat protocolul de lucru pentru testarea capacitatii de epurare a radicalilor •OH prin metoda HORAC (Hydroxyl Radical Absorbance Capacity).
- Am evidentiat ca procesul de productie nu induce diferente semnificative de la un lot la altul, in ceea ce priveste capacitatea de epurare a radicalilor •OH testata prin metoda HORAC. In plus, am identificat valoarea medie a capacitatii de epurare a radicalilor •OH corespunzatoare loturilor (8 loturi) din productia anului 2015, informatie utila in vederea identificarii unui interval de variatie a valorilor HORAC pentru SOD Natural.
- Am standardizat protocoalele de lucru pentru testarea capacitatii de reducere a ionilor Fe³⁺ prin metoda FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) si pentru testarea capacitatii de epurare a radicalilor ONOO⁻
- Am testat 8 loturi de SOD Natural (anul 2015) din punct de vedere al capacitatii antioxidante prin metodele mentionate mai sus (HORAC, FRAP, Griess) si prin metodele deja standardizate in laboratorul nostru (ORAC si DPPH). Chiar daca studiile noastre au dovedit ca SOD Natural nu prezinta capacitate semnificativa de reducere a ionilor Fe³⁺ si de epurare a ONOO⁻, standardizarea metodelor corespunzatoare (FRAP si Griess modificata) constituie un element pozitiv, aceste protocoale putand fi utilizate in viitor in laboratorul nostru pentru testarea altor extracte vegetale.
- Au fost efectuate teste pentru analiza chimica si biochimica a produsului SOD Natural, incluzand continutul de metale grele
- Am testat capacitatea antioxidanta a SOD Natural total si fractionat (>100kDa si <100kDa) pastrat la 4°C (temperatura de pastrare indicata in prospect) si 20-25°C, timp de 12 luni. Rezultatele au aratat ca pastrarea produsului la 20-25°C duce la scaderea accelerata a capacitatii antioxidante. De asemenea, capacitatea antioxidanta (de epurare a radicalilor hidroxil si peroxil) se datoreaza fractiei superioare (>100kDa), fara a fi identificati compusii biochimici care confera aceasta proprietate produsului SOD Natural. Datele obtinute constituie baza pentru studii ulterioare privind necesitatea introducerii in procesul tehnologic a unei eventuale fractionari si/sau concentrari a actualului produs finit.
- Am stabilit un model in vitro pentru testarea SOD Natural pe co-culturi de celule intestinale si celule hepatice;
- Am inceput redactarea procedurilor corespunzatoare metodelor ORAC si HORAC in scopul transferarii acestora catre Laboratorul Control Intern si introducerea ORAC si HORAC in metodologia curenta de testare a produsului SOD Natural.
- Am trimis spre publicare in Romanian Archives of Microbiology and Immunology articolul cu titlul „Hydroxyl and alkyl radicals scavenger activity of Natural SOD”
- Am documentat si am inregistrat la OSIM o cerere de brevet de inventie “Supliment alimentar antioxidant pe baza de orz verde, procedeu de fabricatie si metoda de utilizare” (Nr. A/00236 din 19.04.2017).
- Am intocmit documentatia tehnica si am notificat la Institutul de Biresurse Alimentare (IBA) produsul SOD Natural (Nr. 11205/28.07.2017).

Rezultatele obtinute au o contributie importanta la o mai buna caracterizare a produsului SOD Natural si stau la baza imbunatatirii metodologiei de testare conform normelor internationale in vigoare.

PN 16 39 02 05: Obiectivele proiectului au fost atinse in totalitate.

In prima faza a proiectului a fost elaborat modelul experimental de cultivare a bacteriilor in bioreactor de laborator operat in modul discontinuu repetat “repeated batch” si s-au stabilit conditiile optime pentru obtinerea masei bacteriene folosite pentru prepararea produselor imunomodulatoare in scopul cresterii randamentului de obtinere a masei bacteriene. S-a realizat caracterizarea fizico-chimica a imunomodulatorului bacterian utilizand tehnologia MALDI-TOF/TOF si s-a determinat activitatea biologica a acestuia prin masurarea secretiei de citokine.

În a doua faza a proiectului, a fost realizata caracterizarea fizico-chimică a extractului bacterian purificat, prin Dynamic Light Scattering pentru informatii cu privire la distributia particulelor pe dimensiuni, cromatografie in strat subtire pentru evaluarea separarii componentelor pe baza caracterului polar/nepolar si spectrometrie de masa (MALDI-MS) pentru identificarea unui “fingerprint” specific imunomodulatorului obtinut.

În a treia fază a proiectului, s-a elaborat și realizat un model experimental *in vitro* de dermatită atopică care presupune utilizarea keratinocitelor, celule majoritare în epiderma, cu rol foarte important în patogenizarea bolilor inflamatorii cutanate. De asemenea, în cadrul acestei faze s-a elaborat modelul experimental *in vivo* de dermatită atopică care constă în inducerea de leziuni cutanate la șoareci în urma sensibilizării cu dinitroclorbenzen (DNCB) și s-au obținut aprobările necesare.

În a patra fază a proiectului, s-a realizat modelul experimental *in vivo* de dermatită atopică și s-au evaluat efectele imunomodulatoare ale extractului bacterian CANTASTIM asupra unor componente ale sistemului imunitar în dermatita atopică indusă experimental.

Rezultatele obținute utilizând modelele experimentale *in vitro* și *in vivo* de dermatită atopică realizate în cadrul acestui proiect au arătat că extractul bacterian CANTASTIM are capacitatea de a modula producerea de TARC, MDC, IL-6 și IL-8 de către keratinocite precum și nivelul seric de IgE total, mediatori cu rol cheie în patologia dermatitei atopice, ceea ce sugerează că imunomodulatorul CANTASTIM administrat cutanat ar putea avea efect terapeutic în dermatita atopică ceea ce ar conduce la îmbunătățirea stării de sănătate și la ameliorarea simptomatologiei caracteristice acestei afecțiuni inflamatorii cutanate.

PN 16 39 02 06: Au fost îndeplinite toate obiectivele și activitățile preconizate pentru atingerea obiectivelor.

S-a realizat pentru prima oară secvențierea integrală a genomului *Mycobacterium bovis* BCG România și s-au analizat secvențele obținute, s-a făcut documentarea științifică și reglementară privind stabilirea unei metode adecvate de determinare a umidității reziduale din produsul finit și s-au stabilit componentele tehnologiei single-use în scopul optimizării procesului de fabricație a Sauton-ului concentrat și diluat, s-au elaborat procedurile de operare standard și fișele de fabricație și s-a demarat studiul de compatibilitate al solventului Sauton cu materialele de unică folosință.

PN 16 39 02 07: Au fost îndeplinite toate activitățile din cadrul fazelor proiectului.

Astfel, în 2016 tulpinile bacteriene au fost caracterizate fenotipic și molecular și au fost reactualizate stocurile de tulpini bacteriene. Au fost testate *in vitro* proprietățile imunomodulatoare ale polidininului produs și s-a obținut autorizarea din partea Comisiei de Etică de experimentare pe model animal. Rezultatele realizate au fost prezentate la Al V-lea simpozion național ARSAL cu participare internațională în asociere cu board of management FELASA, 10-11 noiembrie 2016, Facultatea de Medicină Veterinară București. În 2017 s-au realizat modelele experimentale de testare orală a proprietăților imunomodulatoare ale polidininului clasic obținut prin biloliza bacteriană și o formulare nouă obținută prin liza cu deoxicolat de Na. Ambele formulări în administrare orală au avut efect imunomodulator dar rezultatele au sugerat că polidininul cu deoxicolat ar avea un caracter mai proinflamator. Rezultatele au fost comunicate la A-47-a Conferință Anuală de Imunologie cu participare internațională, 4-6 oct. 2017, București. Rezultatele *in extenso* urmează a fi publicate.

PN 16 39 02 08: Proiectul PN16390208 a fost finalizat, obiectivele fiind atinse.

S-au actualizat pe bază de dovezi informații privind infecțiile stafilococice recurente (factor infecțios, răspuns imunitar). S-a urmărit evoluția unor pacienți aflați sub tratament cu vaccin autolog: evoluția focarului infecțios propriu-zis, starea de portaj nazal stafilococic, caracterizarea fenotipică și genotipică aprofundată a tulpinilor implicate în infecție (factori de virulență, rezistență la antibiotice), parametri ai răspunsului inflamator și parametri ai răspunsului imunitar. S-a elaborat o metodologie de investigare a pacienților cu infecții stafilococice recurente cu adresabilitate pentru autovaccin.

4. Prezentarea rezultatelor:

4.1. Valorificarea în producție a rezultatelor obținute:

Denumirea proiectului	Tipul rezultatului	Efecte scontate
PN 16 39 01 01: Un sistem integrat, conceptual nou, pentru evaluarea, monitorizarea și diminuarea riscului de infecții cu transmitere vectorială în regiunea București-Ilfov	Metodă validată intern Metodă de analiză, validată intern Studiu experimental privind distribuția spațială a populațiilor de vectori și a gazdelor vertebrate Studiu experimental de elaborare a hărții de risc arboviral la nivelul zonei București-Ilfov și elaborarea setului de măsuri intervenționale.	Creșterea calității vieții și protecția sănătății locuitorilor capitalei și zonelor urbane adiacente.
PN 16 39 01 02: Dezvoltarea/optimizarea de medii de cultura, reactivi, sisteme de diagnostic microbiologic și material de referință	Documentații Studii	- creșterea calității diagnosticului microbiologic în laboratoarele medicale și laboratoarele de microbiologia apei prin inovare în domeniul microproductiei de medii de cultura; - creșterea eficienței și rentabilității activităților Institutului Cantacuzino
PN 16 39 01 03: Evaluarea riscului de import a poliovirusului prin detectarea rapidă a circulației enterovirusurilor umane la copii sănătoși și în ape reziduale	Dezvoltarea unui algoritm de diagnostic metoda moleculară, combinată cu izolare pe culturi celulare	Supravegherea utilizând metode de diagnostic rapidă a circulației tulpinilor de enterovirus în România. Influențarea politicilor naționale de Sănătate Publică prin extinderea acestui studiu pilot la nivel național, stabilind astfel corelații între modelele evolutive ale noilor tulpini circulante de enterovirus și patologie.
PN 16 39 01 04: Stabilirea unor parametri imunologici în serul pacienților cu boli autoimune consecutive unor boli diareice - o utilitate demonstrată pentru stabilirea cauzei bolii autoimune ori doar o testare de rutină?	- Documentație privind informații generale despre spondilartropatii seronegative - Metode optimizate - Algoritm de diagnostic optimizat - Studiu privind relația dintre prezența anticorpilor antiinfecțioși, factorului genetic (HLA B27), prezența patogenilor bacterieni în diferite produse biologice, patternul de citochine, prezența inflamației intestinale și severitatea bolii	Creșterea calității actului medical și a eficienței diagnosticului de laborator în spondilartropatii prin: <ul style="list-style-type: none"> • optimizarea metodelor de diagnostic utilizate pentru evaluarea imunității umorale • generarea de cunoștințe cu privire la dinamica anticorpilor specifici anti-infecțioși la pacienți cu spondilartrite postinfecțioase și stabilirea unei corelații între persistența acestor anticorpi pe o perioadă mai lungă de timp, severitatea manifestărilor articulare și prezența factorului HLA-B27.
PN 16 39 01 05: Realizarea	Tehnologie și produse	Rezultatele sunt reprezentate de:

<p>de modele experimentale de sindroame metabolice induse prin administrarea de diete alcatuite din ingrediente purificate</p>		<p>- formulele de diete purificate, atat diete standard cât și diete susceptibile de a induce sindroame metabolice asumate: diabet tip II, ateroscleroză și obezitate, formule care daca își vor arăta efectele estimate vor fi brevetate.</p> <p>- dietele purificate fabricate din ingredientele achiziționate și caracterizarea lor fizico-chimică în comparație cu dietele purificate achiziționate din import, drept martor pozitiv.</p> <p>- loturi uniforme de animale de laborator (șoareci și șobolani) de ambele sexe la care s-a reuși inducerea de sindroame metabolice: ateroscleroză, diabet tip II și obezitate</p>
<p>PN 16 39 02 01: Dezvoltarea unui imunotest cu anticorpi monoclonali pentru utilizare in managementul gripei cu potential pandemic (A/H1 si/sau A/H5)</p>	<p>Test (tehnologie)</p>	<p>Imunotestul va conduce la imbunatatirea și modernizarea activităților de cercetare-dezvoltare, servicii si productie specifice INC Cantacuzino, in domeniul biotehnologiilor medicale, cu impact direct asupra programelor nationale de sanatate publica referitoare la infectia produsa de virusurile gripale cu potential pandemic.</p>
<p>PN 16 39 02 02: Investigarea tipului de răspuns imun celular polarizat indus de adjuvanti și impactul acestuia asupra evoluției patogeniei gripale (protecție vs exacerbare) în șoarecii imunizați</p>	<p>Studiu privind influența adjuvantilor/liganzilor TLR asupra maturarii celulelor dendritice și prezentarii antigenelor</p> <p>Metoda de producere, purificare și caracterizare a hemaglutininei recombinante a virusului gripal PR8 (A/Puerto Rico/8/1934(H1N1))</p> <p>Procedeu de evaluare a influentei tipului de răspuns imun indus in vivo prin imunizare în prezența diverselor combinatii de adjuvanti asupra evolutiei bolii in infectia gripala experimentală la soareci, in lipsa unui raspuns prin anticorpi neutralizanti</p>	<p>- imbunatatirea metodologiilor de studiu al adjuvantilor vaccinali prin implementarea unor protocoale experimentale in vitro cu impact direct asupra reducerii costurilor și a utilizarii animalelor de laborator în activitatea de cercetare-dezvoltare</p> <p>- caracterizarea adjuvantilor aflatii în dezvoltare în INC Cantacuzino prin prisma tipului de răspuns imun indus</p> <p>- caracterizarea efectului tipurilor distincte de răspuns imun celular asupra evolutiei patogeniei gripale în absenta protectiei conferite de anticorpii neutralizanti</p>
<p>PN 16 39 02 03: Un nou sistem de complex antigen-adjuvant - model experimental pentru</p>	<p>Dezvoltarea unei metode de obținere a unor complexe antigen-adjuvant stabile și cu imunogenitate crescută.</p>	<p>Îmbunatatirea stării de sanatate a populației prin dezvoltarea unui nou concept de vaccin si realizarea unor noi reactivi biologici, specifici.</p>

tuberculoză		
PN 16 39 02 04: Studii in vederea caracterizarii si imbunatatirii metodologiei de control a produsului SOD Natural	<p>Metodologii de testare</p> <p>Studiu</p> <p>Procedeu de fabricatie</p> <p>Metoda de utilizare</p> <p>Brevet</p>	<p>- acumularea de date stiintifice care pot sta la baza obtinerii a cel puțin unui nou produs antioxidant si/sau imunomodulator.</p> <p>Pe termen lung, rezultatele acestui proiect pot contribui la scaderea costurilor de control (si implicit de productie) al produsului SOD Natural si crearea oportunitatilor de colaborare cu alte grupuri de cercetare in scopul cresterii calitatii produsului in sine si a imbunatatirii fluxului tehnologic, rezultatele din cercetarea stiintifica putand sustine dezvoltarea tehnologica.</p>
PN 16 39 02 05: Efectele imunomodulatoare ale unor produse de origine bacteriana in afectiunile inflamatorii cutanate	<ul style="list-style-type: none"> - Tehnologie de cultivare a bacteriilor în sistem de operare discontinuu. - Procedeu de determinare a activitatii biologice a imunomodulatorilor pentru administrare sistemica/topica; - model experimental in vitro de dermatita atopica - studiu asupra efectelor imunomodulatoare ale extractului bacterian CANTASTIM in modelul experimental in vitro de dermatita atopica prin determinarea modularii secretiei de citokine/chemokine de catre keratinocite stimulate. - model experimental in vivo de dermatita atopica - studiu asupra efectelor imunomodulatoare ale extractului bacterian CANTASTIM in modelul experimental in vivo de dermatita atopica prin determinarea modularii nivelului seric de IgE total. - procedeu de evaluare a potentialului terapeutic al unui produs cu administrare topica in dermatita atopica indusa experimental 	<ul style="list-style-type: none"> - imbunatatirea metodologiilor de studiu a produsilor cu rol imunomodulator; - dezvoltarea de bioproduse cu potential impact major asupra starii de sanatate a populatiei.
PN 16 39 02 06: Optimizarea unor pasi din productia si controlul vaccinului BCG	<p>Metoda de caracterizare a tulpinii de Mycobacterium bovis BCG – Romania</p> <p>- Studiu proiect</p>	<p>Implementarea metodelor analitice elaborate în controlul de rutina la vaccinului BCG în conformitate cu reglementarile internaționale în vigoare.</p>

	<ul style="list-style-type: none"> - Dezvoltarea unei metode adecvate de determinare a umiditatii reziduale din produsul finit - Tehnologie modernizata - Optimizarea procesului de fabricatie a solventului Sauton prin implementarea noilor tehnologii de unica folosinta 	Modernizarea tehnologiilor de fabricatie prin folosirea avantajelor tehnologiilor de unica folosinta în dezvoltarea și optimizarea proceselor
PN 16 39 02 07: Revitalizarea si rentabilizarea unor produse biologice istorice de origine microbiana	Studiu proiect	<ul style="list-style-type: none"> - Sprijinirea sistemului de sănătate ca să răspundă provocărilor pe care le reprezintă îmbătrânirea populației și morbiditatea asociată imunodeficiențelor imune - Îmbunătățirea stării de sănătate a populației prin oferirea opțiunii de tratament de urgență nespecific în cazul apariției unui nou agent patologic sau a unui atac biologic
PN 16 39 02 08: Evaluarea factorului infectios si a statusului imun in infectii recurente cu Staphylococcus aureus, in vederea fundamentarii terapiei personalizate cu vaccinuri autologe	<p>Raport privind infecțiile recurente stafilococice.</p> <p>Bază de date privind tulpinile stafilococice implicate în infecțiile cutanate recurente.</p> <p>Bază de date privind statusul imun al pacienților cu infecții stafilococice recurente înainte și după terapia personalizată.</p> <p>Noi servicii.</p>	<p>Actualizarea pe bază de dovezi a informațiilor privind infecțiile stafilococice recurente (factor infectios, răspuns imun)</p> <p>Creșterea calității actului medical prin fundamentarea științifică a mecanismelor de producere a infecțiilor stafilococice recurente și dezvoltarea terapiei personalizate cu vaccinuri autologe în aceste contexte clinice, ca alternativă la terapia cu antibiotice.</p> <p>Reducerea consumului de antibiotice prin utilizarea terapiei personalizate cu vaccinuri autologe, contribuind în acest fel la controlul răspândirii rezistenței la aceste medicamente.</p> <p>Pregătirea unor cercetări fundamentale în infecțiile stafilococice recurente.</p> <p>Pregătirea condițiilor pentru posibila extindere a cercetării și metodelor de diagnostic optimizate la infecțiile recurente cu alte microorganisme.</p>

4.2. Documentații, studii, lucrări, planuri, scheme și altele asemenea:

Tip	Nr. Total	în 2016	în 2017
Documentații	7	6	1
Studii	19	8	11
Lucrări	26	13	13
Planuri			
Scheme	4	4	
Altele asemenea (<i>se vor specifica</i>)	38	2	36
Protocol	5	2	3
Modele experimentale	5		5
Harta de risc epidemic	1		1
Set de măsuri prevenționale pentru zonele de risc epidemic	1		1
Dosare de fabricatie si specificatii produs finit	26		26

Din care:

4.2.1. Lucrări științifice publicate în jurnale cu factor de impact relativ ne-nul (2016-2017):

Nr.	Titlul articolului	Numele Jurnalului, Volumul, pagina nr.	Nume Autor	Anul publicării	Scorul relativ de influență al articolului	Numărul de citări ISI
1.	Linezolid resistant <i>Staphylococcus hominis</i> isolated in a paediatric Romanian hospital	Romanian Biotechnological Letters, <i>in press</i>	Elena-Carmina Drăgulescu, Irina Codiță, Irina Nistor, Ileana Luminița Coldea, Roxana Șerban.	2016		
2.	Molecular Analysis of Community-Acquired <i>Staphylococcus aureus</i> strains isolated from Skin and Soft-Tissue Infections in Romania	Romanian Biotechnological Letters, <i>in press</i>	Elena-Carmina Drăgulescu, Mariana Buzea, Irina Codiță.	2016		
3	„Interacțiuni microorganism-gazda implicate in declansarea proceselor autoimune din artritele reactive”	Infectio.ro; Bucharest Iss. 48, (2016): 24-31.	Cristea Daniela, Adriana Simona Ciontea, Andrei Popa, Melania Mihaela Andrei, Irina Codita	2016		

4.2.2. Lucrări/comunicări științifice publicate la manifestări științifice (conferințe, seminarii, workshops, etc):

Nr. crt.	Titlul articolului, Manifestarea științifică, Volumul, Pagina nr.	Nume Autor	An apariție	Nr. citări ISI
1	Antimicrobial susceptibility profiles of <i>Listeria monocytogenes</i> strains isolated from clinical samples and food products – One Health Conference 2016 – Abstracts pp 42	CAPLAN Dana Magdalena et al	2016	
2	Oral Microbioma in Pets – A IX-a Conferinta Nationala SRM 2016 – Rezumate pag 87	CAPLAN Dana Magdalena et al	2016	
3	Oral administration in mice: voluntary ingestion. Al V-lea simpozion national ARSAL cu participare internationala in asociere cu board of management FELASA, 10-11 noiembrie 2016, Facultatea de Medicina Veterinara Bucuresti	Ioana Sonya Ciulean; Crina Stăvaru	2016	
4	Tulpini de <i>Shigella flexneri</i> izolate in Romania: aspecte de virulenta si clonalitate -poster; A IX-A Conferinta Nationala de Microbiologie si Epidemiologie-2016; Volumul 61-iulie-decembrie 3-4/2016; Pagina nr. 79	Cristea Daniela, Adriana Simona Ciontea, Dorina Tatu-Chitoiu, Mihaela Oprea, Maria Condei, Andrei Popa, Melania Mihaela Andrei, Monica Straut, Irina Codita, Codruta Romana Usein	2016	
5	"SOD Natural – supliment alimentar obtinut din orz verde", Nutraceutica – Salonul international de suplimente alimentare si nutritie, 14-16 aprilie 2016, Bucuresti	Andreea-Roxana Lupu, Lidia Cremer	2016	
6	"SOD NATURAL – EXTRACT DE ORZ VERDE CU CAPACITATE ANTIOXIDANTA", Forumul International de Medicina Integrativa, Editia a VII-a, Academia Romana, 10-12 iunie 2016, Bucuresti	Andreea-Roxana Lupu, Lidia Cremer	2016	
7	"The peroxy scavenger capacity of Natural SOD vegetal extract", International Conference on Aromatic and Medicinal Herbs in Food, 15-16 iunie 2016, Bucuresti	Lidia Cremer, Andreea-Roxana Lupu	2016	
8	«Natural SOD – green barley extract with antioxidant capacity», Second Summer School on Nutrigenomics, 5-9 septembrie 2016, Camerino, Italia	Andreea-Roxana Lupu, Lidia Cremer, Cristina Cercel	2016	
9	« SOD Natural, produs al Institutului Cantacuzino: de la traditie la inovare », A 46-a Conferinta Anuala de Imunologie (cu participare internationala), 5-7 octombrie 2016, Bucuresti	Andreea-Roxana Lupu, Lidia Cremer, Adrian Onu, Cristina Cercel	2016	

10	« Antioxidantii din alimente si din suplimente alimentare », prima Conferinta a Asociatiei Pacientilor cu Afectiuni Autoimune (APAA), 14-15 octombrie 2016, Bucuresti	Lidia Cremer	2016	
11	Izolati intestinali de Escherichia coli din serotipul O157:H7 VTX-Negativ; Conferinta Nationala de Microbiologie si Epidemiologie-2017, 21-4 noiembrie; Volumul 62-iulie-decembrie 3-4/2017; Pagina nr. 63	Codruta Romanita Usein, Adriana Simona Ciontea, Madalina Militaru, Daniela Cristea, Melania Mihaela Andrei, Andrei Popa, Diana Iliescu, Coralia Stanciu	2017	
12	Caracterizarea unor tulpini de Shigella sonnei producatoare de betalactamaze cu spectru extins;-poster- Conferinta Nationala de Microbiologie si Epidemiologie-2017, 21-4 noiembrie; Volumul 62-iulie-decembrie 3-4/2017; Pagina nr. 62	Daniela Cristea, Maria Nica, Adriana Simona Ciontea, Melania Mihaela Andrei, Andrei Popa, Mihaela Oprea, Madalina Militaru, Codruta Romanita Usein	2017	
13	Evaluarea riscului de import a tulpinilor de poliovirus prin supravegherea combinata a circulatiei enterovirusurilor in ape uzate si la copii sanatosi/ A X-a Conferinta Nationala de Microbiologie si epidemiologie/ Bacteriologia Virusologia Parazitologia Epidemiologia, vol 62, pag 51-52	Baicus A, Joffret ML, Delpeyroux F, Baidjoe A, Truica C, Pop R, Zorescu C Bessaud M	2017	
14	Detection of enterotoxin production in methicillin- susceptible and methicillin-resistant <i>S. aureus</i> strains isolated from food-borne and recurrent skin and soft tissues infections - Microbiologia Balkanica 2017, Abstract Book, pag. 223	E-C. Drăgulescu, S. Dinu, M. Militaru, I. Codiță, A-M. Nășcuțiu	2017	
15	Features of Human Listeriosis in Romania - A X-a Conferinta Nationala SRM 2017 – Rezumate pag 63-64	CAPLAN Dana Magdalena, CAPLAN Marius Eduard	2017	
16	Curs de medicina integrativa: Totul despre suplimentele nutritive: Cand le administram?, "Suplimente alimentare cu antioxidanti: beneficii si riscuri" 14 octombrie 2017, Bucuresti	Lidia Cremer	2017	
17	Endemic presence of West Nile virus in Romania - International Zoological Congress of Grigore Antipa Museum, 22-25 November 2017, Bucharest, Romania ; book of abstracts pp 26	Valeria Purcarea-Ciulacu et al.	2017	
18	„Modularea fenotipului si capacitatii de prezentare a celulelor dendritice derivate din maduva osoasa sub influenta unor ajuvanti particulati in combinatie cu liganzi TLR”, Al XVI-lea Simpozion Academician Nicolae Cajal al Academiei de Stiinte Medicale, Bucuresti, 17-21 aprilie 2017.	Catalin Tucureanu , Iuliana Caras, Vlad Tofan, Sonia Ciulean, Mihaela-Roxana Ioghen, Octavian Ioghen , Crina Stavaru , Adrian Onu, Aurora Salageanu, Simona Ruta	2017	
19	„Modularea fenotipului si capacitatii de	Catalin Tucureanu, Iuliana	2017	

	prezentare a celulelor dendritice derivate din maduva osoasa sub influenta unor ajuvanti particulati in combinatie cu liganzi TLR", A 47-a Conferință Anuală de Imunologie cu participare internațională, București, 4-6 Octombrie 2017.	Caras, Vlad Tofan, Sonia Ciulean, Mihaela-Roxana Ioghen, Octavian Ioghen, Crina Stavaru, Salageanu Aurora, Adrian Onu		
20	Model experimental de administrare orală a unui imunomodulator bacterian, A 47 Conferinta Anuala de Imunologie cu participare internațională, București, 4-6 Octombrie 2017.	Sonya Ciulean, Crina Stavaru	2017	

4.2.3. Lucrări publicate în alte publicații relevante:

Nr.	Titlul articolului	Numele Jurnalului, Volumul, Pagina nr.	Nume Autor	Anul publicării
1.	The integration of the molecular methods in the diagnosis algorithm for the poliovirus detection in the sewage water: comparing concentration and detection methods. A Pilot Study.	Rom J Intern Med.1;55(4):245-248.	Baicus A	2017
2.	Antibiosusceptibility spectrum of <i>Listeria monocytogenes</i> strains isolated from clinical and food samples	<i>International Journal of One Health</i> 3(1),40-47,2017	CAPLAN Dana Magdalena, CAPLAN Marius Eduard	2017
3	Formulation, preparation and chemical analysis of purified diets for laboratory mice and rats	SCIENTIFIC WORKS. C SERIES. VETERINARY MEDICINE, vol. LXIII (1): 149 - 154	Cristin Coman, Ene Vlase	2017

4.2.4. Studii, Rapoarte, Documente de fundamentare sau monitorizare care:

a) au stat la baza unor politici sau decizii publice:

Tip document	Nr.total	Publicat în:
Hotărâre de Guvern		
Lege		
Ordin ministru		
Decizie președinte		
Standard		
Altele (se vor preciza)		

b) au contribuit la promovarea științei și tehnologiei - evenimente de mediatizare a științei și tehnologiei:

Tip eveniment	Nr. apariții	Nume eveniment:
web-site		
Emisiuni TV		
Emisiuni radio		
Presă scrisă/electronică	1	“Extractul românesc de orz verde, unic in lume”, Romania Libera, rubrica Sanatate, 21.04.2016
Cărți		
Reviste		
Bloguri		
Altele (se vor preciza)		

4.3. Tehnologii, procedee, produse informatice, rețele, formule, metode și altele asemenea:

Tip	Nr. Total	2016	2017
Tehnologii	3	1	2
Procedee	5	2	3
Produse informatice		0	0
Rețele		0	0
Formule		0	0
Metode	23	10	13
Altele asemenea (se vor specifica)	16	8	8
Retete de diete purificate	5	5	
Stoc tulpini bacteriene de productie Polidin	1	1	
Algoritm	2		2
Metodologii de testare	7	2	5
Propunere de brevet	1		1

Din care:

4.3.1 Propuneri de brevete de invenție, certificate de înregistrare a desenelor și modelelor industriale și altele asemenea:

	Nr.propuneri brevete	Anul înregistrării	Autorul/Autorii	Numele propunerii de brevet
OSIM	1	2017	Andreea-Roxana Lupu, Lidia Cremer, Aurora Herold, Fanica Dascalu	“Supliment alimentar antioxidant pe baza de orz verde, procedeul de fabricatie si metoda de

				utilizare” (Nr. A/00236 din 19.04.2017)
				2.
EPO				
USPTO				

4.4. Structura de personal:

Personal CD (Nr.)	2016	2017
Total personal	74	68
Total personal CD	43	42
cu studii superioare	57	57
cu doctorat	34	35
doctoranzi	4	5

4.4.1 Lista personalului de cercetare care a participat la derularea Programului-nucleu:

Nr. crt	Nume și prenume	Grad	Funcția	CNP	Echivalenț normă întreagă	Anul angajării	Nr. Ore lucrate/ 2016	Nr. Ore lucrate/ 2017
1	ANDREI MELANIA MIHAELA		ASISTENT MEDICAL		0.04	1994	60	60
2	BAICUS ANDA	CS II	SEF LABORATOR		0.5	2000	584.5	756
3	BUSUIOC LILIANA		BIOLOG		0.1	1988	200	200
4	BOTOACA MARGARETA		ASISTENT MEDICAL		0.1	1974	60	200
5	CAPLAN DANA	CS I	SEF LABORATOR		0.8	2001	1092	1211
6	CARAS IULIANA	CS III	biochimist		0.9	1999	1127	1421
7	CARSTOIU MONICA		INGINER BIOTEHNOLOGI		0.1	2004	200	200
8	CARAGHEOR GHEOPOL	CS	BIOLOG		0.7	2008	0	1050

	RAMONA							
9	CEIANU CORNELIA	CS I	BIOLOG PRINCIPAL		0.7	1983	703	1207
10	CHERCIU CARMEN	CS	biochimist		0.1	2007	100	197
11	CHERSULICK ELENA	CSIII	BIOLOG		0.03	1980	50	30
12	CIUFU TUDORINA		PSV I		0.8	1989	944.5	0
13	CIULEAN SONYA		TEHNICIAN VETERINAR		0.9	2015	1036	1456
14	CIONTEA SIMONA ADRIANA		biolog		0.04	1995	60	60
15	COTAR ANI	CSIII	biolog		0.04	2001	60	60
16	CODITA IRINA	CSI	medic		0.08	1979	120	100
17	COMAN CRISTIN	CS II	medic veterinar		0.4	1996	296	732
18	COSTACHE ADRIANA	CS III	biochimist		0.9	2002	1069	1435
19	CARAVAN ELENA		asistent medical		0.1	1998	80	0
20	CREMER LIDIA	CS II	CHIMIST PRINCIPAL		0.8	2016	1015	1288
21	CRISTEA DANIELA	CSIII	BIOLOG		0.5	2005	1169	406
22	CZOBOR FRANCISC	CSIII	inginer chimist		0.1	2007	200	200
23	DASCALU FANICA		asistent medical		0.1	1983	86	0
24	DOBOSERIU FLOAREA		farmacist		0.1	2006	200	200
25	DRAGICI MIHAELA		INGINER BIOTEHNOLOG I		0.1	2014	200	200
26	DRAGULESCU CARMINA	CS	biolog		0.1	2006	45	200
27	DUCU ROBERT		biolog		0.1	2013	200	200

28	DINU ANGELICA		INGINER BIOTEHNOLOGI		0.4	2009	296	788
29	DINU SORIN	CS	biochimist		0.2	2007	200	270
30	FALCUTA ELENA	CS III	BIOLOG SPECIALIST		0.9	2005	1074	1379
31	GIUCA MIHAELA	AC	biolog		0.2	2008	221	0
32	HARLAUANU ADRIANA		PSV I		0.8	1994	1008	0
33	ILIE ANAMARIA		ASISTENT MEDICAL		0.04	2000	60	60
34	ILIE MARCELA		INGINER BIOTEHNOLOGI		0.7	2011	854	0
35	IONESCU GABRIEL		medic		0.04	1994	60	60
36	IONESCU MONICA		biochimist		0.1	1998	200	200
37	IVANCIUC ALINA ELENA	CS	BIOLOG		0.1	2007	180	197
38	LAZAR MIHAELA	CS	BIOLOG		0.1	2006	180	197
39	LINGURARI GEORGETA		asistent medical		0.04	1990	60	60
40	LIXANDRU BRANDUSA	CSIII	biolog		0.04	2001	45	0
41	LUPU ANDREEA	CS III	BIOLOG		0.3	2004	578	368
42	LUPULESCU EMILIA	CS III	medic		0.1	1985	160	70
43	MACOVEI IOANA	CS	BIOLOG		0.8	2005	966	1323
44	MIHALCEA ALINA	CSIII	INGINER BIOTEHNOLOGI		0.1	2004	100	0
45	MIHAILA FELICIA		inginer chimist		0.1	1989	200	200
46	METCAN ADRIANA		ASISTENT MEDICAL		0.8	2001	946	1414
47	MIHAI	CS III	BIOCHIMIST		0.1	1996	180	197

	MARIA		SPECIALIST					
48	MILITARU MADALINA	CS	BIOLOG		0.02	2008	115	110
49	NASCUTIU ALEXANDRA MARIA	CS III	MEDIC		0.5	2003	707	665
50	NYERGES LORETA		MEDIC		0.01	2000	0	20
51	ONU ADRIAN	CS I	fizician		0.9	1986	1078	1428
52	OPREA MIHAELA	CS III	BIOCHIMIST SPECIALIST		0.02	2001	466	380
53	OPREA CRISTINA	AC	BIOLOG		0.1	2008	60	130
54	OPRISAN GABRIELA	CS I	BIOLOG		0.1	1990	200	200
55	PANA MARINA	CSII	MEDIC PRIMAR		0.02	1991	224	70
56	PENCIU ALINA		ASISTENT MEDICAL		0.9	1994	1057	1407
57	POPA ANDREI		ASISTENT MEDICAL		0.04	1996	60	60
58	POPA ELENA		BIOLOG		0.01	2000	0	20
59	POPA MIRCEA IOAN		MEDIC PRIMAR		0.1	2017	200	200
60	PRIOTEASA LIVIU	CS III	BIOLOG		0.9	2005	1113	1407
61	PROTEASA DOINA		LABORANT DFC I		0.8	1986	1050	1274
62	PURCAREA CIULACU VALERIA	CS II	CS II BIOLOG PRINCIPAL		0.5	1997	143.5	1310
63	SALAGEANU AURORA	CS I	SEF LABORATOR		0.6	1983	462	1242
64	SAVULESCU LISAVETA		ASISTENT MEDICAL		0.04	1988	60	60
65	SCHOCTERU S LILIANA		REFERENT I A		0.1	1999	96	160
66	SERBANESC U CRISTIAN		OPERATOR CHIMIST I		0.9	1999	1101	0

67	STAVARU CRINA	CS II	SEF DEPARTAMEN T		0.9	1998	1183	1337
68	STRAUT MONICA	CS I	CHIMIST PRINCIPAL		0.7	1984	742	1288
69	TANASA RADU	CS II	medic veterinar		0.9	2007	1043	1431
70	TANASESCU MIRELA		ASISTENT MEDICAL		0.1	1987	80	0
71	TOFAN VLAD CATALIN	AC	chimist		1.0	2011	1255	1421
72	TUCUREANU CATALIN	CS	BIOCHIMIST		0.9	2006	1026	1460
73	URSU CLAUDIA	CS	biolog		0.9	2001	200	1544
74	USEIN CODRUTA	CSIII	MEDIC		0.1	1995	60	110
75	VLADIMIRES CU ALEXANDRU	CS I	BIOLOG PRINCIPAL		0.4	1995	0	640.5
76	VLASE ENE		medic veterinar		0.03	1998	96	70
77	VATASESCU ANCA		farmacist		0.1	2012	200	200
78	ZAHARIA MARILENA	CS	BIOLOG		0.9	2007	1127	1372

* Se vor specifica numărul de ore lucrate în fiecare dintre anii de derulare ai Programului Nucleu, prin inserarea de coloane

4.5. Infrastructuri de cercetare rezultate din derularea programului-nucleu. Obiecte fizice și produse realizate în cadrul derulării programului: colecții și baze de date conținând înregistrări analogice sau digitale, izvoare istorice, esantioane, specimene, fotografii, observații, roci, fosile și altele asemenea, împreună cu informațiile necesare arhivării, regăsirii și precizării contextului în care au fost obținute:

Nr.	Nume infrastructură/obiect/bază de date...	Data achiziției	Valoarea achiziției (lei)	Sursa finanțării	Valoarea finanțării infrastructurii din bugetul Progr. Nucleu	Nr. Ore-om de utilizare a infrastructurii pentru Programul- nucleu
1.						
2.						

5. Rezultatele Programului-nucleu au fundamentat alte lucrări de cercetare:

	Nr.	Tip
Proiecte internaționale		<p>“European network for sharing data on the geographic distribution of arthropod vectors, transmitting human and animal disease agents” (VectorNet).</p> <p>http://ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/emerging_and_vector_borne_disease/Pages/VBORNET.aspx</p>
Proiecte naționale		Ex. PNCDI III, etc.

6. Rezultate transferate în vederea aplicării :

Tip rezultat	Instituția beneficiară (nume instituție)	Efecte socio-economice la utilizator
Ex. tehnologie, studiu	nume IMM/instituție	
Documentatii tehnice	Institutul National de Cercetare « Cantacuzino »	<ul style="list-style-type: none"> - transferarea rezultatelor cercetarii in microproductie - punerea pe piata a unor medii de cultura optimizate - cresterea veniturilor din vanzarea mediilor de cultura bacteriana
Produse	Institutul National de Cercetare « Cantacuzino »	Creșterea veniturilor și reducerea costurilor cercetării
Studiu	Institutul National de Cercetare « Cantacuzino »	Dezvoltare metodologie/portofoliu metodologic
Studii Metode de control Procedeu de fabricatie Metoda de utilizare SOD Natural	Institutul National de Cercetare « Cantacuzino »	<p>Metodele de control elaborate conduc la cresterea acuratetii rezultatelor si scaderea pretului de cost pentru productia SOD Natural.</p> <p>Efectuarea testelor propuse (conform unor standarde ridicate si in conformitate cu cerintele internationale) deschid oportunitatea testarilor pentru terti, sub forma prestarilor de servicii.</p> <p>Prin depunerea cererii de brevet cu titlul “Supliment alimentar antioxidant pe baza de orz verde, procedeu de fabricatie si metoda de utilizare” (Nr. A/00236 din 19.04.2017) se asigura protectia pe teritoriul Romaniei a dreptului de proprietate industriala privind fabricarea, comercializarea, oferirea spre vanzare si metoda de utilizare a unui supliment alimentar antioxidant pe baza de orz verde.</p>

7. Alte rezultate: (a se specifica, dacă este cazul).

Test imunoenzimatic (ELISA) cu anticorpi monoclonali pentru detectia virusului gripal subtipur A/H5 (PN 16 39 02 01)

8. Aprecieri asupra derulării programului și propuneri:

În anul 2017 au fost contractate în cadrul programului nucleu PN 16-39 toate cele 13 proiecte oferite pentru Programul nucleu 2016-2017. Au fost îndepliniți indicatorii de realizare a Programului, obiectivele propuse conform ofertelor fiind atinse în întregime. În același timp au fost respectate termenele de predare a fazelor; nu s-au înregistrat riscuri majore care să conducă la nerealizarea obiectivelor propuse. Rezultatele obținute se regăsesc și într-un număr important de lucrări/comunicări științifice prezentate la manifestări naționale și internaționale. Activitatea științifică și rezultatele sale, datorate Programului Nucleu, au contribuit la o mai bună stabilitate instituțională, o siguranță a resursei umane din cercetare, au permis asigurarea și întărirea bazei materiale din cercetare, pentru a răspunde adecvat criteriilor de calitate.

DIRECTOR GENERAL,

Prof. Dr. Mircea Ioan POPA

DIRECTOR DE PROGRAM,

Dr Iuliana CARAS

DIRECTOR ECONOMIC,

Ec. Camelia PETRICA

